

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS

Evaluación de siete concentraciones de VPN (Virus de la Poliedrosis Nuclear), para el control del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* y *D. crambioides*, bajo condiciones de laboratorio.

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

POR
VICTOR HUGO MOTTA PONCIANO

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRÓNOMO
EN
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2,005

DL
01
T(2115)



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA -FAUSAC-
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS
Y AMBIENTALES- IIA-



REF. Sem. 62/2005

LA TESIS TITULADA: "EVALUACION DE SIETE CONCENTRACIONES DE VPN (*Virus de la Poliedrosis Nuclear*), PARA EL CONTROL DEL BARRENADOR DE LA CAÑA DE AZUCAR *Diatraea saccharalis* y *D. Cramboides*, BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: VICTOR HUGO MOTTA PONCIANO

CARNE: 9210065

HA SIDO EVALUADO POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Jhonny Ayendi Toledo González
Ing. Agr. Luis Rodolfo Montes
Dr. Edin Francisco Orozco Miranda
Ing. Agr. Gustavo Alvarez Valenzuela

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. Agr. Luis Felipe León Solares
A S E S O R

Ing. Agr. José Manuel Márquez Hernández
A S E S O R

Dr. David Monterroso Salvatierra
DIRECTOR DEL INSTITUTO DE AGRONOMIA



IMPRIMASE
Dr. Ariel Abderramán Ortiz López
DECANO



DMS/nm
c.c. Archivo
IIA
Control Académico

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. M.V. LUIS ALFONSO LEAL MONTERROSO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

**DECANO
SECRETARIO
VOCAL PRIMERO
VOCAL SEGUNDO
VOCAL TERCERO
VOCAL CUARTO
VOCAL QUINTO**

**Dr. Ariel Abderraman Ortiz López
Ing. Agr. Pedro Peláez Reyes
Ing. Agr. Alfredo Itzep Manuel
Ing. Agr. Walter Arnoldo Reyes Sanabria
Ing. Agr. Danilo Ernesto Dardón Ávila
Mepu. Elmer Antonio Álvarez Castillo
Perito Miriam Eugenia Espinoza Padilla**

Guatemala, noviembre de 2,005.

Honorable junta directiva
Honorable tribunal examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala.

Señores miembros:

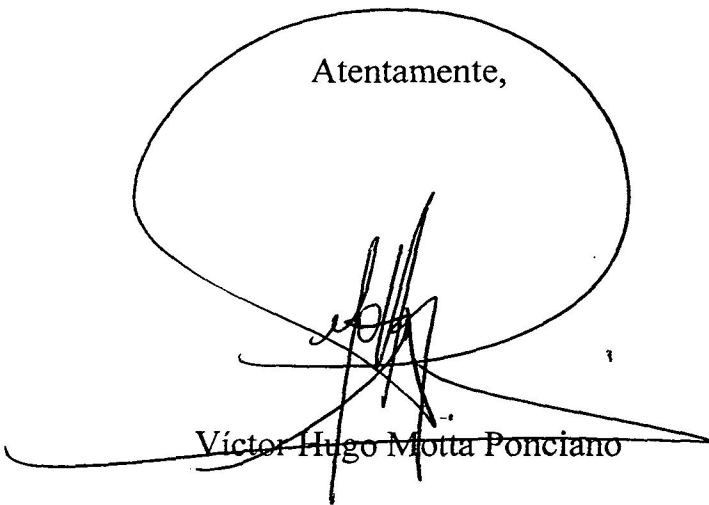
De acuerdo con las normas establecidas por la ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo titulado:

Evaluación de siete concentraciones de VPN (Virus de la Poliedrosis Nuclear), para el control del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides*, bajo condiciones de laboratorio

Presentado como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo, en el grado Académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

En espera de que el presente trabajo llene los requisitos para su aprobación, agradezco su amable atención a la presente.

Atentamente,



Victor Hugo Motta Ponciano

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS: Sin el no seria posible nada,
TODOPODEROSO.

MIS PADRES: Pedro Motta Pérez. (Q.E.P.D)
Julia S. Ponciano de la Cruz.
Infinito agradecimiento por el amor,
dedicación, esfuerzo y apoyo sin el no
hubiese sido posible este sueño de niño.

MI ESPOSA: Marta E. Medina A. por su amor y apoyo
incondicional para alcanzar esta meta.

MIS HIJOS: Luisa Fernanda, José Carlos, Guillermo
Antonio, por la dicha de tenerlos, y que
esto sea un pequeño agradecimiento por
todo el tiempo sacrificado y que no les he
podido brindar.

MI HERMANO, ESPOSA E HIJA: Todo hombre debe decidir una vez en la
vida, se lanza a triunfar arriesgándolo todo
o se sienta a observar el paso de los
triunfadores.

MIS PRIMOS: Toño (Q.E.P.D.), Virginia, en especial a
Fito, sin su apoyo este sueño no hubiese
sido posible.

MIS SUEGROS, CUÑADAS Y CONCUÑOS:

Gracias por todo el apoyo a lo largo de
estos años, han sido personas importantes
para alcanzar esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A:

Mi asesor, Ing. Agr. Manuel Márquez, por todo el apoyo y su valioso aporte para enriquecer este trabajo, y por su constante aporte a la agroindustria cañera de Guatemala.

Mi asesor, Ing. Agr. Luis Felipe León, por tu apoyo incondicional, y tu valioso aporte a la investigación agronómica.

Mi asesor, Dr. Francisco Badilla, por todos los conocimientos compartidos, por el aporte para este trabajo, así como por su amistad.

Al Personal de la Gerencia Agrícola del Ingenio La Unión S.A. especialmente a los Ing. Miguel Maldonado, Jorge Sandoval, Antonio Muñoz, por su apoyo constante.

Al personal del Departamento de Plagas y Enfermedades del Ingenio la Unión en especial a: Constantino Velásquez, Rose Mary, Flor de Maria, Lázaro y Mario Cortez, Byron Aquino. Por su apoyo en la realización de la presente investigación.

A mis padrinos: Dra. Ixmucane Medina, Dr. Ramón Vidaurre, Dr. Edwin Lemus, por su apoyo constante son personas importantes en mi vida.

A Jaime Domínguez y Guadalupe Ponciano por todo su apoyo y cariño.

ÍNDICE

- Índice de cuadros.....iii
- Índice de figuras.....iv
- Resumen.....vi
- 1. INTRODUCCIÓN1
- 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA3
- 3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN5
- 4. MARCO TEÓRICO7
 - 4.1 Marco conceptual7
 - 4.1.1 Generalidades acerca de *Diatraea*7
 - 4.1.1.1 Taxonomía7
 - 4.1.1.2 Características taxonómicas generales7
 - 4.1.1.2.1 Ciclo biológico de *Diatraea* spp.7
 - 4.1.1.3 Daño e importancia económica10
 - 4.1.1.4 Estrategia de manejo de los barrenadores en caña de azúcar.....12
 - 4.1.1.4.1 Medidas preventivas13
 - 4.1.1.4.2 Detección o monitoreo16
 - 4.1.1.4.3 Control de los barrenadores16
 - 4.1.2 Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN)19
 - 4.1.2.1 Clasificación19
 - 4.1.2.2 Características taxonómicas generales19
 - 4.1.2.3 Modo de acción19
 - 4.1.2.4 Síntomas20
 - 4.1.2.5 Especificidad20
 - 4.1.2.6 Transmisión21
 - 4.1.2.7 Mortalidad21
 - 4.1.2.8 Impacto ambiental23
 - 4.2 Marco referencial24
 - 4.2.1 Descripción del área24
 - 4.2.1.1 Aspectos generales del departamento de Escuintla24
 - 4.2.1.2 Aspectos propios de la zona, donde se encuentran los laboratorios de control biológico del Ingenio la Unión25
- 5. OBJETIVOS26
 - 5.1 OBJETIVO GENERAL26
 - 5.2 OBJETIVO ESPECIFICO26

- 6. HIPÓTESIS27
- 7. METODOLOGÍA28
- 7.1 Diseño Experimental29
 - 7.1.1 Unidad experimental29
 - 7.1.2 Tratamientos.....29
- 7.2 Manejo del experimento30
 - 7.2.1 Selección de larvas de las especies de *Diatraea*30
 - 7.2.2 Asignación de tratamientos a unidades experimentales.....30
 - 7.2.3 Calibración de concentraciones de VPN31
 - 7.2.4 Colocación de dietas y larvas en unidades experimentales31
 - 7.2.5 Inoculación de tratamientos31
- 7.3 Variables evaluadas32

| | | |
|-------|--|----|
| 7.3.1 | Mortalidad | 32 |
| 7.3.2 | Determinación de la concentración letal 50 y 90 (CL ₅₀ y CL ₉₀) para <i>Diatraea</i> | 32 |
| 7.3.3 | Determinación del tiempo letal 50 y 90 (TL ₅₀ y TL ₉₀) | 33 |
| 7.3.4 | Análisis económico | 33 |
| 7.3.5 | Análisis de la información | 34 |
| 8. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 35 |
| 8.1 | Porcentaje de Mortalidad | 35 |
| 8.2 | Determinación de la concentración letal 50 y 90 (CL ₅₀ y CL ₉₀) a partir de la mortalidad ... | 37 |
| 8.3 | Determinación del tiempo letal 50 y 90 (TL ₅₀ y TL ₉₀) | 40 |
| 8.4 | Análisis económico | 42 |
| 9. | CONCLUSIONES | 45 |
| 10. | RECOMENDACIONES | 46 |
| 11. | BIBLIOGRAFÍA | 47 |
| 12. | APÉNDICE | 50 |

ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | Concentraciones de virus de la poliedrosis nuclear VPN. Evaluadas en dos especies de barrenador <i>Diatraea saccharalis</i> y <i>D. crambidoides</i> , del cultivo de la caña de azúcar <i>Saccharum</i> spp. en el laboratorio de control biológico del ingenio la Unión | 29 |
| 2 A | Mortalidad acumulado y confirmados. | 56 |
| 3 A | Cuadro resumen, mortalidad acumulada confirmada en evaluación de siete concentraciones de VPN en dos especies de <i>Diatraea</i> , en los laboratorios de control biológico del Ingenio La Unión, diciembre 2,004. | 57 |
| 4 A | Tabla de valores probit correspondiente a los distintos valores para la función suma de la distribución normal. | 58 |
| 5 | Análisis de varianza para, el porcentaje de mortalidad acumulado de larvas de barrenador <i>Diatraea</i> spp. laboratorio de control biológico de Ingenio La Unión..... | 35 |
| 6 | Resumen de la prueba de comparación de medias (Tukey al 95 %), para porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Diatraea</i> spp. laboratorio de control biológico de ingenio La Unión, diciembre 2,004. | 36 |
| 7 | Resumen de la concentración letal 50 y 90 (CL ₅₀ y CL ₉₀), para las concentraciones evaluadas de VPN en larvas de <i>Diatraea</i> spp. | 39 |
| 8 | Resumen de la concentración letal 50 y 90 (CL ₅₀ y CL ₉₀), para las concentraciones evaluadas de VPN en larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> y <i>D. crambidoides</i> | 40 |
| 9 | Resumen del tiempo letal 50 y 90 (TL ₅₀ y TL ₉₀), para las concentraciones evaluadas de VPN en larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> y <i>D. crambidoides</i> en el laboratorio de control biológico de ingenio La Unión, diciembre 2,004..... | 42 |
| 10 | Costos, insumos y unidades utilizadas para la producción de biocontroladores de <i>Diatraea</i> spp. laboratorio ingenio La Unión (20)..... | 43 |
| 12 | Costos de producción de biocontroladores de <i>Diatraea</i> spp. para una hectárea de cultivo de caña de azúcar <i>Saccharum</i> spp. laboratorio Ingenio La Unión (20). | 44 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | Pág. |
|------|---|------|
| 1 | Ciclo biológico de barrenadores del género <i>Diatraea</i> , bajo condiciones de laboratorio, según CAÑAMIP.2,000. Manejo integrado de barrenadores en caña de azúcar. CENGICAÑA, Guatemala. 26 pag..... | 8 |
| 2 | Larvas de <i>D. saccharalis</i> (izquierda) y <i>D. crambidoides</i> (derecha), con detalle en el tubérculo mesotorácico. Fotos de CAÑAMIP. 2,000. Manejo integrado de barrenadores en caña de azúcar. CENGICAÑA, Guatemala. 26 p. | 9 |
| 3 | A) adultos de <i>D. crambidoides</i> , macho (izquierda) y hembra (derecha). B) adultos de <i>D. saccharalis</i> , macho (izquierda) y hembra (derecha)..... | 10 |
| 4 | Daño causado por barrenadores del tallo <i>Diatraea saccharalis</i> y <i>D. crambidoides</i> (31). | 11 |
| 5 | Adultos de moscas tquínidas A) <i>Lydella minense</i> (izquierda) y B) <i>Paratheresia claripalpis</i> (derecha) (31). | 17 |
| 6 | Adultos de <i>Cotesia flavipes</i> (31)..... | 18 |
| 7 | Adultos de <i>Trichogramma spp.</i> (31)..... | 18 |
| 8 A | Mapa de ubicación de Ingenio La Unión, finca Belén..... | 51 |
| 9 A | Unidades experimentales rotuladas de acuerdo a concentración evaluada (31)..... | 52 |
| 10 A | Calibración y agitación de concentraciones con agitador magnético (31). | 52 |
| 11 A | Larva de <i>Diatraea</i> en unidad experimental con dieta (31). | 53 |
| 12 A | Inoculación de dieta, con micropipeta Eppendorf (31). | 53 |
| 13 A | Distribución de tratamientos en estanterías del laboratorio de control biológico del ingenio La Unión (31). | 54 |
| 14 A | Determinación de mortalidad confirmada por VPN (virus de la poliedrosis nuclear) en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión (31). | 54 |
| 15 A | Salida del programa SAS % mortalidad con datos transformados arcoseno..... | 59 |
| 16 | Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Diatraea spp.</i> por siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear). Laboratorio de control biológico del ingenio La Unión, diciembre 2,004. | 37 |
| 17 | Ecuación de regresión lineal simple de valores Probit y del logaritmo de las siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) evaluadas en larvas de <i>Diatraea spp.</i> en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión. | 38 |

- 18 A Ecuación de regresión lineal simple de valores Probit y del logaritmo de las siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) evaluadas en larvas de *Diatraea saccharalis*, en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión.55
- 19 A Ecuación de regresión lineal simple de valores Probit y del logaritmo de las siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) evaluadas en larvas de *Diatraea crambidoides*, en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión.55
- 20 Tiempo letal 50 y 90 (TL₅₀ y TL₉₀) observado en larvas de *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides* en siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión, diciembre 2,004.41

EVALUACIÓN DE SIETE CONCENTRACIONES DE VPN (VIRUS DE LA POLIEDROSIS NUCLEAR), PARA EL CONTROL DEL BARRENADOR DE LA CAÑA DE AZÚCAR *Diatraea saccharalis* Y *D. crambidoides*, BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

EVALUATION OF SEVEN CONCENTRATIONS OF NPV (NUCLEAR POLIEDROSIS VIRUS), FOR THE CONTROL OF SUGAR CANE BORER *Diatraea saccharalis* AND *D. crambidoides* UNDER LABORATORY CONDITIONS.

RESUMEN

Los barrenadores del tallo del género *Diatraea* causan daño al cultivo de la caña de azúcar *Saccharum* spp. Esto permite que otros organismos patógenos ingresen y afecten la calidad de la caña y por ende el jugo, reduciendo el pol y Brix lo cual disminuye la productividad del cultivo. Estudios realizados en CENGICAÑA (9), indican que por cada uno por ciento de intensidad de infestación (i.i), las pérdidas se incrementan en 0.69 libras de azúcar por tonelada en la variedad CP 722086. El control biológico a través de parasitoides ha demostrado ser una alternativa efectiva (20), sin embargo requiere de un período de establecimiento y adaptación de al menos 3 años, pues la mayoría son parasitoides exóticos (20). En estudios realizados en Brasil por Macedo, Botelho y Pavan (5) demostraron que el Virus de la Granulosis (VGDS), es efectivo para el control de *Diatraea*.

La presente investigación se realizó en los laboratorios de control biológico del ingenio La Unión, Santa Lucía cotzumalguapa Escuintla, en la cual se evaluó el efecto de siete concentraciones de VPN (Virus de la Poliedrosis Nuclear), para el control de dos especies de barrenador de la caña de azúcar, *D. saccharalis* y *D. crambidoides*, así mismo se determinó la concentración letal 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀), y el tiempo letal 50 y 90 (TL₅₀ y TL₉₀) del entomopatogeno VPN, para lo cual se realizó un bioensayo en el cual se

evaluaron 7 concentraciones, en dosis crecientes cinco veces cada concentración a partir de 4×10^3 cp / ml, 2×10^4 cp / ml, 1×10^5 cp / ml, 5×10^5 cp / ml, 2.5×10^6 cp / ml, 1.25×10^7 cp / ml, y 6.25×10^7 cp / ml, en un experimento bifactorial (7 x 2), con diseño completamente al azar y arreglo combinatorio, los factores evaluados fueron: A) concentraciones B) especies de barrenador. Para la determinación de CL y TL se utilizó el análisis de Probit descrito por Lagunes, Tejeda (1,997) (21), en métodos para la determinación de resistencia en las principales plagas agrícolas en México.

Los resultados que se obtuvieron demuestran, que las especies *Diatraea saccharalis*, y *D. crambidoides*, no mostraron respuestas diferenciales en mortalidad, ambas tuvieron mortalidades crecientes de igual magnitud con el incremento de la concentración, El Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), mostró igual patogenicidad sobre las dos especies de barrenador. La concentración letal 50 y 90 (CL_{50} y CL_{90}), para *Diatraea* spp. fue 5.05×10^5 cp/ml y 3.09×10^7 cp/ml respectivamente, equivalente a 4.17 y 257.58 g respectivamente de producto comercial VPN ULTRA en 100 cc de agua. El tiempo letal 50 (TL_{50}), para la especie *Diatraea saccharalis* fue variable, con un mínimo de 1 día y un máximo de 4.8 días, para *D. crambidoides* un mínimo de 1.71 días y un máximo de 3.97 días. Para tiempo letal 90 (TL_{90}) para *D. saccharalis* un mínimo de 2.25 días y un máximo de 4.99 días, para el caso de *D. crambidoides* un mínimo de 3.02 y un máximo de 5.49 días.

1. INTRODUCCIÓN

La agroindustria de la caña de azúcar es una de las actividades económicas que ocupa un lugar importante en Guatemala. En los últimos años se ha mantenido en creciente expansión, tanto en toneladas molidas (zafra 99/00: 15,585,927 toneladas) como en área de siembra, (zafra 03/04: se registró en 180,000 ha.) siendo la segunda actividad generadora de divisas para el país. Para mantener una producción sostenible dentro de este crecimiento es necesario alcanzar la eficiencia con el fin de maximizar los recursos de producción (2).

El área agrícola, se encarga de la producción de la caña, materia prima para el ingenio, la cual debe ser de buena calidad, para obtener altos rendimientos. Por lo que se debe evitar el efecto de organismos que actúan de manera adversa en la producción, uno de estos lo constituyen los barrenadores del género *Diatraea*.

El complejo de especies de barrenadores del tallo de la caña de azúcar incluye barrenadores mayores y menores, los de mayor importancia económica en Guatemala son los barrenadores mayores *Diatraea crambidoides* Grote (8), *D. saccharalis* fabricius (6).

El daño causado en caña de azúcar ha sido ampliamente demostrado en las diferentes regiones cañeras de América, aún cuando ha sido notoria la variabilidad en las estimaciones (11) y muchas veces puede pasar desapercibido y detectarse hasta el momento de la extracción del jugo. Las larvas pueden atacar el cultivo desde la siembra hasta la cosecha, penetran en el tallo y pasan allí la mayor parte de su ciclo de vida protegidos de efectos externos adversos. Afortunadamente existen múltiples especies de parasitoides, dentro de los más comunes en la agroindustria guatemalteca destacan: *Paratheresia claripalpis*, *Lydella minense*, *Lixophaga diatraea*, *Cotesia flavipes* y *Trichogramma exiguum*, que en forma natural reducen sus poblaciones. Por ello, el control

biológico es la opción más viable como base de una estrategia de manejo de barrenadores a corto plazo. Otros métodos que no deben descartarse son el desarrollo de variedades resistentes, la incorporación de plantas transgénicas que permite producir plantas con resistencia a insectos haciendo estas plantas más productivas (17).

En Brasil se ha demostrado que el virus de la poliedrosis nuclear ejerce control sobre los barrenadores del tallo del género *Diatraea* (5).

En esta investigación se evaluó el efecto de siete concentraciones del entomopatógeno VPN (Virus de la Poliedrosis Nuclear) para el control de dos especies de barrenador de la caña de azúcar, *D. saccharalis* y *D. crambidoides* en laboratorio. La investigación se realizó en los laboratorios de control biológico del Ingenio La Unión en Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para que la explotación comercial del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) sea rentable es necesaria la obtención de altos rendimientos, para lo cual es indispensable conocer y manejar los diversos factores que actúan en forma adversa al cultivo. Dentro de estos existen factores abióticos y bióticos. Entre los bióticos se puede mencionar las plagas insectiles (28).

El manejo integrado de plagas (MIP), busca mantener las poblaciones de la plaga a niveles que no causen daños económicos al cultivo, mediante el uso de tácticas de control como: prácticas culturales, control etológico, control biológico, control químico y control legal. Actualmente en el cultivo de la caña de azúcar *Saccharum* spp. se realizan prácticas de control biológico, las cuales consisten en liberaciones de parasitoides exóticos. Dicho control, se inició en 1,991 en la agroindustria azucarera guatemalteca, siendo el Ingenio la Unión el primero en realizar prácticas de control biológico, dirigidas al manejo de barrenadores del tallo (*Diatraea saccharalis*, *D. crambidoides*) a través del uso de la avispa *Cotesia flavipes*, posteriormente ingenios como Pantaleón, Santa Ana, Magdalena y San Diego, han evaluado y utilizado parasitoides tales como moscas taquínidas, *Paratheresia claripalpis*, *Lydella minense*, *Lixophaga diatraea*, himenópteros como *Cotesia flavipes*. Para el control de la fase de huevo *Trichogramma exiguum*, para lo cual ha sido necesario importar dichos parasitoides. Sin embargo los porcentajes de parasitismo de estos son bajos; valores variables que van desde 2 % hasta 30 % (20). El incremento de los porcentajes de intensidad de infestación a nivel de las fincas del ingenio la Unión, en la parte baja menor de 100 msnm se incrementó de 1.23 por ciento a 1.76 por ciento de intensidad de infestación en el año 2,003 (20).

Esto demuestra la poca adaptabilidad que han tenido dichos parasitoides, a las condiciones ambientales de nuestro país, por esta razón se hace necesario evaluar otras alternativas de control que ayuden a minimizar el daño que esta plaga causa al cultivo; debido a las condiciones ambientales de la zona cañera, esta plaga se encuentra presente durante todo el ciclo del cultivo de la caña de azúcar *Saccharum spp*, ya sea en soca o en plantía, registrándose con mayor presencia en la zona baja cañera con menos de 100 msnm.

Una opción de control representa la utilización de microorganismos tales como los virus entomopatógenos, los cuales por su alta virulencia, su específico espectro de control de lepidópteros, la protección extra que le brinda el cuerpo de inclusión, su compatibilidad con otras prácticas, así como su facilidad de producción, hacen necesario evaluar otras formas de control como la utilización del Virus de la Poliedrosis Nuclear, el cual es utilizado exitosamente en países como Brasil (23), para el control de *Diatraea saccharalis*. La aplicación del Virus de la Poliedrosis Nuclear, se recomienda que sea utilizada, como complemento dentro del programa, para reducir las poblaciones del barrenador en las diferentes etapas del cultivo de la caña de azúcar.

3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los barrenadores del tallo del género *Diatraea* causan daño al cultivo de la caña de azúcar *Saccharum* spp, debido a que las larvas durante su desarrollo permanecen dentro de éstos. Durante toda la etapa del cultivo, plantía o soca, y en las diferentes etapas de desarrollo; germinación, macollamiento, elongación y maduración. Esto permite que otros organismos patógenos ingresen y afecten la calidad de la caña y por ende el jugo, reduciendo el pol, Brix y aumenta el porcentaje de fibra.

Los insectos plaga en el cultivo de la caña de azúcar *Saccharum* spp, constituyen uno de los factores más importantes en la disminución de los rendimientos, ya que afectan el sistema radicular, el tallo y las hojas. Esto se debe a que este cultivo se localiza en Guatemala desde la zona costera hasta alturas cercanas a 1000 msnm, lo que favorece la ocurrencia de gran cantidad de especies de insectos. Otra razón y quizá la más importante, es que al cultivarse en áreas extensivas, se ha provocado un desbalance ecológico, favoreciendo así, la presencia de plagas que viven en forma natural principalmente en malezas (3).

Estudios realizados en CENGICANA (9), indican que por cada uno por ciento de intensidad de infestación (i.i), las pérdidas se incrementan en 0.69 libras de azúcar por tonelada en la variedad CP 722086. En 1,999, se estimó que las pérdidas en tonelaje debidas al daño del barrenador alcanzaron las 4 tm/ha (8.3 por ciento), con una reducción en rendimiento de azúcar de 21.68 libras por tonelada (23.29 por ciento).

El control biológico a través de parasitoides ha demostrado ser una alternativa efectiva (20), sin embargo requiere de un período de establecimiento y adaptación de al menos 3 años, pues la mayoría son parasitoides exóticos (20). Por esta razón es importante

complementarlo con otras prácticas como el uso de entomopatógenos como el virus de la poliedrosis nuclear VPN.

En estudios realizados en Brasil por Macedo, Botelho y Pavan (5) demostraron que el Virus de la Granulosis (VGDS), es efectivo para el control de *Diatraea*. Así mismo, Pavan, et al., 1,985, determinaron que el virus es altamente virulento y que la CL_{50} fue de 42 cápsulas/larva a 26°C y que en promedio cada larva posee 1×10^9 cuerpos poliédricos de virus (23). Es por ello que esta investigación, se realizó con el propósito de determinar las concentraciones para el control de las dos especies de barrenador y sean consideradas en la estrategia de manejo integrado de dicha plaga. Además, de ser este un trabajo pionero en este tema.

Lo anterior es importante ya que con la utilización del control biológico como un componente del manejo integrado de plagas, se logra en el largo plazo un mayor equilibrio, evitando mayores alteraciones al medio ambiente en nuestro país, así mismo, permite incorporarse al programa de manejo de dicha plaga, por su acción durante las primeras fases de las larvas, así como del cultivo, brindando una mayor ventana de protección al mismo.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Marco Conceptual

4.1.1 Generalidades acerca de *Diatraea*

4.1.1.1 Taxonomía

| | |
|------------|---|
| Phyllum | Arthropoda |
| Clase | Insecta |
| Orden | Lepidoptera |
| Familia | Pyralidae |
| Subfamilia | Crambinae |
| Género | <i>Diatraea</i> |
| Especie | <i>D. saccharalis</i> , <i>D. crambidoides</i> . |

4.1.1.2. Características taxonómicas generales

Las características taxonómicas de todas las especies de *Diatraea* son muy similares, principalmente en los estados inmaduros de su desarrollo. A continuación se describen las características generales que presentan la especie de *D. saccharalis* y *D. crambidoides* (11).

4.1.1.2.1. Ciclo biológico de *Diatraea* spp.

El ciclo de vida de los barrenadores consta de 4 estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto (Figura 1), (11). La duración de cada uno, difiere según la especie, el hospedero y las condiciones climáticas del estudio (1). Sin embargo, la literatura en América latina muestra rangos muy amplios del ciclo de vida de barrenadores (16).

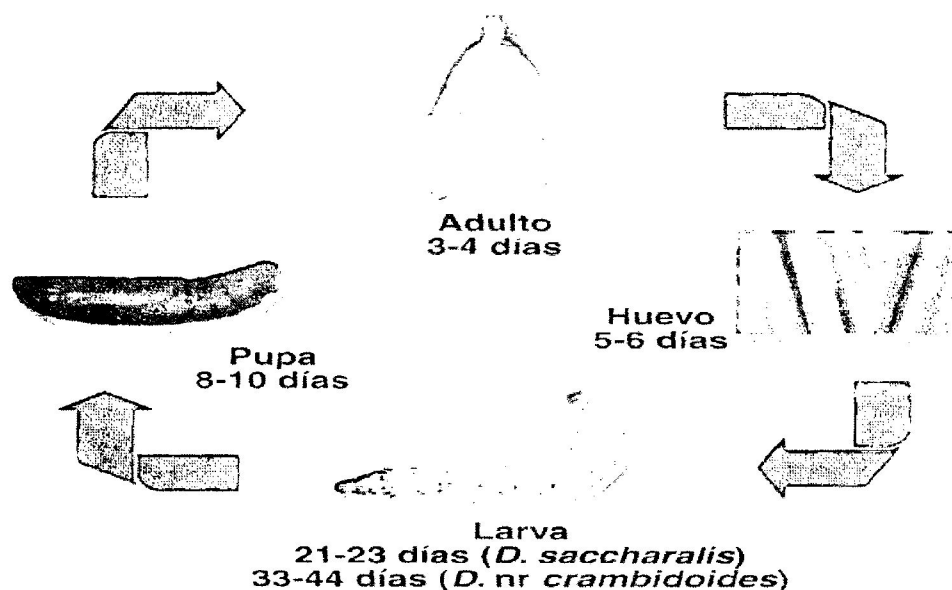


Figura 1. Ciclo biológico de barrenadores del género *Diatraea*, bajo condiciones de Laboratorio, según CAÑAMIP. 2,000. Manejo integrado de barrenadores en caña de azúcar. CENGICAÑA, Guatemala. 26 p.

En Guatemala, bajo condiciones de laboratorio y con temperaturas entre 22 – 26 °C, se ha determinado que el estado de huevo puede durar de 5 a 6 días; las larvas de *D. saccharalis* desarrollan de 21 a 23 días; en tanto que las de *D. crambidoides* desarrollan en un período más largo, de 33 a 43 días. Esta diferencia en el desarrollo larval es la característica de importancia en el ciclo de vida de las especies de mayor abundancia en el cultivo de la caña en Guatemala. El período pupal es de 8 a 10 días, después del cual, emergen los adultos que viven de 3 a 4 días en promedio. Los adultos rara vez pueden verse en el campo pues son de hábito nocturno y voladores de poco alcance, atraídos por las luces artificiales nocturnas. Durante el día se esconden entre las hojas y durante la noche las hembras depositan cerca de 300 huevos en pequeñas masas de 5 a 50, en el envés de las hojas. Las larvas recién emergidas miden de 1 a 2 mm y pasan algunos días alimentándose de la epidermis de la nervadura central de las hojas. Cuando alcanzan el segundo estadio

miden entre 6 y 8 mm, perforando el córtex del tallo y abren una galería en la medula, de la cual se alimentan. Durante varias semanas de su crecimiento siguen excavando túneles en el tejido parenquimatoso, masticando los haces vasculares. Al alcanzar la madurez larval, construyen una galería con salida a la superficie del córtex (11).

Se ha determinado que el ciclo de vida promedio par *D. crambidoides* y *D. saccharalis* es de 57 y 41 días, respectivamente, observando que el estado larval de *D. crambidoides* es 16 días mayor que *D. saccharalis* (11).

Las larvas de *D. crambidoides* se caracterizan por un tubérculo mesotorácico dorsal en forma de "B" alargada con una incisión media anterior, en tanto que *D. saccharalis* presenta un tubérculo mesotorácico dorsal alargado transversalmente y redondeado en la parte anterior (Figura 2).

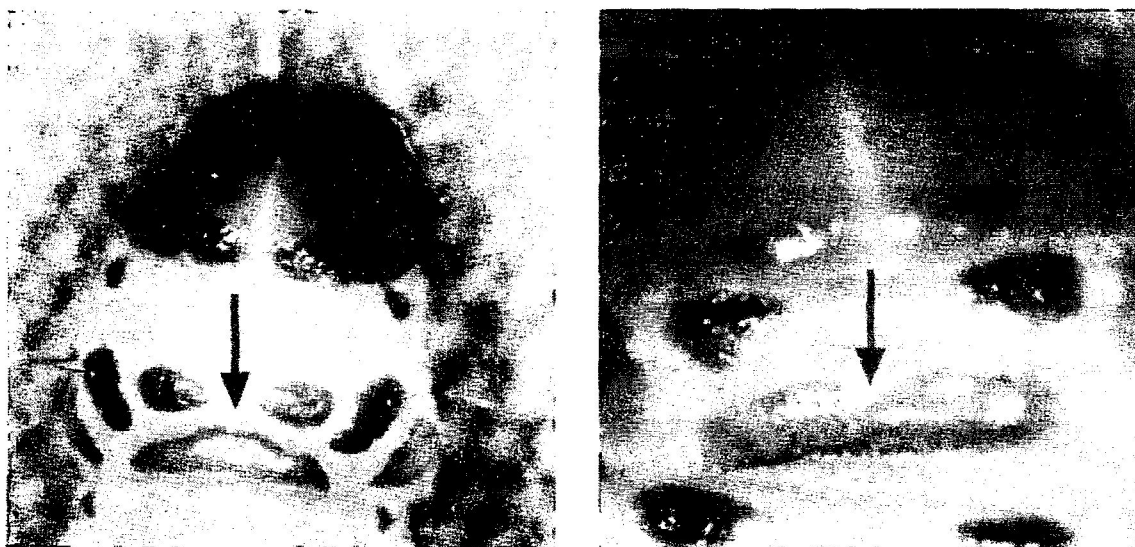


Figura 2. Larvas de *D. saccharalis* (izquierda) y *D. crambidoides* (derecha), con detalle en el tubérculo mesotorácico. Fotos de CAÑAMIP. 2,000. Manejo integrado de barrenadores en caña de azúcar. CENGICAÑA, Guatemala. 26 p.

Los adultos de *D. crambidoides* presentan una longitud alar de 26 a 42 mm, frente redondeada, color y patrón de las alas anteriores similar a *D. saccharalis*. En el macho, las alas posteriores muestran una sombra subterminal (Figura 3) (11).

Diatraea saccharalis es una palomilla variable en tamaño y color. La longitud alar del adulto es de 18 a 39 mm, menor que *D. crambidoides*. La frente es redondeada; alas anteriores de color amarillo-beige a café suave, con mancha discal y dos líneas en forma de "V" invertida más notable en el macho que en la hembra; alas posteriores de blanco sedoso a un crema grisáceo (Figura 3) (11).

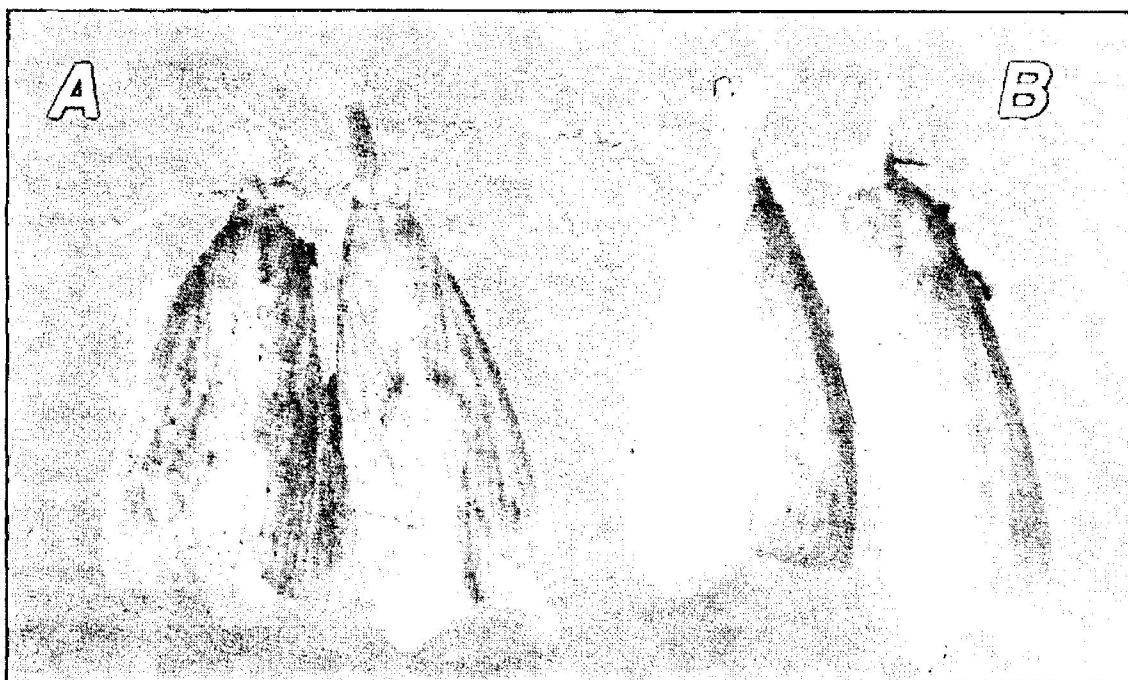


Figura 3. A) adultos de *D. crambidoides*, macho (izquierda) y hembra (derecha).
B) adultos de *D. saccharalis*, macho (izquierda) y hembra (derecha).

Fuente: CAÑAMIP. 2,000. Manejo integrado de barrenadores en caña de azúcar. CENGICAÑA, Guatemala. 26 p.

4.1.1.3 Daño e importancia económica

En general, el daño se detecta hasta el ingreso a la fábrica, al observar bajos rendimientos de azúcar. El daño puede ocurrir durante la germinación, en plantas en

macollamiento o en tallos en elongación y maduración, afectando los procesos de producción y fábrica. Este daño resulta de la actividad alimentaria de las larvas y la construcción de galerías. En la fase de macollamiento, el mayor daño se atribuye al atraso en el crecimiento de las plantas cuando las larvas producen galerías verticales que pueden alcanzar el meristemo apical y causarles la muerte (corazón muerto). De 2 meses en adelante, se pueden observar dos tipos de daño: si afecta el ápice vegetativo, el tallo producirá una proliferación de brotes laterales (lalas), y la planta invertirá energía en ellos; si el daño resulta de la perforación en los tallos, dentro de las galerías normalmente se encuentra asociado el hongo *Colletotrichum falcatum* (fase perfecta *Glomerella tucumanensis*), responsable del muermo rojo ver figura 4, que afecta la calidad del jugo, reduce el pol, Brix y aumenta el porcentaje de fibra (11).



Figura 4. Daño causado por barrenadores del tallo *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides*. (31)

En estudios realizados en CENGICAÑA (30), se determinó que por cada uno por ciento de intensidad de infestación, las pérdidas se incrementan en 0.69 libras de azúcar por tonelada en la variedad CP 722086, además las pérdidas en tonelaje alcanzaron las 4 tm/ha (8.3 %), con una reducción en rendimiento de azúcar de 21.68 libras por tonelada (23.29 %) de la producción total. Otras regiones productoras de caña como Tamaulipas, México, reportan pérdidas de 1.1 libras azúcar /tonelada (15); en Costa Rica se estiman 4.4 libras azúcar/tonelada de caña por cada uno por ciento de intensidad de infestación (4); en tanto que en Colombia la pérdida es de 0.7 % del tonelaje por cada uno por ciento de intensidad de infestación (16). PLANALSUCAR en Brasil indica que por cada uno por ciento de intensidad de infestación, ocurre una pérdida equivalente al 0.48 % de azúcar/tonelada de caña (18).

4.1.1.4 Estrategia de manejo de los barrenadores en caña de azúcar

El manejo integrado de los barrenadores se basa en la implementación de prácticas agrupadas en tres fases: 1) prevención, 2) detección y 3) Control. Para orientar las acciones preventivas y de control es necesario llevar un registro de los niveles de infestación en cada lote, pante y finca a través de las principales fases fenológicas del cultivo. Esto permite clasificar las áreas en problemáticas, de riesgo y sin problemas, con base en la intensidad de infestación, alcanzada en la zafra anterior. Las áreas problemáticas serán aquellas que tienden a ser más afectadas y sobrepasan el umbral de acción. Las áreas de riesgo son aquellas cuyos niveles de intensidad de infestación se mantienen muy cerca del umbral de acción. En tanto que las áreas sin problemas son aquellas que generalmente mantienen una intensidad de infestación menor al umbral de acción establecido (7). Este umbral de acción está relacionado a estudios sobre nivel de daño económico, sin embargo puede variar

dependiendo del área, edad del cultivo y el valor económico de la práctica de control. De manera general se conoce que en Guatemala el Ingenio La Unión/Los tarros utiliza un umbral de control de 1.5 % de intensidad de infestación; en tanto que el ingenio Pantaleón/Concepción utiliza 3 % de intensidad de infestación; en tanto que el ingenio Santa Ana usa como referencia el 1.7 % de intensidad de infestación. La clasificación de estas áreas genera información a través del tiempo que se conoce generalmente como "historial de infestación" que permite priorizar y programar las acciones de control que se deben implementar en el manejo del cultivo (11).

4.1.1.4.1 Medidas preventivas

Estas medidas tienen como objetivo reducir las futuras infestaciones del barrenador, creando un ambiente menos favorable para su desarrollo. Entre las prácticas de importancia se recomiendan las siguientes (30):

a) Cosecha en bloques

Para evitar que las palomillas del barrenador emigren de cañaverales viejos hacia aquellos jóvenes.

b) Priorización del corte

Para dar preferencia en la cosecha a las áreas con los mayores índices de infestación y evitar el gradual deterioro de la caña y su pérdida de azúcar.

c) Reducción del intervalo entre corte y molienda

Para entregar en menos de 24 horas la caña de aquellas áreas con más del 5 por ciento de intensidad de infestación y evitar mayor deterioro químico y biológico.

d) Corte a ras del suelo

Para evitar que las larvas encuentren protección en la base de la caña.

e) Destrucción de rastrojos de caña

Es necesario destruir la caña entera, puntas y mamones que se quedan después del corte porque sirven de refugio y alimento a las larvas. Lo ideal es incorporarlos al suelo, pero si esto no es posible, lo recomendable es la quema de los mismos.

f) Eliminación de hospedantes alternos

Los barrenadores del género *Diatraea* atacan diferentes especies de gramíneas, ya sea estas malezas o cultivos, de donde emigran a la caña de azúcar. Como hospedantes alternos se reportan maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum halepense*), y otras gramíneas como cola de zorro (*Setaria geniculata*), pasto napier (*Pennisetum purpureum*), pasto camalote (*Paspalum fasciculatum*), zacatón (*Panicum maximum*) no es conveniente intercalar, asociar o rotar gramíneas con el cultivo de caña de azúcar. Si las áreas del cultivo colindan con otras gramíneas, éstas deben monitorearse con prioridad.

g) Mejoramiento del drenaje del suelo

Se debe eliminar el exceso de humedad durante la época lluviosa, ya que esto favorece la reproducción del barrenador y el crecimiento de malezas hospedantes gramíneas.

h) Entresaque

Que consiste en eliminar las plantas infestadas con síntomas de tallos marchitos. Esta práctica se recomienda en los dos primeros meses del cultivo y en áreas de alta infestación para interrumpir el ciclo de la plaga. Cada ingenio deberá evaluar la posibilidad de incluirla en sus recomendaciones.

i) Semilla limpia

Con el propósito de evitar el traslado de semilla de lugares altamente infestados a lugares de baja infestación.

j) Variedades resistentes

Mathes y Charpentier (1962) (24), indican que la resistencia al barrenador está relacionada con los siguientes factores:

- i. Características morfológicas de la hoja poco atractivas para la oviposición (olor, superficie, ancho y firmeza de la hoja).
- ii. Características desfavorables de la planta para evitar la entrada de los barrenadores (dureza de la nervadura de la hoja, materia seca del primordio foliar, ancho del primordio foliar, dureza de la corteza, capa de cera y color del tallo).
- iii. Efectos adversos de la planta sobre el desarrollo de los barrenadores, generalmente causados por ciertos caracteres físicos y nutricionales de los tejidos de la planta.
- iv. Tolerancia o habilidad para producir bien a pesar de altas infestaciones.

Actualmente el programa de fitomejoramiento de CENGICAÑA esta evaluando algunas variedades tomando como parte de la evaluación la susceptibilidad de estas variedades al barrenador de la caña de azúcar *Saccharum* spp.

4.1.1.4.2 Detección o monitoreo

Se pretende que las poblaciones de barrenadores no alcancen ni sobrepasen los umbrales económicos, y por lo tanto no causen pérdidas considerables. El incremento de las poblaciones de insectos es causado por la reproducción e inmigración, en tanto que la disminución se origina por las tasas de mortalidad y emigración. Por lo anterior, es necesario mantener un programa de monitoreo que sea preciso, económico y de fácil aplicación, que permita detectar a tiempo el momento y las áreas que sobrepasan los niveles permitidos (11).

El muestreo de barrenadores puede hacerse de varias formas y en diferentes etapas de desarrollo de la planta. Utilizando la captura con hembras vírgenes, feromonas sintéticas o trampas de luz, sin embargo una medida indirecta para la estimación de poblaciones de barrenadores es mediante la cuantificación del daño. Siendo la dinámica poblacional, el estudio y la interpretación de los cambios en las densidades poblacionales de la plaga, es necesario su conocimiento y asociación con los niveles de daño que ocasionan, sin embargo en Guatemala se ha iniciado los estudios de la fluctuación poblacional de larvas del barrenador, tal es el caso del ingenio Santa Ana, aunque el barrenador está presente durante todas las fases del cultivo, el estudio muestra tres épocas en las cuales las densidades poblacionales se incrementan, siendo éstas: febrero - abril, junio - julio y de octubre a diciembre (11).

4.1.1.4.3 Control de los barrenadores

El manejo integrado de los barrenadores en el cultivo de la caña de azúcar está basado en el control biológico mediante la utilización de enemigos naturales. Los enemigos naturales son parasitoides depredadores y entomopatógenos cuya acción regula la

densidad poblacional de otro organismo llamado plaga (12). Existen muchas especies de parasitoides, tanto de huevos como de larvas, depredadores y agentes entomopatógenos que existen en forma natural para controlar las diversas especies de *Diatraea* en América Latina y El Caribe (25).

Cinco especies de parasitoides han mostrado buen potencial de control, facilidad de cría masiva y variados niveles de adaptabilidad en países vecinos y de condiciones similares a las de Guatemala, siendo éstos: *Trichogramma exiguum* Pinto y Platner (parasitoide de huevos) Figura 8, *Cotesia flavipes* Cameron figura 7, *Paratheresia claripalpis* (Wulp) figura 6, *Lixophaga diatraea* (Townsend), *Lydella minense* figura 5 (11).

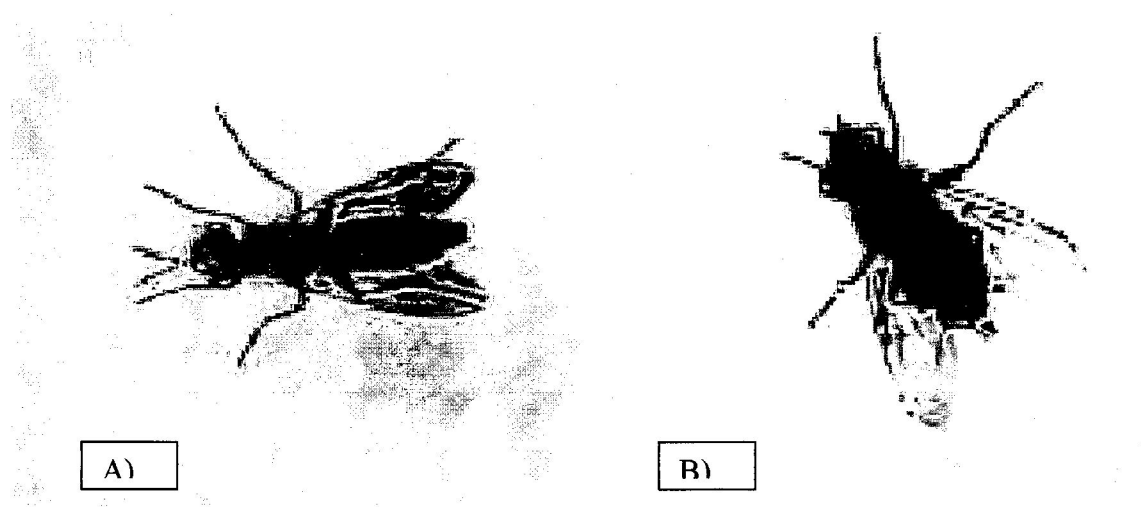


Figura 5. Adultos de moscas taquínidas A) *Lydella minense* (izquierda) y B) *Paratheresia claripalpis* (derecha) (31).

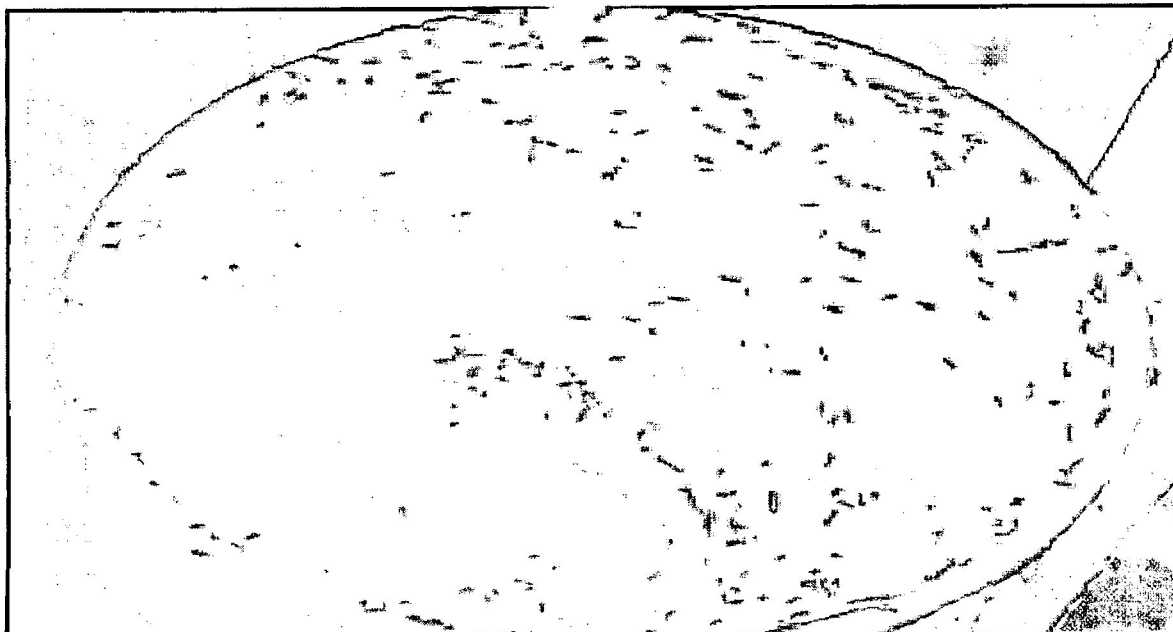


Figura 6. Adultos de *Cotesia flavipes* (31).



Figura 7. Adulto de *Trichogramma* spp. (31).

Las liberaciones en Guatemala se iniciaron a partir de 1,991 en los ingenios La Unión /Los Tarros y se han incrementado progresivamente en los ingenios Santa Ana, Pantaleón/Concepción y San Diego (10).

4.1.2 Virus de la poliedrosis nuclear (VPN)

4.1.2.1 Clasificación

| | |
|-------------|---------------------------------------|
| Familia: | Baculoviridae |
| Subfamilia: | Ubaculovirinae |
| Género: | Granulovirus |
| | Virus de la poliedrosis nuclear (VPN) |

4.1.2.2 Características taxonómicas generales

Los baculovirus están compuestos internamente por una capa proteica llamada cápside que rodea o protege al ácido nucleico. A este conjunto se le denomina nucleocápsidae, el cual puede estar solo o en grupos dentro de una capa lipoproteica construida a partir del material celular del insecto parasitado. Al conjunto de nucleocápsidae más envoltura se le llama virión o partícula viral, siendo ésta la unidad infectiva del virus. Los viriones están rodeados por una matriz proteica formando el cuerpo de inclusión poliédrico o poliedro.

Las partículas de VPN tienen forma de bastón y varían entre los 20 y 50 nanómetros en diámetro y entre 200 y 400 nanómetros en longitud (13).

4.1.2.3 Modo de acción

Los virus penetran al hospedante, con la ingestión de alimentos contaminados con los poliedros, siendo el estado larval el que presenta mayor predisposición. Otras vías posibles, como el pasaje transovariano, la infección a través de espiráculos o por parasitoides no son consideradas importantes. La multiplicación del virus ocurre en el núcleo de las células de los tejidos adiposos, epidermis y tráqueas (22).

4.1.2.4 Síntomas

Los síntomas principales del VPN en el insecto comienzan a partir del tercero o cuarto día de ingestión. Se observan manchas sobre el tegumento, amarillamiento y aspecto oleoso del tegumento, movilidad reducida y disminución del consumo del alimento. Las larvas parasitadas se dirigen a las partes superiores del vegetal donde mueren colgados de sus patas posteriores. El principal síntoma de la enfermedad es la reducción del consumo y posterior parálisis total de la alimentación, cambios a una coloración lechosa, debilitamiento general, lentitud y flacidez por lo que responden muy poco a cualquier estímulo. Igualmente se han observado síntomas de diarrea como resultado de la bacteriosis secundaria inducida por la granulosis (22).

El tegumento se oscurece, se rompe y hay pérdida de líquido rico en poliedros, los cuales serán fuente de inóculo para otras larvas susceptibles presentes. Igualmente en cultivos como crucíferas, durante el transcurso de la estación del cultivo, tanto el agua de lluvia como la caída de larvas muertas, transportan los poliedros hacia el suelo donde permanecerán hasta el próximo año y serán el inóculo inicial para futuras infecciones naturales (22).

4.1.2.5 Especificidad

La mayoría de baculovirus tienen un estrecho rango de hospedantes, pero que nunca exceden al orden y generalmente a la familia del hospedante, del cual el virus fue originariamente aislado (19).

Estrada (14), sin citar la fuente, indica que la mayoría de estos virus se han aislado del orden Lepidoptera (86 %).

4.1.2.6 Transmisión

La diseminación de los virus de una generación a otra del hospedante puede producirse de varias maneras. La transmisión transovariana (no es muy frecuente), en cambio la transovigénica o transovum es la más frecuente. Esta se refiere cuando la superficie de los huevos se contamina externamente, siendo una vía de infección para las larvas que eclosionan de ellos, como para otros agentes que se ponen en contacto con los mismos (14).

En los estadios más avanzados de la infección, a la larva se le decolora el tegumento y tiene apariencia oleosa, en muchos casos toma una coloración oscura producto de la septicemia y contaminación por bacterias. Después de la muerte el tegumento de las larvas frecuentemente se rompe liberando millones de poliedros que frecuentemente contaminan a la planta hospedera que las alimenta (14).

Del mismo modo, adultos contaminados, parasitoides, predadores, viento, lluvia e irrigación son otros factores de diseminación (14).

4.1.2.7 Mortalidad

La mortalidad varía según las especies y cepas consideradas. En VPN por lo general, los valores de TL_{50} oscilan entre 7 y de 11 días (22). Así, según Moscardi (1,983) y Livingston et al. (1980), el 50 % de la población de *Anticarsia gemmatalis* y de *Pseudopusia includens*, mueren a causa de sus VPN entre los 7 y 7.5 días, sin embargo la relación entre la TL_{50} con los daños es relativa ya que la disminución del consumo foliar de las larvas infectadas que comienza a los tres o cuatro días de inoculación, es un síntoma muy importante a tener en cuenta en la determinación de los niveles de daño económico, mucho más tal vez que la propia mortalidad. Con el virus de la granulosis VG. usualmente

la mortalidad ocurre entre los 4 y 25 días. Larvas de *Diatraea saccharalis* parasitadas con VG, presentan valores de TL_{50} a 26 °C de 24 días, mientras aplicando en conjunto con *Beauveria bassiana* disminuye a 18 días (22).

En el caso de los adultos provenientes de las larvas que sobrevivieron a una infección de baculovirus, las alteraciones en la reproducción, reducción en la fecundidad o viabilidad de los desoves o ambos factores, se observan principalmente cuando la infección larval ocurre en los últimos estadios. Sin embargo, los adultos machos de *Spodoptera littoralis*, provenientes de las larvas que sobrevivieron a una infección de virus, no tienen alterada su capacidad copuladora, por lo que no presentan cambios en la competencia sexual con los machos normales, pudiendo inducir reducción en la población por disminuir la viabilidad de los desoves (23).

Estudios con el microscopio electrónico revelaron que el virus se repite o duplica en el citoplasma de la célula hospedera y es homogéneo y típico de este grupo de virus baciliforme. El cuerpo graso fue el principal órgano atacado, hallándose presente prácticamente en todos los otros tejidos de las larvas. Las larvas de barrenador de la caña de azúcar de tercer estadio fueron altamente susceptible al Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), ya que el valor de DL_{50} fue de 42 cápsulas/larva a 26°C. En Brasil los estudios de respuesta de mortalidad revelaron valores TL_{50} de 29, 34, 33, 34, 48 y 63 días para las dosis de 10^7 , 10^6 , 10^4 , 10^3 y 10^2 cápsulas/larva, respectivamente (26).

Estudios realizados con VPN, y un aislamiento proveniente del virus tipo F-16 de la nucleopoliedrosis de *Anticarsia gemmatilis* y un regulador de crecimiento (el Benzoylphenyl urea), sobre *Diatraea saccharalis*, a nivel de laboratorio y en campos comerciales de caña de azúcar, en el sur de Brasil, usando diversas variedades, mostraron

ser efectivos contra la plaga desde que se usó el monitoreo de población larval, ya que se pudo determinar el momento oportuno para hacer las aplicaciones (21).

Los virus se pueden utilizar a escala artesanal recolectando larvas enfermas del campo y guardándolas congeladas para ser utilizadas después o en la próxima temporada, asperjándolas sobre las plantas que se quieren proteger, se estima, dependiendo de la especie de la plaga y el cultivo, que son suficientes de 25 a 100 larvas grandes muertas por hectárea. Las larvas, para lograr un mejor efecto, se maceran en agua corriente y se cuelean en cedazo para aplicarlas con bombas o cualquier otro equipo de aplicación (13).

4.1.2.8 Impacto ambiental

Los baculovirus son los virus que presentan el mayor potencial para ser utilizados en el control microbiano de plagas. Esto es así por su alta especificidad hacia determinadas plagas, su alta virulencia, la protección extra que le brinda el cuerpo de inclusión, su compatibilidad con otras prácticas de control, sus buenas propiedades de almacenamiento, la facilidad de la producción, por no afectar el balance del agroecosistema y por ser inocuos para el hombre y otros animales (12).

4.2 Marco referencial

4.2.1 Descripción del área

4.2.1.1 Aspectos generales del departamento de Escuintla

El departamento de Escuintla está en el sur de Guatemala. Está limitado al sur por el Océano Pacífico; al oeste por el departamento de Suchitepéquez; al norte por los departamentos de Chimaltenango y Sacatepéquez y al este por el departamento de Santa Rosa (29).

Las industrias que se desarrollan en la región generan importantes fuentes de trabajo para la población de la zona. Las más importantes son los ingenios azucareros, fábricas de aceite, destilerías, refinerías de petróleo, agroquímicos, camaronicultura, procesadoras de pescado y obtención de sal marina (29).

La agricultura representa la actividad más importante del departamento de Escuintla. Las características de génesis y fertilidad de los suelos, las condiciones del clima, las técnicas de explotación y los cultivos escogidos, favorecen el desarrollo de esta actividad. Los cultivos más destacados son la caña de azúcar, el algodón, la soya, ajonjolí, hule, maíz, banano, la palma de aceite o africana, los frutales y los pastos, frutas y hortalizas varias; considerados base de la economía y alimentación regional nacional (29).

La ganadería en sus líneas de leche, cría, levante y engorde, constituye también un factor muy importante para el desarrollo de la región, dentro de las especies de pastos observadas, sobresalen el *Panicum maximun Paspalum sp. Hyparrhenia ruffa* (29).

El tipo de explotación de las ganaderías es bastante complejo, se observa en algunas áreas explotaciones intensivas con un adecuado manejo tecnológico, mientras que en otras áreas predominan las explotaciones extensivas y semiextensivas (29).

4.2.1.2. Aspectos propios de la zona, donde se encuentran los laboratorios de control biológico del Ingenio La Unión

La finca Belén, comprende un área de 478.23 hectáreas, situada a 14° 11" latitud norte, 90° 53" longitud oeste, y 146 msnm, la precipitación pluvial es de 2,469 mm al año y la temperatura media anual es de 25° C (20) Figura 8A.

De acuerdo a las características anteriormente mencionadas, la finca está situada en la zona de vida denominada Bosque húmedo subtropical (cálido) bhst (c) (29).

La serie de suelos en la cual se encuentra ubicada la finca Belén tiene como característica de ser suelos profundos sobre materiales volcánicos mezclado, específicamente en la finca se encuentra la serie de suelos Torolita (29).

Los suelos de esta finca se encuentran taxonómicamente agrupados dentro del orden de los Andisoles, que ocupan el 26 % del área cultivada con caña y se encuentran en el cuerpo y ápice de los abanicos de la cadena montañosa, su origen es de cenizas volcánicas. El relieve es ligero a fuertemente ondulado en las partes altas y ligeramente inclinado en el cuerpo de los abanicos. Son suelos poco evolucionados de color muy oscuro, con altos contenidos de materia orgánica, de baja densidad aparente, consistencia friable a suelta, desarrollados principalmente sobre suelos amorfos. Reacción ácida a ligeramente ácida y de alta capacidad de retención de fósforo. Textura franca y franca arenosa. Siendo la especie en donde se encuentra la finca Belén *Typic hapludans* (9).

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de aplicación de concentraciones crecientes del Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), y su potencial para incorporarlo al manejo integrado de barrenadores *D. saccharalis* y *D. crambidoides*, en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.).

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 5.2.1 Cuantificar la mortalidad de larvas del segundo instar de *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides* con diferentes concentraciones de VPN
- 5.2.2 Determinar la concentración letal 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀), del entomopatógeno VPN para las especies hospedantes de *D. saccharalis* y *D. crambidoides*.
- 5.2.3 Determinar el tiempo letal 50 (TL₅₀) y 90 (TL₉₀), del entomopatógeno VPN a partir de las mortalidades, para cada concentración.

6. HIPÓTESIS

Al incrementar la concentración del virus de la poliedrosis nuclear VPN, sobre la dieta de las larvas hospedantes, se incrementará el porcentaje de mortalidad de las dos especies de barrenador *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides* del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.)

7. METODOLOGÍA

7.1 Diseño experimental

El estudio consistió en un bioensayo de laboratorio, en el cual se evaluaron siete concentraciones de VPN ULTRA en dos especies de barrenador de la caña.

Se realizó un experimento bifactorial (7 X 2), con diseño completamente al azar y arreglo combinatorio.

Los factores evaluados fueron:

A= Concentraciones
B= Especies de barrenador

Modelo estadístico

El modelo estadístico empleado para el análisis de las variables fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ij}.$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta medida en la j-ésima unidad experimental.

μ = Media general de las variables de respuesta.

α_i = Efecto de la i-ésima concentración virus.

β_j = Efecto de la j-ésima especie de barrenador.

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción entre la i-ésima concentración y la j-ésima especie de barrenador.

ϵ_{ij} = Error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental. (27).

7.1.1 Unidad experimental

La unidad experimental estuvo constituida por 12 larvas, a las cuales se le aplicó cada concentración, éstas estaban colocadas en cajitas de polipropileno transparentes, de 6 cm de diámetro y 2 cm de alto, dentro de la cual se colocó en forma individual una larva, las cajitas fueron previamente esterilizadas con el autoclave a 105°C durante 30 minutos.

7.1.2 Tratamientos

Los tratamientos evaluados se definieron de la combinación de las siete concentraciones definidas a partir de la recomendación comercial del producto, luego ésta, se incrementó cinco veces la dosis en concentración creciente, de VPN ULTRA de igual manera se redujo cinco veces la dosis en cada concentración decreciente; a continuación el detalle de los tratamientos en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Concentraciones de virus de la poliedrosis nuclear VPN evaluadas en dos especies de barrenador *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides*, del cultivo de caña de azúcar *Saccharum* spp. en el laboratorio de control biológico del Ingenio La Unión.

| Concentración \ Especie | <i>Diatraea saccharalis</i> E1 | <i>D. crambidoides</i> E2 |
|-------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| 4×10^3 cp/ml = C1 | C1E1 | C1E2 |
| 2×10^4 cp/ml = C2 | C2E1 | C2E2 |
| 1×10^5 cp/ml = C3 | C3E1 | C3E2 |
| 5×10^5 cp/ml = C4 | C4E1 | C4E2 |
| 2.5×10^6 cp/ml = C5 | C5E1 | C5E2 |
| 1.25×10^7 cp/ml = C6 | C6E1 | C6E2 |
| 6.25×10^7 cp/ml = C7 | C7E1 | C7E2 |

C = Concentración CP = Cuerpos poliédricos E = Especie de *Diatraea*

Los tratamientos se establecieron en cajitas de polipropileno y se separaron de acuerdo a cada una de las concentraciones evaluadas. La concentración 4 corresponde a la

recomendada por Agrícola el Sol, quien es el fabricante del material que se evaluó y es considerada como un testigo de referencia, ya que estudios del fabricante así lo recomiendan para uso en campo en cultivos como cucurbitáceas.

7.2 Manejo del experimento

Para la implementación de este experimento se realizaron los siguientes pasos:

7.2.1 Selección de larvas de las especies de *Diatraea*

Con base en la cría del laboratorio de producción de parasitoides del laboratorio de control biológico del ingenio La Unión, se seleccionaron 336 larvas de *D. saccharalis* y 336 larvas *D. crambidoides* de segundo instar. Esta clasificación se realizó en función de estudios previos realizados, los cuales determinaron que esta fase se encuentra alrededor de los días 13 – 16 a partir de que emergieron de la fase de huevo y hace referencia al tamaño de la cápsula cefálica. Así mismo se seleccionaron larvas de similar tamaño, esto con el objeto de que fuesen de un tamaño uniforme.

7.2.2 Asignación de tratamientos a unidades experimentales

Previo a la desinfección de las cajas, con el objeto de que no existiese ninguna confusión entre tratamientos se procedió a etiquetar cada unidad experimental de acuerdo al esquema antes citado: C1E1R1(1...12).....R4.

C1 = Concentración 1
E1 = Especie 1
R1 = Repetición 1
(1...12). = Unidad experimental

Figura 9 "A".

Esto permitió establecer un orden en cuanto a la aplicación de cada uno de los tratamientos.

7.2.3 Calibración de concentraciones de VPN

Para cada uno de los tratamientos establecidos se utilizó un Erlenmeyer debidamente esterilizado, en el cual se adicionó la cantidad de VPN ULTRA para la concentración requerida, establecida para cada tratamiento en el Cuadro 1, más 100 cc de agua esterilizada, se agitó por 5 minutos y durante la inoculación de la dieta. Figura 10 "A".

7.2.4 Colocación de dietas y larvas en unidades experimentales

En cada una de las unidades experimentales, se colocó un trozo de la dieta que se utiliza para crecimiento de las larvas en la producción de parasitoides de forma individual. Así mismo se colocó la larva de acuerdo al diseño estadístico antes descrito y de acuerdo al esquema de rotulación. Figura 11 "A".

7.2.5 Inoculación de tratamientos

La dieta se inoculó con una micropipeta manual Eppendorf. Figura 12 "A", con el objeto de que la inoculación de los ml de la solución fuese precisa y exacta, e inmediatamente se colocó la dieta en la cajita, para que la larva se alimentara de ella.

Posteriormente se taparon las cajitas y se colocaron de acuerdo a la concentración y repetición a evaluar, en una estantería del laboratorio de control biológico del ingenio La Unión, Figura 13 "A".

7.3 Variables evaluadas

Estas variables se cuantificaron, para determinar la patogenicidad del virus a diferentes concentraciones y sobre cada una de las especies de *Diatraea*.

7.3.1 Mortalidad

Esta se determinó, a través de la revisión diaria de cada una de las unidades experimentales. Al determinar una larva muerta, se colocó en otra caja donde se anotó la fecha de la muerte. Posteriormente se volvió a revisar los especímenes muertos y se confirmaron las larvas con presencia de virus, con la ayuda de un estereomicroscopio. Figura 14 "A". La mortalidad confirmada se estableció a través de la observación de la parte interna de la larva desintegrada o licuada, desecación así como una consistencia flácida y una coloración cremosa. A partir de que se confirmó se anotó la información en la boleta de mortalidades confirmadas; Cuadro 2 "A". Con esta información se estimó la mortalidad acumulada.

7.3.2 Determinación de la concentración letal 50 y 90 (CL50 y CL90) para *Diatraea*

Para el cálculo de la concentración letal 50 y 90 se utilizó el procedimiento para el análisis Probit, el cual se determinó a partir de los valores obtenidos de la información registrada en el cuadro 2 "A". Con esta información se tomó la cantidad de individuos muertos para cada concentración evaluada y especie, a partir de estos valores y de las concentraciones evaluadas, se procedió a realizar un análisis de regresión con los valores de las concentraciones utilizadas y los porcentajes de mortalidad transformados en valores probit, según metodología descrita por Lagunes, Tejeda (1,997) en métodos para la

determinación de resistencia en las principales plagas agrícolas en México (21), las concentraciones se transformaron en el valor de su logaritmo y los valores de porcentaje se transformaron en valores Probit, para lo cual se utilizó la tabla de transformación de valores Probit. Cuadro 4 "A". Con estos valores se realizó la gráfica en la cual se determinó la ecuación de regresión lineal, con la cual se procedió a sustituir los valores probit del 50 y 90 por ciento de mortalidad, este resultado de la ecuación se le aplicó el antilogaritmo, con el cual se obtuvo las concentraciones respectivas CL_{50} y CL_{90} para cada una de las especies de *Diatraea* evaluadas.

7.3.3 Determinación del tiempo letal 50 y 90 (TL_{50} y TL_{90})

A partir del registro diario de mortalidad, se determinó el tiempo letal del 50 y 90 para ambas especies. Esto se hizo a partir de la información registrada, Cuadro 2 "A". Para cada uno de los tratamientos que superaron el 50 % de individuos muertos confirmados. Con esta información se procedió a realizar la gráfica respectiva, a partir de los valores del porcentaje de mortalidad acumulada, dichos valores se transformaron en valores probit, para posteriormente graficar y determinar la ecuación, para posteriormente sustituir en la ecuación el valor 50 y 90 por ciento.

7.3.4 Análisis económico

Para el análisis económico se procedió a hacer una comparación entre el costo de control de las diferentes prácticas que se realizan en la industria para una hectárea de cultivo. Las prácticas de control que se compararon fueron la producción de parasitoides utilizando moscas taquínidas, y la producción en laboratorio de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), que estadísticamente fue mejor entre las concentraciones evaluadas.

7.3.5 Análisis de la información

Para el porcentaje de mortalidad acumulada se hizo un análisis de varianza (ANDEVA), y la comparación de medias TUKEY al 95 %. Previo a realizarse el ANDEVA se hizo una transformación de valores, utilizando para ello la función de Arcsen $\sqrt{x + 0.5}$.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Porcentaje de mortalidad

De acuerdo al análisis de varianza, hubo diferencia significativa para la variable concentración. (Cuadro 5). Por tal motivo, se realizó la prueba de comparación de medias (TUKEY), al 5 % de probabilidad en la cual las concentraciones con igual literal son estadísticamente similares y pertenecen a una misma categoría estadística (Cuadro 6). En el apéndice Figura 15 A se muestra el detalle del programa SAS utilizado para el análisis de las variables.

El análisis de varianza de mortalidad, no mostró diferencia significativa entre las especies evaluadas, por lo que las dos especies de *Diatraea* son susceptibles al virus de la poliedrosis nuclear, así mismo la falta de significancia en la interacción concentración por especie, indica que estadísticamente es igual la mortalidad de las dos especies a diferentes concentraciones evaluadas (Cuadro 6).

Cuadro 5. Análisis de varianza para, el porcentaje de mortalidad acumulado de larvas de barrenador *Diatraea* spp. Laboratorio de control biológico de ingenio La Unión.

| F.V | G.L. | S.C. | C.M. | F. C. | Prob > F |
|---------------|------|----------|----------|--------|----------|
| Concentración | 6 | 62573.62 | 10428.94 | 108.35 | 0.0001 |
| Especie | 1 | 154.98 | 154.98 | 1.61 | 0.2115 |
| Conc. X Esp. | 6 | 379.95 | 63.33 | 0.66 | 0.6837 |
| Error Exp. | 42 | 4042.53 | 96.25 | | |
| TOTAL | 55 | 67151.08 | 10743.5 | | |

C.V.(%) 19.63

Promedio: 49.98 %

Los valores de mortalidad para cada tratamiento se muestran en el apéndice Cuadro 3 A en este se puede observar la tendencia creciente de mortalidad a medida que se incremento la concentración.

Así mismo se observa en el Cuadro 6 que a partir de la concentración número 5 no existe diferencia significativa en las mortalidades .

Cuadro 6. Resumen de la prueba de comparación de medias (Tukey al 95 %), para porcentaje de mortalidad de larvas de *Diatraea* spp. Laboratorio de control biológico de ingenio La Unión, diciembre 2,004.

| Concentración | Cuerpos Poliedricos/ml | % de mortalidad Transformados | Comparación de Medias Tukey al 95 % |
|-------------------|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| C7 | 6.25×10^7 cp/ml | 90 | A |
| C6 | 1.25×10^7 cp/ml | 85.805 | A |
| C5 | 2.5×10^6 cp/ml | 81.61 | A |
| C4 Fabricante. | 5×10^5 cp/ml | 50.528 | B |
| C3 | 1×10^5 cp/ml | 17.205 | C |
| C2 | 2×10^4 cp/ml | 16.335 | C |
| C1 | 4×10^3 cp/ml | 8.39 | C |

C = Concentración cp = Cuerpos poliédricos

La curva de mortalidad para ambas especies, de acuerdo a los valores de mortalidad presentados en el cuadro 6, permite observar que hay diferentes niveles de mortalidad entre las concentraciones de virus evaluadas, la cual se acentúa en las concentraciones más altas ver figura 16 y cuadro 3 "A". Dichos valores concuerdan con los obtenidos en Brasil por Macedo, Botelho y Pavan en los cuales demostraron que a medida que se incrementa la concentración del virus, la mortalidad de la misma forma aumenta.

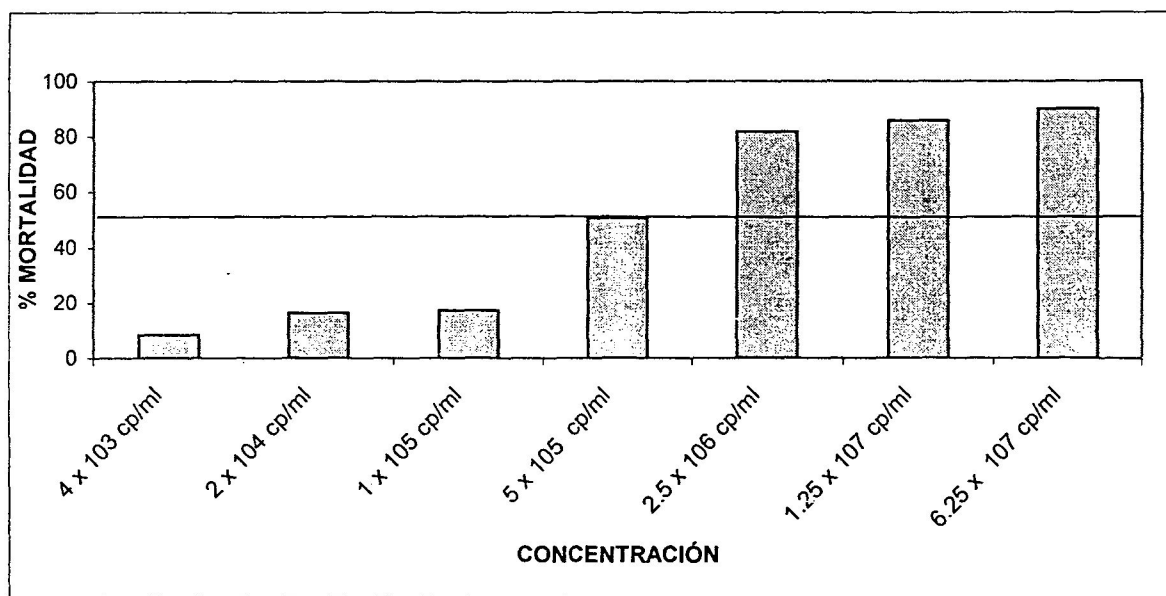


Figura 16. Porcentaje de mortalidad de larvas de *Diatraea* spp. por siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear). Laboratorio de control biológico del ingenio La Unión, diciembre 2,004.

8.2 Determinación de la concentración letal 50 y 90 (CL_{50} y CL_{90}) a partir de la mortalidad

A partir de los datos de mortalidad, se transformaron dichos valores porcentuales utilizando para ello la función de Arcsen $\sqrt{x + 0.5}$. Posteriormente los valores de las concentraciones utilizadas se transformaron en valores logarítmicos y los porcentajes de mortalidad transformados se convirtieron en valores probit, para lo cual se utilizó la tabla de transformación de valores Probit (Cuadro 4 "A" (21)). Con estos valores se elaboró la gráfica, a la cual se le determinó la ecuación de regresión lineal simple ver figura 17.

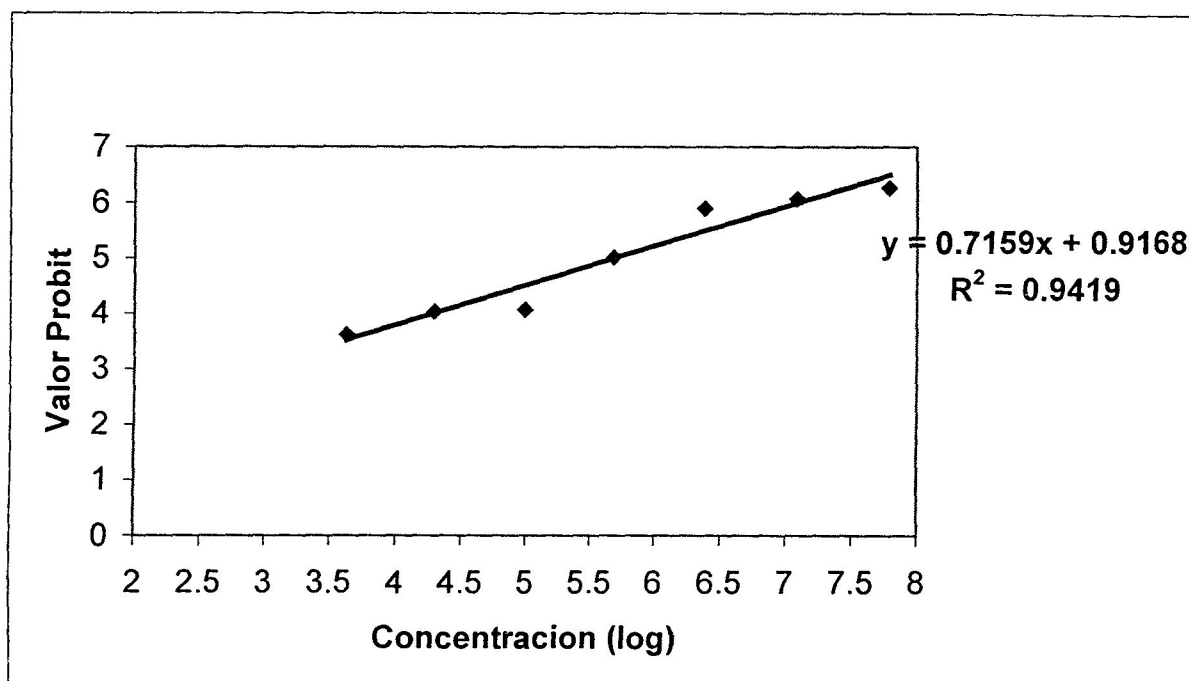


Figura 17. Ecuación de regresión lineal simple de valores Probit y del logaritmo de las siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) evaluadas en larvas de *Diatraea* spp, en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión.

Con la ecuación de regresión lineal simple, se procedió a sustituir los valores probit del 50 y 90 por ciento de mortalidad (5 y 6.28 respectivamente) ver (cuadro 4 A (21)), en la ecuación siguiente:

$$Y = 0.7159(x) + 0.9168$$

Donde:

Y = Probit

X = Concentración en \log_{10}

Para determinar el valor de la (CL₅₀ y CL₉₀) se despeja la ecuación siguiente

$$X = \frac{Y - 0.9168}{0.7159}$$

antilog X = Concentración Letal

En el cuadro 7, se muestran los valores de CL_{50} y CL_{90} para las larvas de *Diatraea* spp. Estos valores muestran que con la concentración 5.05×10^5 cp/ml se obtiene la muerte del 50 por ciento de la población de larvas sometidas a la evaluación, y con la concentración de 3.09×10^7 cp/ml se logra el 90 por ciento de mortalidad de las larvas.

Cuadro 7. Resumen de la concentración letal 50 y 90 (CL_{50} y CL_{90}), para las concentraciones evaluadas de VPN en larvas de *Diatraea* spp.

| Concentración Cuerpos Poliedricos/ml | Gramos de producto Comercial | CL_{50} | CL_{90} | % de mortalidad Transformada |
|--|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 4×10^3 cp/ml | 0.034 g + 100 cc H ₂ O | | | 8.39 |
| 2×10^4 cp/ml | 0.17 g + 100 cc H ₂ O | | | 16.335 |
| 1×10^5 cp/ml | 0.83 g + 100 cc H ₂ O | | | 17.205 |
| 5×10^5 cp/ml | 4.17 g + 100 cc H ₂ O | 5.05×10^5 cp/ml | | 50.528 |
| 2.5×10^6 cp/ml | 20.84 g + 100 cc H ₂ O | | | 81.61 |
| 1.25×10^7 cp/ml | 104.2 g + 100 cc H ₂ O | | | 85.805 |
| 6.25×10^7 cp/ml | 521 g + 100 cc H ₂ O | | 3.09×10^7 cp/ml | 90 |

De acuerdo a los valores obtenidos se puede decir que las dos especies de *Diatraea*, son igualmente susceptibles al virus de la poliedrosis nuclear, como lo mostró el análisis de varianza Cuadro 5. Así mismo, se determinó que no existe interacción entre especies por concentración, debido que las concentraciones evaluadas dieron la misma respuesta en las dos especies bajo estudio. Por esta razón la concentración letal 50 y 90 (CL_{50} y CL_{90}), es la misma para ambas especies, sugiriendo que la concentración utilizada de forma

comercial sea la obtenida en la CL₉₀, 3.09×10^7 cp/ml equivalente a 257.58 g de producto comercial VPN ULTRA en 100 cc de agua.

En el cuadro 8, se muestran los valores de CL₅₀ y CL₉₀ para *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides* y en las figura 18 "A" y figura 19 "A", las respectivas ecuaciones de donde se sustituyeron los valores, y se obtuvo tales concentraciones letales.

Cuadro 8. Resumen de la concentración letal 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀), para las concentraciones evaluadas de VPN en larvas de *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides*.

| Especie | CL ₅₀ | CL ₉₀ |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <i>Diatraea saccharalis</i> | 1.86×10^5 cp/ml | 1.83×10^6 cp/ml |
| <i>D. crambidoides</i> | 2.49×10^5 cp/ml | 2.62×10^6 cp/ml |

8.3 Determinación del tiempo letal 50 y 90 (TL₅₀ y TL₉₀)

Para la determinación del tiempo letal 50 y 90 (TL₅₀ y TL₉₀) se procedió a plotear la gráfica únicamente con los valores de las concentraciones que sobrepasaron el porcentaje de mortalidad del 50 por ciento de la población de larvas, como se muestra en la Figura 20.

Estos valores se obtuvieron a partir de las mortalidades para cada concentración evaluada y en cada una de las especies, el tiempo letal 50 y 90 (TL₅₀ y TL₉₀), se define como el número de días necesarios para que muera el 50 y 90 por ciento de la población de larvas evaluadas para cada concentración.

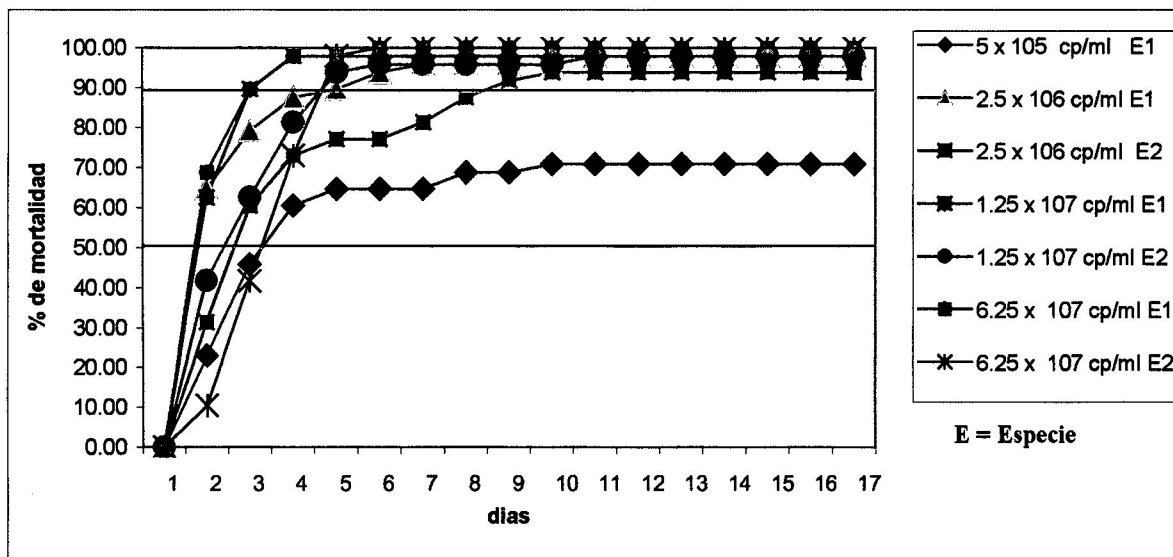


Figura 20. Tiempo letal 50 y 90 (TL_{50} y TL_{90}) observado en larvas de *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides* en siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión.

En forma individual se transformaron los porcentajes de mortalidad en valores probit, para lo cual se utilizó la tabla de transformación de valores Probit, (Cuadro "4" A (21), los cuales se graficaron y determinó la ecuación de regresión, para sustituir el valor 50 y 90 de probit (5 y 6.28 respectivamente), y obtener los días exactos en los cuales se obtiene la mortalidad antes descrita, (cuadro 9).

Estadísticamente no existe diferencia significativa entre especies, lo cual se valida con los datos en el cuadro 9, los cuales corresponden a un mismo intervalo, los resultados son los siguientes: *Diatraea saccharalis* el 50 por ciento de la población de larvas murió entre el día 1 y el 4.8, mientras que la especie de *D. crambidoides* se registro que este valor se encuentra entre los días 1.71 y el día 3.97. Con respecto al TL_{90} se observó que *D. saccharalis* murió entre el día 2.25 y el día 4.99, mientras que *D. crambidoides* se registro entre el día 3.02 y el 5.49.

Cuadro 9. Resumen del tiempo letal 50 y 90 (TL₅₀ y TL₉₀), para las concentraciones evaluadas de VPN en larvas de *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides* en el laboratorio de control biológico de ingenio La Unión, diciembre 2,004.

| Cuerpos Poliedricos/ml | TL ₅₀ (días) | TL ₉₀ (días) |
|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 5 x 10 ⁵ cp/ml E1 | 4.8 | - |
| 2.5 x 10 ⁶ cp/ml E1 | 3.4 | 4.99 |
| 2.5 x 10 ⁶ cp/ml E2 | 3.97 | 5.49 |
| 1.25 x 10 ⁷ cp/ml E1 | 2.69 | 3.48 |
| 1.25 x 10 ⁷ cp/ml E2 | 3.51 | 4.94 |
| 6.25 x 10 ⁷ cp/ml E1 | 0.89 | 2.25 |
| 6.25 x 10 ⁷ cp/ml E2 | 1.71 | 3.02 |

De acuerdo a los valores obtenidos de concentración letal 90 (CL₉₀), se sugiere que las dos especies de *Diatraea*, alcanzan el tiempo letal 90 (TL₉₀) alrededor del tercer día.

8.4 Análisis económico

Para el análisis económico de la aplicación del Virus de la Poliedrosis Nuclear VPN se comparó el costo de producción de moscas taquínidas para una hectárea, con el costo de producción para una hectárea, de una dosis con la concentración 90 (CL₉₀) de VPN. determinada en la evaluación, en el laboratorio de ingenio La Union. Para lo cual se utilizó la concentración 90 (CL₉₀) de *Diatraea* spp de 3.09 x 10⁷ cp/ml.

De acuerdo a Macedo, Botelho y Pavan (23), cada larva infectada tiene en promedio 1 x 10⁹ cuerpos poliédricos de virus, entonces la cantidad de larvas necesarias para producir una dosis se obtiene de dividir este valor entre 3.09 x 10⁷ cp de VPN, entonces se debería aplicar 32.36 larvas preparadas del producto por hectárea.

Para la comparación de los costos de producción en laboratorio de VPN, así como de moscas taquínidas para una hectárea, es necesario considerar los siguientes valores e insumos, los que se presentan en el cuadro 10.

Cuadro 10. Costos, insumos y unidades utilizadas para la producción de biocontroladores de *Diatraea* spp. laboratorio ingenio La Union (20).

| INSUMO | VALOR Q/Unidad | UNIDADES / ha |
|--|-------------------|----------------------|
| Mano de obra (jornal) | 55 | Variable |
| Costo Prod. Mosca <i>Lydelia mynense</i> | 2.31 | 300 moscas |
| Costo VPN Laboratorio dosis | 0.25 | 32 larvas infectadas |

Con estos valores se compara el costo de producción de cada biocontrolador para una hectárea de cultivo de caña de azúcar, para el control de *Diatraea* spp.

En el cuadro 11, se observa que el costo de Producción de VPN es Q 214.4 más barato que la producción de parasitoides (moscas taquínidas), esto debido a la ventaja de poder producirlo en el laboratorio del Ingenio.

Esta ventaja comparativa del costo de producción en el laboratorio, permite fácilmente incluir el VPN, como una alternativa más de apoyo al programa de manejo integrado de barrenadores del ingenio, permitiendo en un futuro, junto a las labores culturales y liberación de parasitoides reducir las poblaciones de *Diatraea* spp. en los campos de cultivo de caña de azúcar *Saccharum* spp.

Cuadro 11. Costos de Producción de biocontroladores de *Diatraea* spp. para una hectárea de cultivo de caña de azúcar *Saccharum* spp. laboratorio Ingenio La Union (20).

| Actividades e insumos | Unidades/ha | Costo Q. Producción de Parasitoides | Costo Q. Producción de VPN |
|--------------------------------|--------------------|--|---|
| Mano de obra | | 2.3 | 2.6 |
| Costo insumos Moscas | 100 moscas | 231 | |
| Costo insumos VPN Laboratorio. | 32 larvas | | 16.0 |
| Costo Total Q | | 233.3 | 18.6 |
| Diferencia Vrs. VPN | | | 214.4 |

9. CONCLUSIONES

- 9.1 Las especies *Diatraea saccharalis*, y *D. crambidoides*, no mostraron respuestas diferenciales en mortalidad, ambas tuvieron mortalidades crecientes de igual magnitud con el incremento de la concentración, El Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), mostró igual patogenicidad sobre las dos especies de barrenador *Diatraea saccharalis*, y *D. crambidoides* del cultivo de la caña de azúcar *Saccharum* spp.
- 9.2 La concentración letal 50 y 90 (CL_{50} y CL_{90}), para *Diatraea saccharalis* fue de 1.86×10^5 cp/ml y 1.83×10^6 cp/ml respectivamente, para *Diatraea crambidoides* estos valores fueron: 2.49×10^5 cp/ml y 2.62×10^6 cp/ml, respectivamente.
- 9.3 La concentración letal 50 y 90 (CL_{50} y CL_{90}), para *Diatraea* spp. fue 5.05×10^5 cp/ml y 3.09×10^7 cp/ml respectivamente, equivalente a 4.17 y 257.58 g respectivamente de producto comercial VPN ULTRA en 100 cc de agua. Debido a que no hubo diferencia en la mortalidad en ambas especies.
- 9.4 El tiempo letal 50 (TL_{50}), para la especie *Diatraea saccharalis* fue variable, con un mínimo de 1 día y un máximo de 4.8 días, para *D. crambidoides* un mínimo de 1.71 días y un máximo de 3.97 días. Para tiempo letal 90 (TL_{90}) para *D. saccharalis* un mínimo de 2.25 días y un máximo de 4.99 días, para el caso de *D. crambidoides* un mínimo de 3.02 y un máximo de 5.49 días.
- 9.5 A partir de la concentración 2.5×10^6 cp/ml, no existe diferencia estadística al incrementar la concentración en las dos especies de *Diatraea saccharalis* y *D. crambidoides*.

10. RECOMENDACIONES

10.1 Debido a la importancia de la presente investigación y que los resultados corresponden a una evaluación de laboratorio, se recomienda hacer una evaluación en campo.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Araujo, JR; Araujo, SM; Botelho, PS; Degaspari, N. 1982. Biología de *Diatraea saccharalis* en condiciones de campo. *Azucareiro* 2:31-33.
2. AZASGUA (Asociación de Azucareros de Guatemala, GT). 2004. Reportes semanales avances zafra 03/04. Guatemala. 10 p.
3. Badilla, F; Alfaro, D. 1994. Metodología de liberación y cuantificación del parasitismo producido por *Cotesia flavipes*. In Simposio sobre manejo integrado de plagas de la caña de azúcar en Costa Rica (1., 1994, Costa Rica). Resúmenes. San José, Costa Rica, IICA. p. 6.
4. Badilla, F; Solís, AI; Alfaro, D. 1991. Control biológico del taladrador de la caña de azúcar, *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae), en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 20-21:39-44.
5. Botelho, PSM; Macedo, N; Mendes, AC; Silveira Neto, S. 1980. Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron), and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabricius). In Congress, ISSCR (17., 1980, Philippines). Proceedings. Philippines, ISSCT. v.2, p. 1,736-1745.
6. CAB Internacional, UK. 1984. Identificación de plagas de la caña de azúcar a solicitud del ingenio Pantaleón; reporte del Commonwealth Institute of Entomology. United Kingdom. (Correspondencia personal).
7. CAÑAMIP (Comité de Manejo Integrado de Plagas en la Caña de Azúcar, GT). 2000. Manejo integrado de barrenadores en caña de azúcar. Guatemala, CENGICAÑA. 26 p.
8. Carrillo, E. 1996. Evaluación de tácticas de control; racionalización de insecticidas para el control de plagas del suelo. Sta. Lucía Cotzumalguapa, Guatemala, CENGICAÑA. 12 p.
9. Carrillo, E. 1998. Identification services report. United Kingdom, International Institute of Entomology. 70 p.
10. CENGICAÑA (Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, GT). 1996. Estudio semidetallado de suelos de la zona cañera del sur de Guatemala. Guatemala. 215 p.
11. CENGICAÑA (Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar, GT). 2003. Informe anual 2002-2003. Guatemala. 75 p.

12. Charpentier, LJ; Gifford, JR; Summers, TE; Jackson, RD. 1971. Biological control of sugarcane insects in continental United States; a historical review. *In* Congress of the International Society of Sugarcane Technologists (14., 1971, Louisiana). Proceedings. New Orleans, Louisiana, US. p. 466-475.
13. De Bach, P. 1987. Control biológico de las plagas de insectos y las malas hierbas. México, Continental. p. 249-281.
14. Estrada Hurtarte, RE. 1991. Control biológico de plagas. *In* Seminario sobre manejo y uso de plaguicidas en actividades agrícolas. Guatemala, AGMIP / COGAAT. p. 50-200.
15. Flores Cáceres, S. 1994. Las plagas de la caña de azúcar en México. Córdoba, Veracruz, México, OREAL. 350 p.
16. Gaviria, J. 1973. Importancia del control biológico del gusano barrenador de la caña de azúcar *Diatraea saccharalis* Fabr; exposición sustentada en el primer congreso de la sociedad colombiana de entomología. Bogotá, Colombia, Sociedad Colombiana de Entomología. p. 12.
17. Gaviria, J. 1999. Informes técnicos de asesoría en el manejo integrado de plagas, 1999. Guatemala, Organización Pantaleón / Concepción. 20 p.
18. Gómez, L; Lastra, LA. 1995. Los barrenadores de la caña de azúcar, su manejo y control. Colombia, CENGICANA. 4 p. (Serie Divulgativa no. 6).
19. Guagliumi, P. 1972. Plagas de caña-de-azúcar: nordeste do Brasil. Colecao Canavieira no. 10:622.
20. Ingenio La Union, Laboratorio de Parasitoides, GT. 2002. Informe anual. Guatemala. p. 10.
21. Lagunes Tejeda, A. 1997. Métodos para la determinación de resistencia en las principales plagas agrícolas en México. México, Colegio de Postgraduados, Centro de Entomología y Acarología. 34 p.
22. Lecuona, RE. 1997. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires, Argentina, E-Campo. 230 p.
23. Macedo, N; Botelho, PSM; Pavan, OH. 1985. Viral insecticides and insect growth regulator in *Diatraea saccharalis*, control though aerial spraying. Sao Paulo, Brazil. v. 2, p. 836-843.
24. Mathes, R; Charpentier, LJ. 1962. Some techniques and observations in studying de resistance of sugarcane varieties to the sugarcane borers in Louisiana. ISSCT 11:594-604.

25. Mendonça, AF. 1996. Distribuição de *Diatraea* spp. (Lep.: Pyralidae) e de seus principais parasitoides larvais no continente Americano. In *Pragas de cana-de-açúcar*. Ed. por AF. Mendonça. Brasil, Insetos. p. 83-121.
26. Pavan, OH; Boucias, CG; Almeida, LC; Gaspar, JO; Botelho, PSM; Degaspari, N. 1983. A granulosis virus of *Diatraea saccharalis*, pathogenicity, replication and ultrastructure. Brazil. p. 890-896.
27. Reyes, P. 1982. Diseño de experimentos aplicados. México, Trillas. 343 p.
28. Rosales, F. 2001. Determinación de nivel de daño económico para el gusano alambre (*Agriotes* spp.) en caña de azúcar (*Saccharum* spp.), finca Belén, ingenio La Unión S.A. Santa Lucia Cotzumalguapa, Escuintla. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 50 p.
29. Simmons, C; Tarano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación y reconocimiento de los suelos e la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1000 p.
30. Simposio Nacional de Plagas de la Caña de Azúcar (1996, Guatemala). Memorias. Guatemala, CENGICAÑA. p. 172.
31. Técnicas de manejo integrado de barrenadores. 2004. Santa Lucia Cotz., Escuintla, Guatemala, Ingenio La Unión. 13 p.



Dr. Bo Rolando Barros

12. APÉNDICE

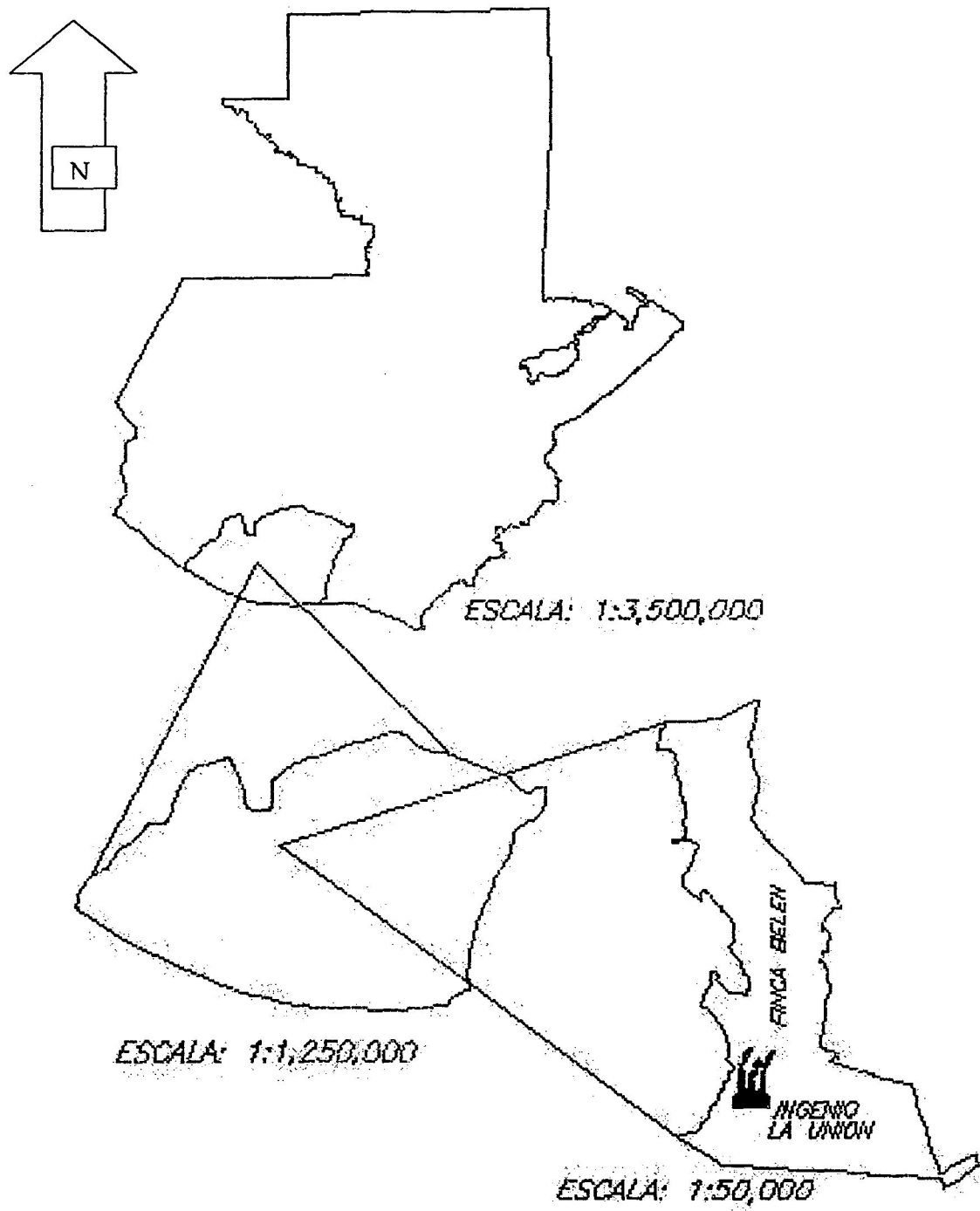


Figura 8A. Mapa de ubicación de ingenio La Unión, finca Belén.



Figura 9A. Unidades experimentales rotuladas de acuerdo a concentración evaluada (31).

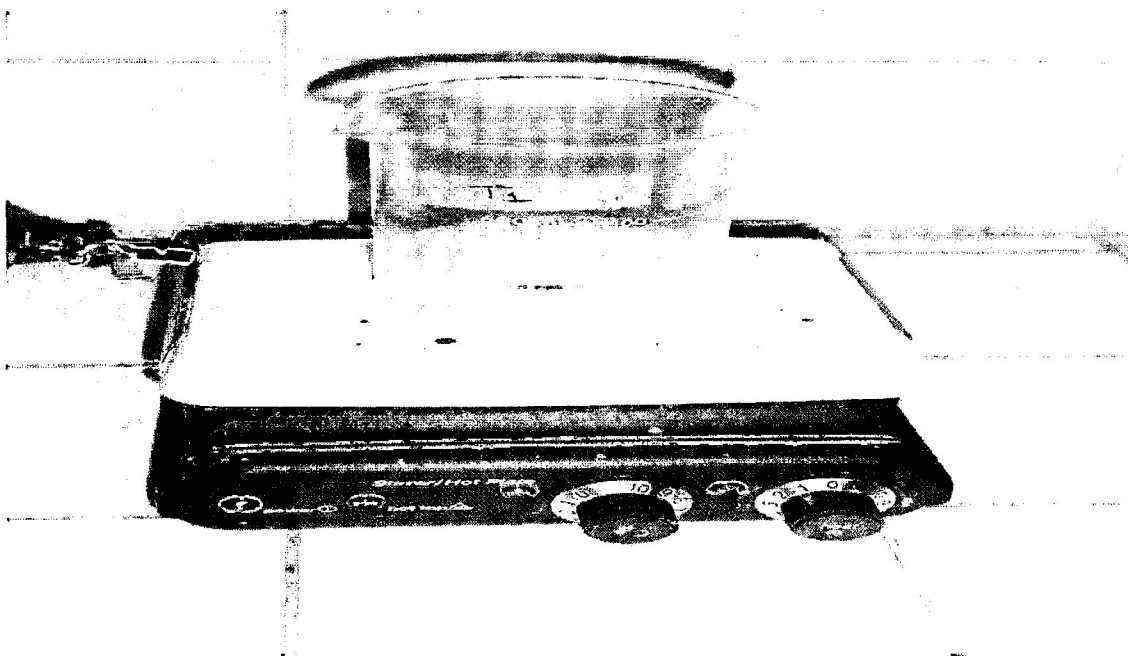


Figura 10A. Calibración y agitación de concentraciones con agitador magnético (31).

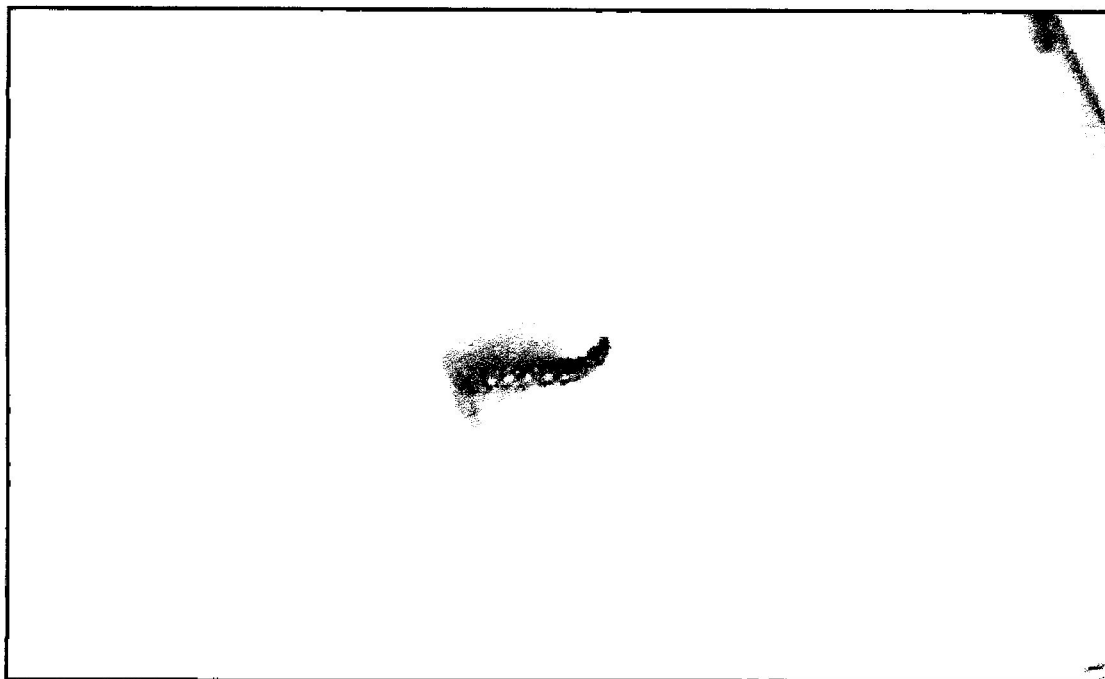


Figura 11A. Larva de *Diatraea* en unidad experimental con dieta (31).

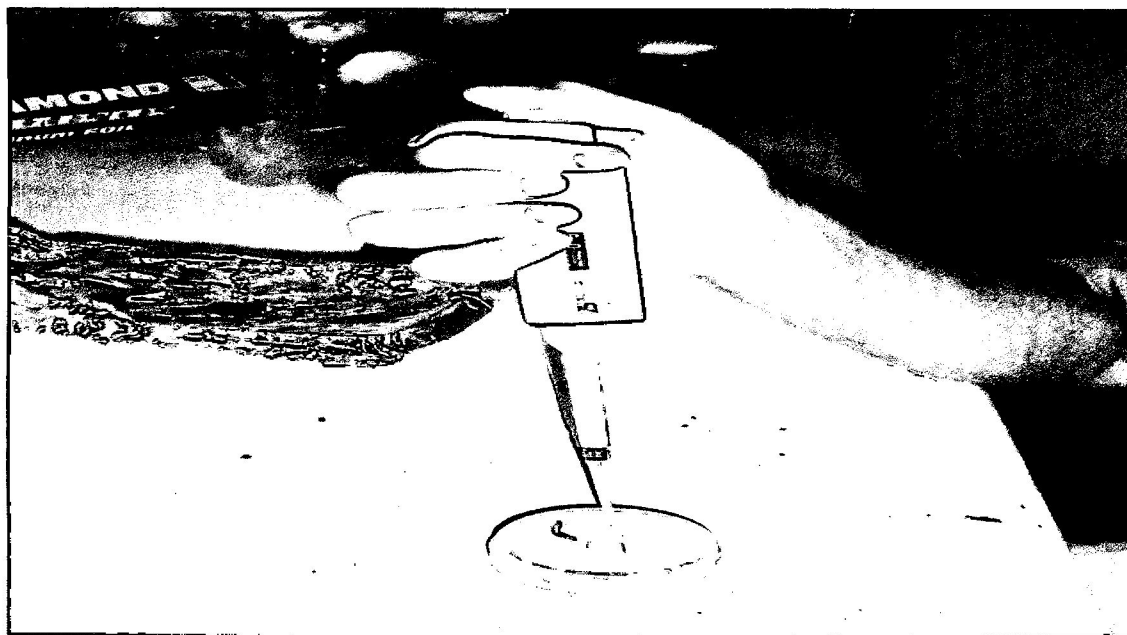


Figura 12A. Inoculación de dieta, con micropipeta Eppendorf (31).

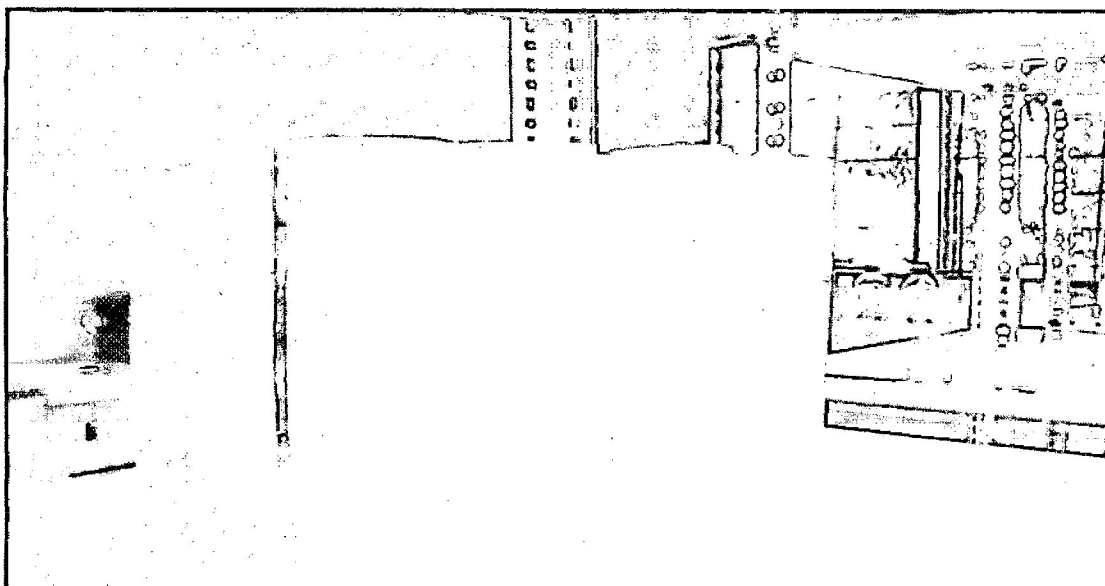


Figura 13A. Distribución de tratamientos en estanterías del laboratorio de control biológico del ingenio La Unión (31).

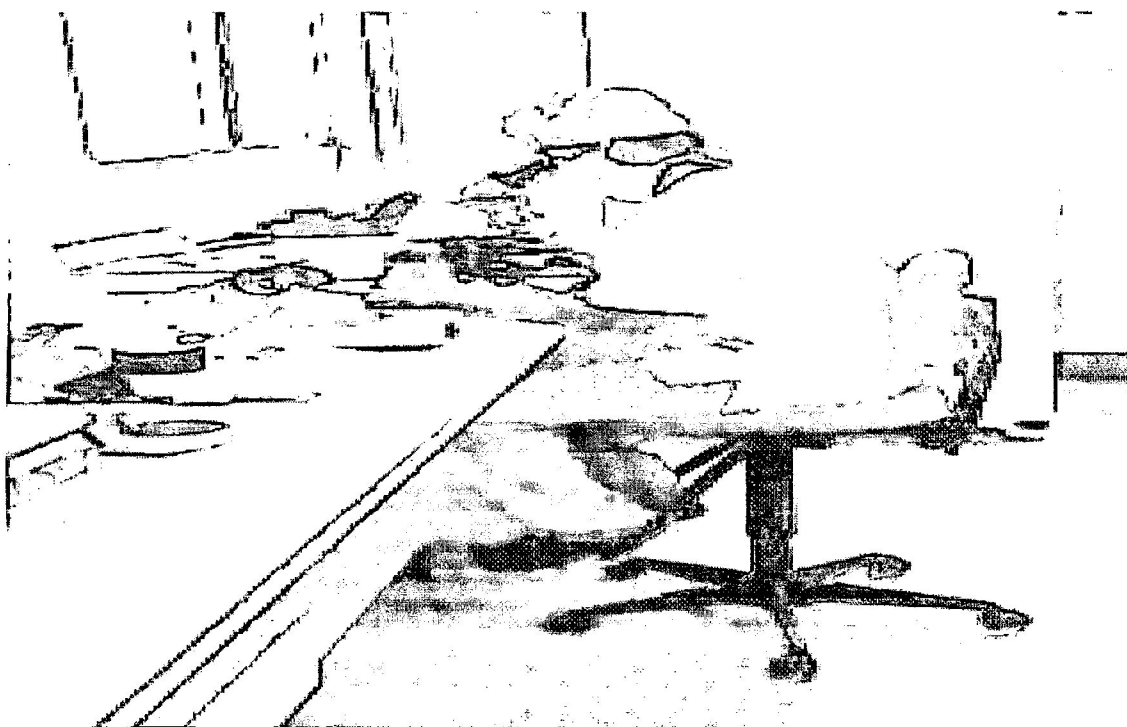


Figura 14A. Determinación de mortalidad confirmada por VPN (virus de la poliedrosis nuclear) en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión (31).

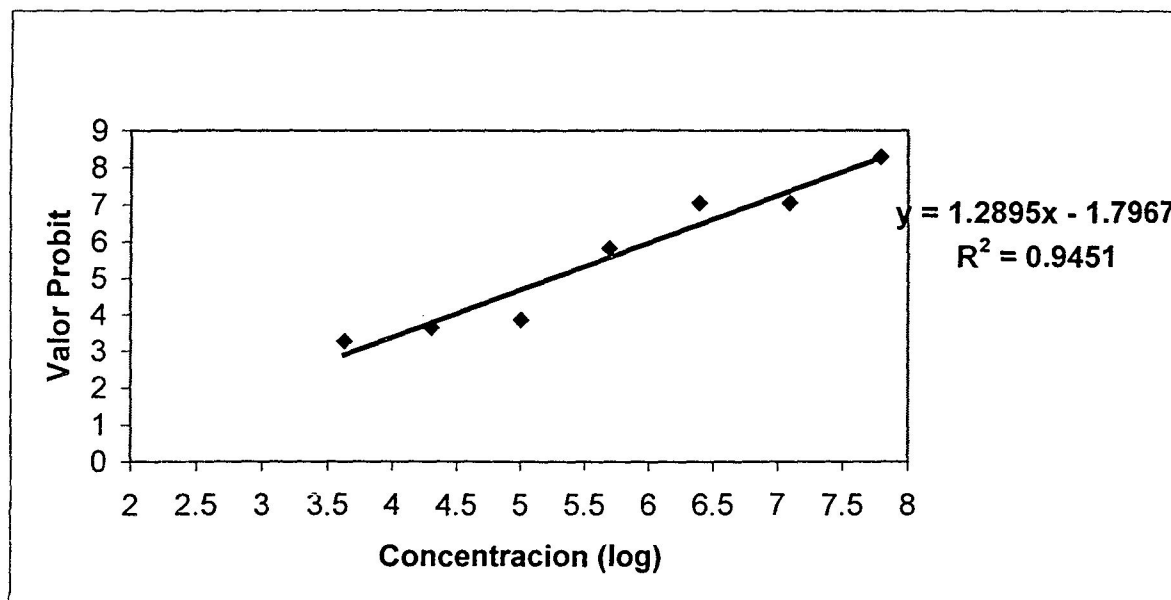


Figura 18 "A". Ecuación de regresión lineal simple de valores Probit y del logaritmo de las siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) evaluadas en larvas de *Diatraea saccharalis*, en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión.

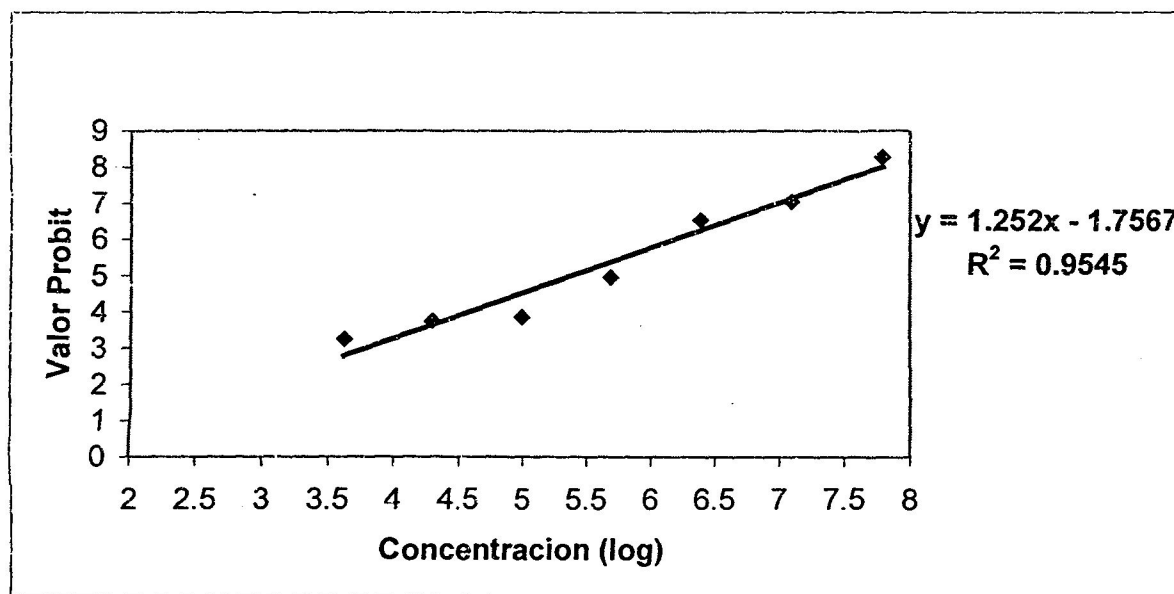


Figura 19 "A". Ecuación de regresión lineal simple de valores Probit y del logaritmo de las siete concentraciones de VPN (virus de la poliedrosis nuclear) evaluadas en larvas de *Diatraea crambidoides*, en el laboratorio de control biológico del ingenio La Unión.

Cuadro 3A. Cuadro resumen, mortalidad acumulada confirmada en evaluación de siete concentraciones de VPN en dos especies de *Diatraea*, en los laboratorios de control biológico del Ingenio La Unión, diciembre 2,004.

| % DE MORTALIDAD ACUMULADA CONFIRMADA | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| No. Dia | C1E1 | C1E2 | C2E1 | C2E2 | C3E1 | C3E2 | C4E1 | C4E2 | C5E1 | C5E2 | C6E1 | C6E2 | C7E1 | C7E2 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 68.75 | 10.42 |
| 2 | 2.08 | 0 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 0.00 | 22.92 | 8.33 | 64.58 | 31.25 | 62.50 | 41.67 | 89.58 | 41.67 |
| 3 | 2.08 | 0 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 6.25 | 45.83 | 29.17 | 79.17 | 60.42 | 89.58 | 62.50 | 97.92 | 72.92 |
| 4 | 4.17 | 0 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 10.42 | 60.42 | 33.33 | 87.50 | 72.92 | 97.92 | 81.25 | 97.92 | 97.92 |
| 5 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 10.42 | 64.58 | 33.33 | 89.58 | 77.08 | 97.92 | 93.75 | 100 | 100 |
| 6 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 10.42 | 64.58 | 35.42 | 93.75 | 77.08 | 97.92 | 95.83 | 100 | 100 |
| 7 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 10.42 | 64.58 | 37.50 | 95.83 | 81.25 | 97.92 | 95.83 | 100 | 100 |
| 8 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 12.50 | 68.75 | 41.67 | 95.83 | 87.50 | 97.92 | 95.83 | 100 | 100 |
| 9 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 12.50 | 68.75 | 41.67 | 95.83 | 91.67 | 97.92 | 95.83 | 100 | 100 |
| 10 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 10.42 | 12.50 | 70.83 | 43.75 | 95.83 | 93.75 | 97.92 | 95.83 | 100 | 100 |
| 11 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 10.42 | 12.50 | 70.83 | 43.75 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |
| 12 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 10.42 | 12.50 | 70.83 | 43.75 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |
| 13 | 4.17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 10.42 | 12.50 | 70.83 | 45.83 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |
| 14 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 10.42 | 10.42 | 12.50 | 70.83 | 45.83 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |
| 15 | 4.17 | 4.17 | 6.25 | 10.42 | 10.42 | 12.50 | 70.83 | 45.83 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |
| 16 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 10.42 | 12.50 | 12.50 | 70.83 | 45.83 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |
| 17 | 4.17 | 4.17 | 8.33 | 10.42 | 12.50 | 12.50 | 70.83 | 47.92 | 97.92 | 93.75 | 97.92 | 97.92 | 100 | 100 |

E1 *Diatraea saccharalis*

E2 *D. crambidoides*

C1 4 x 10³ cp/ml

C2 2 x 10⁴ cp/ml

C3 1 x 10⁵ cp/ml

C4 5 x 10⁵ cp/ml

Fabricante.

C5 2.5 x 10⁶ cp/ml

C6 1.25 x 10⁷ cp/ml

C7 6.25 x 10⁷ cp/ml

Cuadro 4A. Tabla de valores probit correspondiente a los distintos valores para la función suma de la distribución normal. Función suma (21).

| 100*función suma | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 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 | 2.86 | 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 | 3.25 | 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 | 6.49 |
| 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 | 6.98 | 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 | 7.15 | 7.58 | 7.65 | 7.75 | 7.88 | 8.08 |

Figura 15A. Salida del programa SAS % mortalidad con datos transformados arcoseno.

```

The SAS System
General Linear Models Procedure
Class Level Information
Class   Levels   Values
CONC    7         1 2 3 4 5 6 7
ESP     2         1 2

Number of observations in data set = 56

```

```

The SAS System
General Linear Models Procedure

Dependent Variable: ARC

Source          DF          Sum of Squares      Mean Square      F Value Pr > F
Model          13          63108.54787143      4854.50368242    50.44
0.0001
Error          42          4042.53095000      96.25073690
Corrected Total 55          67151.07882143

Mean           R-Square          C.V.              Root MSE          ARC
49.98178571    0.939799         19.62864          9.81074599

Source          DF          Type I SS          Mean Square      F Value Pr > F
CONC            6          62573.61927143    10428.93654524   108.35
0.0001
ESP             1          154.97831429      154.97831429     1.61
0.2115
CONC*ESP        6          379.95028571      63.32504762      0.66
0.6837

```

```

The SAS System
General Linear Models Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for variable: ARC

NOTE: This test controls the type I experimentwise error rate, but
generally has a higher type II error rate than REGWQ.

Alpha= 0.05 df= 42 MSE= 96.25074
Critical Value of Studentized Range= 4.378
Minimum Significant Difference= 15.185

Means with the same letter are not significantly different.

```

| Tukey Grouping | Mean | N | CONC |
|----------------|--------|---|------|
| A | 90.000 | 8 | 7 |
| A | 85.805 | 8 | 6 |
| A | 81.610 | 8 | 5 |
| B | 50.528 | 8 | 4 |
| C | 17.205 | 8 | 3 |
| C | 16.335 | 8 | 2 |
| C | 8.390 | 8 | 1 |