



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

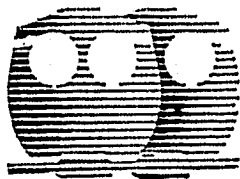
FACULTAD DE QUIMICA

"EFECTO DE FURADAN Y DIAZINON
SOBRE *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR.
KURSTAKI EN SUELO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

MARIA CONCEPCION GRANILLO GARCIA



México, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

57
29



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: **PROFA. ROSA MARÍA RAMÍREZ GAMA**
VOCAL: **PROFA. BEATRÍZ LUNA MILLÁN**
SECRETARIO: **PROF. MARCO ANTONIO ORTIZ JIMÉNEZ**
1ER SUPLENTE: **PROFA. MARÍA GUADALUPE TSUZUKI REYES**
2DO SUPLENTE: **PROFA. ADRIANA GUADALUPE MEJÍA CHÁVEZ**

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL. Depto. de Microbiología. Lab. de Ecología microbiana, y en la colección de cultivos microbianos del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la U.N.A.M.

ASESOR: E. en B. Marco A. Ortiz Jiménez

SUSTENTANTE: María Concepción Granillo García

A mis padres.

Nicolás Granillo y Luclana García.

Por su apoyo y comprensión en todos los momentos de mi vida.

Gracias.

Agradezco:

A mi asesor. E. en B. Marco Antonio Ortiz Jiménez, quien con su ayuda y constante estímulo hizo posible la realización de este trabajo.

Con Respeto a la U.N.A.M. por darme la oportunidad de tener una formación profesional.

Al Instituto Politécnico Nacional. Depto de Microbiología. Lab de Ecología Microbiana.

CONTENIDO

- 1.0 INTRODUCCION
- 2.0 GENERALIDADES
 - 2.1 Acción Patógena
 - 2.2 Patogenicidad
 - 2.2 Modo de Acción de la Endotoxina
- 3.0 IMPORTANCIA
 - 3.1 Distribución
 - 3.2 Taxonomía
 - 3.3 Generalidades de la Familia *Bacillaceae*
- 4.0 PLAGAS DE IMPORTANCIA
- 5.0 PRODUCTOS COMERCIALES A BASE DE *Bacillus Thuringiensis*
- 6.0 OBJETIVO
- 7.0 MATERIALES Y METODOS
 - 7.1 Cepa Bacteriana
 - 7.2 Suelo
 - 7.3 Sistemas Utilizados
 - 7.4 Inóculo
 - 7.5 Insecticidas Químicos

- 7.6 Cuanta Bacteriana**
- 7.7 Duración del Estudio**
- 8.0 PROCEDIMIENTO**
- 9.0 ANALISIS DE RESULTADOS**
- 10. ANALISIS ESTADISTICO**
- 11 CONCLUSIONES**
- 12 BIBLIOGRAFIA**

1.0 INTRODUCCION.

Existen miles de plagas difundidas en la mayoría de las regiones terrestres. Algunas especies de insectos forman plagas durante todo el año, otras sólo en determinadas ocasiones.

La distribución de las plagas de insectos puede cambiar durante una cosecha, ya que ésta las obliga a dirigirse hacia cultivos vecinos que podían no estar infectados. Las variaciones en la distribución y actividad de los insectos son factores que se deben de tomar en cuenta para elaborar programas eficaces de control de plagas, las cuales tienen una gran adaptabilidad y se han acomodado a muchas condiciones y situaciones ecológicas del medio.

Un importante recurso adaptativo de las plagas de insectos es su capacidad de desarrollar resistencia a los fumigantes. Las primeras referencias al empleo de los insecticidas datan de hace 3000 años en las escrituras de los griegos, romanos y chinos. La naturaleza tóxica del arsénico fué conocida por los griegos y los chinos, durante el primer siglo D.C. y mil años antes, Homero recomendó el uso del azufre como conjurador de plagas. (15).

El conocimiento actual de los fumigantes químicos, igual que hace algunos siglos aún está basado en las enseñanzas de Plinio, quien a su vez se basó en las experiencias de los siglos anteriores. El lento desarrollo del empleo de los insecticidas se debió sobre todo a la falta de conocimiento de la naturaleza de los insectos.

El empleo moderno de los insecticidas en los Estados Unidos de Norte América data de 1867, cuando se empleó el verde de París y la emulsión de aceite de kerosen, contra una variedad de insectos masticadores y chupadores. Entre tanto, en Francia se descubrió por accidente el uso de la mezcla de Bordeaux como fungicida, tal descubrimiento dió mayor-

impulso al uso de los fumigantes.

En la primera parte del siglo XX se concibieron los compuestos de fluor y los insecticidas bóticos.

En los Estados Unidos de América el uso de los insecticidas llegó a ser tan común en la década de los veinte y su utilización fue de tal forma masiva que provocó la preocupación de los especialistas ya que éstos observaron que los residuos de dichos compuestos se acumulaban en los alimentos que habían sido cosechados en campos fumigados con insecticidas para el control de ciertas plagas.

En Europa en 1930, el descubrimiento del valor insecticida del D.D.T., un compuesto orgánico sintético fue un invento revolucionario en el desarrollo de los insecticidas, ya que su descubrimiento coincidió con la segunda guerra mundial y su potencial se demostró en forma dramática debido al empleo del mismo, desde entonces se han producido miles de sustancias orgánicas químicas reemplazando a los primeros insecticidas; sin embargo éstos tienen numerosas limitaciones, algunas graves, sobre todo en el área de la resistencia de los insectos a los fumigantes.

La resistencia se ha extendido a todas las clases de compuestos que se utilizan comúnmente: organoclorados, carbamatos y piretroides. Los insectos que se han hecho resistentes a ellos pueden perturbar el sistema ecológico con efectos adversos a la vida silvestre y otras especies convenientes. (11)

D.D.T. = tricloro-2,2-bis-(p-clorofenil) etano.

Desde el punto de vista económico, un buen control se debe basar tanto en los resultados inmediatos como en los efectos a largo plazo. Se deben evitar las prácticas de control que destruyan a los enemigos naturales de las plagas que devoran un cultivo pues ello puede propiciar una rápida proliferación de la misma una vez que pasa el efecto letal del fumigante.

Cuando se determina una baja influencia de un agente químico, la primera tendencia es de incrementar la dosis, lo que a su vez incrementará el costo de las operaciones, frecuentemente con una seria contaminación del medio ambiente, particularmente la superficie de las aguas con la consecuente aparición de residuos de pesticidas. (4)

En Estados Unidos de Norte América, están registrados cerca de 400 insecticidas básicos para el control de plagas que dañan al hombre, resultando imperativo y lógico que una alternativa biológica y sistemas integrados de control sean utilizados.

Los medios de control biológico no tienen efectos secundarios, tales como toxicidad, o contaminación del ambiente, y su uso no implica peligro importante.

Gracias a la preocupación actual con respecto a la calidad del medio ambiente y sobre las posibles consecuencias de una constante exposición a niveles no tóxicos de insecticidas a largo plazo, se ha prestado una mayor atención a las ventajas de control biológico a decir sobre las mejores técnicas para controlar las plagas.

Entre los grupos de microorganismos patógenos para insectos se encuentran un rango amplio de bacterias; cada uno de estos grupos están compuestos de un espectro de microorganismos que varían su modo de infección y mecanismo de patogenicidad. Mientras algunos patógenos exhiben un rango bastante amplio, otros tienen preferencia por ciertas especies de insectos.

También tienen una gran patogenicidad selectiva para las larvas y adultos, este espectro probablemente refleja la cobertura entre el habitat natural de microorganismos e insectos, los mecanismos de patogenicidad (naturaleza de las sustancias tóxicas producidas) y las necesidades de los patógenos. (2)

Los grupos de bacterias entomopatógenicas incluyen especies con la habilidad de infectar insectos sanos beneficios y no beneficios para la agricultura.

La mayoría de las especies de bacterias capaces de infectar insectos son bacilos esporíferos, y su uso tiene gran potencial en el manejo de plagas por insectos.

Entre las alternativas más promisorias contra mosquitos vectores de enfermedades se encuentran dos bacilos larvicidas. *Bacillus sphaericus* y *Bacillus thuringiensis*.

El control biológico tiene muchas ventajas precisas que no pueden ofrecer la mayoría de los otros medios de control de plagas de que se dispone hasta hoy, tres ventajas específicas son: permanencia, seguridad y economía.

2.0 GENERALIDADES.

Los bioinsecticidas usados para controlar una población plaga son uno de los sistemas de control biológico más utilizados.

En la actualidad *Bacillus thuringiensis* se utiliza como el producto comercial de mayor difusión.

Los productores de pesticidas de *Bacillus thuringiensis* y los propietarios de los derechos de patentes se están esforzando por tener un número alto de cepas de *Bacillus thuringiensis*, lo cual facilitará la adopción de productos de uso estratégico que minimice el riesgo de que surjan plagas resistentes a esta bacteria y extenderán las opciones del control de plagas fuera del campo de la agricultura (doméstico, salud animal y salud humana etc.) (8) (7)

2.1. ACCIÓN PATÓGENA.

En general, existen cuatro formas por las cuales los bioinsecticidas, ejercen su efecto letal, siendo éstas las siguientes:

- I. Infección oral, en la cual el microorganismo se ingiere con el alimento.
- II. La invasión a través del Integumento Integro o tráquea.
- III. La invasión parenteral. La mayoría de los microorganismos pueden invadir cuando ocurre un trauma al Integumento, en general como resultado de mordedura o lesión por parte de algún insecto parásito en oviposición.
- IV. A través del huevo. (15)

2.2 PATOGENICIDAD.

A la fecha se han identificado una gran cantidad de cepas de *Bacillus thuringiensis* con diferentes rangos de acción insecticida. La mayoría de las cepas tienen actividad contra larvas de insectos lepidópteros, pero también se han encontrado cepas de *Bacillus thuringiensis* con actividad contra dípteros, coleópteros, ácaros, platelmintos, protozoarios y nemátodos. (12) (22)

Recientemente la clonación de los genes de la delta endotoxina ha permitido el planteamiento de nuevas estrategias para proteger a los cultivos del daño causado por insectos, varios grupos de investigación han desarrollado la expresión de estos genes en microorganismos que se asocian a las plantas así como en plantas transgénicas y en virus que atacan a las plantas. (10)

Las proteínas que forman el cristal de las diferentes cepas de *Bacillus thuringiensis* tienen como característica primordial, la de ser utilizadas como protoxinas, producidas durante la esporulación, estas proteínas se solubilizan en el álcali del intestino del insecto para convertir las protoxinas en toxinas por acción de las proteasas presentes en el intestino del insecto. (16) (5) (21).

El Cristal es un agregado de moléculas de proteínas que constituyen sub-unidades en forma elipsoidal, el cual se mantiene unido mediante puentes de hidrógeno y enlaces disulfuro en las cadenas de las sub-unidades. (17)

La parte tóxica de la protoxina está localizada en la mitad correspondiente a la región del amino terminal y en ella se encuentran las regiones que poseen especificidad y toxicidad, la-

la otra mitad, la del carboxilo terminal no tiene actividad tóxica, es probable que esta región esté involucrada en la formación del cristal y por lo tanto en su estabilidad ya que ésta se encuentra dentro de la familia de los genes que codifican para las delta-endotoxinas. Los genes (Cry) contienen casi todos los residuos de cisteína, que son los que establecen los puentes disulfuro.

A la fecha una gran cantidad de genes (Cry), han sido clonados. Estos genes se han clasificado en cinco grupos principales y varias sub-clases. (5)

Los genes Cry I son específicos contra insectos lepidópteros (mariposas), todos los genes Cry I codifican para proteínas de 130-140 KDa, éstos generalmente cristalizan para formar cuerpos bipiramidales.

Los genes Cry II codifican para proteínas de 65 KDa, las cuales forman cristales de forma cuboide, éstos se han clasificado en dos sub-grupos, en donde el sub-grupo Cry IIA es una proteína con actividad tóxica tanto para lepidópteros como para dípteros (mosquitos). El sub-grupo Cry IIB es tóxico sólo para lepidópteros.

Los genes Cry III, codifican para proteínas específicas contra coleópteros (escarabajos), estas proteínas se estructuran en forma de cristales romboides.

Los genes Cry IV codifican para proteínas específicas contra dípteros. La delta-endotoxina Cry IV se encuentra en forma de cristales ovoides. Los genes Cry V codifican para proteínas tóxicas contra nemátodos.

Las proteínas clasificadas como Cry VI también son altamente específicas contra nemátodos, pero se han clasificado en un grupo diferente ya que presentan muy baja homología con los genes Cry V y se sugiere que tienen un origen evolutivo diferente. (5) (8)

El alineamiento y comparación de la secuencia de las proteínas Cry I, Cry II, Cry III y Cry IV reveló la existencia de cinco bloques de amino ácidos altamente conservados, en todas las proteínas, estos bloques están separados por secuencias muy variables, y se propone que las regiones conservadas juegan un papel determinante en la toxicidad, (16) constituyendo la parte central de la proteína de la familia Cry. Si bien presentan grandes diferencias en sus secuencias nucleotídicas seguramente tiene conformaciones semejantes y por lo tanto en su modo de acción.

2.3 MODO DE ACCIÓN DE LA ENDOTOXINA.

La infección por *Bacillus thuringiensis* ocurre por vía oral. Cuando la larva ingiere la bacteria también ingiere la delta endotoxina, la toxina induce la formación de pequeños poros (0.5-1.0 nanómetros) en la membrana, resultando una alteración en el flujo de iones potasio, así como hinchamiento y lisis en las células epiteliales, liberándose una gran cantidad de ellas al intestino del insecto lo cual hace que se detenga su alimentación, este rompimiento del metabolismo conlleva un desplazamiento de iones del intestino hacia la hemolinfa, paralizando al insecto. (17) siendo ésta una parte fundamental en la toxicidad de *Bacillus thuringiensis*. (1),(5)

El siguiente paso es la unión de la toxina al receptor presente en la membrana del insecto. Aunque se ha reportado un papel muy importante del receptor en la toxicidad ya que es necesario que la toxina se una a éste para que ejerza su acción insecticida, también se ha -

visto que en algunos casos no es suficiente para que mate al insecto, lo que sugiere que existen otros factores involucrados en el mecanismo de acción de la toxina de *Bacillus thuringiensis*, (20.) Se ha encontrado que los receptores son diferentes para cada tipo de insecto, lo mismo que su número y eficiencia de unión entre la toxina y el receptor. Hasta la fecha se conoce muy poco de la naturaleza del receptor y su papel fisiológico dentro del intestino larvario. El modelo aceptado es que la unión de la toxina al receptor dispara un cambio conformacional que induce la integración de la toxina en la membrana, la inserción en la membrana es rápida y la toxina no puede ser reemplazada por otras toxinas que comparten el mismo tipo de receptor, ya que la unión es irreversible. Se cree que en la membrana del intestino existen diferentes proteínas que pueden funcionar como receptores de las toxinas de *Bacillus thuringiensis* que son reconocidas especialmente por diferentes toxinas, así se explica la alta especificidad de acción de las delta endotoxinas.

3.0 IMPORTANCIA.

El *Bacillus thuringiensis* es una de las bacterias entomopatógenicas más utilizadas en la elaboración de controles biológicos, lo que se presenta como de gran importancia no sólo en el aspecto ecológico sino también en el económico ya que su utilización en los mercados internacionales se han incrementado considerablemente; aunque los pronósticos sobre su desarrollo son variables se estima que *Bacillus thuringiensis* tiene un gran potencial a mediano y largo plazo en nuestro país.

3.1. DISTRIBUCIÓN.

La predominancia en serotipos de *Bacillus thuringiensis* difiere considerablemente dependiendo de la localidad, lo que permite entrever la posibilidad de que bajo condiciones permisivas del suelo, el organismo sea capaz de mantenerse viable por largos periodos de tiempo, y quizás de proliferar. Se ha investigado la distribución natural de *Bacillus thuringiensis* en diferentes tipos de suelos en muchos países lograndose su aislamiento en varios de ellos, lo cual hace suponer que puede ser un miembro estable de la comunidad microbiana de tales ambientes. (6) Esta última aseveración puede resultar inexacta, debido a que no se ha concertado un verdadero esfuerzo para determinar su ocurrencia natural, por lo cual es importante conocer el habitat en el que este tipo de microorganismos puede desarrollarse, especialmente el suelo ya que de él toman muchos de sus nutrientes.

Es probable que *Bacillus thuringiensis* se encuentre más ampliamente distribuido en el suelo de lo que se imagina, ciertamente se desconoce si éste se acumula, y si lo hace no se sabe que función pueda desempeñar.

Desde un punto de vista económico, su acumulación reduciría la frecuencia de aspersiones en el sistema, para esto se requiere la factibilidad de que la bacteria se establezca como un miembro de la comunidad. En tanto que desde una perspectiva diferente, su integración y desarrollo en el ambiente implica la posibilidad de una perturbación en la biocenosis, por lo cual, es de interés un uso responsable del patógeno.

Al incorporarse *Bacillus thuringiensis* al suelo entra a un sistema donde su supervivencia depende tanto del tipo del suelo como de las condiciones en que éste se encuentre; los suelos son importantes para la supervivencia y distribución en la naturaleza de este microorganismo, de tal forma que es importante determinar los factores que rigen su comportamiento en el mismo. El suelo debe encontrarse en buenas condiciones para sostener a los microorganismos vivos, conteniendo aproximadamente un 50% de espacio poroso total en base al volumen.

El espacio poroso es importante para el intercambio de gases entre el suelo y la atmósfera, la textura y la estructura son factores principales que gobiernan la cantidad de espacio poroso, la materia orgánica afecta indirectamente al mismo.

Las condiciones ambientales afectan la densidad y composición de la flora y los factores abióticos pueden alterar significativamente a la comunidad y su potencial bioquímico.

Entre las variables principales del medio ambiente que influyen sobre los microorganismos del suelo, están la humedad, aireación, temperatura, materia orgánica, acidez y suministro de nutrientes inorgánicos.

Otras variables tales como el cultivo, la estación y la profundidad tienen indudable significado. Los microorganismos obtienen muchos de sus nutrientes de la porción inorgánica del suelo por lo que se requiere conocer su composición química.

Algunas especies obtienen carbono o nitrógeno de la atmósfera en forma de CO_2 , CH_4 o N_2 pero la mayor parte de estos dos elementos así como el resto de los nutrientes microbianos se obtienen de la fase líquida o sólida del suelo.

La arcilla, como constituyente del suelo es importante ya que, es la que ejerce mayor influencia

en cuanto al aspecto microbiológico, por ejemplo: el limo (>0.002mm), ejerce una influencia menor en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.

Las partículas de arena tienen todavía menor trascendencia, sin embargo la arena afecta el movimiento del agua y aire.

La textura determina el contenido de arena, limo y arcilla del suelo. Una característica importante del suelo es su capacidad de intercambio catiónico la cual es una medida de la capacidad de la arcilla, y los coloides orgánicos para extraer iones positivos de la solución.

La porción orgánica del suelo con frecuencia denominada humus, es un producto de la actividad de síntesis y descomposición de la microflora, la fracción orgánica se origina de dos fuentes: los restos vegetales y animales que entran al suelo y los microorganismos del suelo mismo (19)

Debe tenerse presente que la clasificación de textura tiene un propósito que va más allá de una simple subdivisión de nomenclatura por lo cual en el presente trabajo se realizó la determinación de la misma. (14) (Ver más adelante tabla I)

3.2. TAXONOMIA.

3.3. GENERALIDADES DE LA FAMILIA BACILLACEAE.

Reino: Procaryotea

División: Il Bacteria

No producen micelio, forman endósporas, las cuales difieren de las células vegetativas.

Las endósporas son susceptibles a la tinción de Fischer y Fulton, presentan gran resistencia al calor y otros agentes destructivos; contienen ácido dipicolínico.

La espora se encuentra enclaustrada por una corteza de peptidoglucanos, cubriendo la espora una corteza exterior (15)

Son aerobios o anaerobios facultativos, forman cadenas y son catalasa positivos en muchas especies.

Las células miden de 1.27-7.0 micra. No presentan movilidad, en caso de presentarla, lo hacen típicamente por un flagelo lateral.

No forman más de una espora por célula. La esporulación no es reprimida por exposición al aire.

Reacción al Gram: positiva solamente en las primeras fases de crecimiento o negativa.

Tienen metabolismo respiratorio, fermentativo o ambos, usando varios sustratos. El aceptor final de electrones en la respiración metabólica es el oxígeno molecular, reemplazable en algunas especies por nitrato.

4.0. PLAGAS DE IMPORTANCIA.

Los artrópodos son el grupo de seres vivos más numerosos que se encuentran sobre la tierra, aproximadamente seis millones de especies han existido muchos años antes de la aparición de los hombres. (15)

Se ha encontrado que *Bacillus thuringiensis* es patógeno para los siguientes órdenes de insectos: Lepidóptera, Hymenóptera y Coleóptera. Es el primero en donde se ha encontrado una mayor susceptibilidad, al efecto de los controles biológicos; debido a que éste posee las condiciones propicias para la acción del cristal.

En el orden Lepidóptera se encuentran los insectos de mayor importancia dentro de la agricultura y silvicultura. (12)

Pruebas hechas en el laboratorio con este orden muestran una acción muy efectiva de la bacteria en contra de las larvas, en cambio en el campo su susceptibilidad se reduce:

En dípteros, las pruebas de campo han presentado una mayor susceptibilidad en comparación con las pruebas de laboratorio, donde la contribución del ecosistema para este efecto favorable es aún incierta.

Para el orden coleóptera se han encontrado susceptibilidades tanto en el campo como en el laboratorio.

5.0. PRODUCTOS COMERCIALES A BASE DE *Bacillus thuringiensis*.

Los productos comerciales se presentan como productos sólidos o como productos líquidos. Los productos sólidos pueden ser polvos humectables o granulos dispersables, obtenidos al mezclar las esporas y cristales proteicos de *Bacillus thuringiensis* con materiales inertes como, minerales por ejemplo: borosilicatos, carbonatos, sulfatos, fosfatos, o con materiales biológicos por ejemplo: la raspa de la mazorca del maíz después de desgranada, cáscara de arroz o cáscara de nuez. Estas formulaciones pueden incluir adyuvantes para la dispersión, agentes estabilizantes, y surfactantes.

Las formulaciones líquidas pueden ser de base acuosa o no acuosa y se emplean como espumas, geles, suspensiones o concentrados emulsificables. Los ingredientes pueden incluir agentes reológicos, surfactantes, emulsificantes, y dispersantes.

Un ingrediente común en ambos tipos de formulaciones son los fotoprotectores ya que la inactivación de las preparaciones de *Bacillus thuringiensis* por acción de la luz solar es un problema que afecta la eficacia de estos bioinsecticidas. (5)

Las formulaciones sólidas generalmente contienen el 95% en peso de principio activo, mientras que las formulaciones líquidas generalmente contienen el 60%. Las dosis empleadas por hectárea varían de 50mg. a 1.0 Kg. (5) Los productos son aplicados a plantas, suelo, agua o granos almacenados por aspersión o espolvoreo.

El descubrimiento de cepas con actividad contra diferentes plagas de insectos (8) y el constante avance de las técnicas de DNA recombinante, han abierto la posibilidad de desarrollar una gran cantidad de productos nuevos.

En 1991 la agencia de protección al medio ambiente de E.U. (EPA) aprobó la primera generación de productos de *Bacillus thuringiensis* de la empresa "Mycogen". MVP y M-Track.

En estos productos el gen *Cry IA* fué clonado y expresado en la Bacteria *Pseudomonas fluorescens*.

La variedad de *Bacillus thuringiensis* más usada como base de las formulaciones destinadas al combate de lepidópteros es la *kurstaki*, mientras que para el combate de moscas y mosquitos se usan preparaciones a base de la variedad *israelensis*, así como la variedad *tenebrionis* como base de los productos para el combate de los coleópteros.

Para estimar el mercado potencial de *Bacillus thuringiensis* en México se hicieron las siguientes consideraciones: suponiendo una sola aplicación de 0.5 Kg por hectárea y considerando una cobertura de mercado diferencial de 3 al 10% por cultivo, se obtiene una demanda anual de un poco más de doscientas toneladas. Estos resultados conservadores en extremo muestran que *Bacillus thuringiensis* posee un potencial interesante para nuestro país. (13)

6.0 OBJETIVO.

El objetivo de este proyecto es analizar el comportamiento de *Bacillus thuringiensis* en suelo previamente tratado con insecticidas químicos. Esto es determinar su capacidad de sobrevivencia en el mismo.

7.0 MATERIAL Y METODOS.

7.1. Cepa Bacteriana.

La cepa de *Bacillus thuringiensis*, empleada en la presente investigación se obtuvo directamente del insecticida biológico comercial "Javelin", en forma de gránulos dispersables, cuya composición es "*Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* serotipo 3a:3b" 6.4% (Ingrediente activo en porcentaje en peso) equivalente a 53 BUS*KG

Ingredientes inertes, dispersantes y materiales de fermentación 93.6%

El origen de la cepa está registrado bajo la patente de "JAVELIN WG DE SANDOZ"

BUS* = Billones de Unidades sobre esporóspora.

7.2. SUELO.

Se empleo un suelo representativo del estado de Hidalgo, el cual se colectó en campos de cultivos de los llanos de Apan, Hgo. Las características fisicoquímicas fueron determinadas utilizando metodos estandard. (Tabla I) (18)

La muestra del suelo se obtuvo al colectar porciones a una profundidad de 5-15 cm, en distintos puntos del área de muestreo, para esto se colocó la misma en una bolsa de polietileno para su traslado al laboratorio.

7.3. SISTEMAS UTILIZADOS.

Matraces Erlenmeyer de 250 ml conteniendo 50g de suelo estéril (los sistemas se esterilizaron en autoclave por 120 minutos, el exceso de humedad se eliminó secando al horno a 100°C durante 12 hrs).

La esterilidad se verificó por cuenta en placa con agar nutritivo.

Los sistemas se dividieron en dos lotes; para el primer lote la humedad remanente se midió directamente del suelo, siendo ésta de 14.7% (Conociendo lo anterior), para el segundo lote se añadió a cada uno de los sistemas 10ml de agua destilada estéril (cantidad aproximada para favorecer una humedad mayor al 50%) y posteriormente se midió obteniéndose una humedad de 61.1%

TABLA I

RESULTADOS DE LOS ANALISIS FISICOQUIMICOS DEL SUELO

Fósforo		51.1 %
Humedad		39.0 %
Capacidad de Retención de Agua		91.0 %
Materia Orgánica		0.8 %
Textura		Migajón Arenoso
pH		5.3

Prueba de Cloruros	Estándar XXX	Suelo XX
Prueba de Amonio	Estándar XXX	Suelo XXX

7.4. Inóculo.

El inóculo se preparó utilizando una solución de 5 mg. de Javelín en 100 ml de agua destilada estéril, equivalente a 2×10^8 U.F.C. / ml. Se añadió a los sistemas descritos en 7.3 un volumen de 1.0 ml de la solución (4.0×10^8 U.F.C./g de suelo) equivalente este valor en logaritmo de base 10 a 10.3 U.F.C./g de suelo.

7.5. Insecticidas Químicos.

Los insecticidas químicos utilizados a diferentes concentraciones se añadieron a cada uno de los sistemas descritos en 7.3 quedando de la siguiente manera:

- a) Solución de Furadan (carbamato) grado técnico (50ppm, 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.005ppm)
- b) Solución de Furadan (carbamato) compuesto comercial (50ppm, 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.005ppm)

E = Exponente

U.F.C. = Unidades formadoras de colonias

ppm = Partes por millón ($\text{mg} / 10^6 \text{ mg}$)

c) Solución de Diazinón (organofosforado) grado técnico (50ppm, 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.005ppm)

d) Solución de Diazinón (organofosforado) compuesto comercial (50ppm, 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.005ppm)

Las características de los insecticidas químicos se muestran en la Tabla II

7.6. Cuenta Bacteriana.

Para la recuperación de la bacteria se homogenizaron los sistemas agitando manualmente los matraces por espacio de 5 minutos en campana de flujo laminar, posteriormente se tomó una muestra de 1.0 g de suelo, y se adicionó a un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril con 0.1 ml de antiespumante (aceite mineral-álcool isopropílico 1:1) se agitó la suspensión en forma mecánica por espacio de 2 minutos hasta la desaparición de grumos, con 1.0 ml de esta dilución y se realizó una serie de diez diluciones decimales, esto para cada uno de los sistemas.

De cada una de las series se tomó 0.1ml de las tres últimas diluciones y se sembraron (por duplicado) por espatulado en agar nutritivo; se incubaron las cajas a temperatura ambiente (del laboratorio) durante 48hrs, se contaron las cajas donde el número de colonias se encontraba en el intervalo de 30-300 U.F.C, se sacaron los respectivos promedios para cada una de las concentraciones.

En los casos donde no se encontraron microorganismos bajo las condiciones preestablecidas por la metodología planteada, se utilizaron las diluciones anteriores.

7.7. Duración del estudio.

La duración del experimento se determinó en base al tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de los insecticidas químicos, en ambos casos el $t_{1/2}$ fue de aproximadamente 8 semanas.

8.0. PROCEDIMIENTO.

Se formaron dos lotes cada uno de ellos con diferentes insecticidas químicos (Furadan y Diazinón).

El primer lote con el 61.1% de humedad para Furadan y Diazinón (grado técnico y comercial)

El segundo lote con el 14.7% de humedad para Furadan y Diazinón (grado técnico y comercial).

Las cinco concentraciones de los insecticidas químicos en los matraces de prueba con 50g de suelo se establecieron de la siguiente manera: 2.5mg/50g, 0.25mg/50g, 0.025mg/50g, 0.0025mg/50g, 0.25ug/50g, las cuales corresponden respectivamente a 50ppm, 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.005ppm.

Las concentraciones de los insecticidas químicos (técnico y comercial) en todos los sistemas quedaron dentro del intervalo recomendado por los proveedores para fumigar en campo.

$t_{1/2}$ = Tiempo de Vida Media

TABLA II
ESPECIFICACION DE LOS INSECTICIDAS
QUIMICOS UTILIZADOS

DESIGNACION COMERCIAL	CLASE DE COMPUESTO	NOMBRE QUIMICO	PUREZA
Diazinón grado técnico	Organofosforado	0,0-dietil-o (2-isopropil 4 metil-6-pirimidil)	95 %
Diazinón comercial	"	"	25 %
Furadán grado técnico	Carbamato	2,3-dihydro-2-2 dimetil 7-benzofurano metil carbamato	95 %
Furadan comercial	"	7-benzofurao metil carbamato	25 %
Furadán Patente. Appl.	(1964 Bayer)		
Diazinón Patente. Appl.	(1976 Bayer)		

Para cada una de las condiciones descritas anteriormente, los sistemas se trabajaron por duplicado, así como los controles.

A cada uno de los sistemas se les adicionó el insecticida químico a la concentración correspondiente, se homogeneizaron los mismos con agitador de vidrio en campana de flujo laminar, se taparon y se dejaron reposar por 24 hrs. para la difusión total del insecticida.

Se inocularon los sistemas adicionándoseles 1.0 ml de la solución que contiene las células vegetativas (2×10^8 U.F.C./ml) de *Bacillus thuringiensis*.

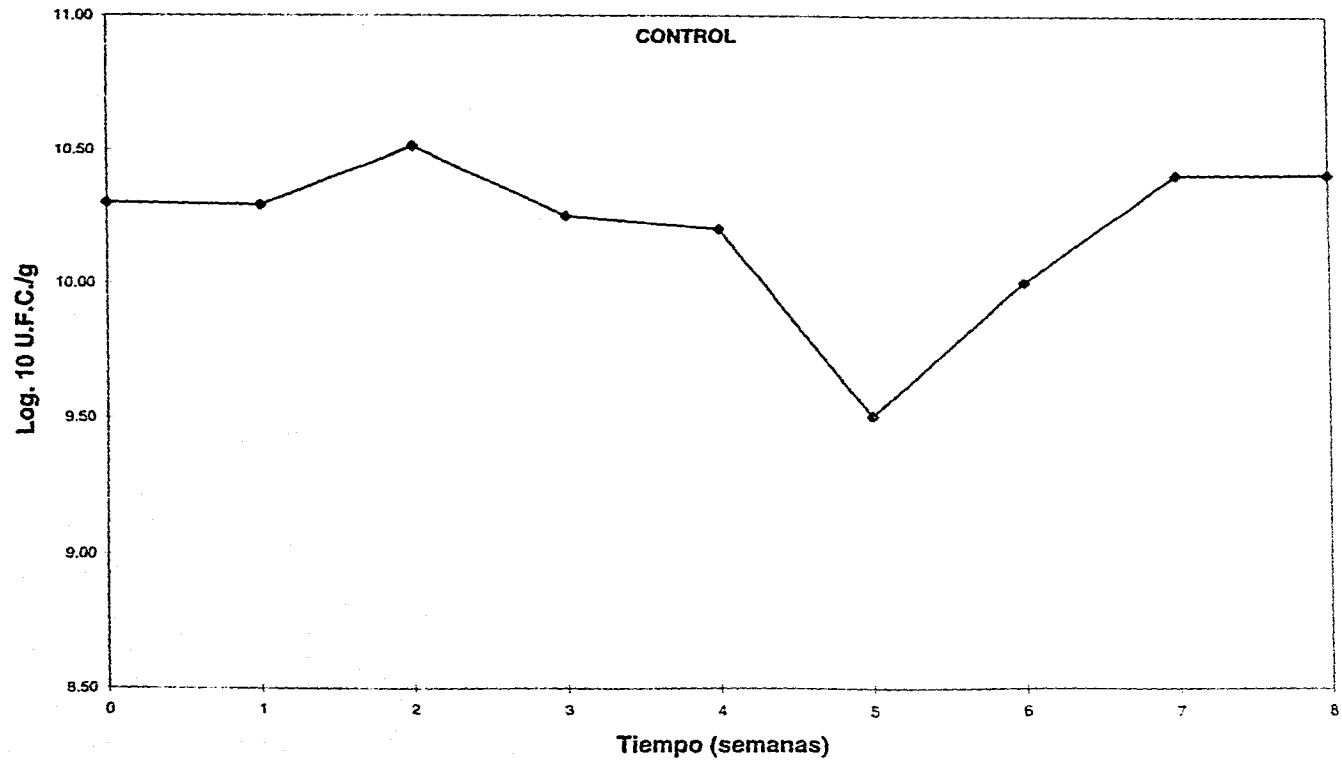
Se agitaron manualmente cada uno de los matraces Erlenmeyer por espacio de 5 minutos para distribuir de forma homogénea los propágulos añadidos.

Cada lote se mantuvo a temperatura ambiente (en el laboratorio) durante 8 semanas, cada semana se realizó para cada uno de los sistemas una cuenta bacteriana, (descrita en 7.6) ésta por espacio de 8 semanas.

9.0 ANALISIS DE RESULTADOS.

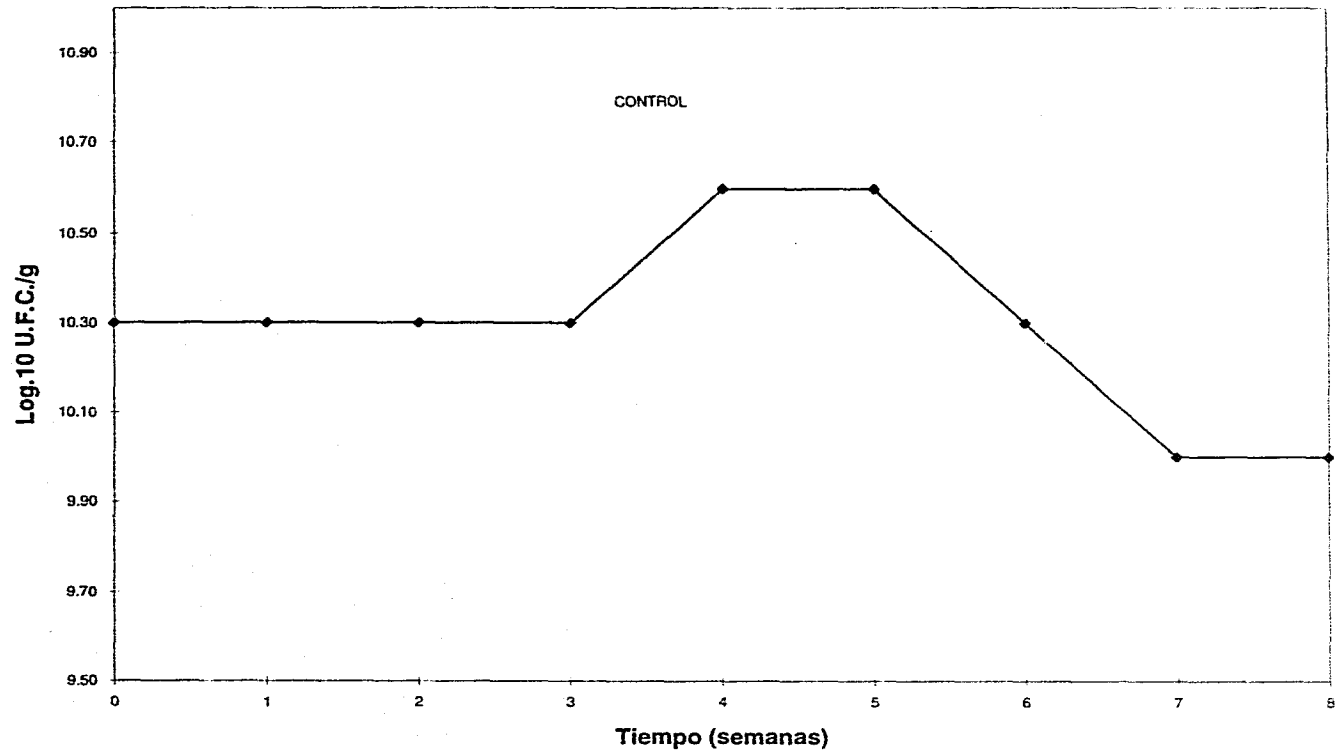
Todos los experimentos se realizaron en sistemas por duplicado y los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por el método de comparación de pendientes presentándose los factores de correlación para cada uno de ellos.

En base a la comparación de los controles se observa que la humedad es un factor importante para mantener la viabilidad de *Bacillus thuringiensis* en suelo estéril, tipo migajón arenoso con un pH de 5.3 ver gráficas 1,2.



Gráfica 1

Control del sistema con 14.7% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas).



Gráfica 2

Control del sistema con 61.0% de Humedad.
Log 10 U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)

La sobrevivencia de *Bacillus thuringiensis* en suelo en presencia de Furadán compuesto comercial (Carbamato) a diferentes concentraciones, Ver gráficas 4,5,6,7,8 fué de la siguiente manera: para la concentración de 50ppm, la viabilidad se mantuvo constante, hasta la tercera semana, a partir de la cuarta comienza a incrementarse y en la sexta semana vuelve a disminuir para finalizar con un valor similar al del inicio.

En la concentración de 5ppm, de la primera a la cuarta semana permanece constante, de la cuarta a la quinta semana disminuye, incrementándose nuevamente hasta la octava semana. Dando un valor final ligeramente menor al del inicio.

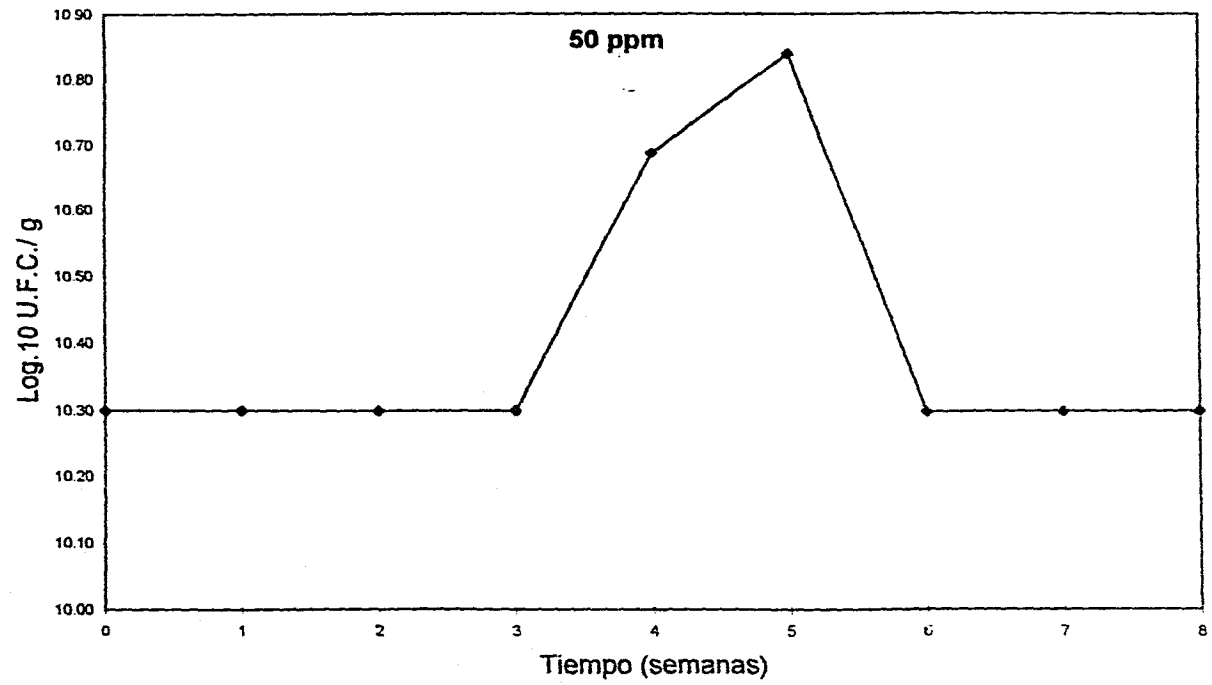
Para la concentración de 0.5ppm, se mantiene constante hasta la tercera semana, en la cuarta se incrementa ligeramente y en la quinta disminuye, de la sexta a la séptima semana se ve ligeramente incrementada y en la séptima nuevamente comienza a disminuir y termina con un valor cercano al del inicio.

En la concentración de 0.05ppm, la sobrevivencia se mantiene igual hasta la tercera semana, de la tercera a la cuarta se incrementa ligeramente y en la quinta vuelve a disminuir, en la sexta semana aumenta y vuelve a disminuir, dando al final un valor menor al del inicio.

En la concentración de 0.005ppm el comportamiento es más heterogéneo con decrementos e incrementos constantes a lo largo de las ocho semanas, finalizando con un valor menor al del inicio.

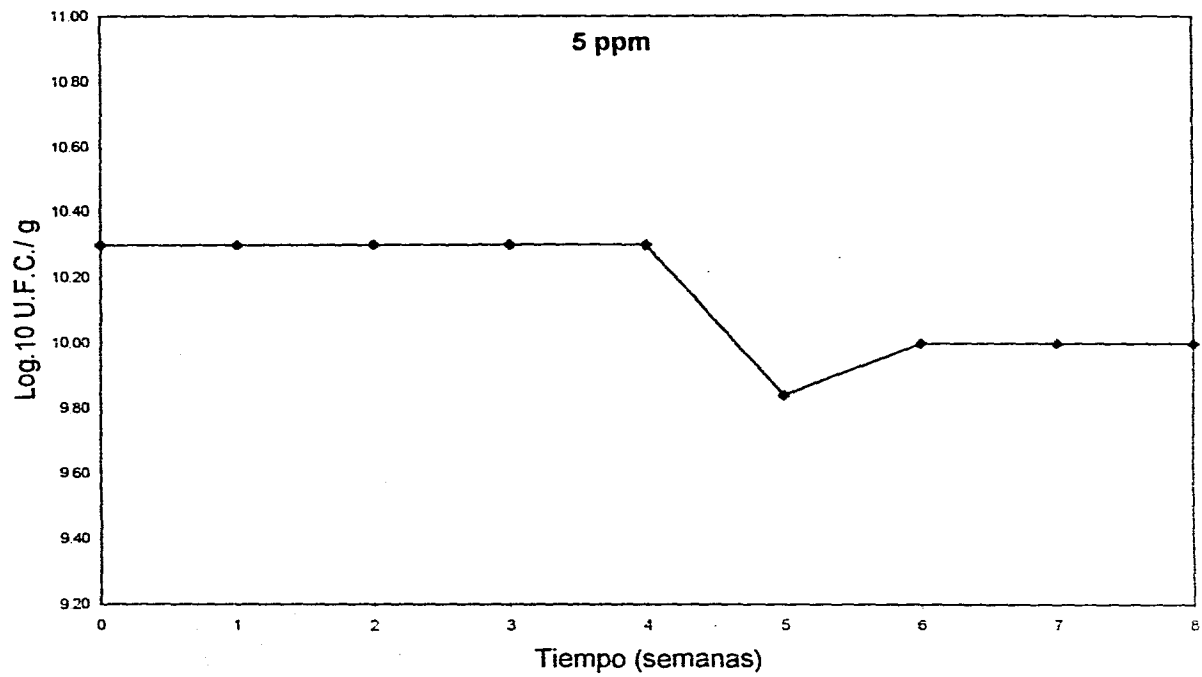
La gráfica 9 muestra el comportamiento de *Bacillus thuringiensis* en presencia de Furadán compuesto comercial con el 61.1% de humedad a las cinco concentraciones estudiadas.

En el segundo experimento realizado con Furadán grado técnico (carbamato) en suelo húmedo (61.1% de humedad) la subsistencia de *Bacillus thuringiensis* se determinó de la -



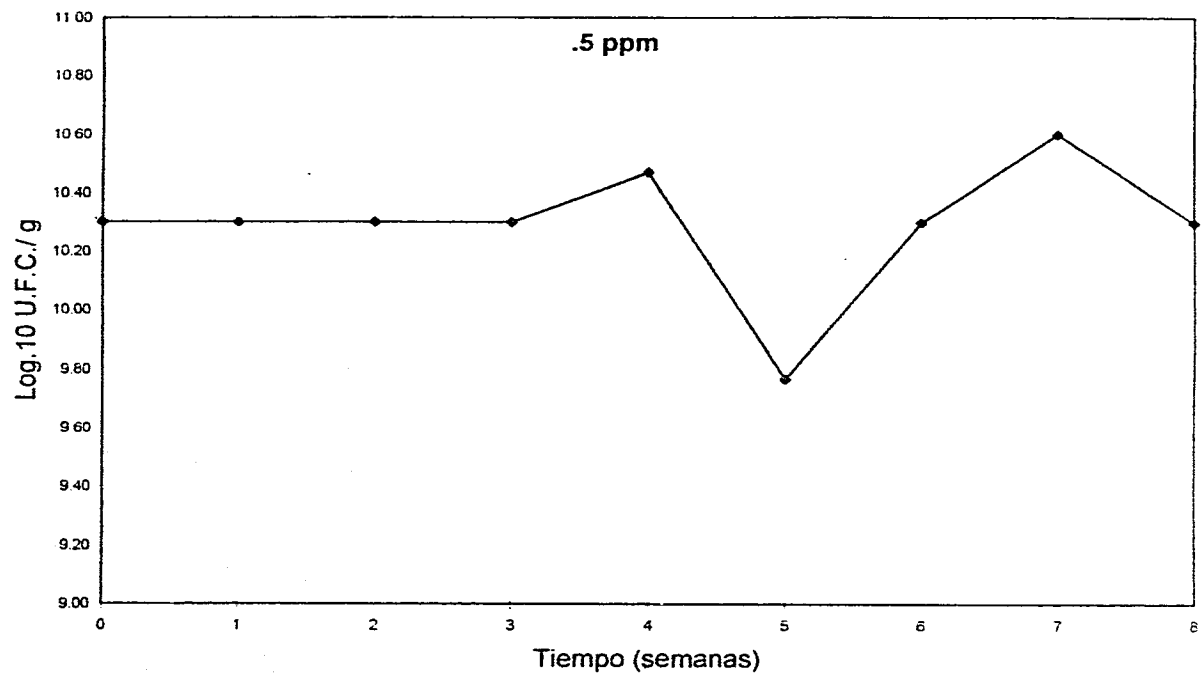
Gráfica 4

Furadán compuesto comercial con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



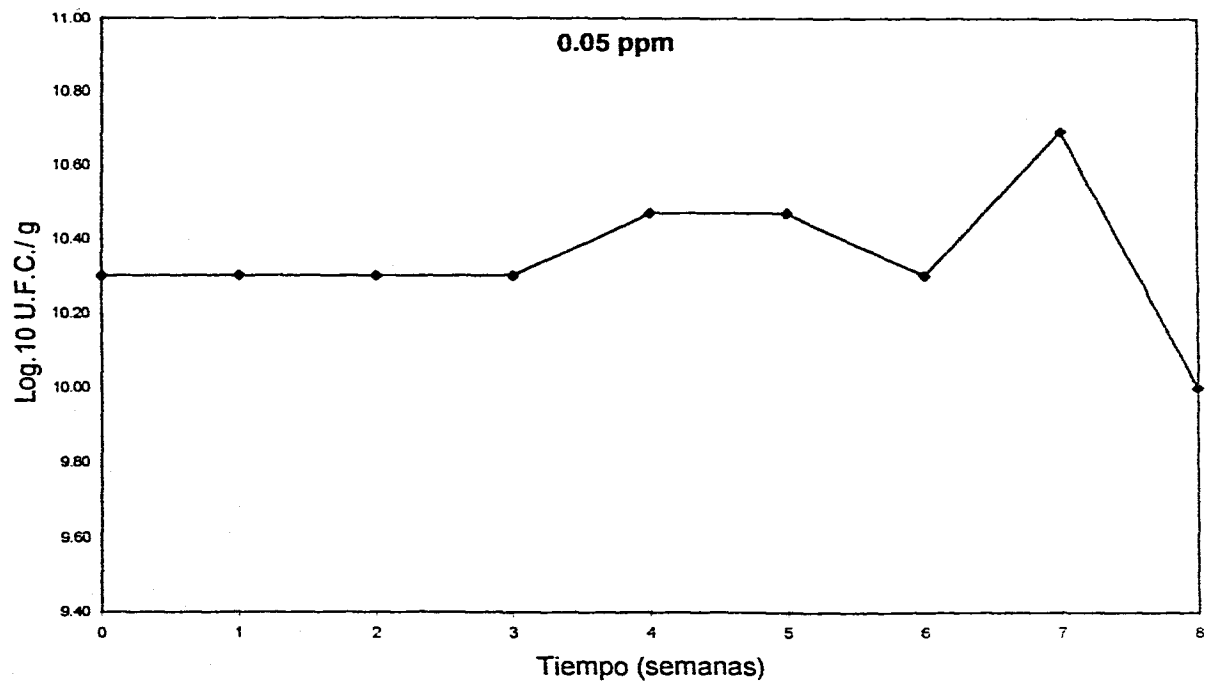
Gráfica 5

Furadán compuesto comercial con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



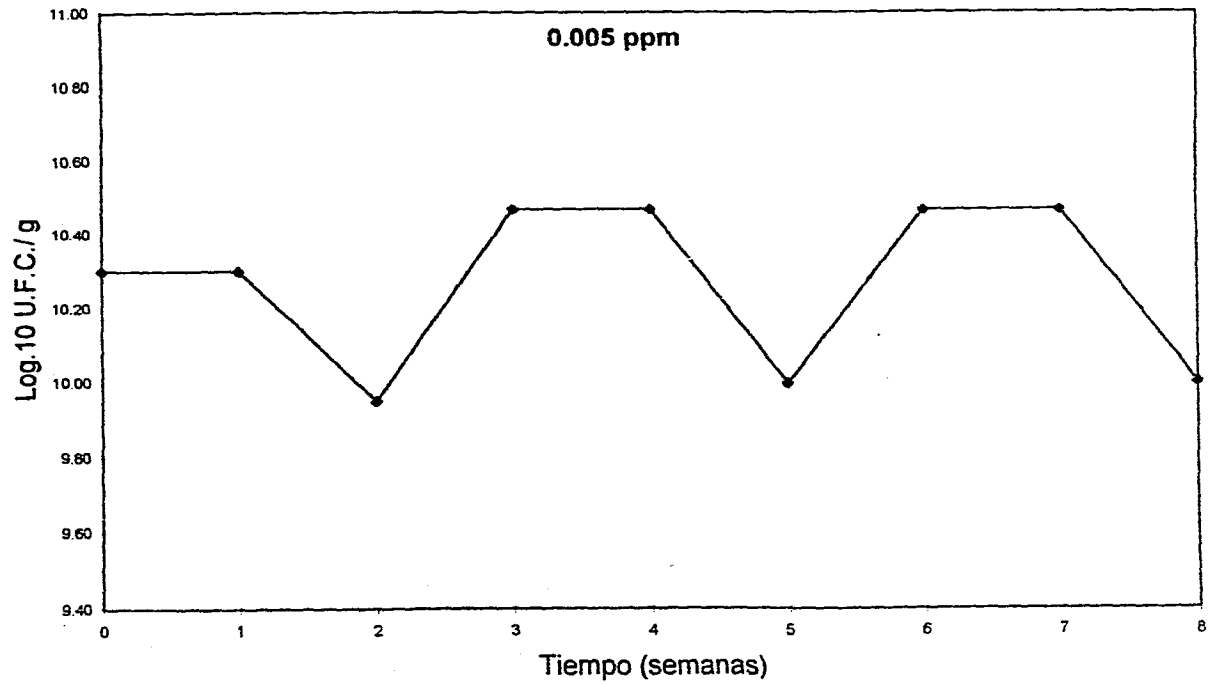
Gráfica 6

Furadán compuesto comercial con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



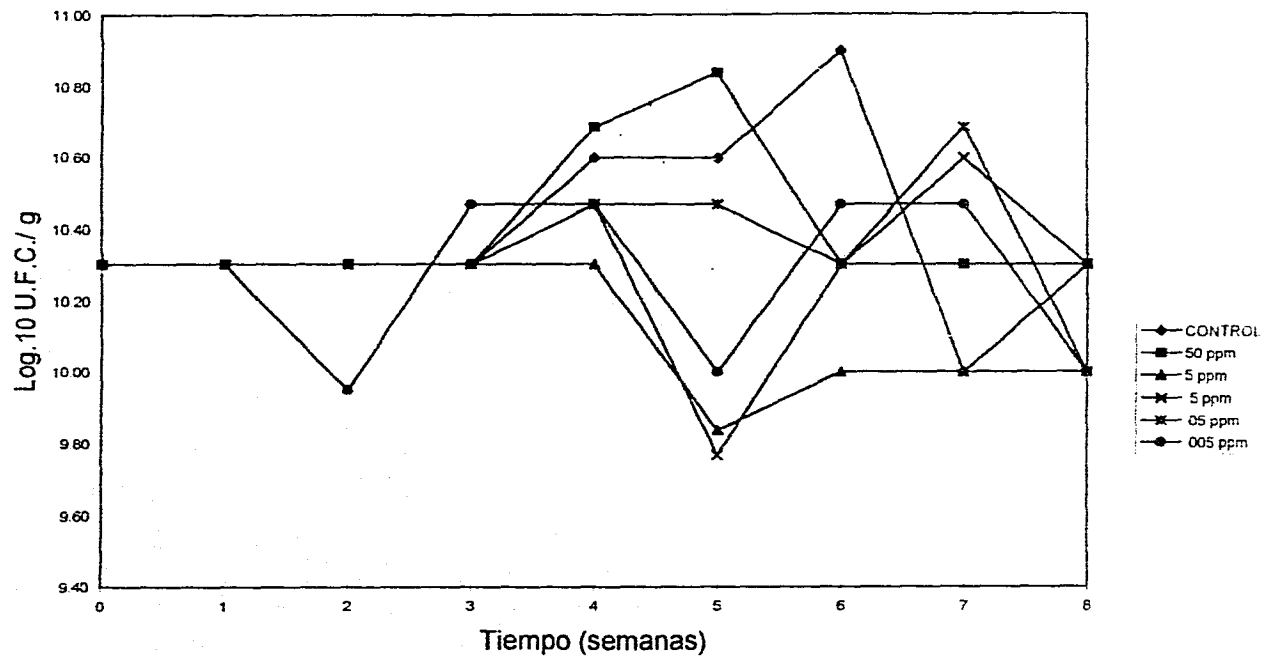
Gráfica 7

Furadán compuesto comercial con 61.10% de Humedad.
Log10 U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



Gráfica 8

Furadán compuesto comercial con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



Gráfica 9

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Furadán compuesto comercial con 61.1% de Humedad. Log10 U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)

misma forma que en el caso anterior. ver gráficas: 10, 11, 12, 13, 14, se observa el mismo comportamiento para las cinco concentraciones, con un ligero incremento al final para las concentraciones de 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm.

En la gráfica 15 se muestra el comportamiento de la bacteria a las cinco concentraciones estudiadas.

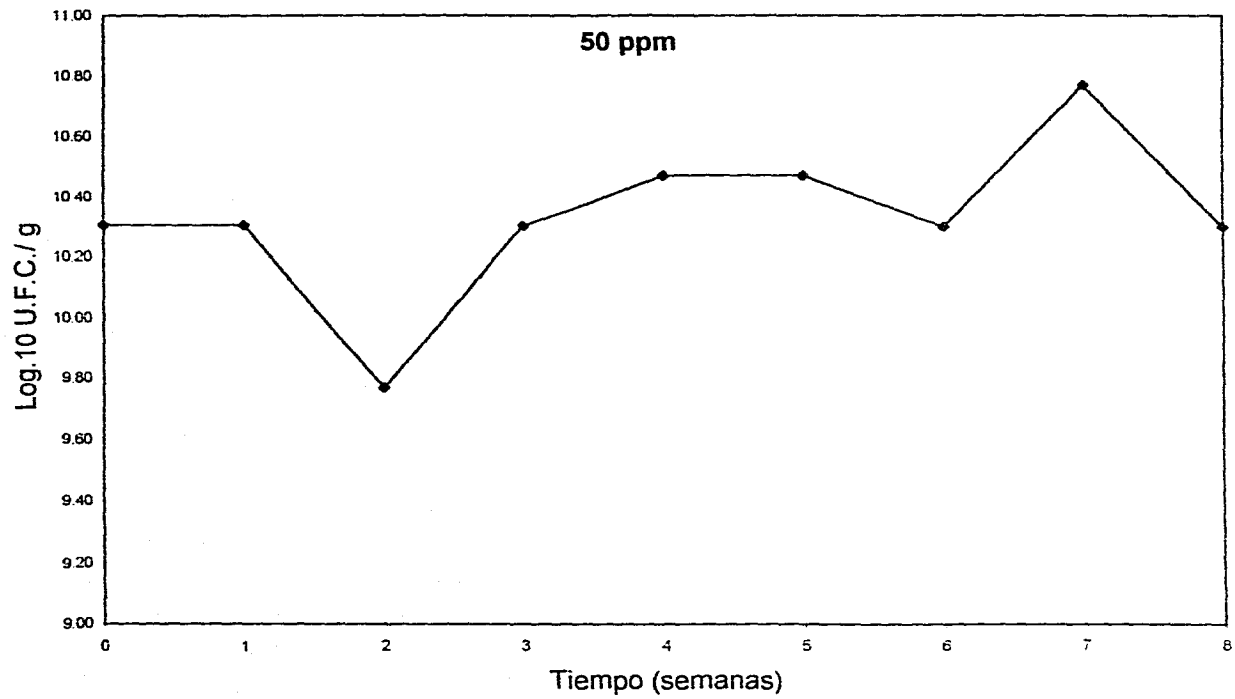
En el tercer experimento realizado con Furadán compuesto comercial (carbamato) en suelo seco (14.7% de humedad) el comportamiento de *Bacillus thuringiensis* fué determinado de la misma manera que en los experimentos anteriores, Ver gráficas: 16,17,18,19 20; se observa que en las cinco concentraciones hubo un comportamiento similar, la sobrevivencia es heterogénea finalizandose en todos los casos con valores similares a los del inicio.

La gráfica 21 muestra el comportamiento de la bacteria en Presencia de Furadán compuesto comercial (carbamato) en suelo seco (14.7% de humedad) a las cinco concentraciones estudiadas.

En el cuarto experimento realizado con Furadán grado técnico (carbamato) en suelo seco (14.7% de humedad) ver gráficas: 22,23,24,25,26 se observa un comportamiento con tendencia a decaer progresivamente en las cinco concentraciones en las que se llevó a cabo el experimento, con ligeras caídas e incrementos a lo largo de las ocho semanas.

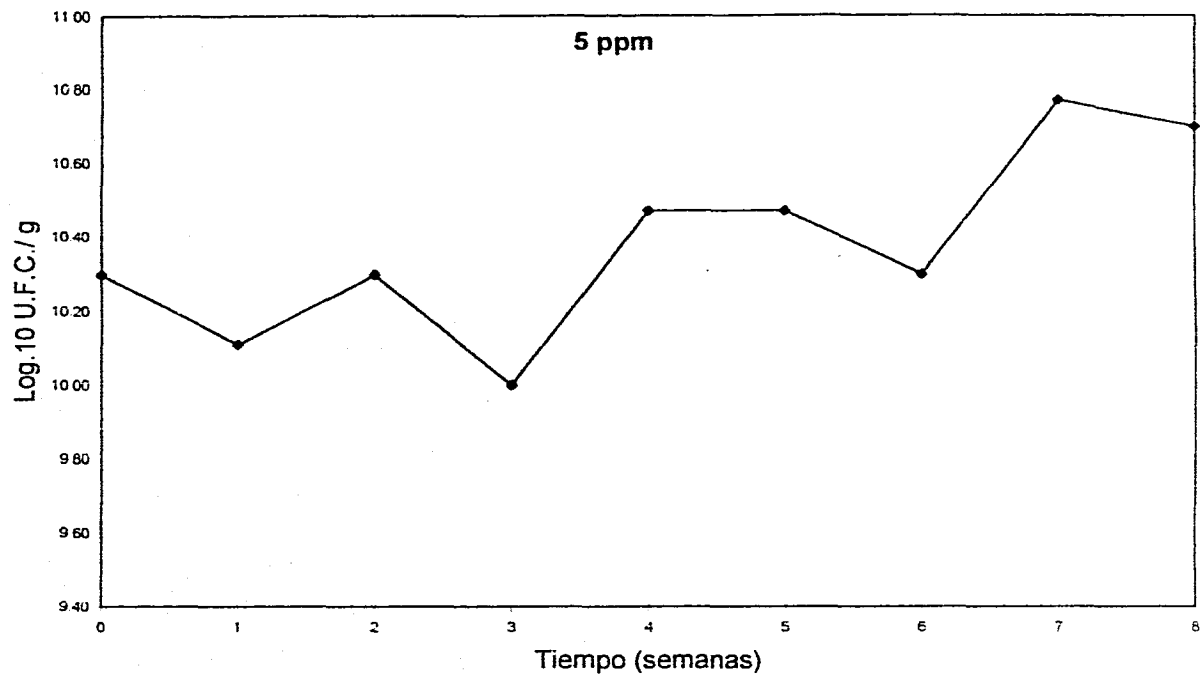
En la gráfica 27 se muestra el comportamiento de la bacteria a las cinco concentraciones estudiadas.

En el quinto experimento realizado con DÍAZINÓN compuesto comercial (organofosforado) en suelo Humedo (61.1% de humedad) ver gráficas 28,29,30,31,32 en las cinco concentraciones *Bacillus thuringiensis* tuvo el mismo comportamiento. La viabilidad se vió disminuida de la -



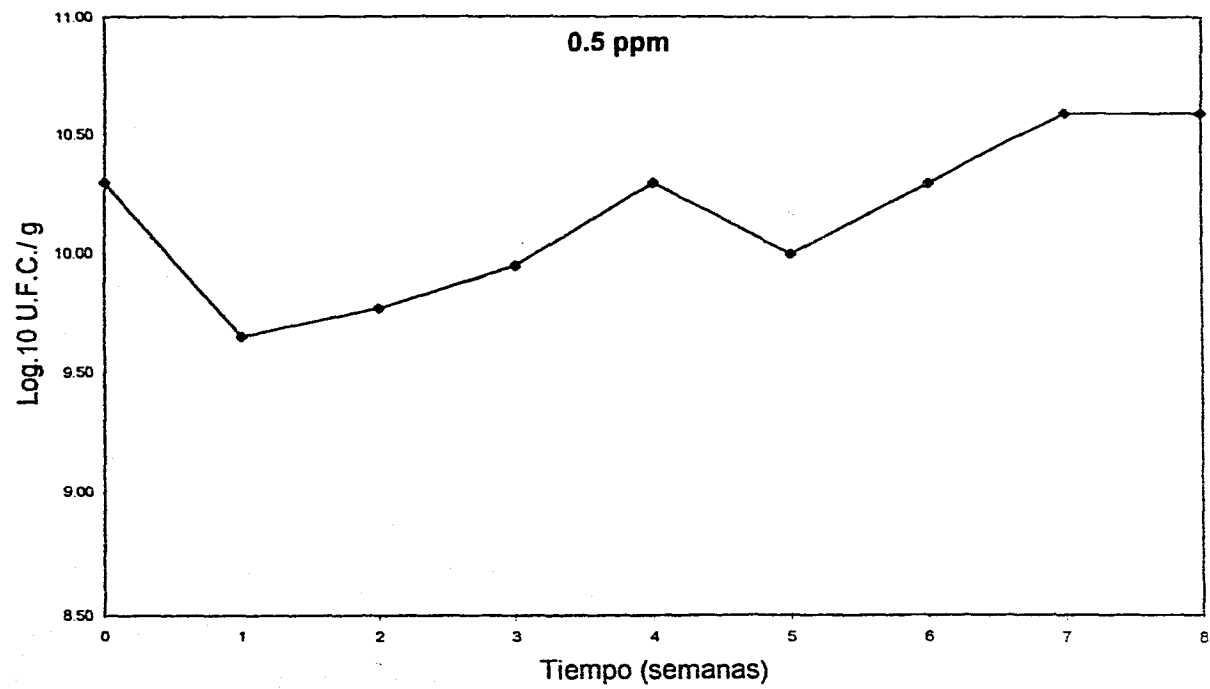
Gráfica 10

Furadán grado técnico con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



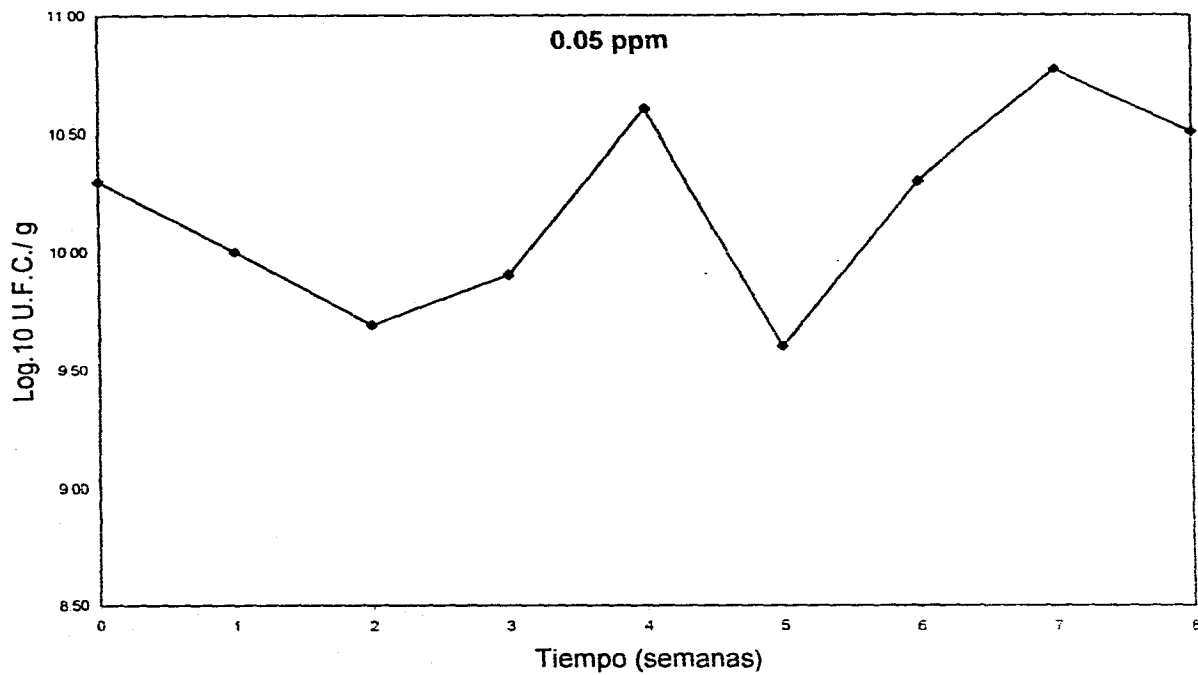
Gráfica 11

Furadán grado técnico con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



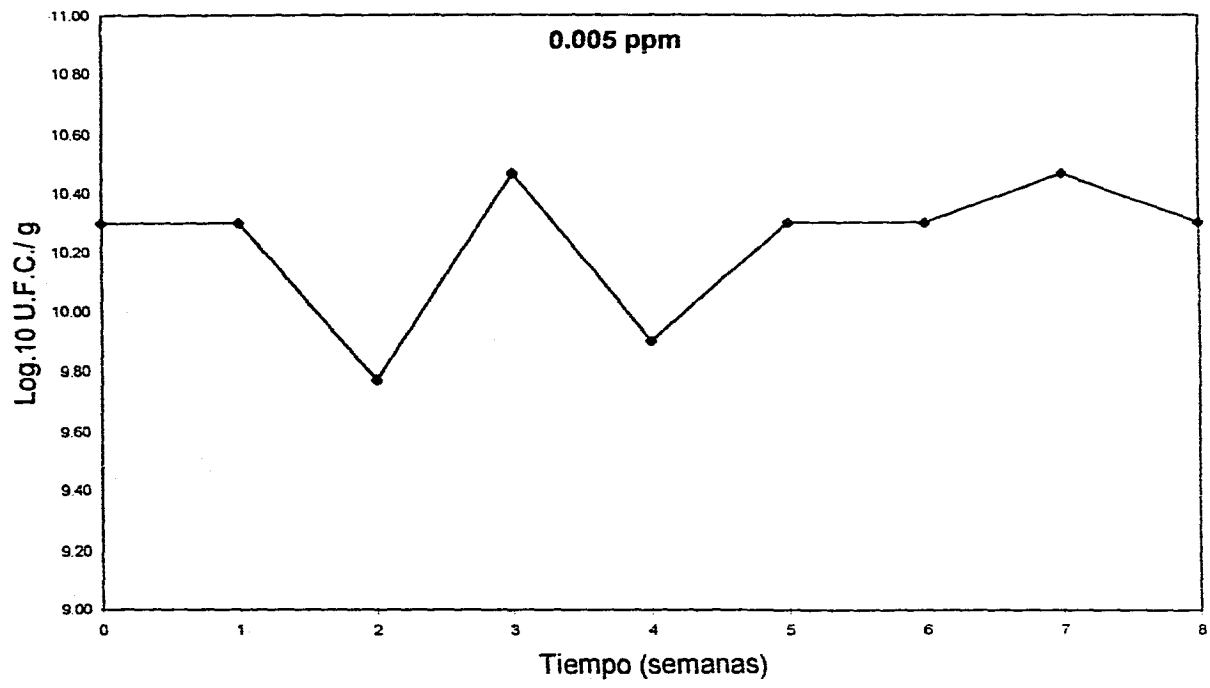
Gráfica 12

Furadán grado técnico con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



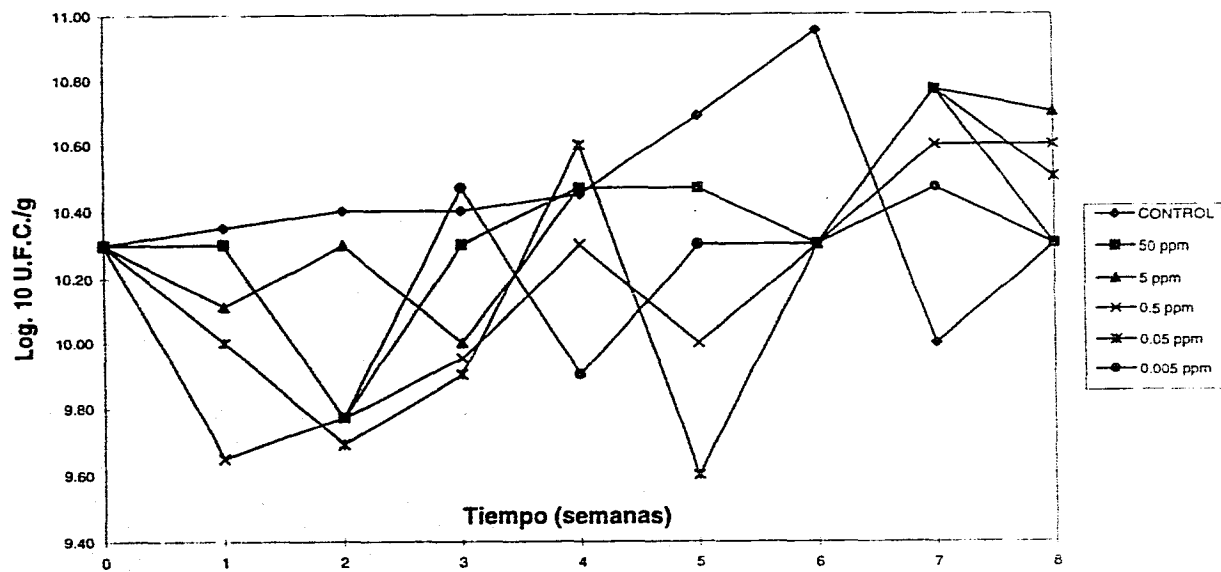
Gráfica 13

Furadán grado técnico con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



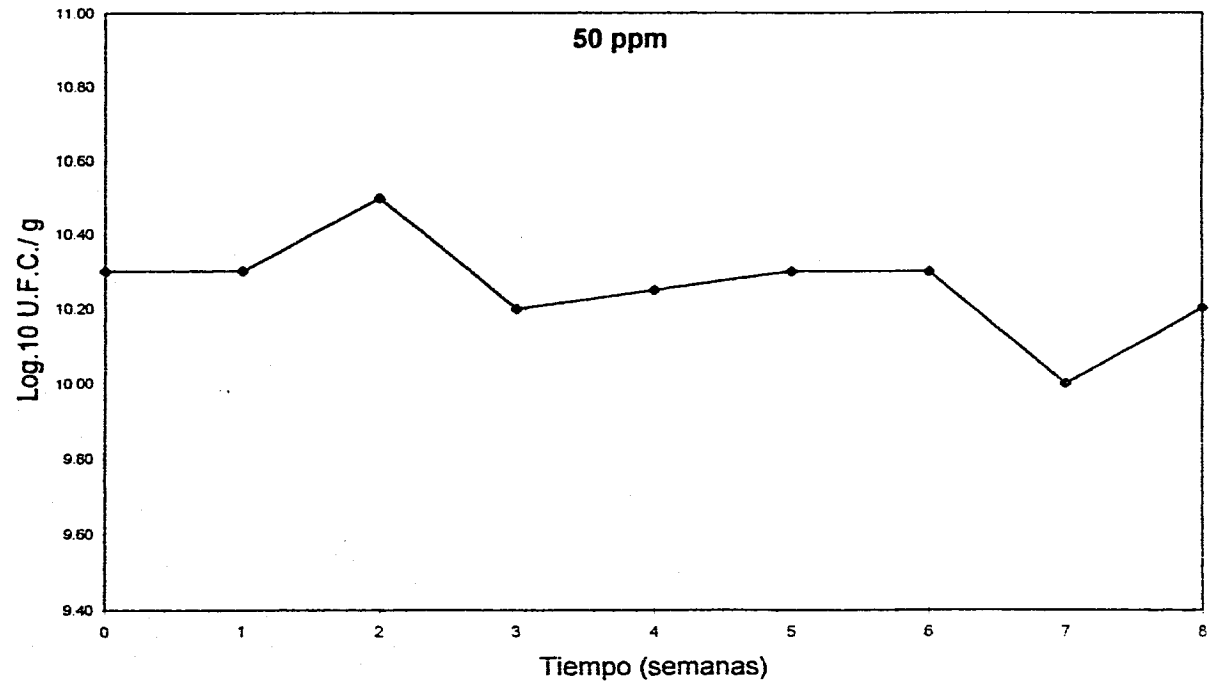
Gráfica 14

Furadán grado técnico con 61.10% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



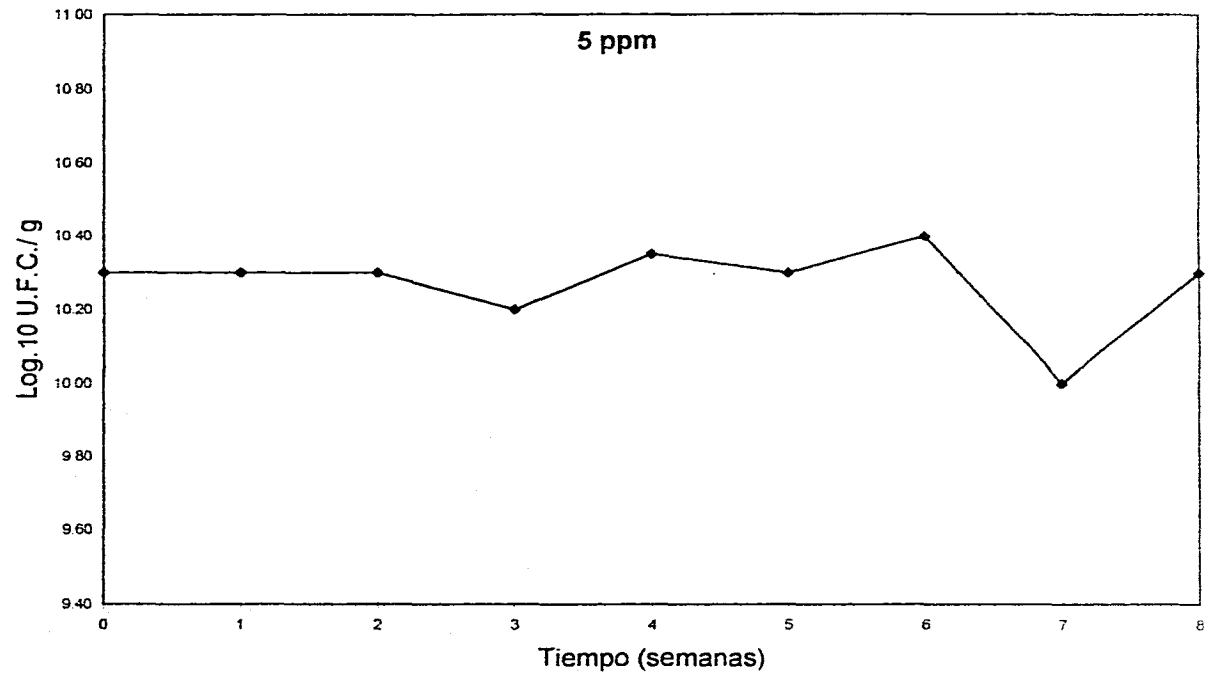
Gráfica 15

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Furadán grado técnico con 61.1% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas).



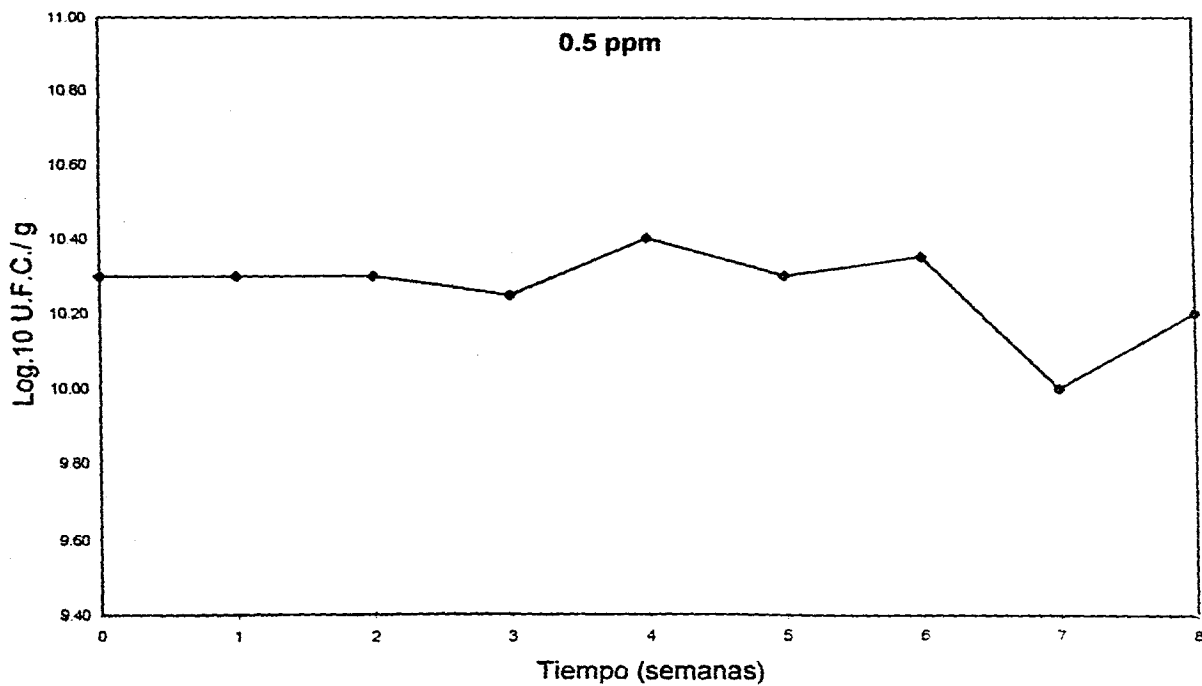
Gráfica 16

Furadán compuesto comercial con 14.70% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



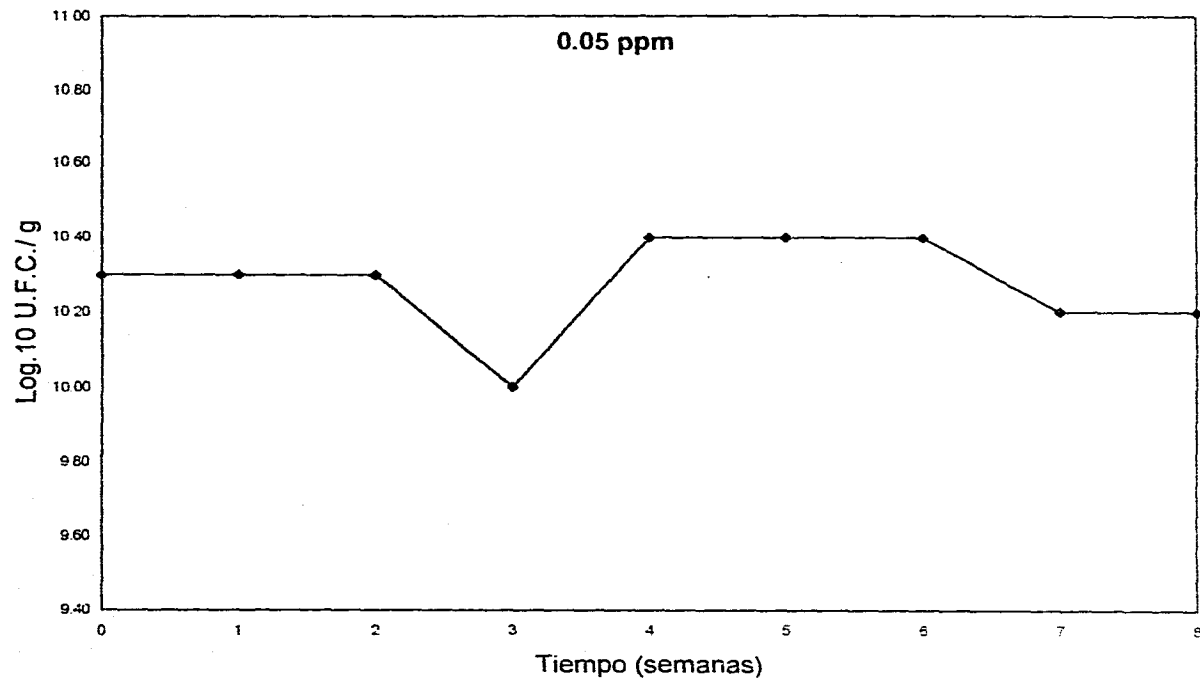
Gráfica 17

Furadán compuesto comercial con 14.70% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



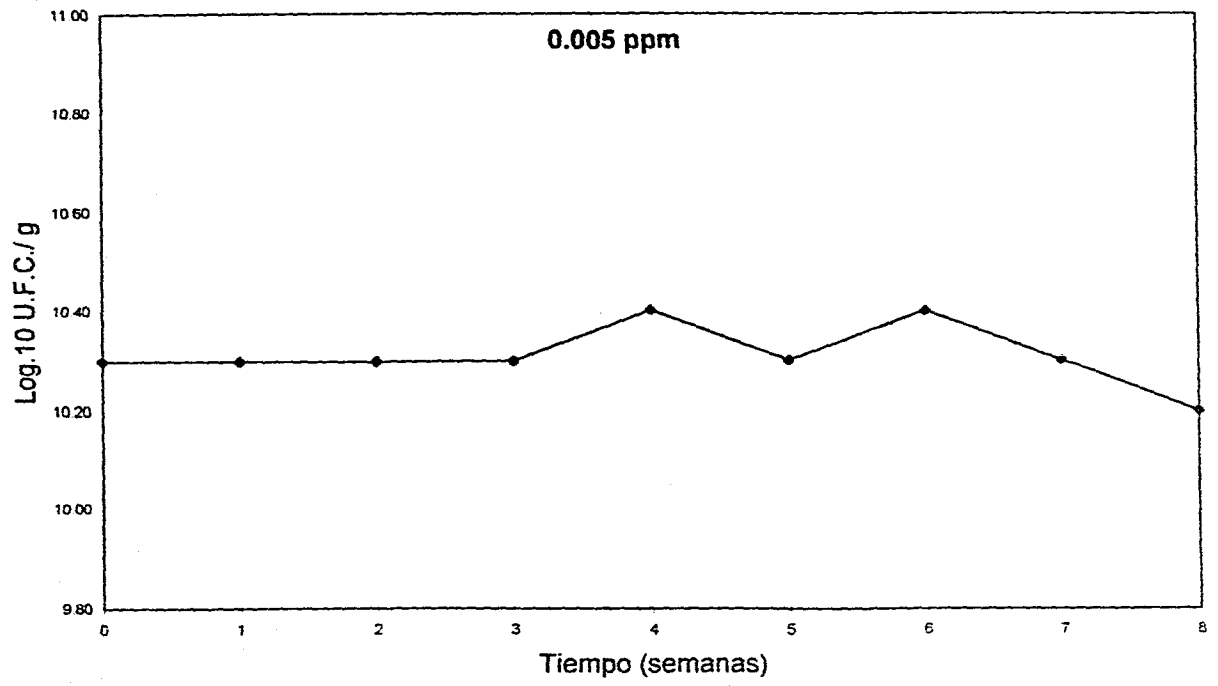
Gráfica 18

Furadán compuesto comercial con 14.70% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



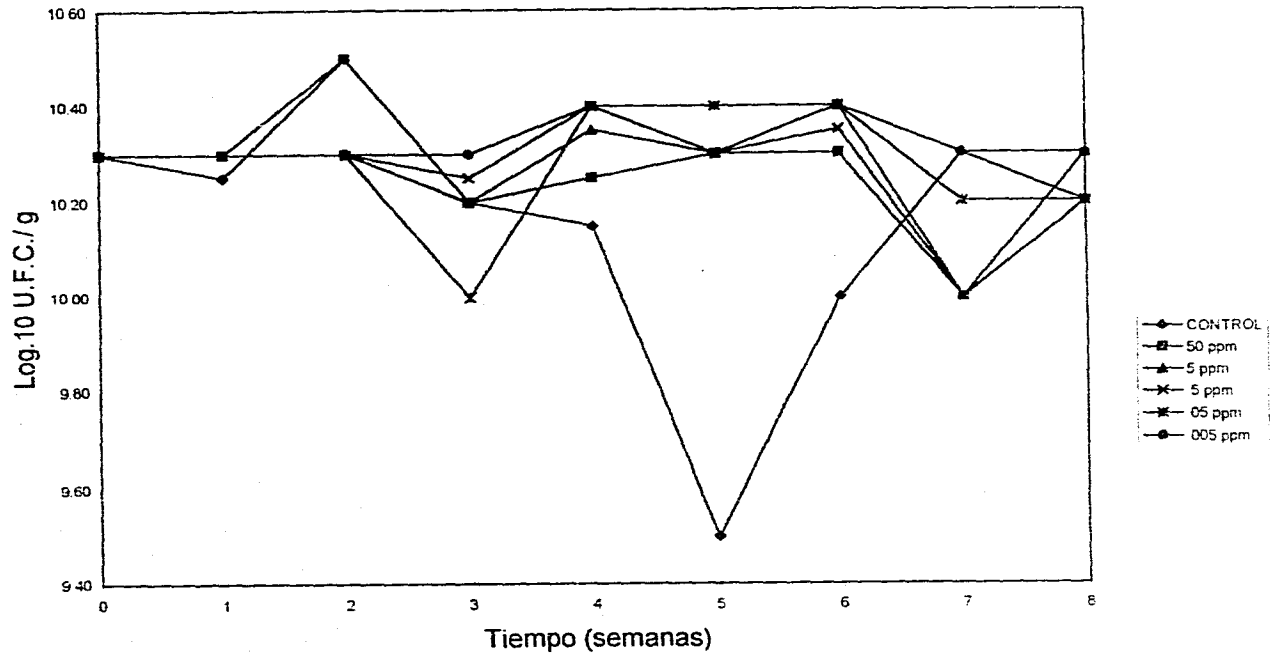
Gráfica 19

Furadán compuesto comercial con 14.70% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



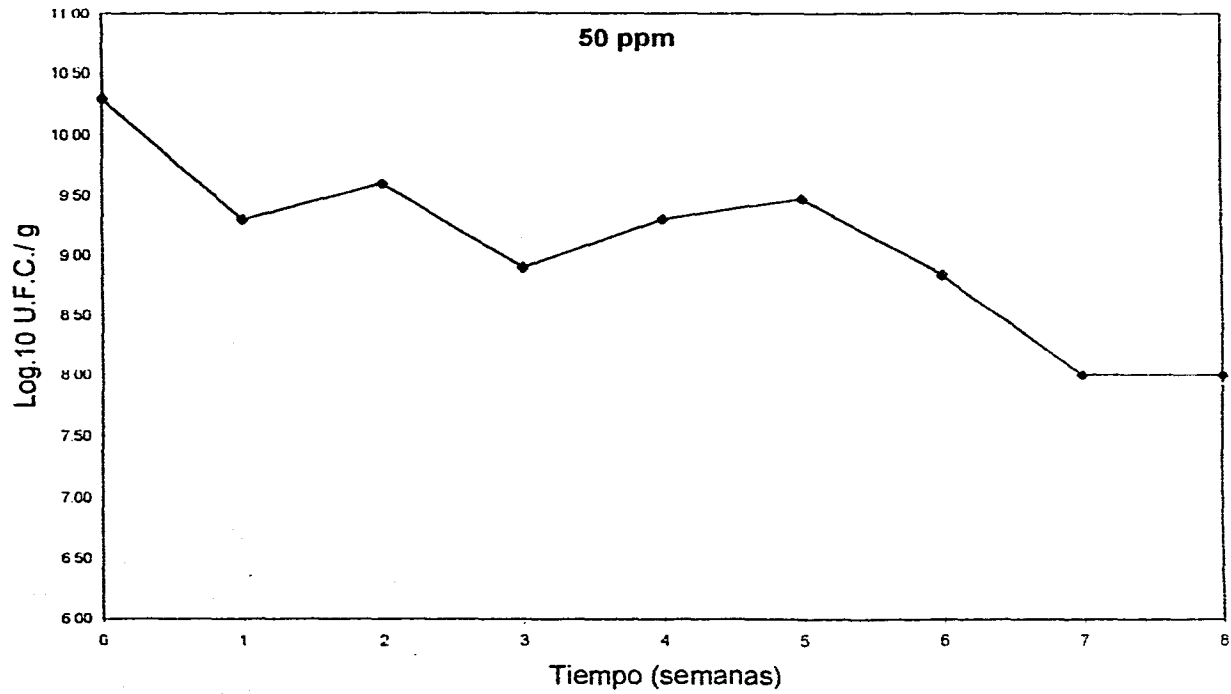
Gráfica 20

Furadán compuesto comercial con 14.70% de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



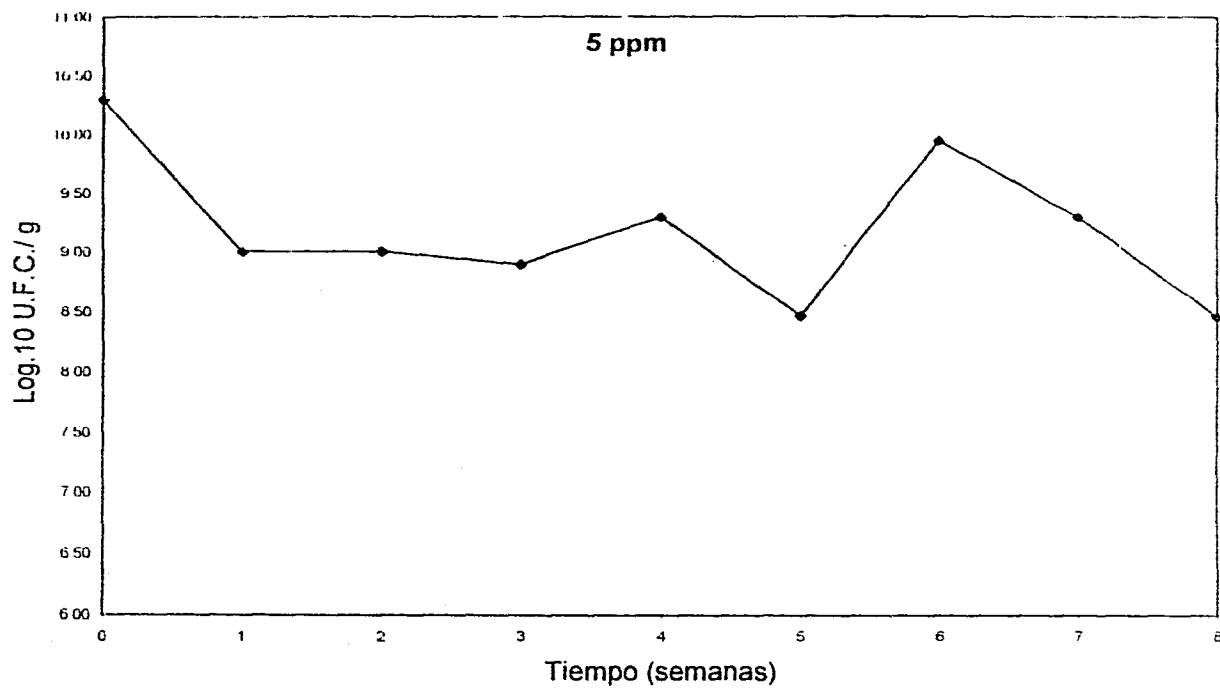
Gráfica 21

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Furadán compuesto comercial con 14.7% de Humedad. Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (Semanas)



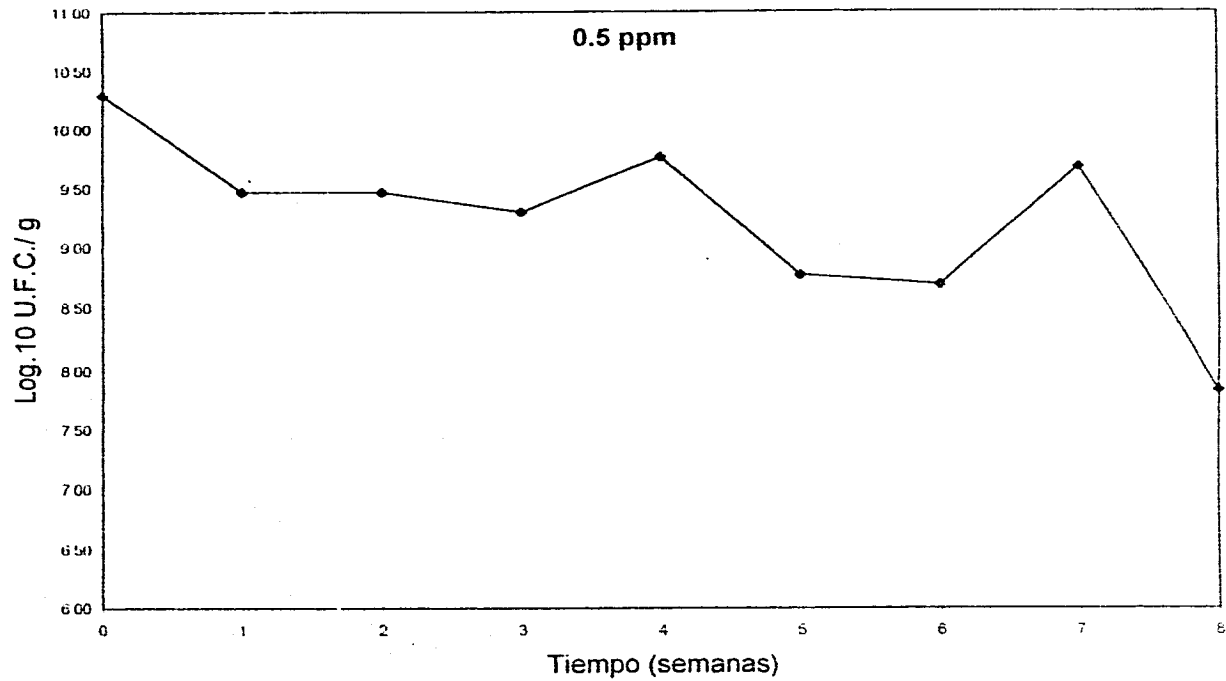
Gráfica 22

Furadán grado técnico con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



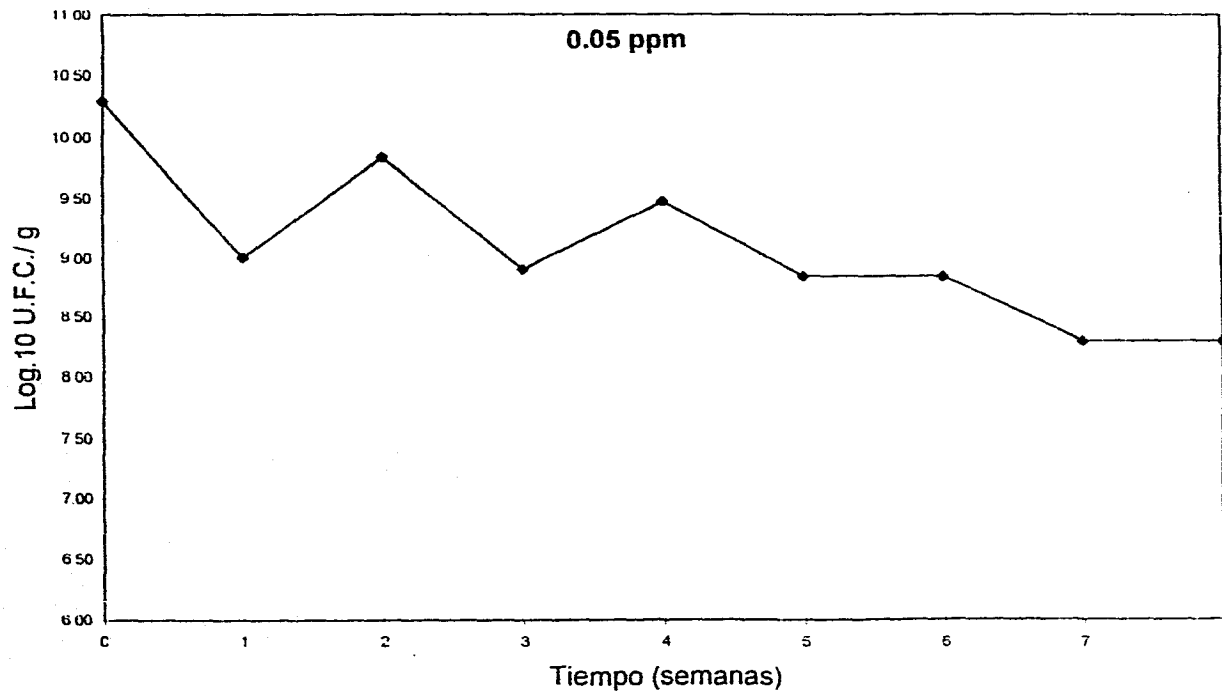
Gráfica 23

Furadán grado técnico con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



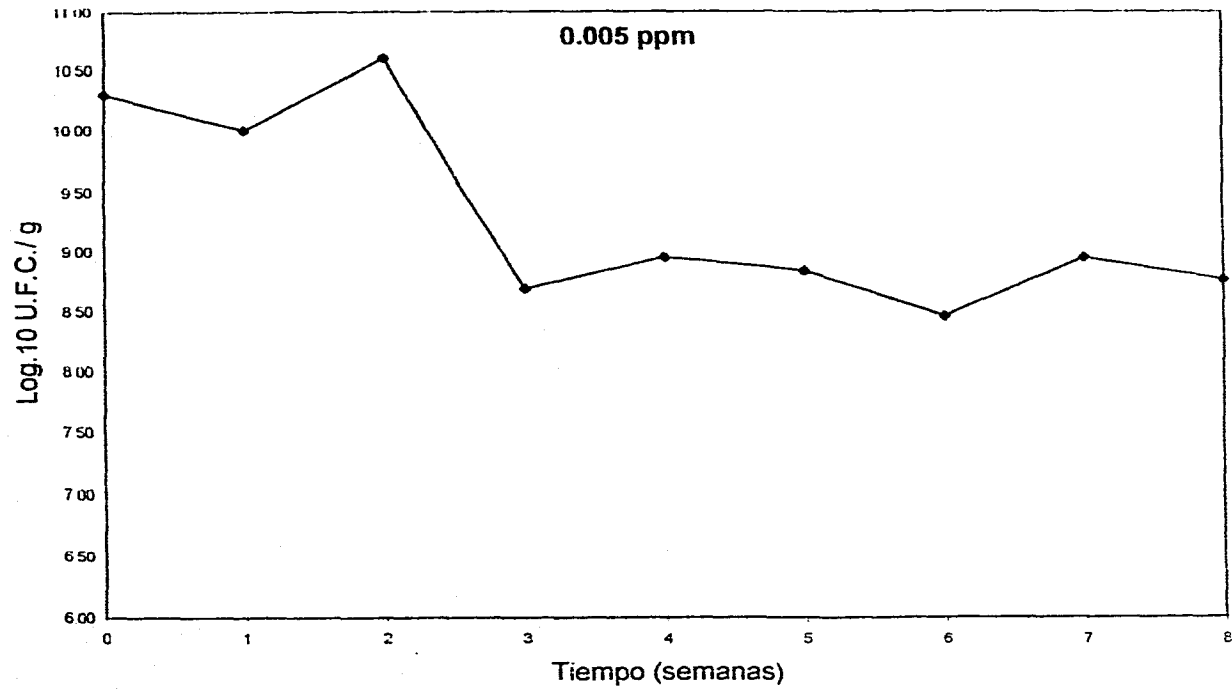
Gráfica 24

Furadán grado técnico con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



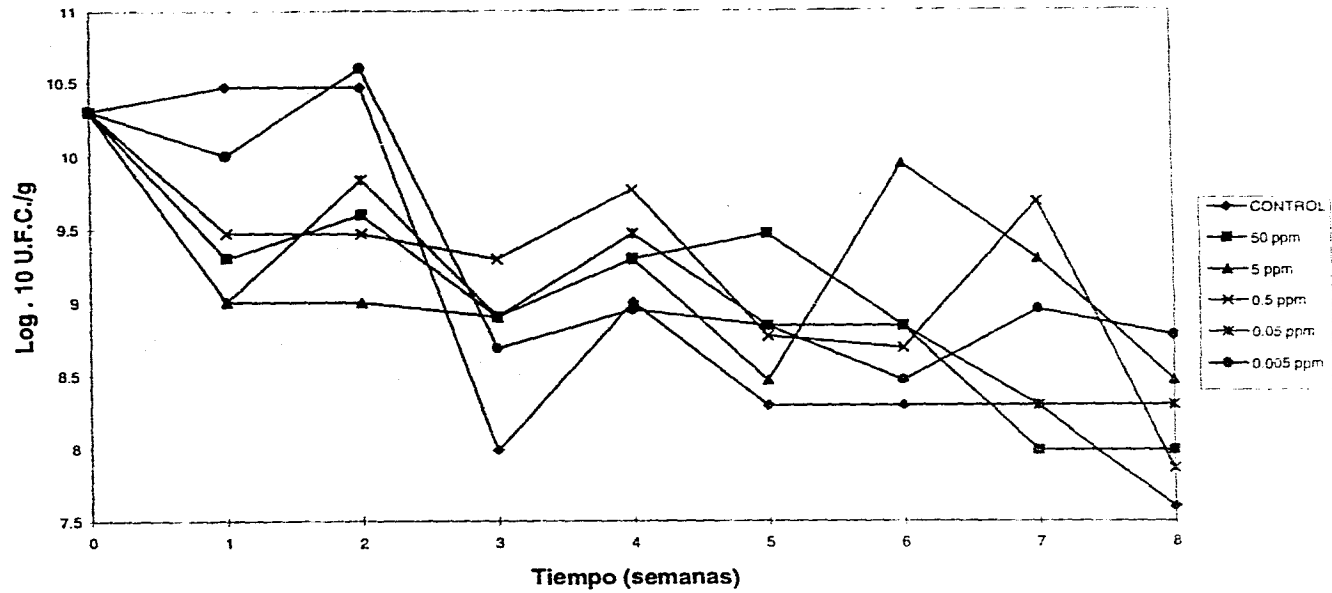
Gráfica 25

Furadán grado técnico con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



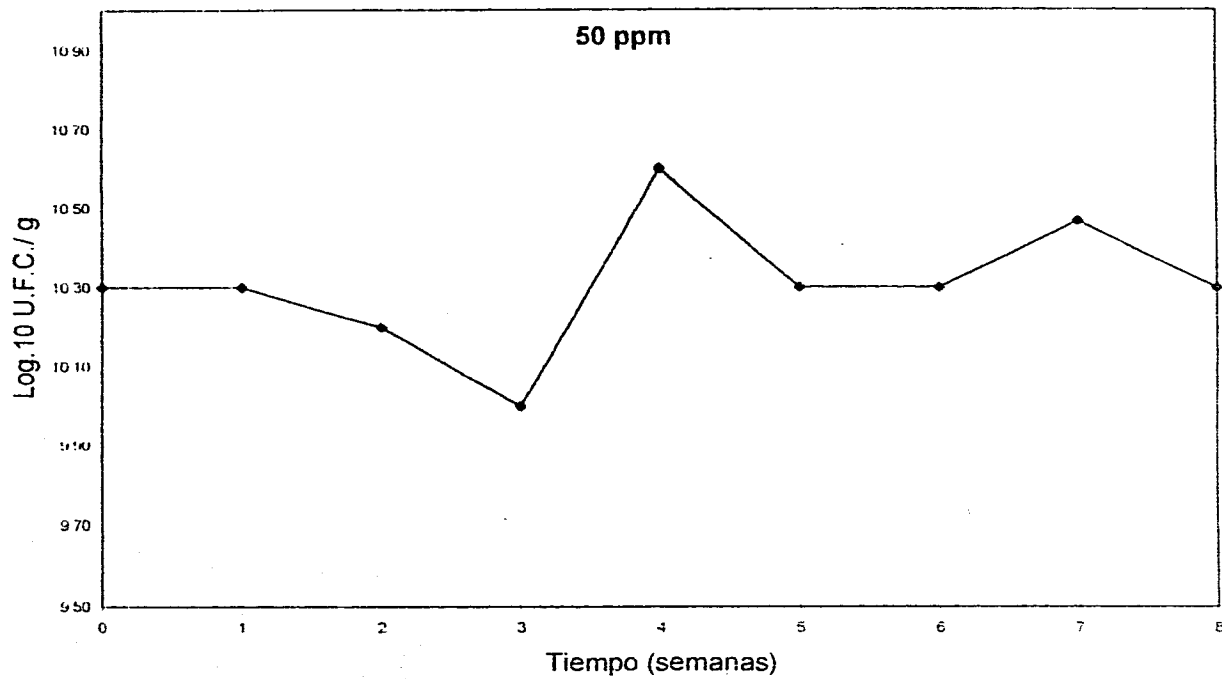
Gráfica 26

Furadán grado técnico con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



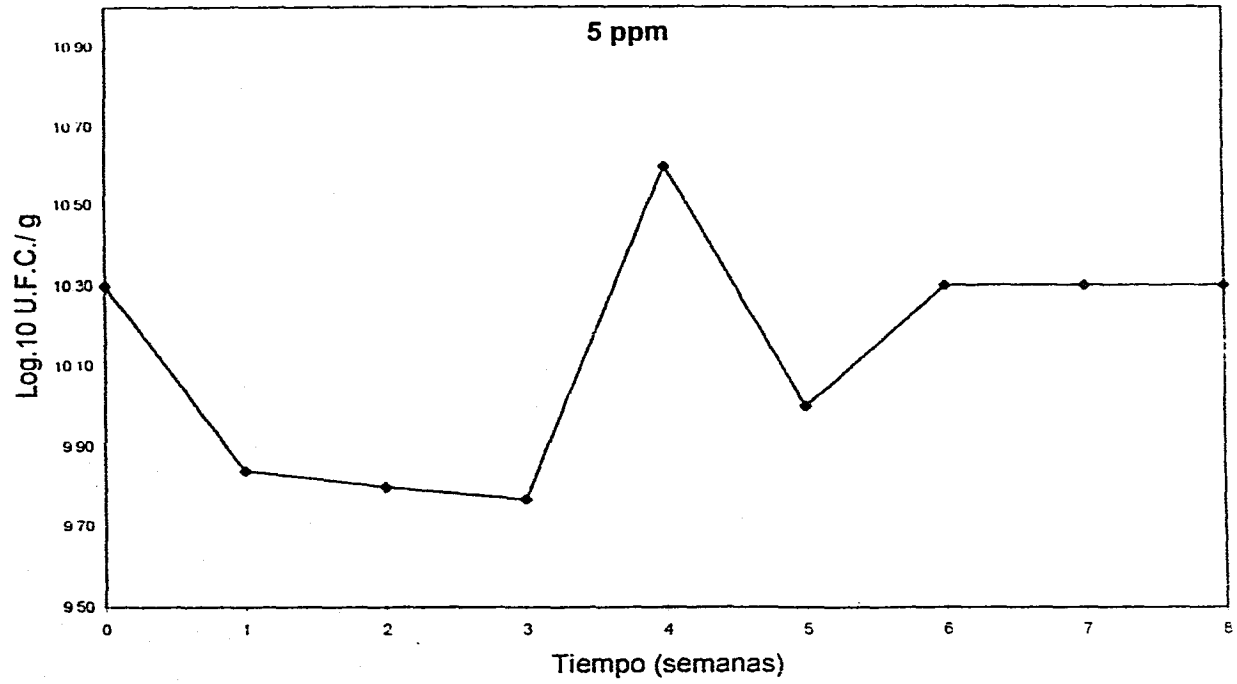
Gráfica 27

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Furadán grado técnico con 14.7% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas).



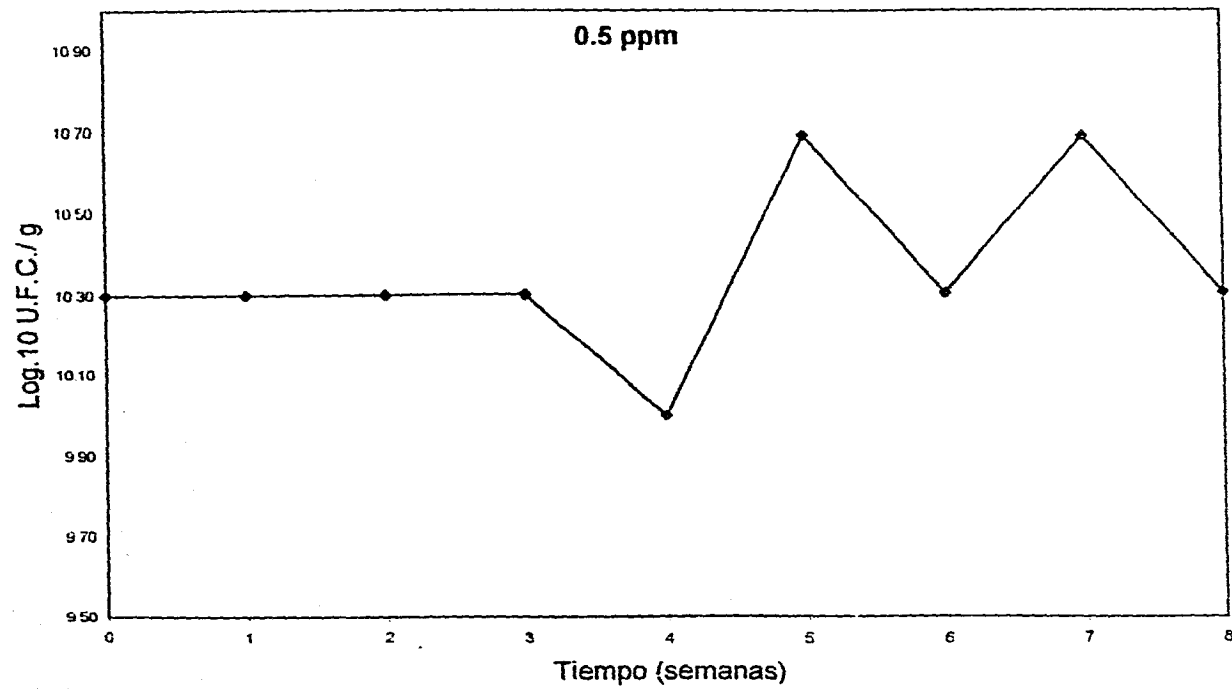
Gráfica 28

Diazinon compuesto comercial con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



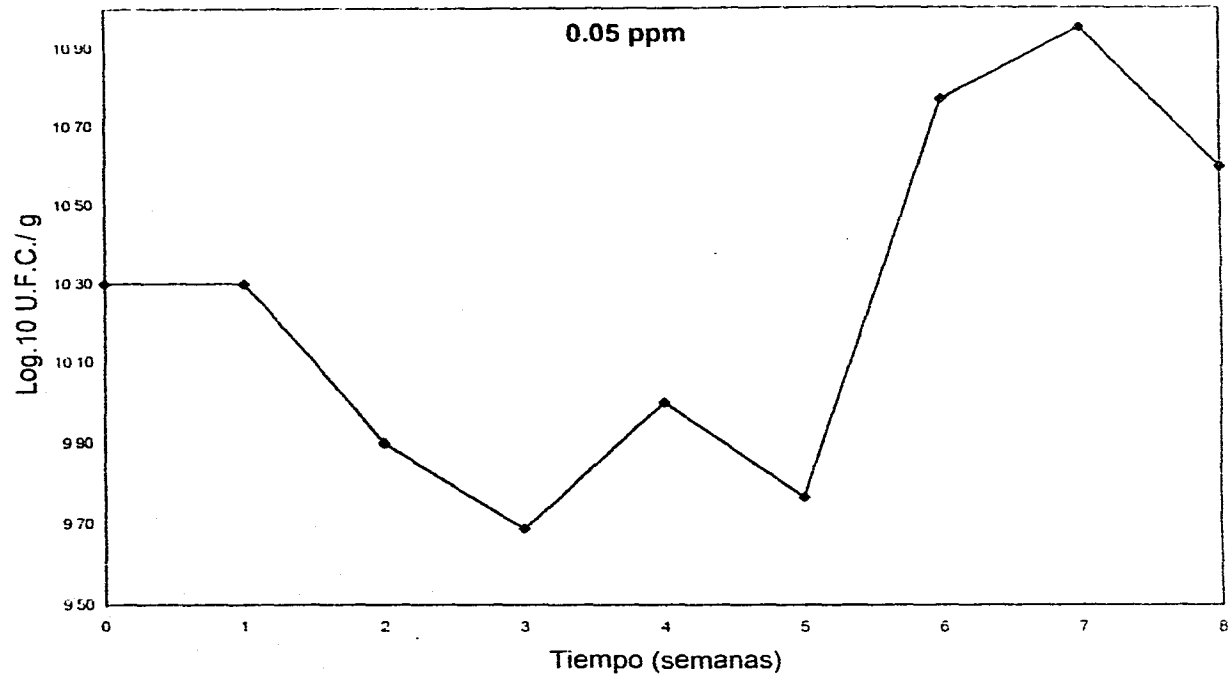
Gráfica 29

Diazinon compuesto comercial con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



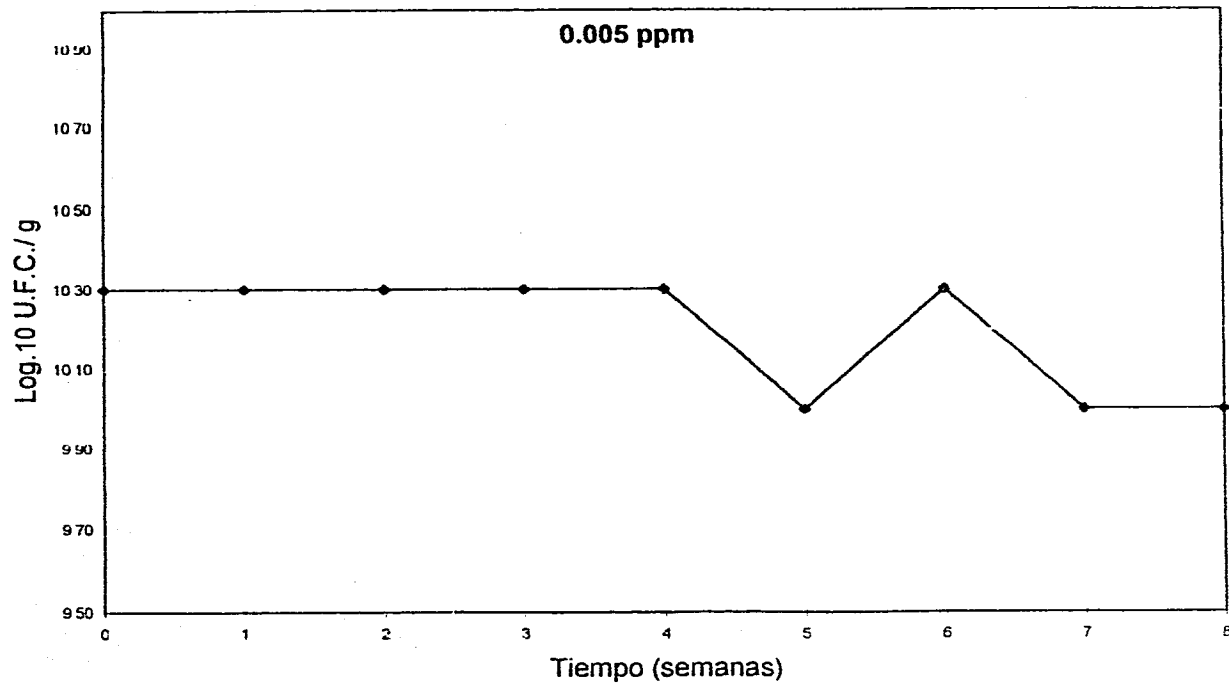
Gráfica 30

Diazinon compuesto comercial con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



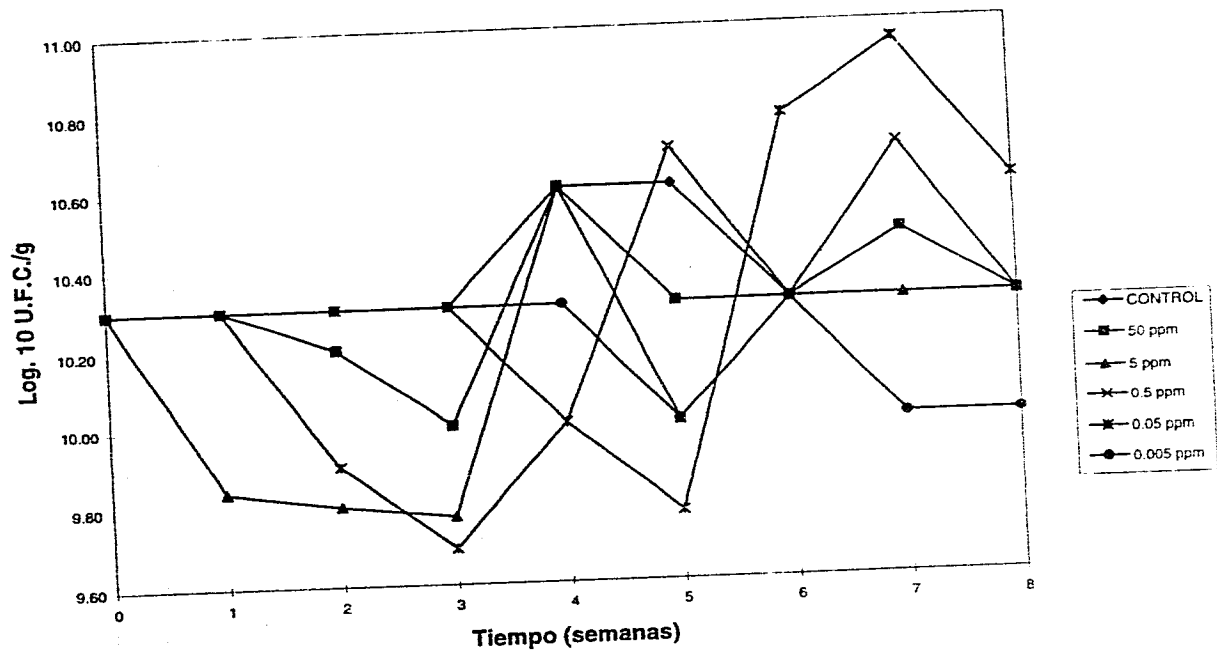
Gráfica 31

Diazinon compuesto comercial con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



Gráfica 32

Diazinon compuesto comercial con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



Gráfica 33

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Diazinón compuesto comercial con 61.1% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas).

primera a la tercera semana, para la concentración de 0.5ppm disminuye en la cuarta semana, posteriormente vuelve a incrementarse con altibajos entre cada una de las concentraciones.

En la gráfica 33 se muestra el comportamiento de la bacteria a las cinco concentraciones estudiadas.

En el sexto experimento realizado con Diazinón grado técnico (organofosforado) en suelo Húmedo con (61.1% de humedad) ver gráficas 34,35,36,37,38; *Bacillus thuringiensis* tuvo un comportamiento similar para las cinco concentraciones, hasta la tercera semana la viabilidad permaneció constante, a partir de la cuarta semana comienza a disminuir para cuatro de las cinco concentraciones (50ppm, 5ppm, 0.5ppm, 0.05ppm, 0.005ppm) Para la concentración de 0.05ppm es constante hasta la quinta semana; en la sexta aumenta y en la séptima disminuye.

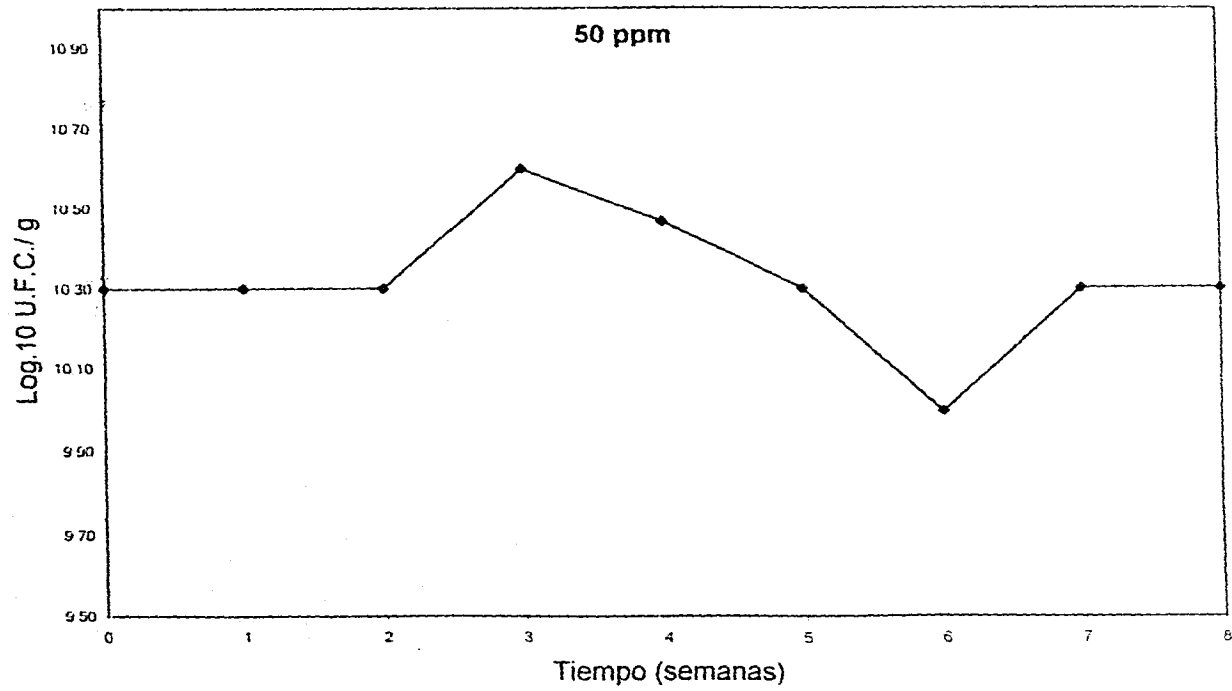
En las cinco concentraciones los valores iniciales y finales son muy similares excepto para la concentración de 0.5ppm, donde el valor final es menor al inicial.

En la gráfica 39 se muestra la viabilidad de la bacteria a las cinco concentraciones estudiadas.

En el séptimo experimento realizado con Diazinón grado técnico (organofosforado) en suelo seco (14.7% de humedad) ver gráficas: 40,41,42,43,44 el comportamiento es similar para las cinco concentraciones y la viabilidad se ve disminuida en forma progresiva y continua durante las ocho semanas, no habiendo diferencia entre cada una de ellas y finalizando en todos los casos con valores menores al inicial.

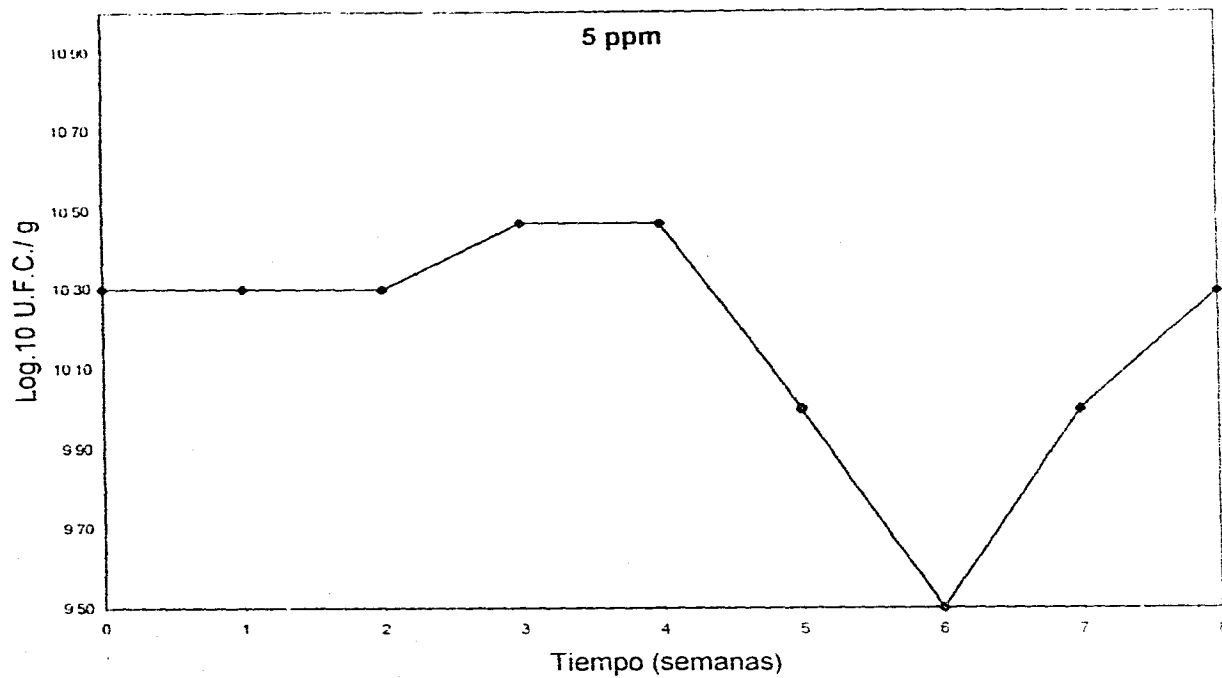
En la gráfica 45 se muestra el comportamiento de la bacteria a las cinco concentraciones estudiadas.

En el octavo experimento realizado con Diazinón compuesto comercial (organofosforado) en suelo seco con (14.7% de humedad) ver gráficas: 46,47,48,49,50 el comportamiento es el ———



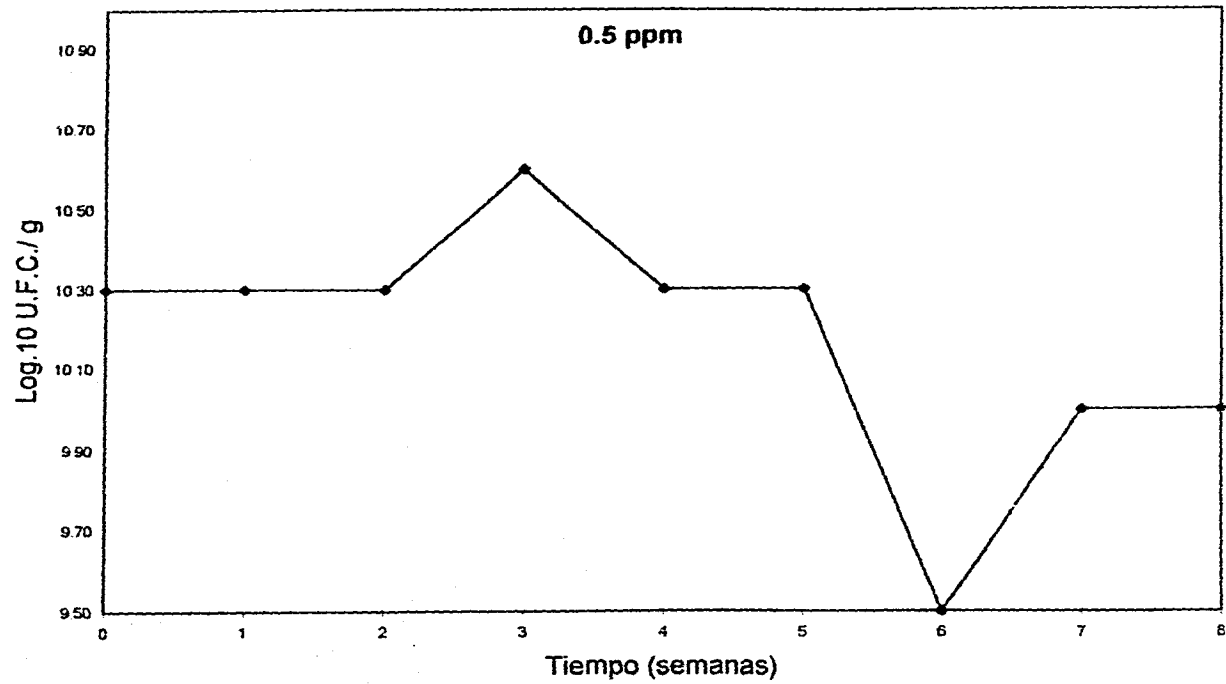
Gráfica 34

Diazinon grado técnico con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



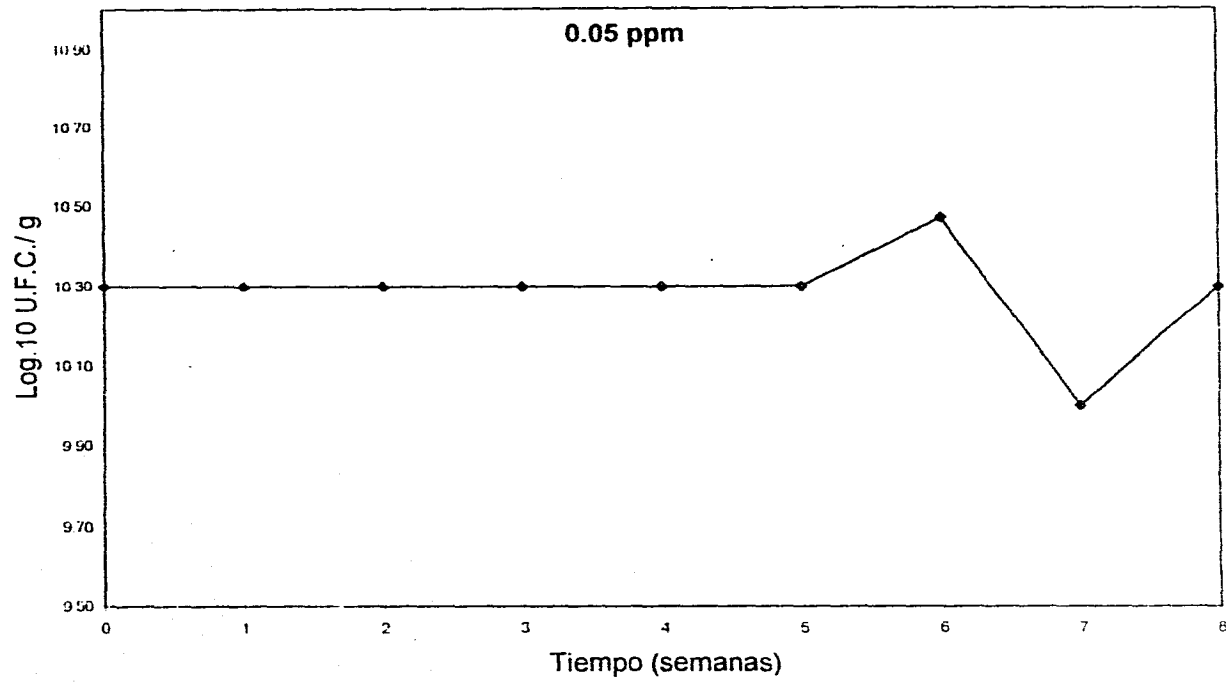
Gráfica 35

Diazinon grado técnico con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



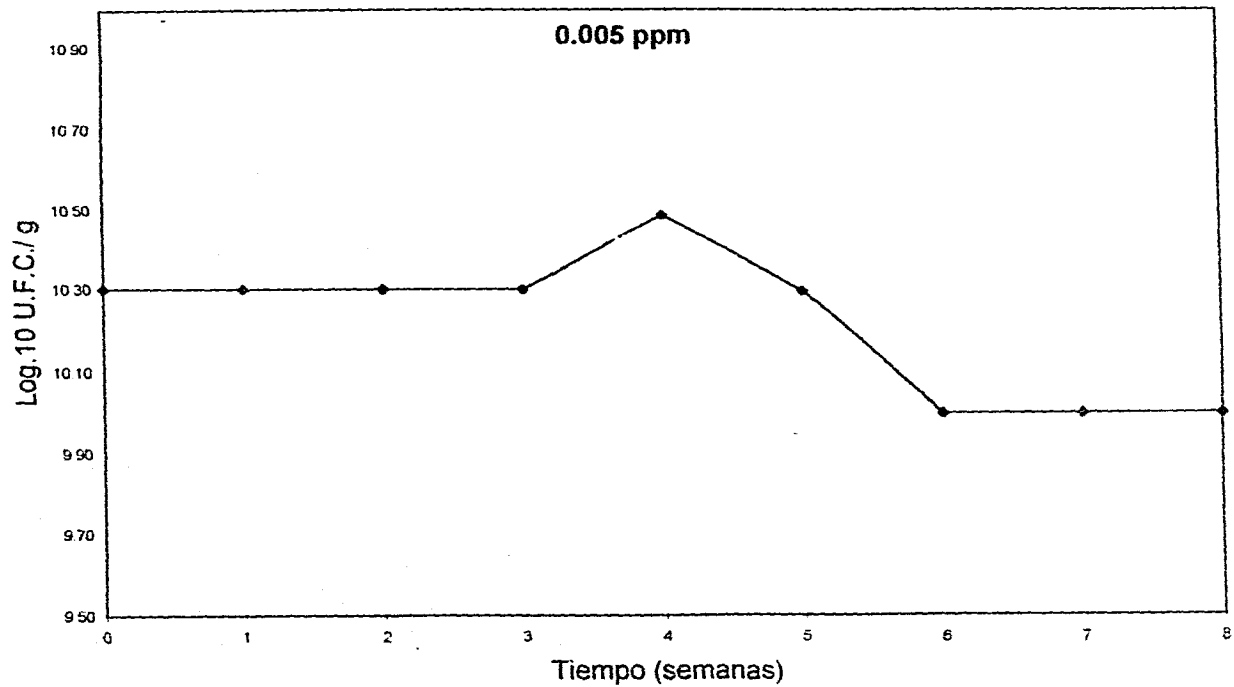
Gráfica 36

Diazinon grado técnico con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



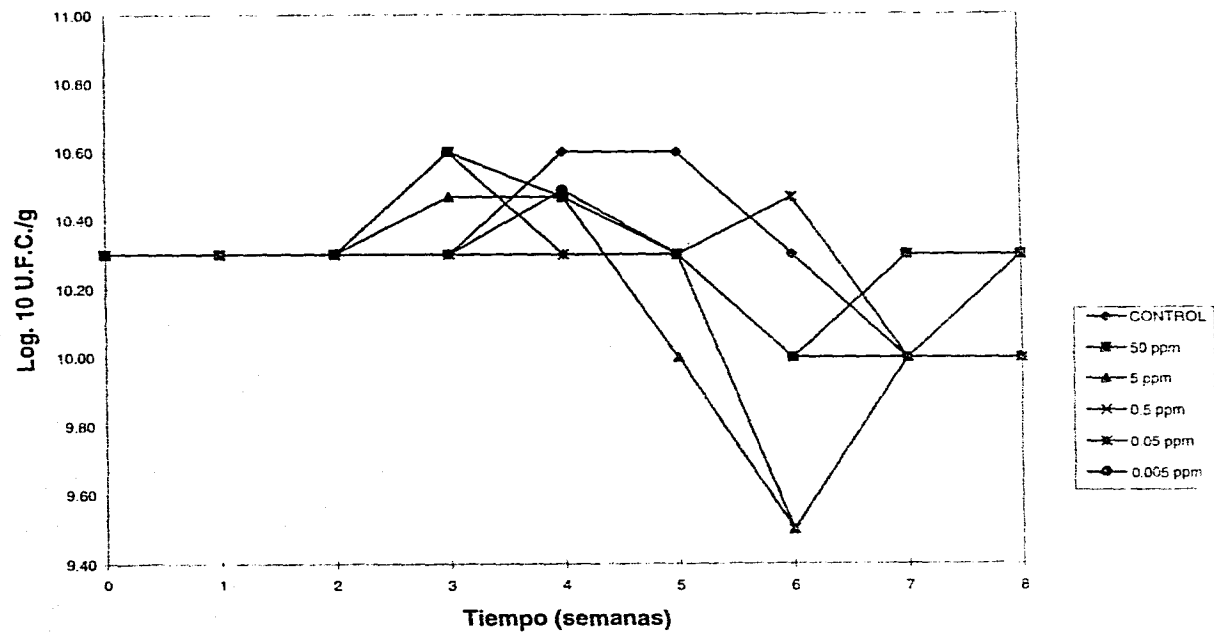
Gráfica 37

Diazinon grado técnico con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



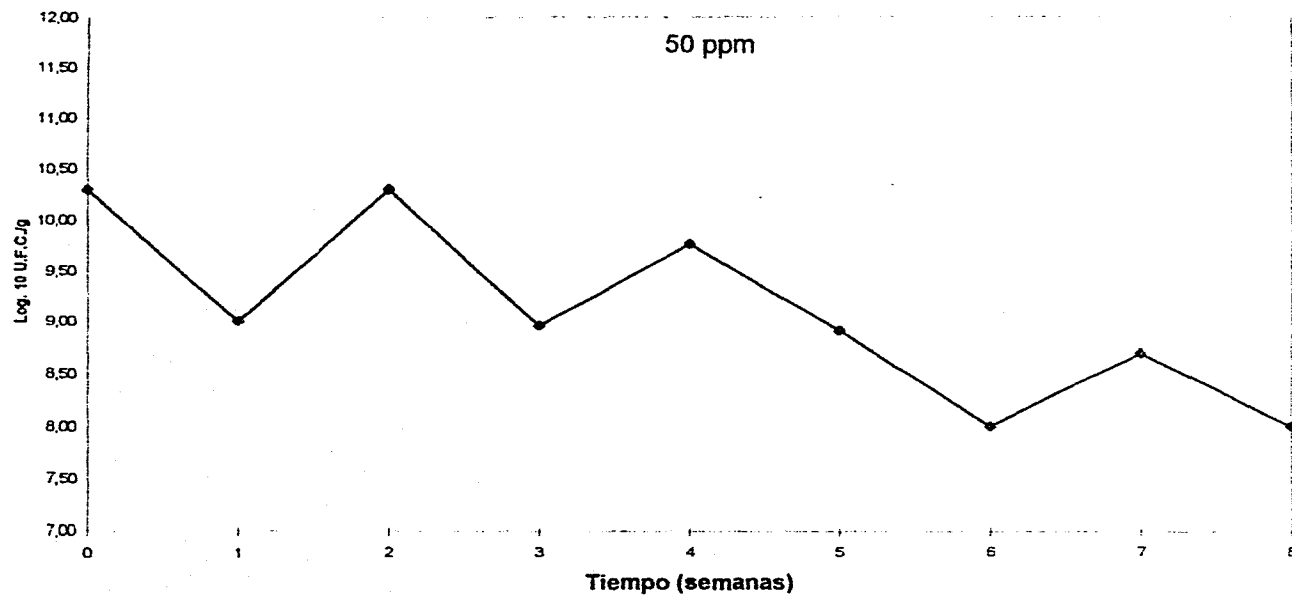
Gráfica 38

Diazinon grado técnico con 61.1 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



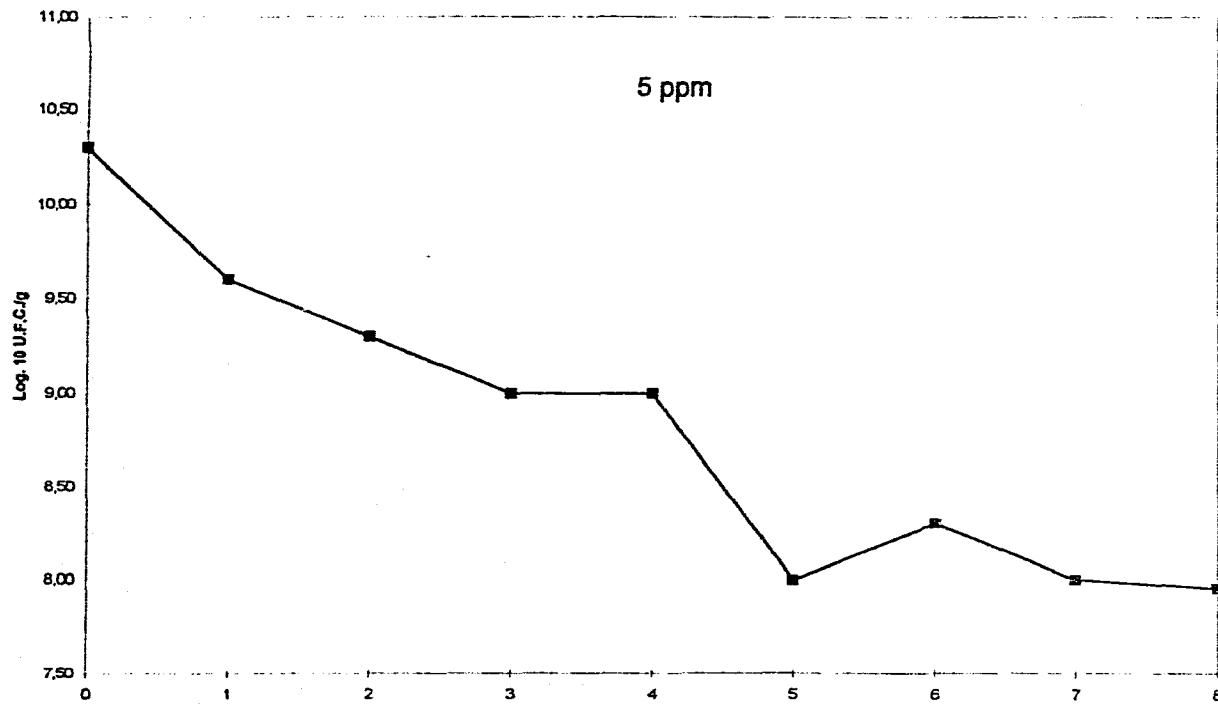
Gráfica 39

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Diazinón grado técnico con 61.1% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas).



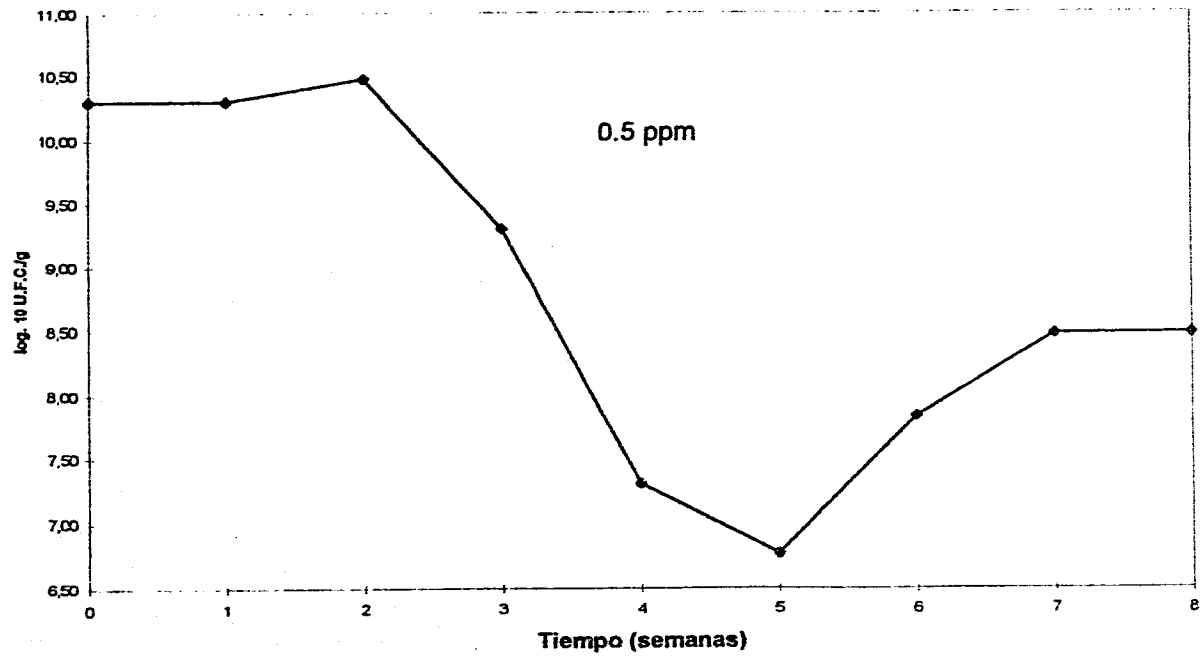
Gráfica 40

Diazinon grado técnico con 14.7% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas)



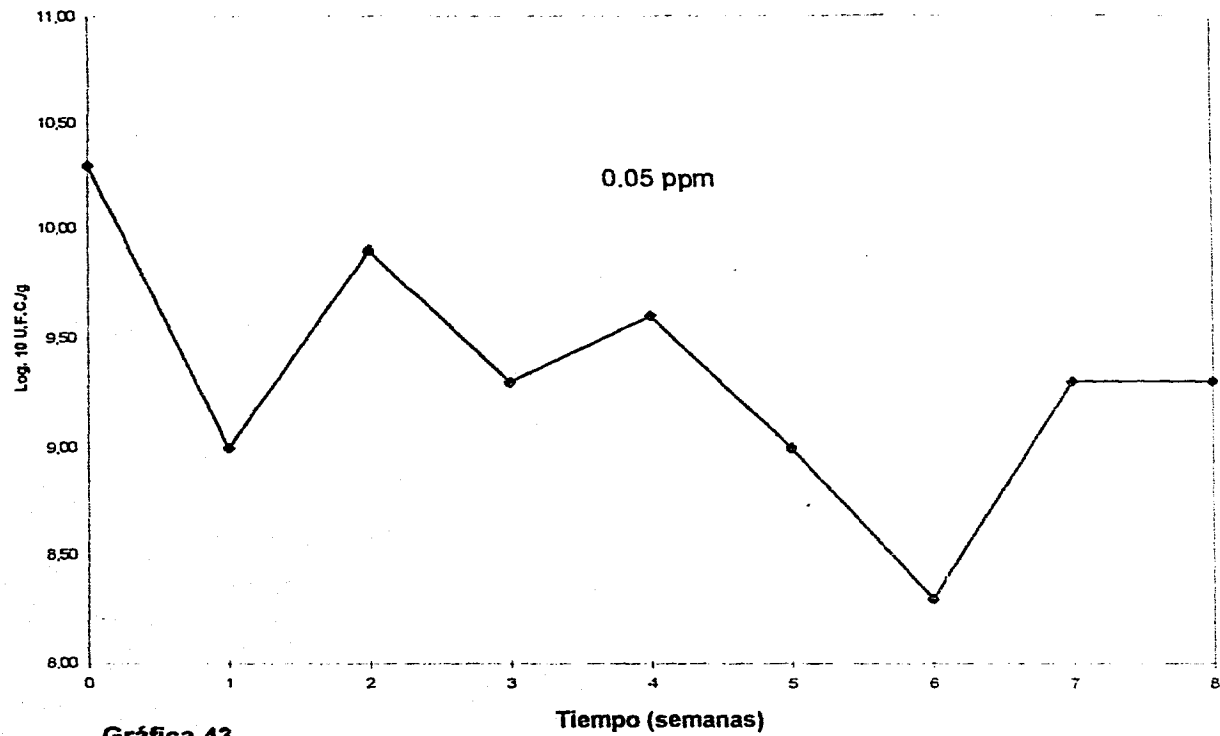
Gráfica 41

Diazinon grado técnico con 14.7% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas)



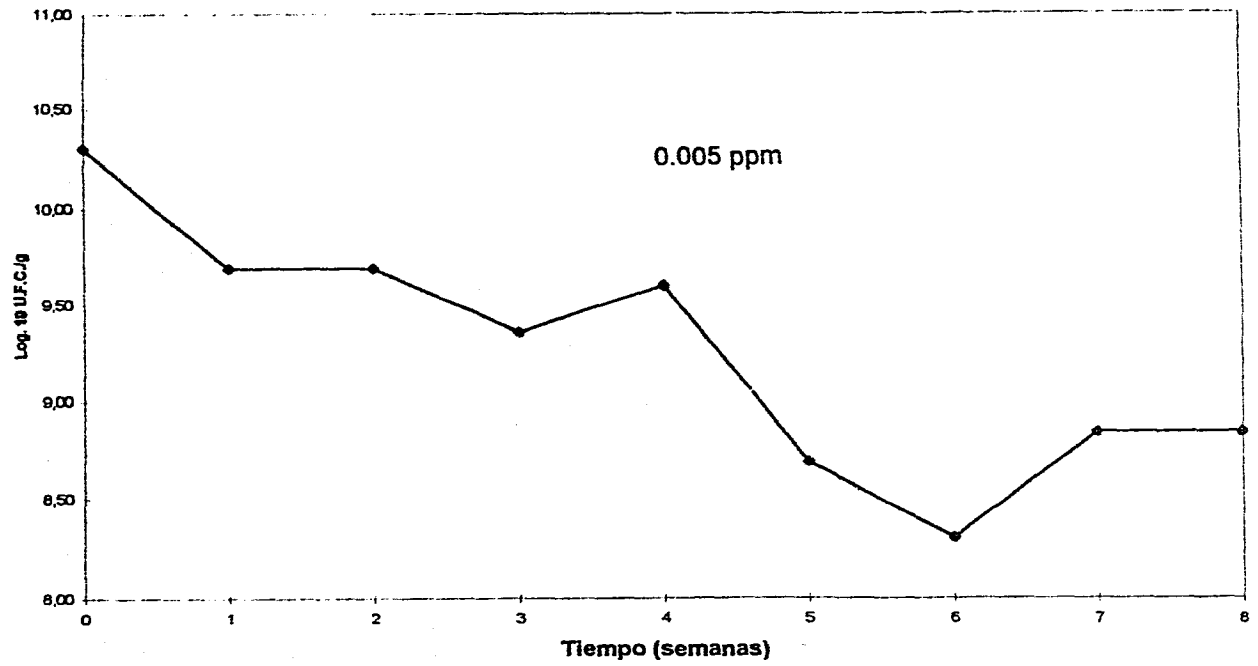
Gráfica 42

Diazinon grado técnico con 14.7% de humedad. Log 10 U.F.C./suelo vs Tiempo (semanas)



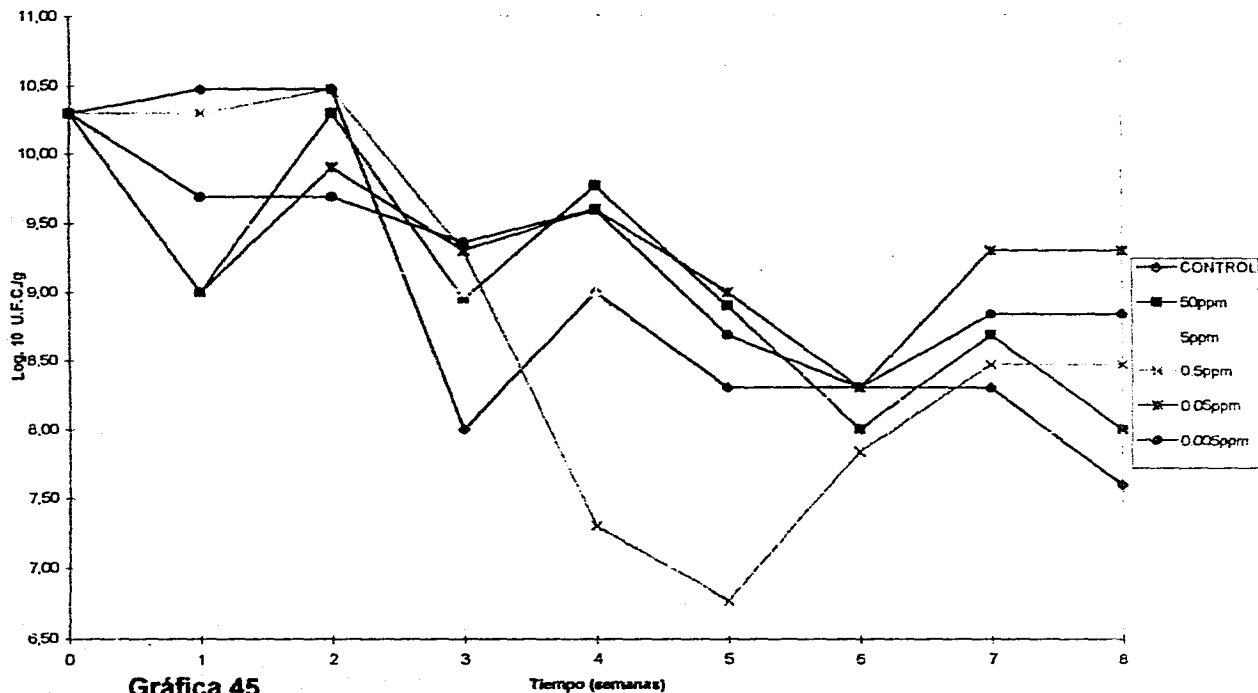
Gráfica 43

Diazinon grado técnico con 14.7% de humedad. Log₁₀ U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas)



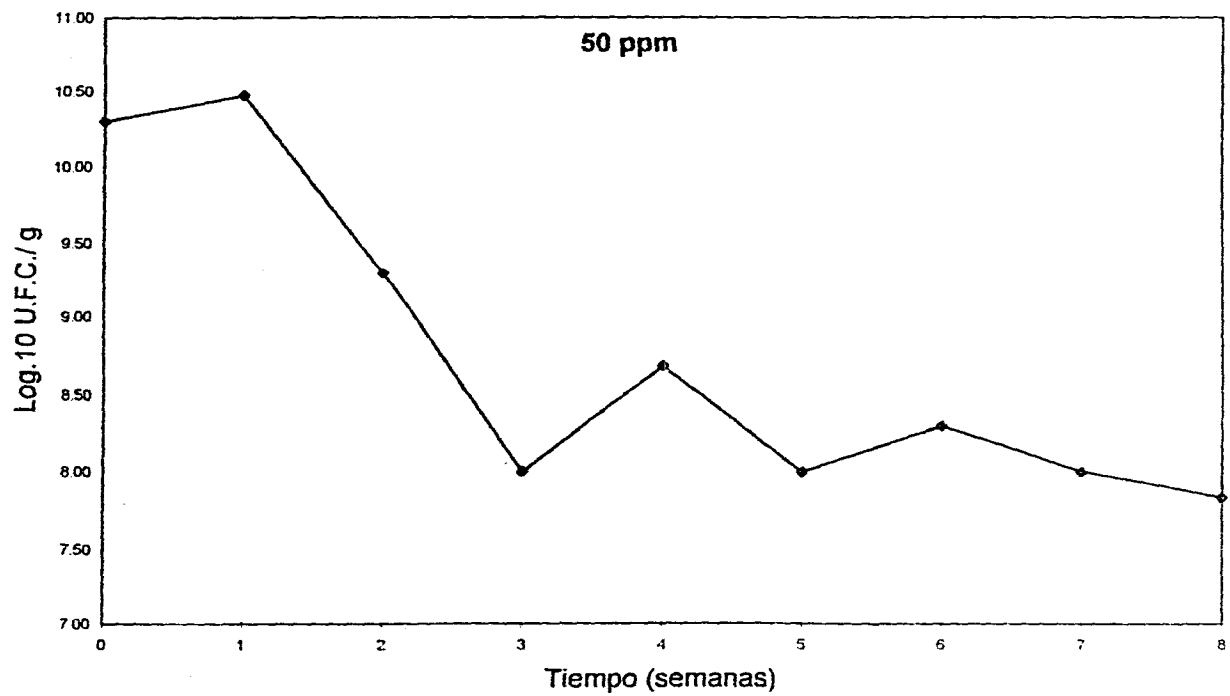
Gráfica 44

Diazinon grado técnico con 14.7% de humedad. Log 10 U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas)



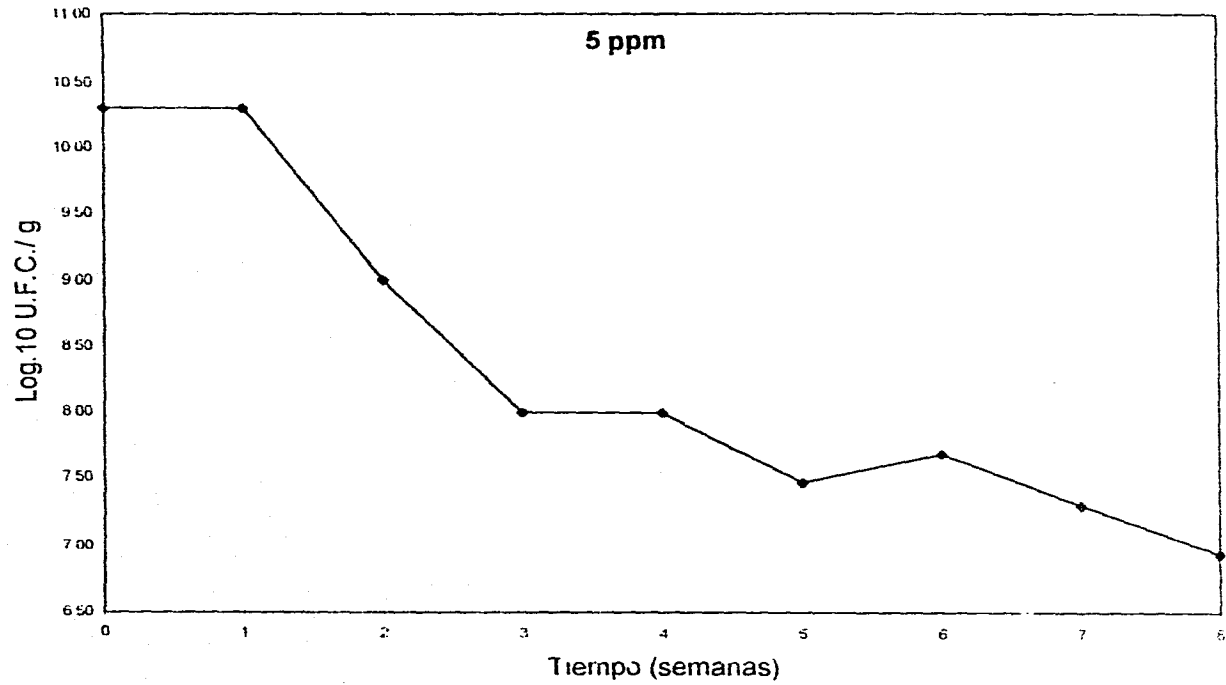
Gráfica 45

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Diazinon grado técnico con 14.7% de humedad. Log 10U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas)



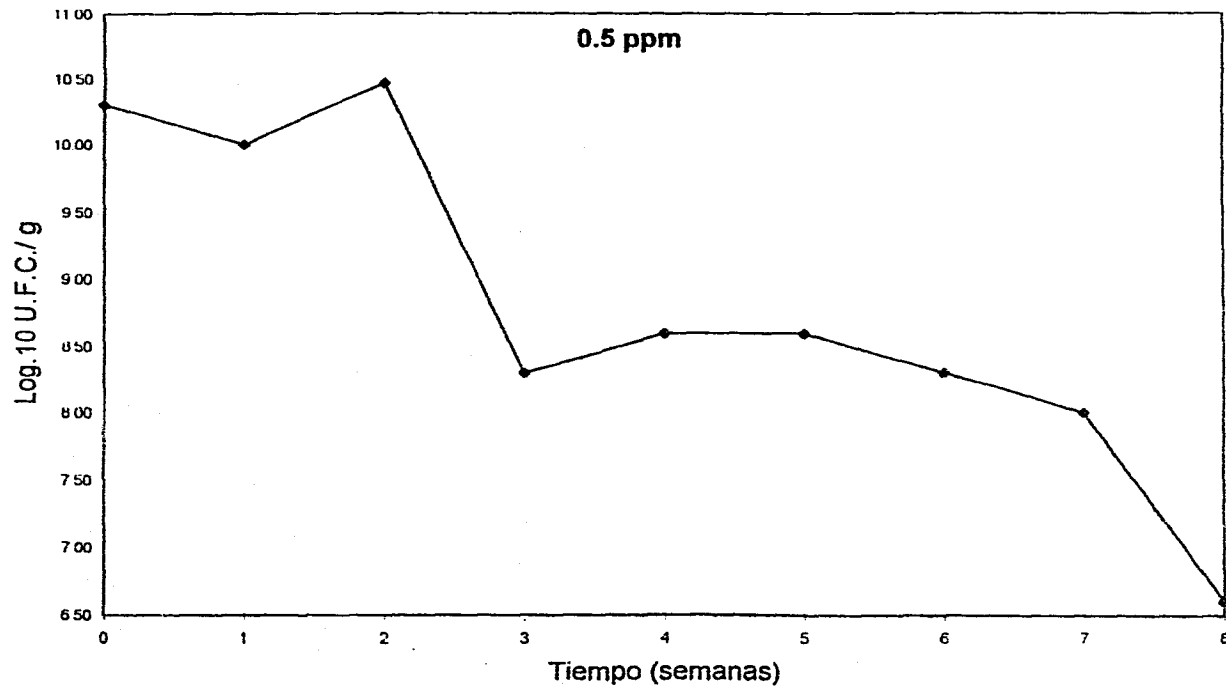
Gráfica 46

Diazinon compuesto comercial con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



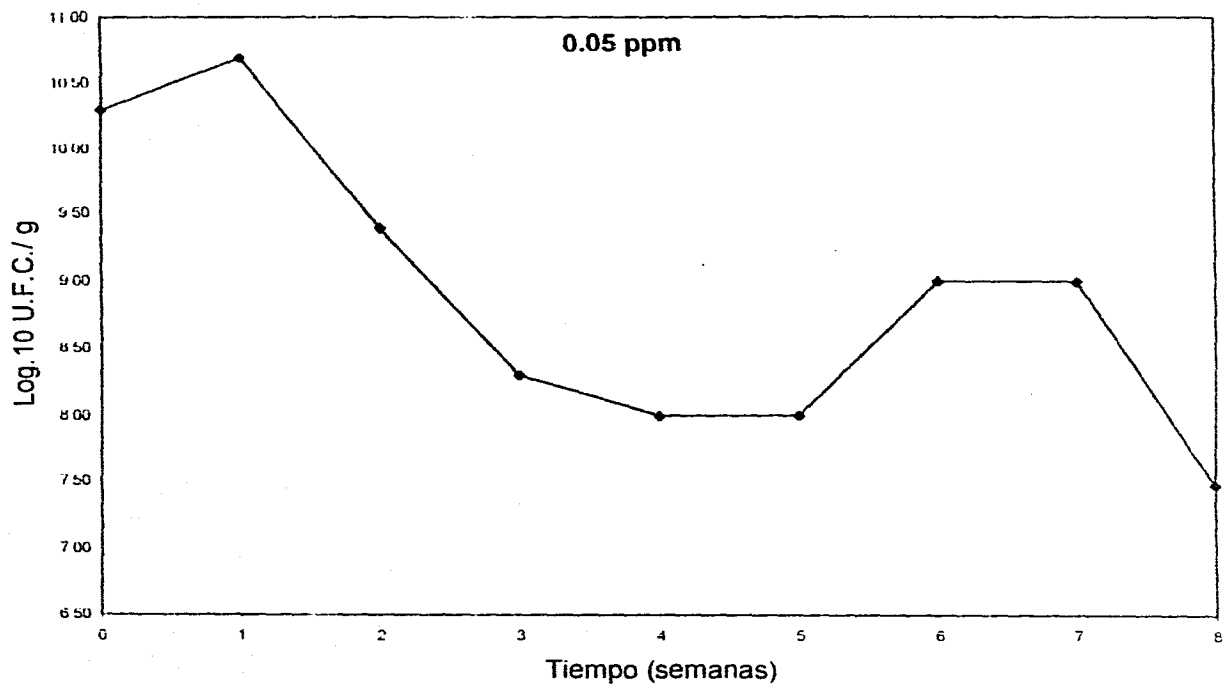
Gráfica 47

Diazinon compuesto comercial con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



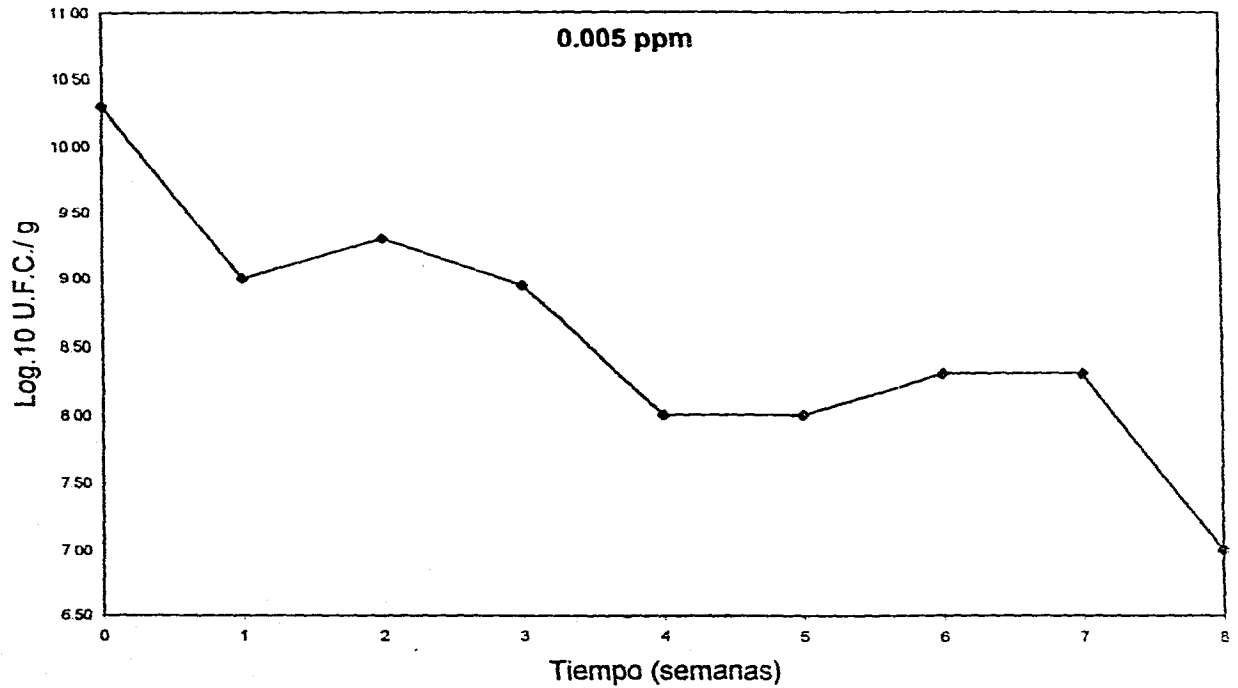
Gráfica 48

Diazinon compuesto comercial con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



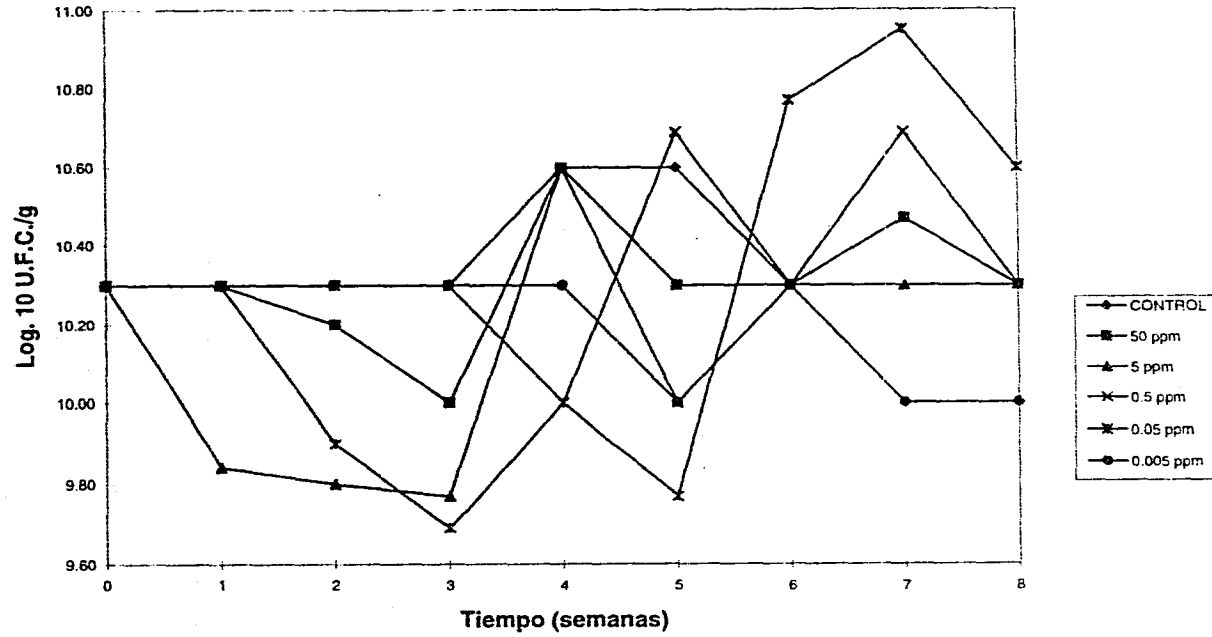
Gráfica 49

Diazinon compuesto comercial con 14.7 % de Humedad.
Log₁₀ U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



Gráfica 50

Diazinon compuesto comercial con 14.7 % de Humedad.
Log10 U.F.C./g suelo vs. Tiempo (semanas)



Gráfica 51

La gráfica muestra en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus Thuringiensis* a las diferentes concentraciones empleadas de Diazinón compuesto comercial con 14.7% de humedad. Log₁₀ U.F.C./g suelo vs Tiempo (semanas).

mismo para las cinco concentraciones, viéndose disminuida la viabilidad de la bacteria en forma progresiva durante el tiempo que duró el experimento y dando valores menores al final.

En la gráfica 51 se observa el comportamiento de la bacteria en estas condiciones a las cinco concentraciones.

9. 1 Análisis Estadístico.

El análisis de regresión y correlación se fundamenta en las gráficas que muestran en forma conjunta el comportamiento de *Bacillus thuringiensis* a las diferentes concentraciones de insecticidas, las cuales corresponden en este caso a las gráficas 9a,15a,21a,27a,33a,39a,45a y 51a.

Para el caso de furadan compuesto comercial con el 61.1% de humedad ver gráfica 9a, el efecto positivo que se alcanza a ver en las pendientes es relativamente bajo ya que los valores en las mismas no alcanzan el orden de las centésimas, comparando con el control podemos decir que probablemente las impurezas causen este efecto.

Para el furadan grado técnico con el 61.1% de humedad, se observa un efecto positivo respecto al control ver gráfica 15a, por lo que podemos confirmar que las impurezas afectaron la estabilidad de la bacteria ya que en ausencia de ellas la pendiente es positiva para todas las concentraciones, obteniéndose un comportamiento en forma de campana de Gauss donde el punto máximo corresponde al valor de 0.5ppm.

Para los dos casos anteriores es muy claro que el furadan es utilizado por el microorganismo, ya

que para los dos tipos de insecticidas empleados, se mantiene un desarrollo del microorganismo, en diferentes grados de positividad.

En el furadán compuesto comercial con el 14.7% de humedad ver gráfica (21a) el valor obtenido de las pendientes para todas las concentraciones utilizadas, fué negativo, lo que da lugar a que el factor humedad sea el más importante, ya que sigue el mismo patrón del control.

En el caso de furadan grado técnico con el 14.7% de humedad ver gráfica (27a) se observa que el valor negativo de las pendientes es el mismo para todas las concentraciones utilizadas e igual a las del control.

Para los dos casos anteriores, la humedad resulto ser el parametro más importante ya que la viabilidad del microorganismo se vió afectada al igual que el control.

Para el diazinón compuesto comercial con el 61.1% de humedad ver gráfica (33a), se observa una tendencia positiva que va desde la concentración de 0.05ppm progresivamente hasta el valor de 50ppm , siendo negativa para el sistema con menor concentración que es de 0.005ppm, la cual es muy similar al del control.

Para el diazinón grado técnico con el 61.1% de humedad ver gráfica (39a), se observa en conjunto la misma tendencia negativa tanto para el control como para las cinco concentraciones en estudio, no habiendo diferencia importante entre cada una de ellas.

En lo anterior se observa que las impurezas ejercen un efecto positivo sobre la viabilidad del microorganismo, y que el diazinón como tal no participa.

Para el diazinón grado técnico con el 14.7% de humedad ver gráfica (45a), no existe diferencia importante entre los valores de la pendiente de las diferentes concentraciones utilizadas siendo para todas ellas la tendencia negativa.

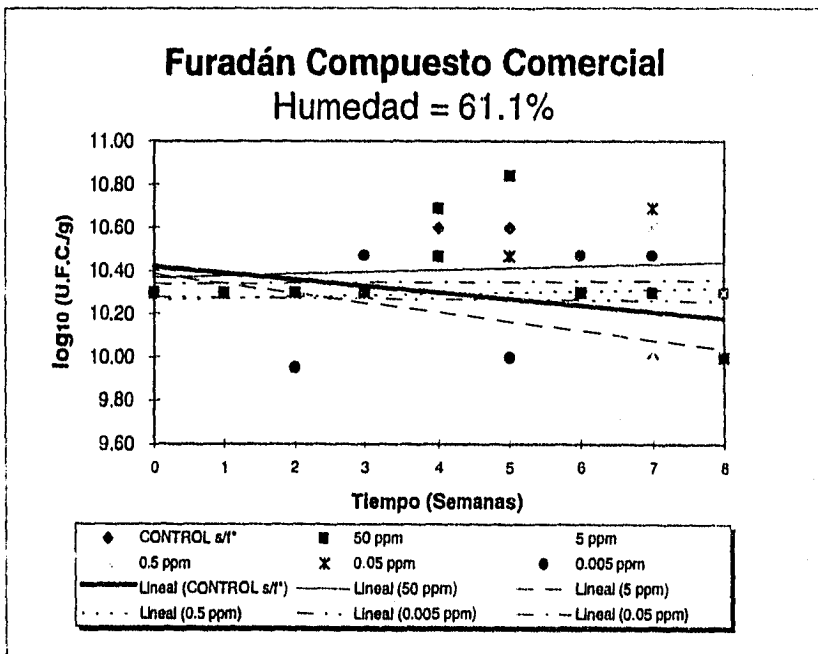
FURADÁN COMPUESTO COMERCIAL

HUMEDAD: 61.1%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/l*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
2	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	9.95
3	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.47
4	10.60	10.69	10.30	10.47	10.47	10.47
5	10.60	10.84	10.40	9.77	10.47	10.00
6	10.30	10.30	10.00	10.30	10.30	10.47
7	10.00	10.30	10.00	10.60	10.69	10.47
8	10.00	10.30	10.00	10.30	10.00	10.00

* Sin furadán.

Pendiente	-0.0300	0.009	-0.0433	0.0062	0.0023	-0.0020
Intercepción	10.4200	10.3673	10.3844	10.2687	10.3384	10.2780
Coef. de Corr.	-0.3873	0.1182	-0.7344	0.0756	0.0342	-0.0242
Pearson	-0.3873	0.1182	-0.7344	0.0756	0.0342	-0.0242



Gráfica 9a

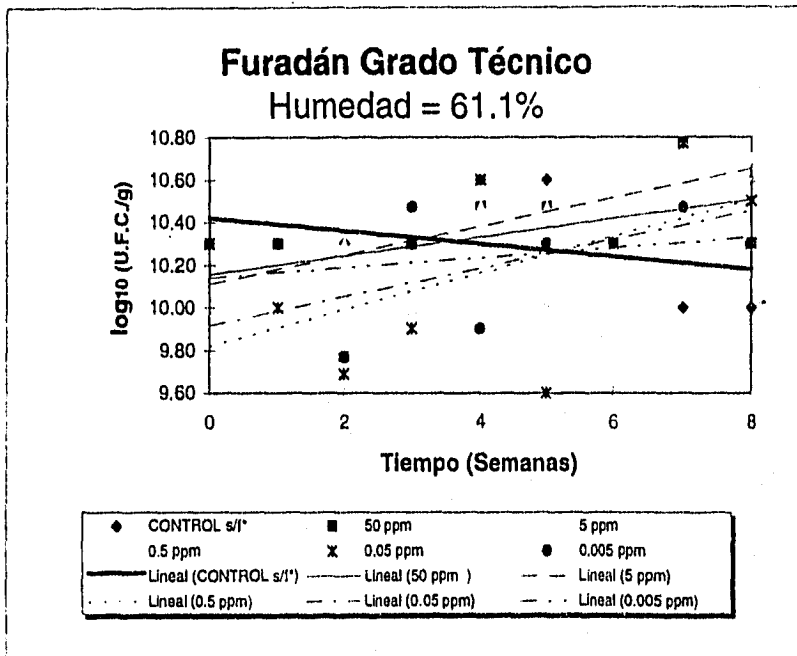
FURADÁN GRADO TÉCNICO

HUMEDAD: 61.1%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/l*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.30	10.30	10.11	9.65	10.00	10.30
2	10.30	9.77	10.30	9.77	9.69	9.77
3	10.30	10.30	10.00	9.95	9.90	10.47
4	10.60	10.47	10.47	10.30	10.60	9.90
5	10.60	10.47	10.47	10.00	9.60	10.30
6	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
7	10.00	10.77	10.77	10.60	10.77	10.47
8	10.00	10.30	10.70	10.60	10.50	10.30

* Sin furadán.

Pendiente	-0.0300	0.044	0.0675	0.0860	0.0672	0.0233
Intercepción	10.4200	10.1551	10.1100	9.8193	9.9158	10.1411
Coef. de Corr.	-0.3873	0.4592	0.7342	0.6916	0.4490	0.2665
Pearson	-0.3873	0.4592	0.7342	0.6916	0.4490	0.2665



Gráfica 15a

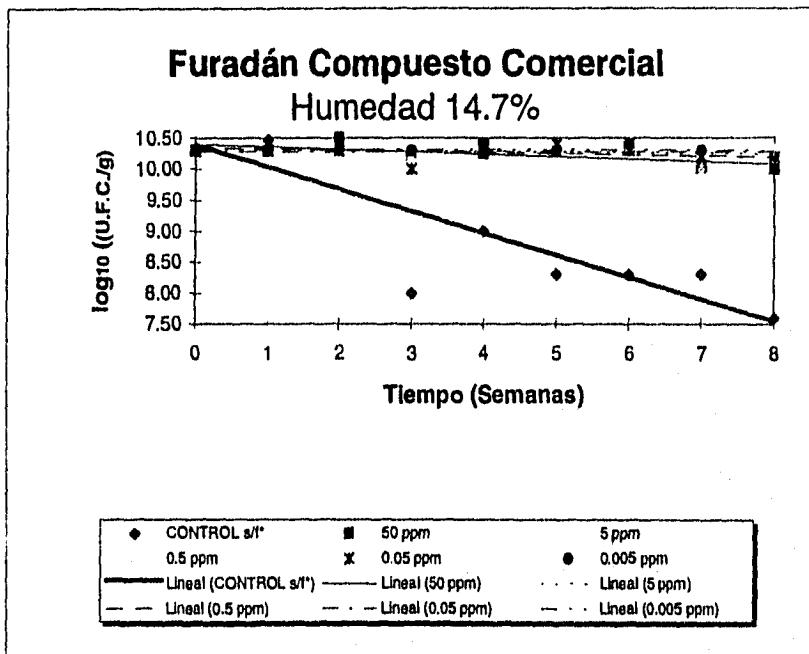
FURADÁN COMPUESTO COMERCIAL

HUMEDAD: 14.7%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/t*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.47	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
2	10.47	10.50	10.30	10.30	10.30	10.30
3	8.00	10.20	10.20	10.25	10.00	10.30
4	9.00	10.25	10.42	10.40	10.40	10.40
5	8.30	10.30	10.30	10.30	10.40	10.30
6	8.30	10.30	10.40	10.35	10.42	10.40
7	8.30	10.00	10.00	10.00	10.20	10.30
8	7.60	10.00	10.30	10.20	10.20	10.20

* Sin furadán.

Pendiente	-0.3558	-0.0400	-0.0100	-0.0192	-0.0010	-0.0033
Intercepción	10.3944	10.3989	10.3200	10.3433	10.2840	10.3244
Coef. de Corr.	-0.8533	-0.6948	-0.2229	-0.4582	-0.0206	-0.1519
Pearson	-0.8533	-0.6948	-0.2229	-0.4582	-0.0206	-0.1519



Gráfica 21a.

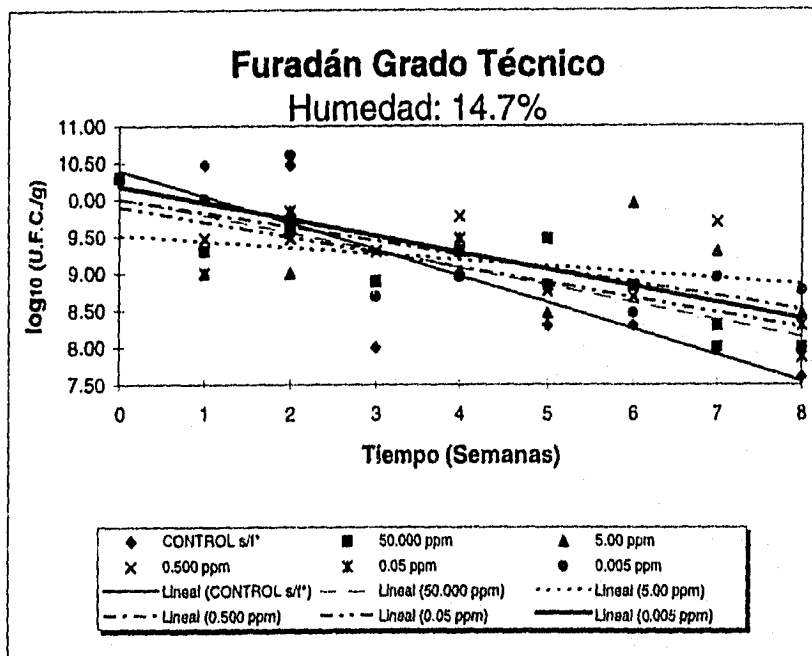
FURADÁN GRADO TÉCNICO

HUMEDAD: 14.7%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/l*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.47	9.30	9.00	9.47	9.00	10.00
2	10.47	9.60	9.00	9.47	9.84	10.60
3	8.00	8.90	8.90	9.30	8.90	8.69
4	9.00	9.30	9.30	9.77	9.47	8.95
5	8.30	9.47	8.47	8.77	8.84	8.84
6	8.30	8.84	9.95	8.69	8.84	8.47
7	8.30	8.00	9.30	9.69	8.30	8.95
8	7.60	8.00	8.47	7.87	8.30	8.77

* Sin furadán.

Pendiente	-0.3558	-0.2342	-0.0825	-0.1858	-0.2027	-0.2230
Intercepción	10.3944	10.0156	9.5178	10.0022	9.8984	10.1776
Coef. de Corr.	-0.8533	-0.8617	-0.3673	-0.7097	-0.8287	-0.7743
Pearson	-0.8533	-0.8617	-0.3673	-0.7097	-0.8287	-0.7743



Gráfica 27a.

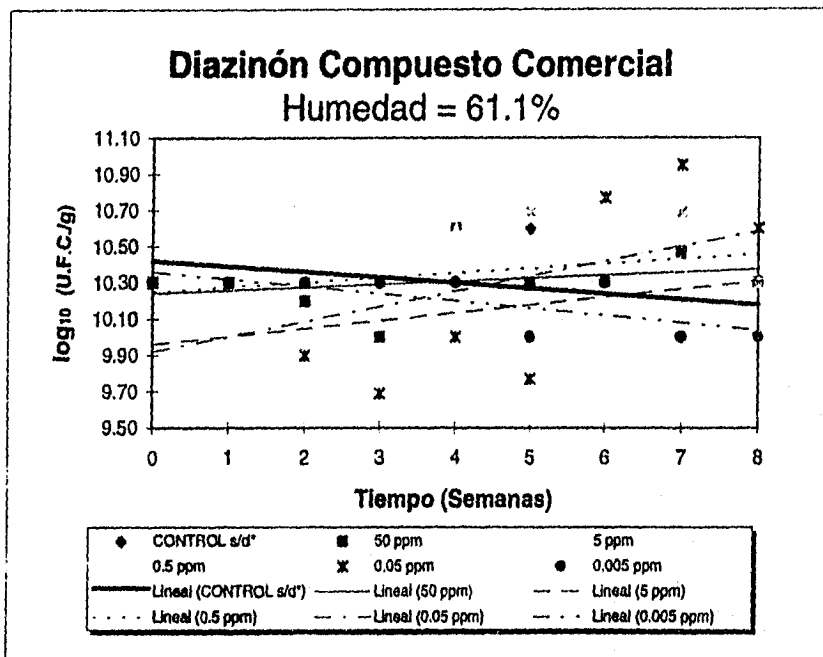
DIAZINÓN COMPUESTO COMERCIAL

HUMEDAD: 61.1%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/d*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.30	10.30	9.84	10.30	10.30	10.30
2	10.30	10.20	9.80	10.30	9.90	10.30
3	10.30	10.00	9.77	10.30	9.69	10.30
4	10.60	10.60	10.60	10.00	10.00	10.30
5	10.60	10.30	10.00	10.69	9.77	10.00
6	10.30	10.30	10.30	10.30	10.77	10.30
7	10.00	10.47	10.30	10.69	10.95	10.00
8	10.00	10.30	10.30	10.30	10.60	10.00

* Sin diazinón.

Pendiente	-0.0300	0.0168	0.0435	0.0260	0.0828	-0.0400
Intercepción	10.4200	10.2404	9.9604	10.2493	9.9220	10.3600
Coef. de Corr.	-0.3873	0.2790	0.4099	0.3317	0.5046	-0.7303
Pearson	-0.3873	0.2790	0.4099	0.3317	0.5046	-0.7303



Gráfica 33a

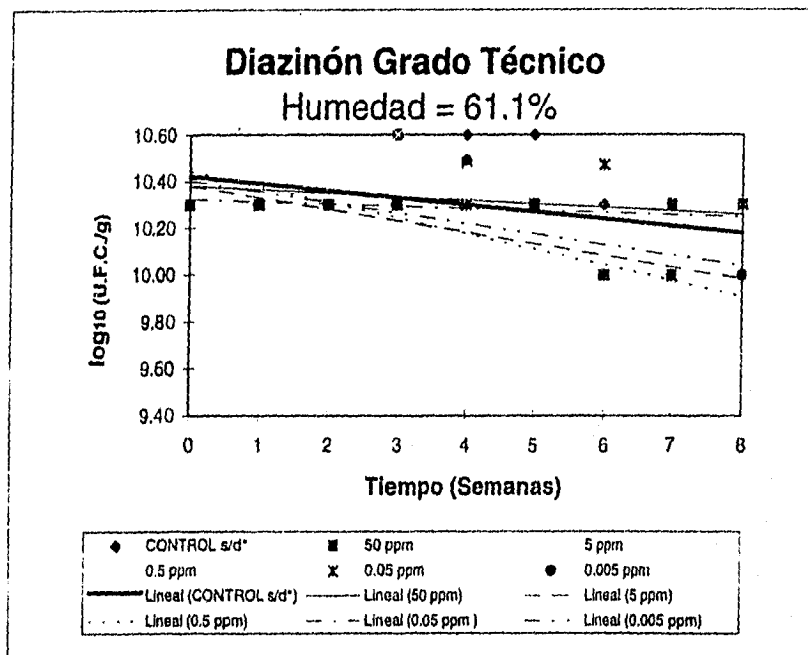
DIAZINÓN GRADO TÉCNICO

HUMEDAD: 61.1%

SEMANA	CONTROL s/d*	50 ppm	5 ppm	0.5 ppm	0.05 ppm	0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
2	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
3	10.30	10.60	10.47	10.60	10.30	10.30
4	10.60	10.47	10.47	10.30	10.30	10.49
5	10.60	10.30	10.00	10.30	10.30	10.30
6	10.30	10.00	9.50	9.50	10.47	10.00
7	10.00	10.30	10.00	10.00	10.00	10.00
8	10.00	10.30	10.30	10.00	10.30	10.00

* Sin diazinón.

Pendiente	-0.0300	-0.015	-0.0495	-0.0667	-0.0093	-0.0450
Intercepción	10.4200	10.3789	10.3802	10.4444	10.3229	10.4011
Coef. de Corr.	-0.3873	-0.2562	-0.4419	-0.5864	-0.2113	-0.6970
Pearson	-0.3873	-0.2562	-0.4419	-0.5864	-0.2113	-0.6970



Gráfica 39a

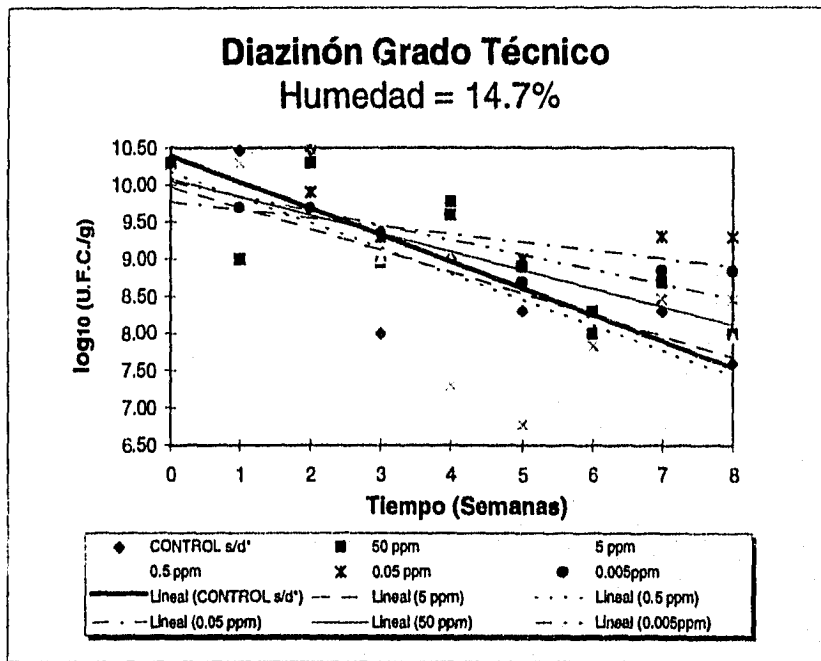
DIAZINÓN GRADO TÉCNICO

HUMEDAD: 14.7%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/d*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.47	9.00	9.60	10.30	9.00	9.69
2	10.47	10.30	9.30	10.47	9.90	9.69
3	8.00	8.95	9.00	9.30	9.30	9.36
4	9.00	9.77	9.00	7.30	9.60	9.60
5	8.30	8.90	8.00	6.77	9.00	8.69
6	8.30	8.00	8.30	7.84	8.30	8.30
7	8.30	8.69	8.00	8.47	9.30	8.84
8	7.60	8.00	7.95	8.47	9.30	8.84

* Sin diazinón.

Pendiente	-0.3558	-0.2463	-0.2887	-0.3433	-0.1100	-0.1973
Intercepción	10.3944	10.0864	9.9744	10.1756	9.7733	10.0460
Coef. de Corr.	-0.8533	-0.7797	-0.9498	-0.6855	-0.5264	-0.8577
Pearson	-0.8533	-0.7797	-0.9498	-0.6855	-0.5264	-0.8577



Gráfica 45a

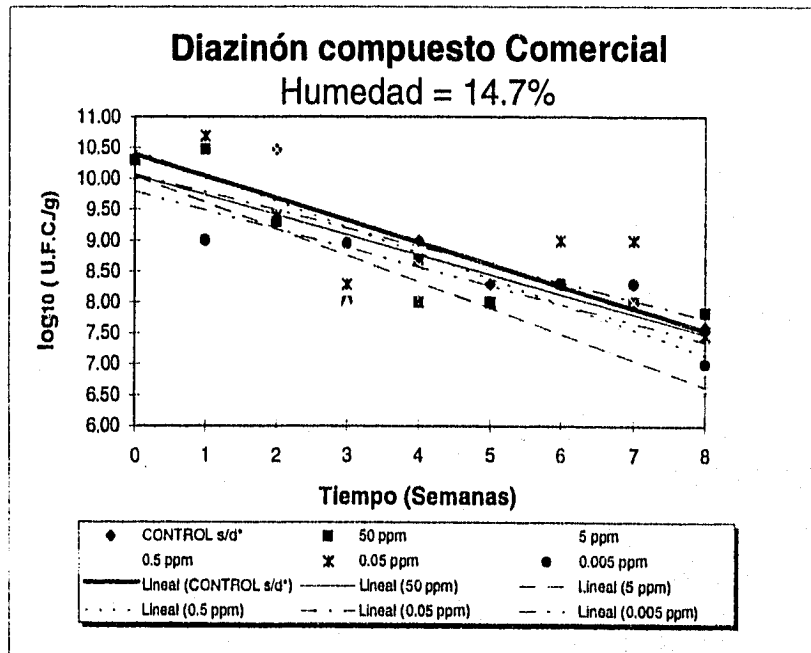
DIAZINÓN COMPUESTO COMERCIAL

HUMEDAD: 14.7%

SEMANA	log ₁₀ (U.F.C./g) CONTROL s/d*	log ₁₀ (U.F.C./g) 50 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.5 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.05 ppm	log ₁₀ (U.F.C./g) 0.005 ppm
0	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30	10.30
1	10.47	10.47	10.30	10.00	10.69	9.00
2	10.47	9.30	9.00	10.47	9.39	9.30
3	8.00	8.00	8.00	8.30	8.30	8.95
4	9.00	8.69	8.00	8.60	8.00	8.00
5	8.30	8.00	7.47	8.60	8.00	8.00
6	8.30	8.30	7.69	8.30	9.00	8.30
7	8.30	8.00	7.30	8.00	9.00	8.30
8	7.60	7.84	6.95	6.60	7.47	7.00

* Sin diazinón.

Pendiente	-0.3558	-0.3208	-0.4258	-0.4140	-0.2912	-0.3042
Intercepción	10.3944	10.0500	10.0378	10.4527	10.0702	9.7889
Coef. de Corr.	-0.8533	-0.8584	-0.9314	-0.9056	-0.7337	-0.8832
Pearson	-0.8533	-0.8584	-0.9314	-0.9056	-0.7337	-0.8832



Gráfica 51a

En el análisis del diazinón compuesto comercial con el 14.7% de humedad ver gráficas (51a) al igual que en la gráfica (45a) la tendencia de las pendientes es negativa.

La baja humedad resultó ser de nuevo un factor importante para la disminución de la viabilidad del microorganismo, fenómeno que se observa de igual manera en las gráficas (33a) y (39a).

10. CONCLUSIONES.

- 1) La humedad del suelo es un factor determinante para que la viabilidad de *Bacillus thuringiensis* se vea incrementada o no.
- 2) Se observa que de los dos insecticidas utilizados, Furdán es el único empleado por *Bacillus thuringiensis* cuando éste se encuentra a una humedad de 61%, además su viabilidad llegó a ser mayor cuando la concentración fué de 0.5ppm en el sistema.
- 3) Las impurezas de los compuestos muestran una relativa importancia en el comportamiento de *Bacillus thuringiensis*, lo cual puede ser motivo de estudio posterior a este trabajo ya que éstos llegan a mostrarse con algunos efectos dependiendo del producto comercial.

10.0 BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alison T. Merryweather, Weyer, U, Harris. M.P.G, Hirst, M, Booth, T and Posee.R.D. 1990 Construction of genetically *baculovirus* insecticides containing the *Bacillus thuringiensis* *supsp. kurstaki* HD-73 delta endotoxin. *J. of General Virology* 71,1535-1544.
- 2.- Aronson. A.I, Beckman. W and Dunn.P. 1986 *Bacillus thuringiensis* and related Insect Pathogens. *Microbiol Rev.* 50:1-24
- 3.- Bergey, Bergeys, Manual of Determinative Bacteriology, Williams & 1975 1500p.
- 4.- Bulla, L.A., Kramer, K.J. and Davidson, L.I. 1977 Caracterización of the entomocidal paraesporal crystal of *Bacillus thuringiensis*, *J. Bacteriol* 130:277-286
- 5.- Bravo, A, Lorence, A, Quintero, R. 1992 Perspectivas en la utilización de *Bacillus thuringiensis* "Como bioinsecticida" *Rev. 2:* 139-153
- 6.- De Luca IIA. J., Simonson J.G. & Laison, A.D, 1981 *Bacillus thuringiensis* distribution in soils of the United State *Can J. Microbiol.* 27: 865-870
- 7.- Dulmage. H.T., Aizawa.Q.K. 1982 Distribución of *Bacillus thuringiensis* in nature en "Microbial and viral pesticides" E.D.E. Kustak Marcel Dekker-New York pp 200-237
- 8.- Feitelson, J. S., Payne, J, Klm, L. 1992, *Bacillus thuringiensis*: Insects and Beyond. *Biotechnology* 10:271 - 275
- 9.- Fischer F.E. 1973 *Fundamental Statistical Concepts* Canfield Press. p67-86.
- 10.- Fischhoff, D.A., Bowdish, K.S, Perlak, F.J, Marrone, P.G, McCormick S.M, Nieder Meyer. G.J, Duff.D.A, Kusano- Kretzmer, K, Mayer. E.J, Rochester.D. E, Rogers. S. G and Fraley. R.T. 1987. Insec Tolerant [ransgenic tomaté plants. *Biotechnology* 5: 807-813
- 11.- Hertlein. B.C, Hornby.J, Levy.R and Wayne.T. Jr. 1976 Prospects of Spore-Forming Bacteria for Vector Control. With Special Emphasis on their local Production Potential. *World Health Organization. VBC:80.791*

- 12.- Hofotte.H., Whtekey .H.R, 1989. Insectidal Crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* Microbiol Rev. 53:242-255
- 13.- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática y Comisión Nacional de Alimentación 1992. El Sector Alimentario en México, D.F.
- 14.-Jackson M.L., 1976 Análisis de Suelos Ed. Omega. S.A. Barcelona España pp282-310
- 15.- Morales. G. N."Situación y perspectivas de *Bacillus sphaericus* en México" 1989, Tesis., Facultad de Química U.N.A.M.
- 16.- Li. J., Carroll. J & Ellar. D.J. 1991 Crystal Structure of insecticidal S-Endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2.5 Resolution.Nature 358:15-821
- 17.- Ortiz, Jiménez, M.A., 1986. Las Bacterias como una alternativa en el control de insectos en México, Tesina Instituto de Investigaciones Biomédicas U.N.A.M. 105p
- 18.- Palmer R.G.& Trocch. F.R. 1979. Introducción a la Ciencia del Suelo, Manual de Laboratorio A.G.T. Editors, S.A. México, D.F. pp27-40. 52-64
- 19.- Primo. E, Y. Carrasco. J.M. 1973 "Química Agrícola". ed Alhambra: pp233-260
- 20.- Pustai M.P, Fast, L. Gringortem, H. Kaplan, T. Lessard and P.R. Carey. 1991 the Mechanisms of sunlight Mediated Inactivation of *Bacillus thuringiensis* Crystals. Biochem. J. 273:43-47
- 21.- Smith, R.A. 1982 Effects strain and medium variation mosquito toxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Ca. J. Microbiol 28:1089-1092
- 22.- Thorne, L., Garduño, F., Thompson, T. Decker, D., Zounes M., Wild, M., Walfielk, A.M. and O'lock, T.J. 1986 Structural Similarity between the lepidoptera and Diptera Specific insectidal endotoxin genes of *Bacillus thuringiensis* var, *kurstaki* and *israelensis* J:Bacteriol 166:801-811