

03044
2es.
1

**LAS BACTERIAS COMO UNA ALTERNATIVA EN
EL CONTROL DE INSECTOS EN MEXICO**

TESINA QUE PRESENTA

MARCO ANTONIO ORTIZ JIMENEZ

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE

"ESPECIALISTA EN BIOTECNOLOGIA"

**TESIS CON
CALA DE ORIGEN**



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 está 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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO. UNAM**

**INVESTIGACION REALIZADA EN EL
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
BIOMICAS, DEPARTAMENTO DE
BIOTECNOLOGIA.**

1986

I N D I C E

	Página
I - Introducción	1
Plaguicidas químicos	3
Esterilización de plagas	7
Empleo de plantas resistentes	9
Enemigos naturales	10
Hormonas de Insectos	12
a) Inhibidores del Desarrollo	12
b) Atrayentes sexuales	13
II - Antecedentes	15
Clasificación	15
Microorganismos	15
Ventajas y Desventajas	16
Productos Comerciales	18
Clasificación e Identificación	20
<u>Bacillus popillae</u>	23
Etiología	23
Seguridad	23
Rango de Hospederos	24
Producción de <u>Bacillus popillae</u> "in vitro"	24
Características	24
Selección de la Cepa	25
Crecimiento vegetativo	25

	Página
Producción de <u>Bacillus popillae</u> "in vivo"	29
Metodología	29
<u>Bacillus thuringiensis</u>	30
Serotipos de <u>Bacillus thuringiensis</u>	30
Etiología	31
Forma de Cristal	33
Propiedades químicas, activación y acción de la Endotoxina	33
- Seguridad	35
β-exotoxina	35
- Seguridad	36
Hospederos	37
<u>Bacillus sphaericus</u>	48
Etiología	48
Toxina	50
Seguridad	50
Hospederos	53
Mejoramiento genético	53
- Plásmidos	55
III-Objetivo	58
IV-Desarrollo	59
Situación y perspectivas en México	60
Producción comercialización y distribución	60

	Página
Producto	61
Agricultura	63
Cultivos de exportación y plagas	65
Investigación en México	66
Transferencia de tecnología	69
Perspectivas económicas	70
Producción	72
Mantenimiento de la cepa	72
Medio de cultivo	73
-Fuente de carbono	73
-Fuente de nitrógeno	74
-Minerales	74
-Factores de crecimiento	75
Fermentación de <u>Bacillus thuringiensis</u>	75
Medida de la actividad	75
-Cuenta viable de esporas	75
-Complejo cristal-espora	76
-Unidad Internacional	76
-Exotoxina termoestable	77
-Potencia	77
Fermentaciones comerciales	80
-Fermentación semisólida de <u>Bacillus thuringiensis</u>	80
-Fermentación sumergida de <u>Bacillus thuringiensis</u>	82

	Página
Proceso propuesto	86
-Ventas anuales	87
-Inversión	88
-Costo variable	88
-Costo financiero	89
-Costo fijo	89
-Costo total	90
-Rentabilidad	91
V - Discusión	93
VI - Conclusiones y recomendaciones	97
VII- Referencias	99

ABREVIACIONES

- Cel** - Células
- Esp** - Esporas
- B** - Bacillus
- ADN** - Acido desoxirribonucleico
- EPA** - Agencia de Protección Ambiental de los EEUU
- EEUU** - Estados Unidos de Norteamérica
- FDA** - Administración de Drogas y Alimentos
- USDA** - Departamento de Agricultura de los EEUU
- DL₅₀** - Dosis letal media, la cual matará al 50% de un número dado de animales
- CL₅₀** - Concentración letal media, la cual matará al 50% de un número dado de animales
- WHO** - Organización Mundial de la Salud
- vvm** - 1l de aire por 1l de medio por minuto
- NRRL** - Colección de Cultivos al Servicio de la Investigación en Agricultura
- CINVESTAV-IPN** - Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional
- UANL** - Universidad Autónoma de Nuevo León
- ITV** - Instituto Tecnológico de Veracruz
- OEA** - Organización de Estados Americanos
- FAO** - Organización para la Agricultura y la Alimentación.

UNICEF - Fondo de las Naciones Unidas para los Niños
SEP - Secretaría de Educación Pública
COSNET - Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica
ITV - Instituto Tecnológico de Veracruz
ONU - Organización de las Naciones Unidas
FONEI - Fondo de Equipamiento Industrial. Banco de México
UDD₅₀ - Unidad de Dilución Dietética
UI - Unidad Internacional
g - Gramo
mg - Miligramo
RNA_m - Acido ribonucleico (mensajero)
Ha - Hectárea
Kg - Kilogramo

RESUMEN.

En esta revisión hemerobibliográfica se describen - las ventajas y desventajas que poseen los insecticidas de tipo biológico sobre los de tipo orgánico. Se destaca -- que el tipo de control biológico de plagas agrícolas y de tipo médico con mayor potencial de uso es el dado por el microorganismo B. thuringiensis.

De aquí que se revisen los métodos de producción -- que podrían utilizarse, para suplir las necesidades de -- nuestro país en el campo de los bioinsecticidas.

Como complemento de lo anterior se hace un estudio- muy somero, sobre la inversión que se tendría que realizar para producir un bioinsecticida en el país, para saber si es rentable por el momento o se tendría que instalar el - proceso mejor a mediano o largo plazo.

I - INTRODUCCION.

Se tiene conocimiento de que a principios del Siglo XX se comenzaron a utilizar los primeros insecticidas en forma sistemática en los campos de cultivo, los cuales -- fueron: la rotenona, nicotina, queroseno, aceite de pescado, compuestos de azufre, polvo de arsénico y mercurio -- (1a. generación de pesticidas). Estas fórmulas no cambiaron apreciablemente hasta los años cuarentas. El progreso más significativo tuvo lugar aproximadamente a principios de la segunda guerra mundial, al descubrirse las propiedades insecticidas de un producto químico llamado DDT- (2a. generación de pesticidas). El DDT era mucho más barato y más eficaz contra casi todos los insectos que los métodos de control usados anteriormente. El empleo del DDT condujo a éxitos tempranos espectaculares, como extinguir una epidemia de tifo que amenazaba a un ejército de Ita--lia. Programas contra los mosquitos salvaron a millones de individuos de la muerte debido al paludismo y a la fiebre amarilla, mientras que el control de plagas condujo a rendimientos altos en las cosechas en todo el mundo.⁵⁸

Los partidarios entusiastas del DDT predijeron la -destrucción completa de todos los insectos portadores de enfermedades en un futuro muy cercano y al químico que -- descubrió las propiedades insecticidas del mismo se le -- otorgó el premio Nobel. Pero antes de 30 años se esfumó-la promesa de la abundancia en las cosechas ante la expec

tativa de terminar con los insectos plaga, así como el milagro químico que se había logrado.⁶⁰

En efecto, en algunos países se tuvo que prohibir su uso debido principalmente a sus efectos en el medio ambiente y daños ocasionados en el hombre. Como es el caso de - EEUU, en donde desde el 1° de enero de 1973 la venta controlada por la EPA, USDA y EDA⁶³ y el transporte interestatal quedó prohibido. Problemas similares se ha presentado con otro compuesto, como el malatión, cuya toxicidad quedó patente en el accidente en la planta de Unión Carbide en Bhopal, India, en 1984.

Estos hechos llevaron a la búsqueda de otros métodos de control de plagas y al análisis de aquéllos que ya se venían empleando. Para comienzos de los setentas tuvieron mucho auge ciertos compuestos químicos que liberaban los - insectos, en especial los atrayentes sexuales, los cuales fueron considerados, potencialmente, como la tercera generación de pesticidas. Estos aún no han logrado su desarrollo debido a una gran cantidad de dificultades técnicas. - Actualmente están siendo desplazados por los insecticidas de tipo bacteriano, con características insecto-patógenas, considerando a éstos como la cuarta generación de pesticidas, con grandes posibilidades de producción y desarrollo.

Plaguicidas químicos.

Al iniciarse el uso de los insecticidas químicos -- (Tabla 1) éstos fueron recibidos con gran entusiasmo debido a su bajo costo, empleo fácil, acción rápida y eficacia contra una amplia gama de plagas. Su presencia produjo un optimismo exento de sentido crítico. Se pensaba, por ejemplo, que un cultivador de tomates enfrentado en la mitad de la estación a una invasión de algunos insectos que empezaban a comer el fruto no necesitaría ni siquiera identificar la plaga. En efecto, sólo le bastaría llamar a una compañía de aspersión aérea y podría contar con la destrucción del 90 al 100% de su plaga en uno o dos días. La solución era tan sencilla como el problema, o así parecería ser.⁶²

Sin embargo, si analizamos el problema más de cerca empiezan a aparecer complicaciones. Así, un campo de tomates atacado por un determinado insecto no es simplemente un sistema de dos especies. Los tomates y las plagas no son más que miembros de un gran ecosistema agrícola de miles de especies, que comprenden insectos depredadores, bacterias, parásitos y muchas especies de habitantes de la tierra, así como aves y otros animales migratorios carnívoros, herbívoros y omnívoros. De esta forma, pese al hecho innegable de innumerables éxitos de programas de rociado durante los últimos 35 años, es importante,

TABLA 1. INSECTICIDAS QUIMICOS MAS COMUNES 60

Tipos	Designación
Cloruros orgánicos	Aldrina
	DDT
	Dieldrina
	Endrina
	Lindana
	Mirex
	Kepona
Fosfatos orgánicos	Diacinon
	Malation
	Paration
	Diclorvos
	Triclorfon
	Dicrotofos
	Monocrotofos
	Fention
Demeton	
Carbamatos	Carbaril
Plaguicidas naturales	Rotenona
	Nicotina

con todo, considerar más de cerca las implicaciones del problema.

El empleo de rociados no selectivos ha conducido a menudo a la destrucción de los controles naturales de población; por ejemplo, en el Valle de Perú se utilizaron extensamente DDT y otros hidrocarburos clorinados para el control de plagas y el éxito inicial fue seguido de un de sastre diferido. En sólo cuatro años la producción de al godón subió de 400 a 600 kg por hectárea. Sin embargo, un año después, el rendimiento bajó precipitadamente a -- 300 kg por hectárea, o sea, casi 100 kg por hectárea menos que antes de la introducción de los insecticidas. Los es tudios revelaron que el insecticida había destruído tanto a insectos y aves depredadores como a las plagas de los insectos, de modo que, con los controles naturales eliminados, la población de la plaga prosperó más de lo que -- nunca se había registrado.⁶⁰

En otros estudios respecto a la aplicación de va-- rios pesticidas comerciales en el suelo agrícola boliviano, se observó que éstos alteraron fuertemente la flora bacteriana y por lo tanto, el ciclo de nitrógeno.⁴⁴

Uno de los principales problemas que se presenta con los insecticidas químicos es que muchos de los insectos se hacen resistentes a los venenos. En otros términos, un determinado insecticida en una concentración dada se hace

a menudo menos eficaz después de algunos años de uso. Tal parece como si la substancia química hubiera perdido fuerza, pese a que la composición se ha mantenido inalterada.- Esto es debido a las mutaciones al azar que los insectos han tenido y la consecuente adaptación al medio ambiente - aparentemente hostil. Puesto que los progenitores resistentes suelen transmitir este carácter a las generaciones sucesivas, los antiguos plaguicidas resultan ineficaces. - Este efecto se demostró de modo directo en un experimento en el que unas chinches resistentes al DDT se colocaron sobre ropa impregnada con éste: las chinches prosperaron, se aparearon y las hembras pusieron huevos normalmente y las crías nacidas sobre una capa de DDT crecieron y prosperaron. Por otra parte, los intentos de cambiar los plaguicidas han producido en algunos casos insectos resistentes a más de una sola substancia química.

La resistencia de los insectos a los venenos constituye un grave problema en sí mismo, pero éste se incrementa si la plaga se hace resistente y los diversos depredadores no lo hacen; de ocurrir esto las plagas poseen una nueva ventaja biológica y pueden prosperar en números considerablemente grandes. Lo anterior puede estar dado por los siguientes tres factores:

1. Los insectos-plaga son con frecuencia más pequeños y se reproducen más rápidamente que sus depredadores.
2. Los depredadores ingieren por regla general una dieta más rica en insecticidas que las plagas iniciales.
3. Hay siempre menos depredadores que herbívoros - (incluyendo las plagas) en un ecosistema.

En consecuencia, los insecticidas de amplio espectro han dado lugar a problemas más graves que aquéllos que han resuelto, donde básicamente el objetivo era obtener una producción agrícola aumentada. La respuesta a estos fracasos ha consistido a menudo en aumentar el número de aspersiones o la cantidad de insecticidas por aspersión. Sin embargo, en algunos casos estos programas han salvado millones de vidas evitando el hambre y enfermedades.

Esterilización de plagas.

El gusano barrenador (Callitroga americana y C. marcellaria) es un grave problema para el ganado, el cual ha ocasionado graves pérdidas financieras a muchos ganaderos. Las moscas adultas depositan sus huevecillos, que van de 250 a 300, cerca de una herida del animal; al desarrollarse los gusanos, éstos perforan el tejido, causándole una infestación grave que lo conduce a la muerte.

La técnica de esterilización ha consistido en criar moscas macho del gusano barrenador, esterilizarlas por radiación y luego soltarlas a su ambiente natural, dando como resultado que las hembras que se aparean con los machos irradiados producen huevos infértiles. Esta técnica es específica de la plaga combatida y no trastorna, por consiguiente, a su ecosistema.

Desafortunadamente han de resolverse muchos problemas técnicos antes de que el control por medio de machos estériles pueda extenderse a otras plagas. En primer lugar, hay que encontrar la manera de esterilizar el insecto macho sin afectar su probabilidad de encontrar pareja, cuestión difícil de conseguir; sin embargo, existe una gran opción, que es la de matar el esperma del gusano barrenador sin que se perjudique al adulto.

En una gran cantidad de casos el proceso de esterilización debilita al macho, a tal punto que no puede competir eficazmente con los insectos de su mismo género no tratados. En el caso de insectos hembras que se acoplan muchas veces con machos distintos, resulta virtualmente imposible reducir las probabilidades de apareamiento fecundo a niveles suficientemente bajos para que se produzca un control. El caso del gusano barrenador es particularmente favorable porque una mosca hembra virgen sólo se aparee una sola vez en su vida y, además, si la propagación

de mahcos esterilizados con respecto a los no esterilizados es suficientemente alta, entonces el control resulta posible.^{5,33}

Empleo de plantas resistentes.

Durante algún tiempo, los cultivadores de plantas -- han estado desarrollando activamente plantas más resistentes al ataque de plagas, habiéndolo logrado en cierto número de casos. La producción de una variedad de alfalfa que es resistente al gorgojo de la alfalfa y de diferentes variedades de cereales resistentes a infecciones de la roya son ejemplos que pueden citarse.

Los éxitos obtenidos en este campo han sido prometedores, de modo que la indagación ulterior merece apoyarse aún más, recordándose que en esta área los problemas técnicos son difíciles. En efecto, las nuevas variedades de -- plantas han de producir altos rendimientos mientras mantienen la resistencia natural a otras enfermedades. Además, se ha visto que durante un cierto tiempo biológico la defensa genética de una planta ha sido contrarrestada por -- cambios genéticos que va adquiriendo el organismo atacante, con el fin de neutralizar su defensa. De esta manera, muchos cultivos resistentes pierden su inmunidad después de algunos años, de modo que hay que desarrollar nuevas variedades resistentes.⁶⁰

Enemigos naturales.

Se ha visto que la destrucción de poblaciones de depredadores mediante la aspersión indiscriminada de insecticidas puede producir auges en la población de plagas. - Por ésto es razonable suponer que el tratamiento opuesto, ésto es, la introducción de depredadores, pueda constituir una medida eficaz de control.⁵

En esta sección se han tenido resultados muy importantes, por ejemplo, con el escarabajo japonés. Esta plaga fue importada inadvertidamente en un envío de plantas asiáticas y se pudo propagar principalmente en la costa oriental de los Estados Unidos, donde se fue convirtiendo gradualmente en una plaga importante. Esto propició que los científicos buscaran entonces alternativas viables para su eliminación natural. Una de estas fue encontrar un depredador del escarabajo japonés, hallándose para este fin una avispa oriental, la cual paraliza a la larva del escarabajo y deposita en ella un huevo. Al salir la joven avispa del huevo se come a la larva como su primer alimento y no se nutre de larvas de otros insectos. Por consiguiente esta clase de control es específica de la especie y no afecta sensiblemente el resto del ecosistema.³³

En algunos casos el aumento simple de la población de depredadores naturales, tales como la catarina o la --

mantis religiosa, se ha revelado como una técnica eficaz.

Con otros mecanismos se han registrado otros éxitos contra otras plagas importantes, como con la utilización de organismos patógenos. Desde hace algunos años se ha reglamentado el uso de organismos tales como un virus⁵⁸ eficaz contra el gusano de la mazorca y la cápsula de algodón. Con hongos⁶⁵ se han hecho muchos intentos para el control de insectos de importancia económica. Hasta el momento se conocen 28 grupos de insectos que son susceptibles al ataque por hongos como: Beauveria bassiana, Metharrhizium anisopliae y algunas especies de Entomophthora.⁶⁶ El estudio de los protozoarios⁴¹ patógenos hacia los insectos ha sido un campo con gran cantidad de dificultades en comparación con otras técnicas naturales, como lo es el caso de su producción estricta in vivo, ya que las cantidades de producción no han alcanzado niveles muy altos; por otro lado su acción patógena se lleva a cabo muy lentamente. Los nemátodos⁴⁹ constituyen otra alternativa en el control biológico y su acción se ha visto tanto en plagas terrestres como en insectos acuáticos de importancia médica; un caso bien estudiado es el del nemátodo Agamermis decautata, que infesta al saltamontes causando la muerte. Al igual que en caso de los protozoarios esta área también se enfrenta a una gran cantidad de dificultades para su producción en altos volúmenes, así como con su aplicación.

El uso de las bacterias como otro tipo de control biológico se presenta actualmente como una área muy interesante de estudio, que conduzca a la eliminación de una gran cantidad de plagas de importancia agrícola y médica, considerándose éstas por una gran cantidad de investigadores como los "bioinsecticidas" del futuro. De aquí que a más adelante amplíemos detalladamente la situación actual y sus perspectivas de aplicación.^{7,8,24}

Hormonas de insectos.

a) Inhibidores del desarrollo.

Los científicos han logrado inhibir la metamorfosis de los insectos en el laboratorio, rociándolos con una hormona de su respectiva especie llamada "juvenil". Esta es una hormona que en el estado larvario se produce continuamente; en el momento en que se deja de producir el insecto continúa su proceso de metamorfosis.⁶² Los insectos no pueden ni aparearse ni sobrevivir mucho tiempo como larvas.

Las pruebas preliminares fuera del laboratorio han revelado algunos problemas técnicos relacionados con el control hormonal. Una de las dificultades consiste en que la hormona juvenil es estable en el organismo de una oruga, - en cambio no lo es en el medio ambiente y se descompone químicamente antes de actuar. Este problema está siendo eludido mediante el descubrimiento de sustancias químicas-

orgánicas que son estructuralmente similares a la hormona juvenil natural, resultando ser más estables y activas. - El otro problema por resolver es el mejor momento para la aplicación de la hormona en cuestión, lo que se hace porrociado.

b) Atrayentes sexuales.

Todas las sustancias químico naturales que involucran la comunicación entre los insectos en forma inter o intra específica se incluyen dentro de los semioquímicos y entre ellos se encuentran las feromonas del tipo atrayente sexual. Un atrayente sexual se ha definido como el compuesto químico que causa en los insectos movimientos orientados hacia él.⁶⁶

Los estudios sobre los atrayentes se iniciaron desde que Jean Henri Fabre descubrió que existía una substancia que desprendían las hembras de las mariposas nocturnas y ésta causaba una atracción a sus respectivos machos, constituyéndose éste como un estímulo de atracción aún más importante que la luz, el sonido, calor, etc.⁴⁵

De aquí en adelante se han hecho estudios con aproximadamente 600 especies de insectos, donde se incluyen importantes plagas. Uno de los aspectos más sobresalientes es de que estos atrayentes sexuales pueden alcanzar gran-

des distancias; por ejemplo machos de las familias Saturnidae y Lasiocampidae han detectado la sustancia hasta -- una distancia aproximada de 3 km.

La posibilidad de utilizar los atrayentes sexuales a partir de extractos crudos no ha sido muy confiable debido a que sólo se han obtenido cantidades muy pequeñas; de 250,000 adultos del gusano de seda se han podido extraer tan solo 12 mg de ésteres de bombikol, que es el atrayente sexual de esta especie. Por otro lado la identificación de atrayentes y su prueba es un arte altamente sofisticado, lo que ha propiciado una búsqueda de substitutos-químicos, los cuales hasta la fecha han sido poco exitosos.⁴⁸

II - ANTECEDENTES.

Para propósitos prácticos, un insecticida o bioinsecticida bacteriano es definido como el producto bacteriano o actividad de la bacteria que dá como resultado la muerte de un insecto.

Clasificación.

Los insecticidas bacterianos los podemos dividir en tres grupos, en base a su ecología. En el primer grupo - caen aquellos bioinsecticidas que son introducidos a una plaga y éstos se reciclan en una forma natural, permaneciendo en el ambiente por un gran período de tiempo. En el segundo el bioinsecticida, después de actuar sobre la plaga eliminándola, desaparece pronto del ecosistema, de aquí la necesidad de aplicarse repetidamente. En el tercer grupo están los insecticidas bacterianos que pueden estar en el ecosistema en forma corta o permanente.

Todos los agentes bacterianos de control se han encontrado bien ubicados en los tres grupos anteriores.

Microorganismos.

Existe una gran variedad de bacterias asociadas con los insectos y la mayor parte de ellas están dentro de las familias: Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Lactobaci

llaceae, Micrococcaceae, y Bacilliaceae (Tabla 2). Dependiendo de su asociación con el huésped en la naturaleza - puede clasificarse como patógenos obligados o no obligados⁷. Los patógenos obligados se caracterizan de acuerdo a los siguientes criterios:

- a) Se encuentran asociados a su huésped en la naturaleza.
- b) El rango de su hospedero está muy restringido.
- c) No se cultivan normalmente en medios de cultivo.

Los no obligados:

- a) Se encuentran libremente en la naturaleza.
- b) Son cultivables en medios de cultivo.

Los insecticidas microbianos más importantes en la actualidad, están dentro de las especies de Bacillus, entre las que sobresalen las tres especies siguientes: B. popilliae, B. thuringiensis y B. sphaericus.

Ventajas y desventajas.

Todas las especies bacterianas que se utilizan en el control de insectos tienen muchas características en común: entre sus ventajas se incluyen la formación de esporas, - las cuales son muy resistentes a los cambios ambientales - y pueden permanecer estables en productos comerciales en-

TABLA 2. BACTERIAS QUE SE HAN DETERMINADO COMO INSECTO-PATOGENAS.

	Pseudomonadaceae	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Saltamontes
<i>Pseudomonas septica</i>		Escarabajos
<i>Vibrio leonardii</i>		Palomillas
	Enterobacteriaceae	
<i>Serratia marcescens</i>		Palomillas
<i>Escherichia coli</i>		Mariposas y palomillas
<i>Aerobacter aerogenes</i>		Mariposas
<i>Proteus vulgaris</i>		Saltamontes
<i>Proteus mirabilis</i>		Saltamontes
<i>Proteus rettgeri</i>		Saltamontes
<i>Salmonella schottmuelleri var alvei</i>		Abejas
<i>Salmonella enteritidis</i>		Palomillas
<i>Salmonella typhosa</i>		Palomillas
<i>Shigella dysenteriae</i>		Palomillas
	Lactobacilliaceae	
<i>Diplococcus y Streptococcus sp.</i>		Abejorro, gusano de seda y Palomillas
<i>Streptococcus faecalis</i>		
	Micrococcaceae	
<i>Micrococcus sp.</i>		Escarabajos, moscas y orugas
	Bacillaceae	
<i>Bacillus thuringiensis, Bacillus cereus</i>		Mariposas y palomillas
<i>Bacillus popilliae, Bacillus lentimorbus</i>		Escarabajos
<i>Bacillus sphaericus</i>		Mosquitos
<i>Bacillus larvae</i>		Abejas
<i>Clostridium novyi</i>		Palomillas

forma de emulsión o polvos. Tienen una alta susceptibilidad para plagas agrícolas de importancia económica y de tipo médico, su acción es lenta pero bastante eficaz en forma específica y selectiva, no perjudica los predadores de las plagas, no hay efectos nocivos en el medio ambiente. Por su tamaño son fáciles de manipular en una producción de tipo industrial. Su seguridad hacia el hombre es bastante alta, así como para otros mamíferos y plantas.⁹ Su aplicación en el campo no necesita de técnicas y precauciones muy sofisticadas.⁴ Los costos para su desarrollo son relativamente bajos.

Las desventajas son las siguientes: su vía de entrada es exclusivamente oral, no existe una acción por contacto, generalmente en un período determinado de desarrollo del insecto (larva, pupa o adulto) y de ésto depende el período de aplicación del insecticida; esta parte requiere de mucha investigación.

Productos comerciales.

Como se había mencionado anteriormente, los microorganismos que están siendo más utilizados en gran parte -- del mundo son aquéllos elaborados con las cepas B. popilliae, B. thuringiensis y B. sphaericus. Para el primero existen dos productos envasados en el mercado; Doom^R y Japademic^R los cuales son elaborados por los Laboratorios -

TABLA 3. PRODUCTOS ENVASADOS DE Bacillus thuringiensis⁴

País	Compañía	Marca Registrada ^R	Variedad
Francia	Biochem Products A.G.	Bactospeine	thuringiensis
Francia	Biochem Products A.G.	Leptox	thuringiensis
Francia	Biochem Products A.G.	Bug time ^a	kurstaki (HD-1)
EEUU	Abbot Laboratories	Dipel	kurstaki (HD-1)
EEUU	Nutrilité Products, Inc.	Biotrol	kurstaki (HD-1)
EEUU	Sandoz, Inc.	Thuricide	kurstaki (HD-1)
URSS	-	BIP	alesti
URSS	-	Dendrobacilline	dendroliinus
URSS	-	Entobacterine	galleriae
URSS	-	Insectine	thuringiensis
URSS	-	Toxobacterine	thuringiensis

^aDistribuido en EEUU por Rhodia, Inc.

Biológicos Fairfax. El laboratorio Reuter elabora otro producto conocido como Milky Spore Powder^R. Para el segundo se conocen tres países que ya envasan el producto (Tabla 3). Para el último se sabe actualmente que se encuentra en fase de planta piloto.

Clasificación e identificación.

Conforme a la octava edición del manual Bergey's¹⁷, los microorganismos que se identifican como insecto-patógenos se encuentran principalmente en el grupo I (Tabla 4) de la familia Bacillaceae, la cual comprende 22 especies diferentes. En este grupo aún existen para algunos casos delineamientos no muy precisos para su clasificación, debido a que su conocimiento no es totalmente claro. Estas divergencias se tuvieron primero entre B. cereus y B. thuringiensis, a consecuencia de que las dos presentaban un exosporium característico, un antígeno de spora común y susceptibilidad cruzada con algunos bacteriófagos. Su separación se establece más que nada en base a sus diferencias bioquímicas respecto a la utilización del citrato, presencia de lecitinasa y la producción de acetilmetilcarbinoil.

Por otro lado, los microorganismos B. popillae, B. lentimorbus y B. larvae se consideran como especies sepa-

TABLA 4. CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DEL GENERO Bacillus (grupo I)¹⁷

	E S P O R A			PRODUCTOS DE LA ACCION SOBRE LA GLUCOSA		
	Forma	Distintivo ensanchamiento del esporangio	Posición Dominante	ACIDO	GAS	ACETOINA
<i>B. subtilis</i>	E	-	C	+	-	+
<i>B. pumilus</i>	E	-	C	+	-	+
<i>B. licheniformis</i>	E	-	C	+	W o -	+
<i>B. cereus</i>	E	-	C	+	-	+
<i>B. anthracis</i>	E	-	C	+	-	+
<i>B. thuringiensis</i>	E	-	C	+	-	+
<i>B. megaterium</i>	E	-	C	+	-	+
<i>B. polymyxa</i>	E	+	CT	+	+	+
<i>B. macerans</i>	E	+	T	+	+	-
<i>B. circulans</i>	E	+	CT	+	-	-
<i>B. stearothermophilus</i>	E	+ o -	T	+	-	-
<i>B. coagulans</i>	E	+ o -	CT	+	-	+ o -
<i>B. alvei</i>	E	+	CT	+	-	+
<i>B. firmus</i>	E	-	C	W	-	-
<i>B. laterosporus</i>	E	+	C	+	-	-
<i>B. brevis</i>	E	+	CT	+ o -	-	-
<i>B. sphaericus</i>	S	+	T	-	-	-
<i>B. pasteurii</i>	S	+	T	-	-	-
<i>B. fastidiosus</i>	E	-	C	-	-	-
<i>B. larvae</i>	E	+	CT	+	-	-
<i>B. popillae</i>	E	+	C	+	-	-
<i>B. lentimorbus</i>	E	+	C	+	-	-

E = elíptica o cilíndrica; S = esférica o cercana a eso; C = central; T= terminal; o = subterminal; CT = central o terminal; W = débilmente positiva.

radas en el manual Bergey. Sin embargo, algunos investigadores mencionan que se deberían conformar en una sola especie, debido a su reacción común del antígeno flagelar, de la siguiente manera: B. popillae var popillae, B. popillae var lentimorbus y B. popillae var melatonthae. Además las relaciones entre algunos microorganismos como B. euloomarae con B. lentimorbus no están plenamente establecidos principalmente por la dificultad en su manejo, así como por -- sus problemas de crecimiento en medios sintéticos.

En resumen, el manual¹⁷ considera como características importantes del género Bacillus las siguientes: son células en forma de bastón (0.3-2.2 por 1.2-7 μm), la mayoría móviles (flagelos laterales), forman esporas resistentes al calor (no más de una en la célula vegetativa). La esporulación no se reprime por la exposición de aire, son gram (+) sólo en períodos tempranos de crecimiento o gram (-).

Son quimiorganotrofos, llevan a cabo un mecanismo estrictamente respiratorio o estrictamente fermentativo o ambos, usando varios substratos. El aceptor final en la cadena respiratoria es el oxígeno molecular, reemplazado éste en algunas especies por el nitrato. La catalasa es formada por la mayor parte de las especies y, su contenido -- (G+C) del DNA está en un rango de 32-62 moles.

Bacillus popillae.

Etiología.

La larva del escarabajo Popillia japonica, la cual - se alimenta de las raíces de los cultivos, ingiere en forma indirecta las esporas de B. popillae; ³⁴ las esporas germinan y los microorganismos penetran a través de la pared del intestino estableciéndose en el insecto una septicemia. El desarrollo de la enfermedad depende tanto de la dosis - de esporas como de la temperatura del animal en su etapa - de larva. Se han visto infecciones subletales en los adultos, así como disminución de su fecundidad cuando las larvas infectadas no mueren en forma prematura. Existe una - inoculación natural del suelo cuando los cuerpos de adultos y larvas muertas se descomponen en forma natural, propiciando ésto que la nueva generación de escarabajos pueda infectarse de nuevo. Se sabe que las larvas son un foco - potencial de infección cuando éstas adquieren tanto un color café como una longitud aproximada de 2 cm., cambiando este color a blanco cuando la larva se encuentra infectada, de aquí el nombre de enfermedad lechosa de la larva.⁷

Seguridad.

La seguridad del hombre debido al contacto con B. -- popillae está muy bien establecida. Estas bacterias no están relacionadas con ningún vertebrado. No se han observa

do infecciones en animales fuera de la familia Scarabaei dae; por lo menos 4 especies de insectos han tratado de infectarse fuera de esta familia sin lograrse ningún efecto. No se han observado alergias entre los trabajadores que producen este organismo. Además se han hecho pruebas convencionales de seguridad para mamíferos, donde se han dado dosis repetidas en forma oral con resultados muy convincentes.³⁰

Rango de Hospederos.

Esta bacteria causante de la enfermedad lechosa^{23, 43} es poco importante para otros escarabajos, fuera de Popillia japonica. Por ejemplo, se ha visto que las variedades relacionadas a B. popillae no son útiles para usarse contra el abejorro europeo debido a las bajas temperaturas del suelo, pero prometen ser provechosas contra los escarabajos en Australia, Nueva Zelanda y Canadá.

Producción de Bacillus popillae "in vitro"

Características.

En la naturaleza el microorganismo B. popillae es un patógeno obligado, debido a que su crecimiento y esporulación lo efectúa dentro de larvas infectadas. Las esporas pueden sobrevivir fuera del hospedero pero las células ve-

getativas necesitan desarrollarse en la hemolinfa o en medios muy complejos. Sin embargo, se encuentran aún limitadas las técnicas que hasta ahora han sido desarrolladas para permitir, tanto un desarrollo vegetativo elevado en un fermentador, así como una buena esporulación del microorganismo.

Selección de la cepa.

La cepa NRRL-B-2309 de B. popillae es una cepa común para hacer investigación ya que ésta crece rápidamente en medios sintéticos y tanto las esporas como las células vegetativas son bastante infectivas. Cepas derivadas de ésta se han obtenido a través de mutaciones en medios sintéticos, las cuales difieren en su rapidez de crecimiento, capacidad metabólica, características coloniales, infectividad y un gran esporogénesis "in vitro". Estas cepas -- son muy inestables y se debe tener mucho cuidado en mantener sus características durante las propagaciones que se realicen, tanto en medios sintéticos como en las larvas de insecto, ya que es en estos casos en donde se ha visto que se afecta su estabilidad.

Crecimiento vegetativo.

En una fermentación aerada, establecidas las condiciones óptimas se obtiene 2×10^9 cel/ml de B. popillae -

en un período de 16-18 h.

Después de la fase logarítmica de crecimiento de este microorganismo se establece una fase estacionaria donde -- existen pocos cambios en el número de células (Figura 1); -- ésta llega a permanecer durante algunas horas si los productos perjudiciales de la fermentación producidos en la fase logarítmica se neutralizan. La esporogénesis sucede en la mayoría de las células formadoras de esporas en la fase post-logarítmica, pero en este microorganismo gran -- parte de las células mueren en esta fase antes de esporular, y menos de 0.1% de las células permanecen viables después de 24 h de haberse obtenido el máximo crecimiento.

Este microorganismo requiere de oxígeno tanto para el metabolismo de carbohidratos como para su máximo crecimiento. Sin embargo un crecimiento vegetativo aunque en menor proporción es obtenido en tensiones reducidas de oxígeno y en anaerobiosis. La hemolinfa de la larva contiene oxígeno disuelto, el cual disminuye a más de la mitad durante la proliferación del microorganismo o hasta que se encuentra invadido principalmente de esporas.²¹

Los requerimientos mínimos de B. popillae en un medio sintético incluyen once aminoácidos, tiamina y barbiturato, donde se obtiene un crecimiento muy limitado a pesar de -

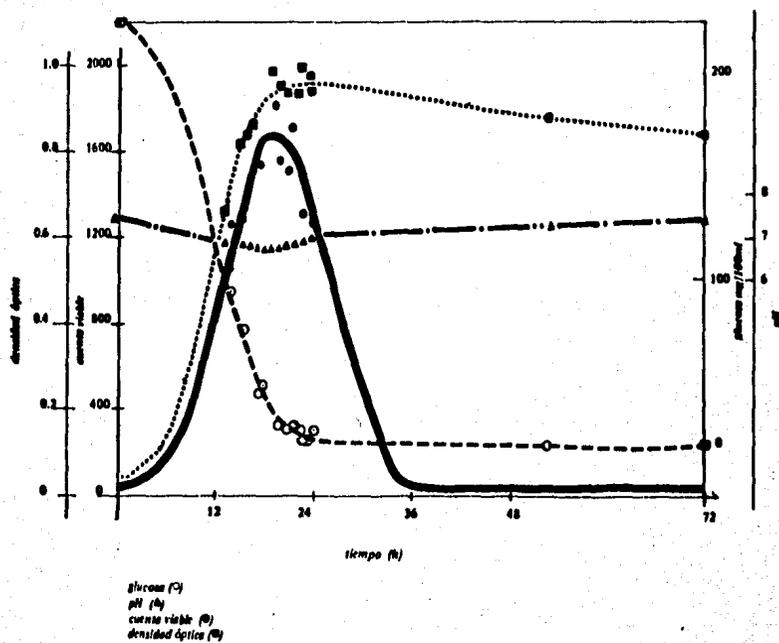


Fig. 1. Patrón de crecimiento de *B. popillae* en fermentador aerado de 2 litros.²¹

llevarse a cabo transferencias continuas. Rendimientos - altos se han obtenido en medios que contienen fuentes de nitrógeno complejas, donde se ha observado que este microorganismo parece requerir de factores de crecimiento desconocidos o de un balance de nutrientes dado básicamente -- por extractos de levadura específicos. El medio de cultivo estándar usado es el que contiene 1.5% de extracto de levadura, 0.3% de K_2HPO_4 y 0.2% de glucosa; parte del extracto de levadura puede ser reemplazado por otras fuentes de nitrógeno, tales como la caseína hidrolizada, triptona y agua de cocimiento de maíz. En forma comercial se usa el medio estándar para el inóculo y para el medio de producción, con las variaciones de las fuentes de nitrógeno ya mencionadas.

La longevidad de este microorganismo se ha podido incrementar ligeramente sometiéndolo a condiciones estrictas de crecimiento tales como: temperatura subóptima, inóculos pequeños, nutrientes limitados o administración de oxígeno restringida, así como por la inclusión de partículas de carbono en el medio o diálisis efectuadas durante el crecimiento. Se menciona que el peróxido de hidrógeno producido en la fermentación es el causante de la muerte de estos microorganismos, el cual altera la forma de las células con trastornos metabólicos, matando a las mismas sin llegar a lisarlas, lo cual da como resultado que estas

células no lleguen a su proceso de esporulación.

Producción de B. popillae "in vivo".

Metodología.

Las esporas que son el agente potencial causante de la enfermedad lechosa, permanecen en una forma estable en la naturaleza. Aproximadamente 5×10^9 esp/larva se llegan a acumular en la hemolinfa de las larvas durante el período de la enfermedad que va del 7° al 21° día. Se sabe que una gran cantidad de células vegetativas en la hemolinfa no llegan a esporular. La hemolinfa sólo tiene células vegetativas durante los cuatro primeros días de la infección, después de este tiempo la ocurrencia de estadios intermedios (células, preesporas y esporas) se hace evidente. El número de células vegetativas no exceden de $1-6 \times 10^3$ cel/ml en la hemolinfa y éstas van disminuyendo conforme se van formando las preesporas y esporas.²¹

Consideraciones para el desarrollo de una técnica para la producción de esporas:

1. La hemolinfa de la larva quizá sea un ambiente muy pobre para la esporulación de la bacteria.
2. Las cepas de B. popillae que se han tratado de mejorar para producirlas "in vitro" matan a la

larva en forma prematura, sin tener ésta la capacidad de formar suficientes esporas que pudieran diseminarse en el campo para causarle la enfermedad a otras larvas.

3. Actualmente la producción "in vitro" está dirigida al método de cultivo con fases separadas para el crecimiento y la esporulación o con técnicas de diálisis que continuamente eliminen los productos metabólicos y reemplacen nutrientes.

Bacillus thuringiensis.

Serotipos de Bacillus thuringiensis.

En 1962 ya se tenía conocimiento de 10 variedades de la bacteria, fundado esto en los siguientes aspectos bacteriológicos; pruebas bioquímicas clásicas, antígenos flagelares y su patrón de estearasas en las células vegetativas. Basándose en esto mismo, para 1973 se reconocieron 9 variedades más, perteneciendo todas las anteriores a 13 serotipos diferentes .

Hasta la fecha a esta lista se le han agregado 4 variedades que aún no han sido bien determinadas (Tabla 5).

Etiología.

Las larvas de los insectos se infectan a través del alimento que toman del suelo tratado.⁵¹ La pared del intestino es atacada por la toxina, provocándose un daño en el intestino.²⁷ Esto libera una secreción que baja el pH, lo cual favorece la germinación de esporas, con un consecuente desarrollo bacteriano. Este crecimiento se infiltra en la hemolinfa, dando como resultado una septicemia que le provoca la muerte a la larva.²⁶

El efecto anterior puede variar de diferentes maneras; por ejemplo, la toxina por sí misma puede resultar mortal en una forma rápida, si ésta efectúa una reacción drástica en el intestino.³⁵ Por otro lado, ésta puede paralizar las partes bucales en larvas, impidiéndoles de esta manera alimentarse.²⁷

También puede llegar a suceder que la dosis adquirida por la larva no le haga ningún daño, pero cuando llega a su estado de pupa la dosis surta efecto y la mate. Sin embargo, de no tener efecto en esta etapa, actuará cuando alcance su última etapa de desarrollo.

TABLA 5. SUBESPECIES DE Bacillus thuringiensis⁷

Variedad	Serotipo Antígeno H	Por el tipo de Esterasa
berliner	1	berliner
finitimus	2	finitimus
alesti	3a	alesti
kurstaki	3a 3b	ND*
sotto	4a 4b	sotto
dendrolimus	4a 4b	dendrolimus
kenyae	4a 4c	kenyae
galleriae	5a 5b	galleriae
canadensis	5a 5c	ND
entomocidus	6	entomocidus
entomocidu-limassol	6	entomocidu
subtoxicus	6	entomocidus
aizawai	7	galleriae
morrisoni	8	morrisoni
tolworthi	9	tolworthi
darmstadiensis	10	ND
toumanoffi	11	toumanoffi
thompsoni	12	thompsoni
pakistani	13	ND
ostvinia	ND	ND
wuhanensis	ND	ND
israelensis	ND	ND
infectum	ND	ND

ND* indica que el tipo aún no está determinado.

Forma del cristal.

En forma general se ha asumido que B. thuringiensis produce un cristal característico en forma bipyramidal o de diamante.³² Sin embargo, existen reportes de formas truncadas y cuneiformes. Todas las variedades de la tabla 5, encuentran el cristal característico, excepto B. entomocidus y B. thompsoni, que presentan un cristal tetrahédrico.

Propiedades químicas, activación y acción de la endotoxina (δ-endotoxina).

El cristal es un agregado de moléculas de proteínas, que constituyen subunidades de forma elipsoidal, con dimensiones (~15 nm por ~5 nm) y con un peso de 230,000 Daltons. El cristal se mantiene unido mediante puentes de hidrógeno y enlaces disulfuro en las cadenas internas de la subunidades. En algunos serotipos se han encontrado enlaces tipo éster entre subunidad y subunidad. Las subunidades elipsoidales están constituidas, en la mayor parte de los serotipos bacterianos, por diferentes cadenas polipeptídicas.^{2,6,14,18,25,32}

Se ha visto que el cristal se termina de formar cuando la bacteria termina su esporulación. Su formación se realiza a través de un RNAm estable, sintetizado aproximadamente 45 minutos antes de la fase I de la esporulación.

Una pequeña cantidad de esta proteína se encuentra dentro de la pared celular de la bacteria, la cual no puede actuar sobre los insectos hasta que la célula se haya roto. También esta proteína se encuentra en las capas de la espora, sugiriendo ésto que la proteína relacionada al cristal es un constituyente normal tanto de la pared celular como de la espora.¹¹

La solubilización del cristal es un factor muy importante para que éste ejerza su acción,³¹ cuestión que llega a ser muy variable en los distintos serotipos debido a que cada uno de ellos difiere en la composición y cantidad de las cadenas polipeptídicas.⁵³

El modo de acción de la toxina tiene ciertas cuestiones controvertidas, en gran parte por las dificultades de distinguir entre sus efectos primarios y secundarios.³⁵ En el caso del gusano de seda Bombyx mori, sus efectos se tienen muy bien estudiados. La toxina actúa después de ser ingerida por el gusano sobre las células epiteliales del intestino, causándole a estas células una pérdida muy rápida de ATP, lo que estimula la respiración celular y la absorción de glucosa. Pronto estas células se hinchan, liberándose una gran cantidad de ellas al intestino del gusano, lo cual detiene su alimentación. Este rompimiento del metabolismo (10-15 min.), conlleva a un desplazamiento de-

iones (principalmente K^+) del intestino hacia la hemolinfa, que da como consecuencia la parálisis del gusano y, - por último, la muerte del mismo.

Seguridad.

Pruebas muy amplias se han llevado a cabo tanto en mamíferos de laboratorio como en humanos voluntarios. En todas ellas se muestra que productos que no contengan -- β -exotoxina ofrecen una alta seguridad. Estas pruebas, - además, se han extrapolado hacia vertebrados salvajes sin hallarse ninguna contradicción.³⁰

Los productos (libres de exotoxinas) se han aplicado en grandes dosis a mamíferos de laboratorio por todas las rutas convencionales (oral, respiratoria, varias rutas parenterales, subcutáneas, en la superficie de la piel y en la cavidad del ojo) y no convencionales, como por vía intracraneal y dentro del glóbulo del ojo. De todo lo anterior, tanto los cristales como las esporas en animales de laboratorio, hombre y animales salvajes, no han reportado ni infecciones, ni efectos tóxicos debido al cristal.⁹

β -exotoxina.

B. thuringiensis además de producir su cristal proteico, forma otra sustancia con características insecticidas, conocida como β -exotoxina, la cual es termoestable y

soluble en agua.³⁸

Seguridad.

La β -exotoxina es conocida también como turingiensina. La toxina pura en forma oral tiene poco efecto en mamíferos, en cambio para las aves resulta ser bastante tó-xica; tan sólo 3 g de toxina por g de peso, dada diaria-mente en forma oral, provoca en el transcurso de varias -semanas erosiones en la molleja, proventriculitis y, fi--nalmente, la muerte.

En los vertebrados de sangre caliente, se ha visto-que la toxina, administrada a altas concentraciones llega a tener efectos mutagénicos.

La β -exotoxina ha resultado ser un buen insecticida de amplio espectro, utilizada únicamente en dos países --del mundo (Finlandia y Rusia), donde se usan básicamente-para eliminar nemátodos y ácaros.

Se sabe además que las cepas de B. thuringiensis - producen otras exotoxinas con propiedades insecticidas, - pero éstas aún no están bien estudiadas.³⁸

Hospederos.

Se ha encontrado que B. thuringiensis es patógeno para los siguientes órdenes de insectos: 8, 15, 29, 36, 39, 40, 55 Lepidoptera, Díptera, Hymenoptera y Coleoptera. Es en el primero donde se ha encontrado una mayor susceptibilidad, debido a que éste posee las condiciones propicias para la acción del cristal, como son un pH alcalino (9-10.5) y las enzimas que hacen activo al cristal. En este orden se incluyen los insectos de mayor importancia³ dentro de la agricultura y silvicultura (Tabla 6). 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 los resultados de susceptibilidad se reducen bastante¹⁹ (Tabla 7). Esto es atribuible al comportamiento que tienen las larvas, ya que pasan largos períodos en las partes bajas de las plantas donde no reciben adecuadamente el rociado del bioinsecticida. En dípteros las pruebas de campo han indicado una mayor susceptibilidad en comparación con las pruebas de laboratorio,⁶⁷ donde la contribución del ecosistema para este efecto favorable es aún incierta (Tabla 8). Dentro del mismo están los más importantes transmisores de enfermedades virales y de la malaria (Tablas 9- y 10). Para el orden Coleoptera se han encontrado susceptibilidades (aunque a dosis mayores) tanto en el campo como en el laboratorio en los siguientes insectos:

TABLA 7. SUSCEPTIBILIDAD DE LOS INSECTOS DE IMPORTANCIA AGRICOLA Y FORESTAL CONTRA LA VARIEDAD MAS POTENTE DE Bacillus thuringiensis.⁸

Susceptibilidad	Laboratorio		Campo	
	No	%	No	%
0	2	0.9	7	3.8
+	26	12.1	23	12.6
+//++	0	0	1	0.6
++	57	26.5	87	47.5
++/+++	1	0.5	4	2.2
+++	129	60.0	61	33.3
T o t a l	215		183	

0 = No hay efecto

(+) poca, (++) regular y (+++) mucha

(/)= Valores intermedios

TABLA 8. SUSCEPTIBILIDAD DE INSECTOS DE IMPORTANCIA MEDICA (MOSQUITOS Y MOSCAS NEGRAS) CONTRA DIFERENTES SEROTIPOS DE B. thuringiensis.⁸

Especies	Serotipo	Susceptibilidad	
		Laboratorio	Campo
Género Aedes			
<i>Aedes aegypti</i>	1,9	++	o
	14	+++	o
	10	++	o
	3a 3b	+	o
<i>Aedes albopictus</i>	14	++	o
<i>Aedes atlanticus</i>	14	o	++
<i>Aedes cantans</i>	14	+++	o
<i>Aedes caspius</i>	14	+++	o
<i>Aedes cinereus</i>	14	o	+++
<i>Aedes communis</i>	14	+++	o
<i>Aedes detritus</i>	14	+++	o
<i>Aedes dorsalis</i>	14	o	+++
<i>Aedes dupreei</i>	14	o	+++
<i>Aedes nigromaculis</i>	14	+++	+++
<i>Aedes melanimon</i>	14	o	+++
<i>Aedes punctator</i>	14	+++	o
<i>Aedes sierrensis</i>	14	o	+++
<i>Aedes sollicitans</i>	14	o	+++
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	14	++	+++
<i>Aedes tormentor</i>	14	o	+++
	1	+++	o
	3a 3b	++	o
<i>Aedes vexans</i>	14	+++	o
	14	+++	o

Continúa.

Continuación Tabla 8

Especies	Serotipo	Susceptibilidad	
		Laboratorio	Campo
Género Anopheles			
<i>Anopheles albimanus</i>	14	+++	°
<i>Anopheles annulipes</i>	14	+	+
<i>Anopheles arabensis</i>	14	+++	°
<i>Anopheles crucians</i>	14	°	+++
<i>Anopheles franciscanus</i>	14	°	+++
<i>Anopheles freeborni</i>	14	°	+++
<i>Anopheles gambiae</i>	14	++	°
<i>Anopheles polynesiensis</i>	14	++	°
<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	14	°	++
<i>Anopheles sargentii</i>	14	++	°
<i>Anopheles stephensi</i>	14	++	
Género Culex			
<i>Culex annulirostris</i>	14	+	+
<i>Culex erraticus</i>	14	°	+++
<i>Culex inornata</i>	14	°	+++
<i>Culex molestus</i>	10	++	°
<i>Culex mollis</i>	14	+++	°
<i>Culex nigripalpus</i>	14	°	+++
<i>Culex peus</i>	14	°	+++
<i>Culex resturans</i>	7	++	°
	14	°	+++
<i>Culex salinarius</i>	14	°	+++
<i>Culex tarsalis</i>	14	+++	+++
<i>Culex territans</i>	14	°	+++
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	10	++	°
	3a 3b	++	°
<i>Culex univittatus</i>	14	++	+++

Continúa.

Continuación Tabla 8

Especies	Serotipo	Susceptibilidad	
		Laboratorio	Campo
Género Culiseta			
<i>Culiseta incidens</i>	14	°	+++
<i>Culiseta inornata</i>	14	°	+++
Género Limatus			
<i>Limatus durhami</i>	14	+++	°
<i>Limatus flavisetosus</i>	14	+++	°
Género Mansonia			
<i>Mansonia richardii</i>	14	++	°
Género Psorophora			
<i>Psorophora columbiae</i>	14	+++	+++
<i>Psorophora ciliata</i>	14	°	+++
<i>Psorophora ferox</i>	14	°	+++
<i>Psorophora howardii</i>	14	°	0
<i>Trichoprosopon digitatum</i>	14	+++	°
Género Urataenia			
<i>Urataenia iowii</i>	14	°	+++
<i>Urataenia unquicula</i>	14	++	°
Género Wyeomyia			
<i>Wyeomyia mitchellii</i>	14	°	+++
<i>Wyeomyia vanduzeei</i>	14	°	+++
Género Eusimulium			
<i>Eusimulium latipes</i>	14	++	°

Continúa.

Continuación Tabla 8

Especies	Serotipo	Susceptibilidad	
		Laboratorio	Campo
Género <i>Simulium</i>			
<i>Simulium alcocki</i>	14	°	++
<i>Simulium cervicornutum</i>	14	°	++
<i>Simulium damnosum</i>	14	++	++
<i>Simulium hargreavesi</i>	14	+++	°
<i>Simulium jenningsi</i>	14	°	+++
<i>Simulium ochraceum</i>	14	+++	°
<i>Simulium parnassum</i>	14	+	+
<i>Simulium pugetense</i>	14	+	+
<i>Simulium tuberosum</i>	14	°	++
<i>Simulium unicornutum</i>	14	°	++
<i>Simulium venustum</i>	14	°	++
<i>Simulium verecundum</i>	14	+++	°
<i>Simulium vittatum</i>	1, 3a 3b	++	°
Género <i>Stegoterna</i>			
<i>Stegoterna mutata</i>	14	+	+

+ (poco), ++ (regular), +++ (mucho)

° no está bien determinado

0 no hay efecto

TABLA 9. DISTRIBUCION DE LAS ENFERMEDADES VIRALES TRANSMITIDAS POR MOSQUITOS¹³

Enfermedad	Area endémica	Vector
Fiebre amarilla	Africa, Norte, Centro y Sudamérica	<i>Aedes aegypty</i> <i>Haemagogus spegazzinii falco</i> <i>Aedes leucoceiaenus clarki</i> <i>Haemagogus equinus</i> <i>Haemagogus mesodentatus</i> <i>Haemagogus splendens</i> <i>Sabethes chloropterus</i> <i>Aedes africanus</i> <i>Aedes simpsoni</i> <i>Aedes triseriatus</i> <i>Aedes scapularis</i> <i>Aedes gluviatilis</i> <i>Aedes luteocephalus</i> <i>Aedes stokesi</i> <i>Aedes albopictus</i> <i>Culex thalassius</i> <i>Eretmapodites chrysogaster</i> <i>Mansonia africana</i>
Dengue	Hemisferio Oeste y Oceanía	<i>Aedes aegypty</i> <i>Aedes albopictus</i> <i>Aedes scutellaris</i> <i>Aedes polynesiensis</i>
Encefalitis	Oeste de los EEUU Illinois	<i>Culex tarsalis</i>
San Luis	Indiana, Ohio, Kentucky Tennessee	<i>Culex pipiens</i> <i>Culex pipiens quinque fasciatus</i>

Continúa...

Continuación Tabla 9.

Enfermedad	Area endémica	Vector
Encefalitis equina del Oeste	Oeste de EEUU y Canadá	<i>Culex tarsalis</i> <i>Aedes</i> sp. <i>Anopheles</i> sp. <i>Culiseta</i> sp.
Encefalitis equina del Este	Costas del Este de EEUU, Golfo de México, Panamá Brasil, República Dominicana y Cuba	<i>Mansonia perturbans</i> <i>Culex salinarius</i> <i>Culiseta melanura</i> <i>Aedes sollicitans</i>
Encefalitis equina de Venezuela	Ecuador, Colombia, Venezuela y Panamá	<i>Mansonia titillans</i>
Encefalitis "B" Japonesa	Países Asiáticos	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>
Encefalitis del Valle Murray	Norte de Australia Nueva Guinea	<i>Culex tritaeniorhynchus</i> <i>Culex annulirostris</i> <i>Culex tarsalis</i>
Infecciones del Oeste del Nilo	Egipto, Sudán, Congo, Uganda, Israel e India	<i>Culex univittatus</i> <i>Culex autennatus</i> <i>Culex pipiens</i> <i>Culex tritaeniorhynchus</i> <i>Aedes albopictus</i>

Continúa...

Continuación Tabla 9.

Enfermedad	Area endémica	Vector
Fiebre de la Grieta del Valle	Sudáfrica, Kenia y Japón	<i>Aedes caballus</i> <i>Aedes demeilloni</i> <i>Aedes tarsalis</i> <i>Eretmapodites sp.</i>

TABLA 10. IMPORTANTES ESPECIES DE MOSQUITOS Anopheles TRANSMISORES DE LA MALARIA EN AMERICA.¹³

Area endémica	Localidad	Vector
EEUU y Canadá	Centro y Sureste de los EEUU	<i>A. quadrimaculatus</i>
	Centro de Canadá	<i>A. freeborni</i>
	Nuevo México	
México, Centroamérica	De México a Colombia	<i>A. albimanus</i>
	Venezuela	
	Del Sur de EEUU hasta Argentina	<i>A. pseudopunctipennis</i>
	De Centroamérica hasta Argentina	<i>A. darlingi</i>
	De Centroamérica hasta Brasil	<i>A. aquasalis</i>
	México	<i>A. aztecus</i>
Sudamérica	Brasil	<i>A. cruzii</i>
	Argentina	<i>A. albitarsus</i>

Apid mellifera, Berosus styliferus, Copelatus chrevola-tirenovatus, Helophorus sp., Hidrophilus triangularis, Laccophilus mexicanus atristernalis, Laccophilus mexicanus, Rhantus gutticollis, Termonectus basillaris y Tropisternus lateralis.

Las formas de producción de este microorganismo se revisan en la parte de desarrollo.

Bacillus sphaericus.

Dentro de esta especie,^{56, 57} destacan por su actividad insecticida las cepas SSII-1 y la 1593, las cuales fueron aisladas de insectos de importancia médica por iniciativa de la WHO en el año de 1967 (Tabla 11).

Etiología.

Cuando la larva ingiere al microorganismo o esporas la toxina actuará en la membrana peritrófica hasta que éste sea digerido parcialmente. La toxina atraviesa esa membrana, pudiendo así afectar a las células que cubren el intestino. Se sabe que aproximadamente en 10 minutos la larva detiene su proceso de alimentación, a los 30 minutos se tiene una hinchazón del intestino seguido de tem

TABLA 11. ORIGEN DE LAS CEPAS DE B. sphaericus DE INTERES COMERCIAL.⁵⁷

Cultivos	Vector	País de origen
SSII-1	<i>Culex fatigans</i>	India*
1404	<i>Culex pipiens quinquefasciatus</i>	Filipinas
1593	<i>Culex fatigans</i>	Indonesia*
1691	<i>Anopheles albimanus</i>	El Salvador
1881	<i>Anopheles albimanus</i>	El Salvador
1894	Larva de mosquito (no designada)	Israel
2013-4	<i>Culex sp.</i>	Rumania

* Cepas de mayor importancia.

blor, estremecimiento, inactividad y finalmente la muerte en un lapso de 8 a 12 horas.^{8, 20}

Toxina.

Los microorganismos de esta especie tienen localizada su toxina en la pared celular como en la espora.⁴⁶ En el caso de la cepa SSII-1 su toxina la forma antes de la esporulación y es muy inestable; en cambio, en la cepa - 1593 la toxina está asociada a la esporulación y es estable. Se considera, además que la toxina de estas dos cepas es muy difícil de remover de la célula vegetativa y/o espora y se consideran cuantitativa y cualitativamente diferentes.

Seguridad.

Ultimamente se ha comprobado bajo la supervisión de la WHO que B. sphaericus no tiene ningún efecto sobre mamíferos, ésto es, no hay indicios de toxicidad. Por otra parte en el hombre han existido reportes en tanto contradictorios respecto a si este microorganismo causa o no algún efecto tóxico. Sin embargo, se ha establecido que B. sphaericus es atóxico al hombre. Además en organismos acuáticos tales como anfibios, crustáceos y peces, los resultados han sido negativos.⁷

TABLA 12. INSECTOS SUSCEPTIBLES A Bacillus sphaericus⁸
CEPA 1593

Especies	Susceptibilidad	
	Laboratorio	Campo
<i>Aedes aegypti</i>	+	°
<i>Aedes albopictus</i>	++	°
<i>Aedes atroparvus</i>	+	°
<i>Aedes canadiensis</i>	++	°
<i>Aedes caspius</i>	+	°
<i>Aedes detritus</i>	+	°
<i>Aedes fitchii</i>	++	°
<i>Aedes intrudans</i>	++	°
<i>Aedes melanimon</i>	°	+
<i>Aedes nigromaculus</i>	+++	°
<i>Aedes sierrensis</i>	+	°
<i>Aedes stimulans</i>	++	°
<i>Aedes triseriatus</i>	++	°
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	+	°
<i>Aedes vexans</i>	+++++	°
<i>Anopheles albimanus</i>	++	°
<i>Anopheles gambiae</i>	+++	°
<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	++	°
<i>Anopheles stephensi</i>	++	°
<i>Anopheles subpictus</i>	+++	°
<i>Culex nigripalpus</i>	+++	+++
<i>Culex pipiens</i>	+++	°
<i>Culex quinquefasciatus</i>	+++	++
<i>Culex restuans</i>	+++	++
<i>Culex salinarius</i>	+++	°
<i>Culex tarsalis</i>	+++	++

Continúa.

Continuación Tabla 12.

Especies	Susceptibilidad	
	Laboratorio	campo
<i>Culex tritaeniorhyncus</i>	+++	°
<i>Culiseta melanum</i>	+++	°
<i>Psorophora columbiae</i>	+++	++
<i>Simulium damnosum</i>	0	°

+ (poco), ++ (regular), +++ (mucho), ++++ ó más (muy po-
tente)

° no está bien definido.

0 no hay efecto

Hospederos.

B. sphaericus es altamente tóxico contra los siguientes organismos:^{46, 55, 56, 57} Anopheles, Culex y Psorophora. Su acción sobre las especies de Aedes es menor y es totalmente atóxica para los simúlidos (Tabla 12).

Mejoramiento genético.

La ingeniería genética ha abierto un nuevo horizonte al uso de las bacterias. Por ejemplo, resultados positivos se han obtenido usando B. thuringiensis en la transformación del plásmido que codifica para la formación de la toxina, dentro de E. coli, lo cual abre una serie de posibilidades para el mejoramiento de cepas.⁴⁷

Lo anterior da como consecuencia una serie de especulaciones respecto al mejoramiento. En el caso de B. popilliae la introducción del cristal podría ampliar el número de plagas que afectaría, así como también se podría obtener la posibilidad de producirlo "in vitro".

Por otro lado, la producción del cristal por medio de ingeniería genética se podría establecer dentro de una

bacteria que en forma natural se replique en aguas naturales; ésto daría como resultado un agente natural de control en el ciclo del mosquito. Cuando esta tecnología pueda ser manipulada fácilmente llegará a ser una arma importante para el hombre y hasta, quizá la introducción de estos plásmidos productores de la toxina en plantas de importancia comercial llegue a establecerse como una buena medida de control. Esto es parte del potencial que se puede esperar de los microorganismos a través de su manipulación.

Ya se ha descrito por otros investigadores el aislamiento del gene de la toxina de B. thuringiensis sub. kurstaki por técnicas de recombinación de DNA, por otro lado nuevas y diferentes toxinas se han desarrollado por la manipulación genética de los genes de la toxina de otras subespecies.⁴²

La ingeniería genética de las bacterias patógenas a insectos está dirigida a obtener cepas más potentes y virulentas, que puedan enfrentar los cambios severos de la naturaleza, así como para poder ampliar su espectro de hospederos a los cuales infectan.

La manipulación genética de los plásmidos que son prometedores por las técnicas de transformación o recombi

nación de DNA, puede mejorar la patogenicidad y la producción comercial de B. thuringiensis, así como de las otras cepas entomopatógenas.

Plásmidos.

En el caso de *B. thuringiensis*, se han encontrado -- una abundante y variada cantidad de elementos extracromosomales (Tabla 13) los cuales se han podido aislar y purificar, dando ésto lugar a una investigación más detallada de las estructuras y propiedades de estas moléculas. Sin embargo, es prematuro concluir que estos plásmidos representen características estables en las cepas, de aquí que se mencione lo siguiente:

1. El número de plásmidos presentes depende el tipo de medio usado para su crecimiento y su grado de desarrollo alcanzado.
2. Los plásmidos pueden ser retenidos o perdidos.
3. No hay hasta el momento una comparación entre -- los perfiles de los plásmidos obtenidos por diferentes técnicas.
4. Aún no es muy claro cuántas piezas de este DNA - extracromosomal son:
 - a) de origen cromosomal,

TABLA 13. DNA EXTRACROMOSOMAL EN B. thuringiensis.⁴⁷

Nombre de la Variedad	Número de Plásmidos	Peso Molecular (M Dalton)
<i>galleriae</i>	3	5.9, 10, 10.9
<i>sotto</i>	3	0.62, 0.8, 23.5
<i>finitimus</i>	4	0.79, 0.98, >50(2)
<i>kurstaki</i>	12	0.74, 0.80, 0.87, 1.1, 3.6 3.9, 4.2, 7.4, 17.1, 29.9, 45, >50
<i>alesti</i>	12	2.6, 3.8, 4.75, 5.32, 6.29, 7.29, 8.1, 8.67, 9.96, 18.12, 36.72, 44.58
<i>kurstaki</i> (HD-1)	6	1.32, 4.90, 5.45, 9.64, 30.1, 47.13

- b) multímeros de uno o del otro, o
- c) son capaces de tener una replicación autónoma.

La mera presencia de los plásmidos en B. thuringiensis no prueba que éstos estén involucrados en la formación del cristal, después de todo muchas bacterias que no forman el cristal también contienen plásmidos. Sin embargo, el papel que desempeñen estos plásmidos parece atractivo.⁴⁷

III. Objetivo

En esta revisión hemerobibliográfica se analiza la situación y las perspectivas del bioinsecticida con mayor potencial de uso en el Mercado Nacional, así como los procesos por vía fermentativa del mismo. Por otro lado se establece el nivel de investigación en el que se encuentra nuestro país en este campo y las aplicaciones de este tipo de productos en nuestra agricultura. Por último se determina, si para la elaboración de este producto es factible llevar a cabo una inversión a corto, mediano o largo plazo.

IV - DESARROLLO.

El desarrollo del presente estudio se lleva a cabo - de la siguiente manera:

- Presentar un análisis de la situación y perspectivas - en México, como se observará el producto único en el - mercado proviene de B. thuringiensis, el cual se utili- za mas en el sector agrícola.
- Revisar los factores que inciden en la producción a ni- vel fermentación, así como parámetros en la validación de la potencia del producto .
- Contemplar la situación de la investigación en México.
- y, Finalmente analizar las posibilidades de llevar a - cabo la inversión, para llegar a producir el producto- en el país, a corto, mediano o largo plazo.

Situación y Perspectivas en México.

Producción, comercialización y distribución.

El insecticida biológico desde la década de los setentas se importa de los EEUU por los Laboratorio Abbot y Sandoz de México, quienes lo venden a los laboratorios-Shell y Química Hoechst, respectivamente, siendo éstos quienes lo comercializan en toda la República Mexicana.

Los bioinsecticidas se consumen en el país en un porcentaje relativamente bajo, de aproximadamente del 1% en comparación con los insecticidas químicos. Sin embargo se a incrementado su uso en los últimos 6 años en un 35%.⁵⁰

El producto con la marca comercial Thuricide HP o Dipel, se consume en una mayor proporción en los siguientes cuatro estados de la República: Sinaloa, Sonora, Guanajuato y Chiapas (cifras no especificadas). Se sabe que el producto a pesar de estar desde hace algún tiempo en el Mercado Nacional, no ha tenido la difusión adecuada para que el mismo llegue a tener un mayor consumo entre los agricultores del país.^{3, 50}

Producto.

Este se vende en México en bolsas de papel con un -- contenido neto en polvo de 1 KG. a un precio de \$ 12.00 dólares (ajustándose este precio a los procesos devaluativos de nuestra moneda), teniendo éste en la etiqueta la siguiente leyenda de especificaciones:

Thuricide o Dipel.

Microorganismos: B. thuringiensis var berliner

Contenido 3.2% de la bacteria (25 x 10⁶ esporas viables)
 96.8% de materia inerte
 Cada miligramo de producto contiene 16,000 Unidades Internacionales de actividad.

Aplicación: Alfalfa, algodón, col, coliflor, brócoli, lechuga, maíz, fresa, frijol, melón, sandía, naranja, papa, pepino, tabaco y tomate.

Uso: Específico para palomillas y mariposas:

gusano de alfalfa	<i>Colias</i> sp.
gusano de la col	<i>Pieris rapae</i>
falso medidor	<i>Heliovespa zea</i>
bellotero	<i>Heliothis virescens</i>
gusano bellotero	<i>Heliothis virescens</i>
gusano soldado	<i>Laphygina frugiperda</i>
gusano medidor	<i>Alabama angillacea</i>
gusano soldado	<i>Drodenia</i> sp.
perforador europeo	<i>Pyrausta nubilalis</i>
cortador de la fresa	<i>Proxenus mindora</i>
enrollador hoja frijol	<i>Urbanus proteus</i>
enrollador hoja naranja	<i>Archips argyrospitus</i>
de las hojas de naranjo	<i>Popilia</i> SR <i>spontes</i>
de cuerno	<i>Protoparce manuca</i> <i>sexta</i> y <i>M. quinque</i> <i>maculata</i>

Dosis:

Brocoli, col, coliflor, repollo	
lechuga	0.1-1.0 Kg por Ha
alfalfa	0.1-0.25 Kg " Ha
algodón, maíz, frijol, fresa	
melón, sandía	2.0-4.0 Kg " Ha
naranja, papa, pepino	1.0-4.0 Kg " Ha
tabaco	1.0-3.0 Kg " Ha
tomate	1.0-3.0 Kg " Ha

<u>Intervalo de aplicación:</u>	de 7 a 10 días
Terrestre:	no usar más de 2,800 litros de agua por Ha.
Aérea:	lo normal es de 40 a 60 litros de agua por Ha.
Compatibilidad:	compatible con los insecticidas y fungicidas usuales.

Fitotoxicidad: Dipel; no afecta el crecimiento ni daña el follaje, aún de cultivos muy susceptibles como hortalizas, curbitáceas, tomate y tabaco.

Garantía: Se garantiza que el contenido de el producto en el envase se encuentre conforme a la fórmula anotada, pero su aplicación, manejo y transporte quedan fuera de control, ni el fabricante ni los distribuidores se hacen responsables de los resultados que se obtengan.

Agricultura.

México es un país que está dividido en tres zonas -- agrícolas importantes,³ en las cuales se producen principalmente los siguientes productos:

- I. Zona templada: lechuguilla, gñayule, ixtle de - palma, papa, arena, maíz, trigo, frijol, chile, caña de azúcar, hortalizas, cultivos frutales, garbanzo, cacahuete, cebada.
- II. Zona tropical: vainilla, tabaco, maíz, caña de azúcar, frutas tropicales, café cacao, arroz, - copra, henequén, ajonjolí, coco, cascalote, algodón, trigo, caoba, cedro, guacanaste, macayo, barí y ceiba.
- III. Sistemas de riego: algodón, trigo, cultivos frutales, sorgo, linaza, arroz, cártamo y caña de azúcar.

Cerca de la mitad de las tierras de labor se encuentran centradas en zonas relativamente reducidas que presentan condiciones climáticas favorables para la agricultura. El 44% de estas tierras se localiza en el región de clima fresco y húmedo que comprenden los Estados de México, Jalisco, Hidalgo, Puebla, Michoacán, Guanajuato, -- Tlaxcala, Querétaro, Nayarit y partes de Guerrero, Oaxaca y Tamaulipas, así como las zonas adyacentes a la parte -- septentrional de la Sierra Madre Occidental formadas por los Estados de Durango, Chihuahua y Sinaloa, mientras que en estas zonas semihúmedas la mayoría de los recursos --

agrícolas se encuentran en explotación, aunque en el resto del país la mayoría de las superficies aprovechables no están explotadas.

Cultivos de exportación y plagas.

Los cultivos que revisten gran importancia en el sector agrícola del país debido a que se exportan en una gran proporción desde hace aproximadamente una década son los siguientes: algodón, fresas, hortalizas frescas, maíz, tabaco, tomate, caña de azúcar (azúcar) y ajonjolí.⁶¹

Las plagas (lepidópteros) que con mayor frecuencia infestan los cultivos anteriores en el país, son las siguientes: falso medidor, perforador de la hoja y gusanos belloteros (algodón), falso medidor (ajonjolí), barrenador del tallo (caña de azúcar), falso medidor, gusano del follaje y gusano de las vainas (soya), gusano cogollero y gusano cachón (tabaco), pasador del fruto y gusano primavera (lechuga y tomate), gusano cogollero (maíz).^{3/61}

Los daños por plagas y enfermedades en los cultivos pueden causar bajas considerables en la entrada de divisas al país, tan solo en el año de 1981 los daños causados por plagas representaron en la producción nacional agrícola un 28%, lo cual significó una merma de más de 80,000 millones de pesos.⁶²

Investigación en México.

Conforme a la recopilación hecha por la Dirección - General de Institutos tecnológicos y el Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica⁵² en la línea de Investigación de los Bioinsecticidas las únicas Instituciones en el país que están dedicadas a su estudio son el - CINEVESTAV-IPN (Depto. de Biotecnología y Bioingeniería), - Universidad Autónoma de Nuevo León (Facultad de Ciencias-Biológicas), y el Instituto Tecnológico de Veracruz.

CINEVESTAV (Area de Fermentaciones)

A) Situación

Se está trabajando sobre esta línea y parte se desarrolla en colaboración con otra Institución.

B) Vinculaciones y colaboraciones interinstitucionales

Se tiene participación con otras instituciones y -- las actividades se realizan con la colaboración del personal, instrumental o instalaciones de otras instituciones.

C) Patrocinio

Con fondos propios de la Institución.

D) Difusión

Hasta el momento no se han difundido los resultados de la investigación.

UANL (Lab. de Microbiología Industrial y Suelos)

A) Situación

Se está trabajando actualmente sobre esa línea y se están desarrollando los recursos necesarios para ampliar el programa y número de proyectos.

Se está trabajando actualmente sobre esta línea y - parte se desarrolla en colaboración con otra institución.

B) Vinculación y colaboraciones interinstitucionales

Se tiene participación con otras instituciones y las actividades se realizan con la colaboración del personal, instrumental o instalaciones de otra institución.

C) Patrocinio

Con fondos propios de la Institución.

Colaboración de organizaciones internacionales
(OEA, UNICEF, FAO, etc.)

D) Difusión

Los resultados se han presentado en eventos científicos y discutido en reuniones técnicas o grupos -- abiertos.

Se han discutido los resultados con grupos de trabajo.

Se han publicado íntegramente los trabajos realizados en la línea de investigación.

ITV (Area de Fermentaciones)

A) Situación

Se está trabajando sobre esta línea y se están desarrollando los recursos necesarios para ampliar el programa y número de proyectos.

B) Vinculaciones y colaboraciones interinstitucionales

Se tiene participación con otras instituciones y -- las actividades se realizan con la colaboración del personal, instrumental o instalaciones de otras instituciones.

C) Patrocinio

Con fondos propios de la Institución.

D) Difusión

Se han discutido los resultados con grupos de trabajo.

Se han publicado los trabajos realizados en la línea de investigación.

Lo anterior nos hace ver que los investigadores de la UANL en comparación con los del CINVESTAV y los del ITV, son los que han tenido un mayor avance en esta línea de investigación.

Transferencia de Tecnología.

El establecimiento de un proceso de este tipo en nuestro país, se puede analizar respecto al tiempo de la siguiente manera:

a) Corto o mediano plazo.

De llegar a necesitarse el establecimiento del proceso en este período se necesitaría recurrir a la importación de gran parte de la tecnología de los países en desarrollo, especialmente de los EEUU, exceptuándose únicamente la parte de materias primas para el proceso fermentativo, debido a que todas ellas se pueden obtener en nuestro país.

b) Largo plazo

El establecimiento del proceso tiene más posibilidades en este rubro, debido en gran parte a la poca demanda que ha tenido este producto en el mercado nacional, durante la década anterior y la presente, la cual se verá incrementada cuando se vean las grandes ventajas ecológicas que presentan estos productos.

Lo anterior da oportunidad a las instituciones de investigación para encontrar la manera más apropiada de llevar a cabo el proceso biotecnológico, con el estableci-

miento de tecnología propia, la cual se iría adaptando poco a poco en todos los aspectos de la producción.

Por otro lado, deberá existir en este tiempo un vínculo cada vez más fuerte entre las instituciones de investigación y la industria, para que los logros obtenidos en la ciencia fructifiquen en la elaboración y comercialización del producto.

Perspectivas económicas.

El gobierno de la República de la presente administración ha apoyado su política económica en 10 puntos importantes, de los cuales sobresalen 2, que constituyen un apoyo importante para la investigación y buen desarrollo de -- productos nacionales, como son:⁵⁹

- 1) Las políticas de crecimiento e intercambio; los cuales fomentan las exportaciones no petroleras y ayudan eficientemente en la sustitución de importaciones .
- 2) Políticas de exportación; tarifas protectivas -- arancelarias, las cuales deberán ser revisadas -- con mayor profundidad, constituyéndose medidas -- para organizarlas con un mínimo de controles --- cuantitativos. En esta parte México ya negoció su entrada al GATT (Acuerdos Generales sobre Tarifas y Marcas).

Los juicios anteriores deberán fomentar la inversión a nivel industrial para la elaboración de productos de buena calidad ,asi como producir aquellos productos que son útiles al país, los cuales se vienen importando.⁵⁹ De aquí que analicemos mas adelante en una forma sencilla las posibilidades de llevar a cabo una inversión total para la elaboración de un bioinsecticida, el cual es un producto de importación util para México.

Producción.

La productividad de las células está dada por un potencial inherente a la misma y por mecanismos que controlan las funciones celulares. La consistencia de estas propiedades celulares, junto a las alteraciones predecibles producidas por la modificación de las condiciones de crecimiento, están dadas tanto por los controles metabólicos como por los mecanismos de control genético. Todos los procesos fermentativos, incluyéndose la producción de los agentes de control microbiano, dependen de los mecanismos anteriores. De aquí que la formación de los productos insecticidas celulares requieren de un crecimiento microbiano previo y por consiguiente la obtención de rendimientos máximos de tales productos demanden una alteración específica del crecimiento celular normal o de su metabolismo.

Mantenimiento de la cepa.

Una transferencia continua de los microorganismos en medios de cultivo pueden producir cambios no deseados, tales como el decremento de la capacidad de esporular o una disminución en la virulencia de la bacteria. Por esto es aconsejable pasar la bacteria de vez en cuando a través de su hospedero para que ésta conserve o recupere-

su virulencia y su capacidad de esporular.

El modo más aceptado para el mantenimiento de estas cepas ha sido la liofilización, utilizando suero estéril como soporte para las células o esporas.

Medios de cultivo.

Las células microbianas necesitan agua, carbono, nitrógeno, elementos minerales y factores de crecimiento, donde los niveles y formas de estas sustancias dependen del proceso de fermentación.

• Fuente de carbono.

El carbono¹ es una sustancia que es utilizada por los microorganismos para la síntesis del nuevo material celular o productos celulares. Generalmente los carbohidratos son las fuentes más disponibles y económicas. Los polisacáridos no pueden entrar a la célula y los organismos para utilizarlos forman enzimas hidrolíticas extracelulares. El almidón, por ejemplo, puede ser utilizado -- por B. thuringiensis debido a que este organismo es un -- productor de amilasa activa. Consideraciones económicas eliminan el uso de azúcares en forma pura, en cambio los de más utilidad son las melazas, desechos de granos, etc.

• Fuente de nitrógeno.

El nitrógeno¹ requerido por los microorganismos puede en algunas veces ser administrado como sales de amonio. En otros casos el nitrógeno se da en forma de aminoácidos sencillos, péptidos, ácidos nucleicos y vitaminas. Para el caso de las bacterias patógenas se le requiere agregar suero de animal o hemolinfa, ya que éste es un grupo que tiene mayores exigencias nutricionales en comparación con los organismos saprofiticos. Las formas de nitrógeno orgánico que se utilizan en los medios de producción son productos ricos en proteína de origen animal y vegetal donde se incluyen harina de soya, agua de cocimiento de maíz, aceite de semilla de algodón, polvo de endosperma, extracto de levadura e hidrolizados de caseína y suero de leche.

• Minerales.

Las sales minerales¹ son esenciales para el crecimiento de los microorganismos, éstas incluyen K, Mg, P, S, Zn, Fe, Cu, Mo, Mn, cantidades muy pequeñas de calcio y otros minerales. Los minerales pueden estar involucrados en diferentes procesos metabólicos como es el caso del Mn en la esporulación y el calcio en la estabilidad al calor de las esporas. Ordinariamente los elementos "traza" son provistos en cantidades adecuadas por el agua o por los sustratos de la fermentación.

Factores de crecimiento.

Las vitaminas, componentes esenciales de algunos sistemas enzimáticos son necesarios para todas las células microbianas; éstas deben ser suplementadas, ya que los microorganismos no las sintetizan.¹ Una deficiencia en la capacidad de un componente esencial de la célula resulta ser una característica específica de cada cepa.

Fermentación de Bacillus thuringiensis.

Medida de la actividad.

Una característica importante de la fermentación de B. thuringiensis es la evaluación de la formación del bioinsecticida. El nivel de impurezas en el producto final es muy elevado, el ingrediente activo representa solo un porcentaje en el producto final y no tendría sentido aislarlo ya que las esporas varían en virulencia, dependiendo de la cepa y de una fermentación a otra. De aquí que existan -- una serie de parámetros, unidades y métodos de reportar la actividad insecticida de estos materiales.^{21, 50}

Cuenta viable de esporas.

Las esporas de B. thuringiensis son resistentes a la pasteurización. Las cuentas generalmente se hacen a partir de suspensiones de esporas que se han expuesto a una tempe

ratura de 65°C durante 15 minutos, donde en algunos casos, - para favorecer la germinación, se exponen las esporas a una temperatura alrededor de los 80°C por un período corto.

- Complejo cristal-espora.

Unidad de dilución dietética (UDD₅₀). Esta unidad es un recíproco de la DL₅₀ determinada en términos de una concentración dietética artificial. En ausencia de un estándar la UDD es una herramienta útil, y varía en una forma -- proporcional con la potencia, permitiendo una comparación directa entre sólidos y líquidos. Sin embargo, esta unidad, tal como la DL₅₀, tiene una desventaja, que es que varía -- respecto a las especies de insectos usados y su edad, además en comparaciones independientes a partir de pruebas no relacionadas las observaciones no son seguras.

- Unidad Internacional (UI).

Desde un Congreso efectuado en Holanda en 1966, se -- propuso que las potencias del cristal de B. thuringiensis - fueran determinadas a través de bioensayo donde la DL₅₀ de muestras problemas fuesen comparadas con un estándar que -- fue preparado por investigadores del Instituto Pasteur, conocido éste como E-61, al cual se le asigna una potencia de 1000 UI/mg. De esta manera las potencias de esta especie de microorganismos puede ser expresada en unidades internacionales por mg en relación a este estándar.

- Exotoxina termoestable (β -exotoxina)

Esta exotoxina no permite la metamorfosis de las larvas de moscas en adultos y su potencia es medida por medio de bioensayos en contra de insectos.

La actividad de las muestras pueden expresarse como CL_{50} , basado en el peso de la toxina pura, ya ésto ha sido aislado y se encuentran disponibles muestras de referencia.

- Potencia.

Para determinar la potencia,⁵⁰ de una muestra se ha establecido la siguiente fórmula.:

$$\text{Potencia de la muestra (UI/mg)} = \frac{\text{Potencia del Estándar } CL_{50} \times \text{estándar}}{\text{Muestra } CL_{50}}$$

Con ella es posible calcular la potencia de la muestra, utilizando estándares de acuerdo al tipo de microorganismo como se muestra en la Tabla 13. Este cálculo es de gran importancia, debido a que el peso del ingrediente activo o de la spora no necesariamente indica la actividad-insecticida, como puede observarse en la tabla 14.

TABLA 13. ESTANDARES PARA LOS BIOENSAYOS.⁵⁰

Nombre del Estándar	Tipo	Potencia (UI/mg)
E-61	H-1	1,000
HD-I-S-1971	H-3a, 3b	18,000
HD-I-S-1980	H-5a, 3b	16,000
IPS-78	H-14	11,000

TABLA 14. RELACION DE UNIDADES INTERNACIONALES Y CUENTA DE ESPORAS EN VARIAS FORMULACIONES DE B. thuringiensis⁵⁰

A. Diferentes variedades (fermentaciones en medio idéntico)

Cultivo N°	Serotipo	Cuenta de esp. (X10 ⁶ /mg)	Potencia (UI/mg)	UI/10 ⁶ esp.
HD-2	H-1	12	1,410	120
HD-83	H-3a	6	Inactivo	0
HD-1	H-3a,3b	17	15,400	910
HD-263	H-3a,3b	11	54,600	4210
HD-244	H-3a,3b	13	70,600	5400
HD-305	H-5a,5b	16	943	59
HD-519	H-14	63	Inactivo	0
HD-563	H-14	62	Inactivo	0

B. Variedad única (fermentación en medio diferente)

Cultivo	Medio	Cuenta de esp. (X10 ⁶ /ml)	Potencia KUI/ml	UI/10 ⁶ esp.
HD-263	A	1200	5800	4830
	B	1700	12100	7120
	C	2400	3830	1600

$$\text{KUI} = \text{UI} \times 10^3$$

Fermentaciones comerciales.

Los procesos fermentativos; semisólido y -sumergido se usan comercialmente desde 1965 y 1970, respectivamente. En el proceso semisólido el producto final en forma de harina contiene cristales, esporas y exotoxina, - en cambio el polvo obtenido en el proceso sumergido contiene el complejo espора-cristal únicamente.

- Fermentación semisólida de B. thuringiensis.

El proceso de producción de B. thuringiensis por este método se muestra en la Figura 2. A partir de una cepa -- mantenida en un "slant", se inocula un matraz en agitación el cual permanece durante 6 h a 30°C, después se procede - a inocular un segundo matraz, el cual permanece a la misma temperatura durante 5 h. La composición de estos medios - es de 1.5% de glucosa, 0.5 g de agua de cocimiento de maíz, 0.5% de extracto de levadura y 0.4% de K_2HPO_4 , ajustándose el pH a 7.2 con NaOH. Inmediatamente después se inocula - un fermentador "semilla" el cual está constituido de 1.0 % - de glucosa, 0.45% de agua de cocimiento de maíz, 0.6% de - extracto de levadura, 0.35% de K_2HPO_4 , 0.04% NaOH y 0.01% - de $CaCl_2$ llevándose a cabo la fermentación durante 16 h a - 30°C, Al término de este tiempo se inocula el medio semisó - lido usando 400 ml de la semilla por cada Kg de medio semi - sólido constituido éste por 54 g de salvado de trigo, 380 g de perlita expandida, 62 g de harina de soya, 36 g de glu-

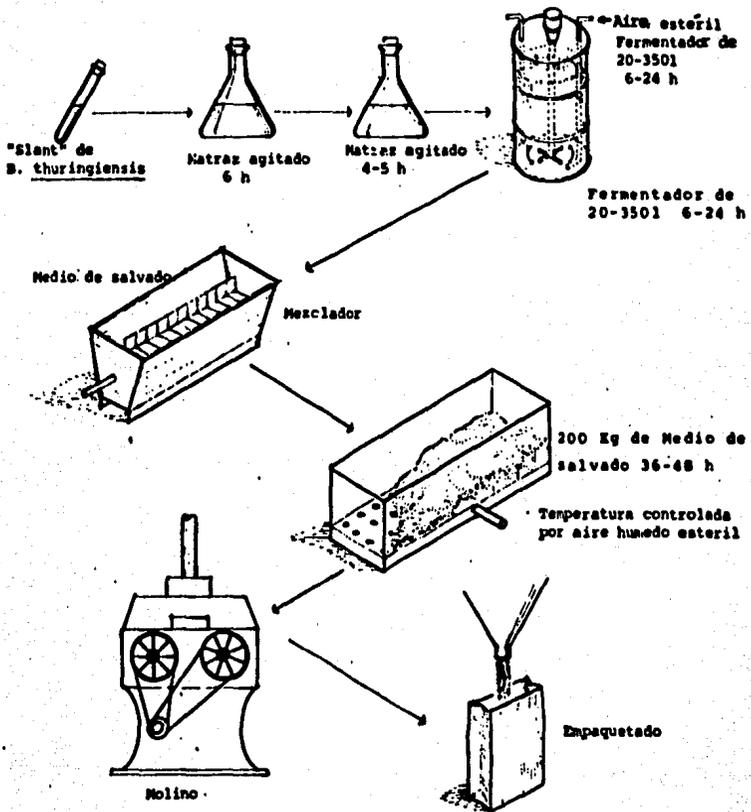


Fig. 2. Fermentación semisólida de *B. thuringiensis*²⁷

cosa, 3.6 g de CaCO_3 , 0.9 g de NaCl , 0.29 g CaCl_2 y 160 ml de agua. Previamente se efectúa una esterilización parcial con vapor de agua durante 60 min, ésta al ser inoculada con la semilla llega a tener una humedad del 60% en peso y un pH de 6.^{12,21,22}

La fermentación semisólida transcurre durante 36 h en tinas con fondos perforados, donde a la mezcla se le administra aire a una temperatura de 30-34°C con 95-100 % de humedad relativa con un flujo de 0.4-0.6 vvm. Al cabo de 3 h el flujo se cambia a 1.0-1.2 vvm y el pH de la mezcla alcanza un valor de 7.5, con un contenido de humedad que llega al 53%. Transcurrida esta etapa se pasa aire seco, con una temperatura de 50 a 55°C, durante otras 36 h; pasado este tiempo, se cosecha y se tamiza a través de una rejilla, quedando el producto final con un contenido de humedad del 4% y un pH de 7.0. De esta forma el producto está listo para envasarse.

Este proceso actualmente está siendo ampliamente desplazado por las fermentaciones en tanque, debido a que se puede tener un control más estricto de la fermentación.

Fermentación sumergida de B. thuringiensis.

Desde hace ya algunos años la Corporación Internacional de Química y Minerales presentó un diagrama de como se

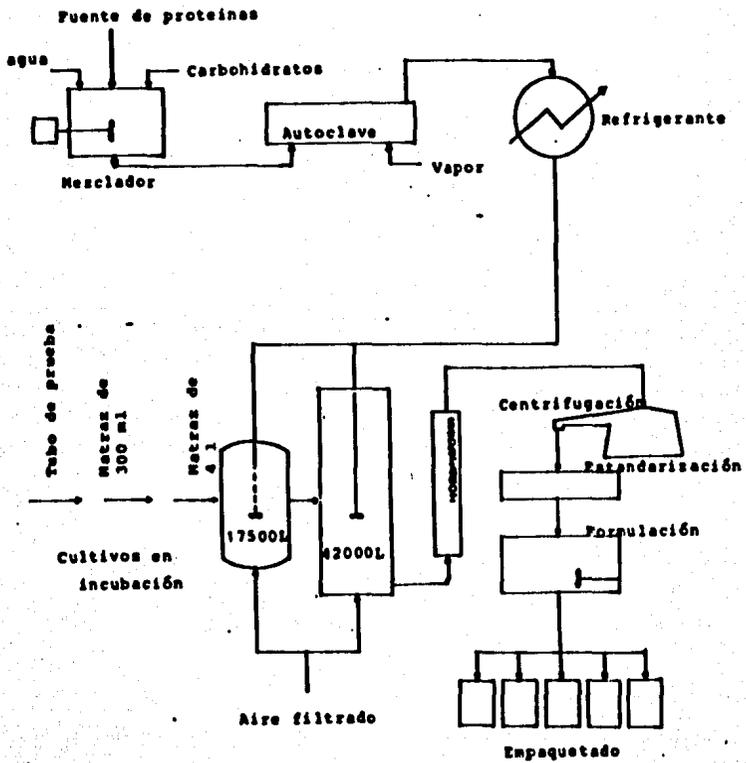
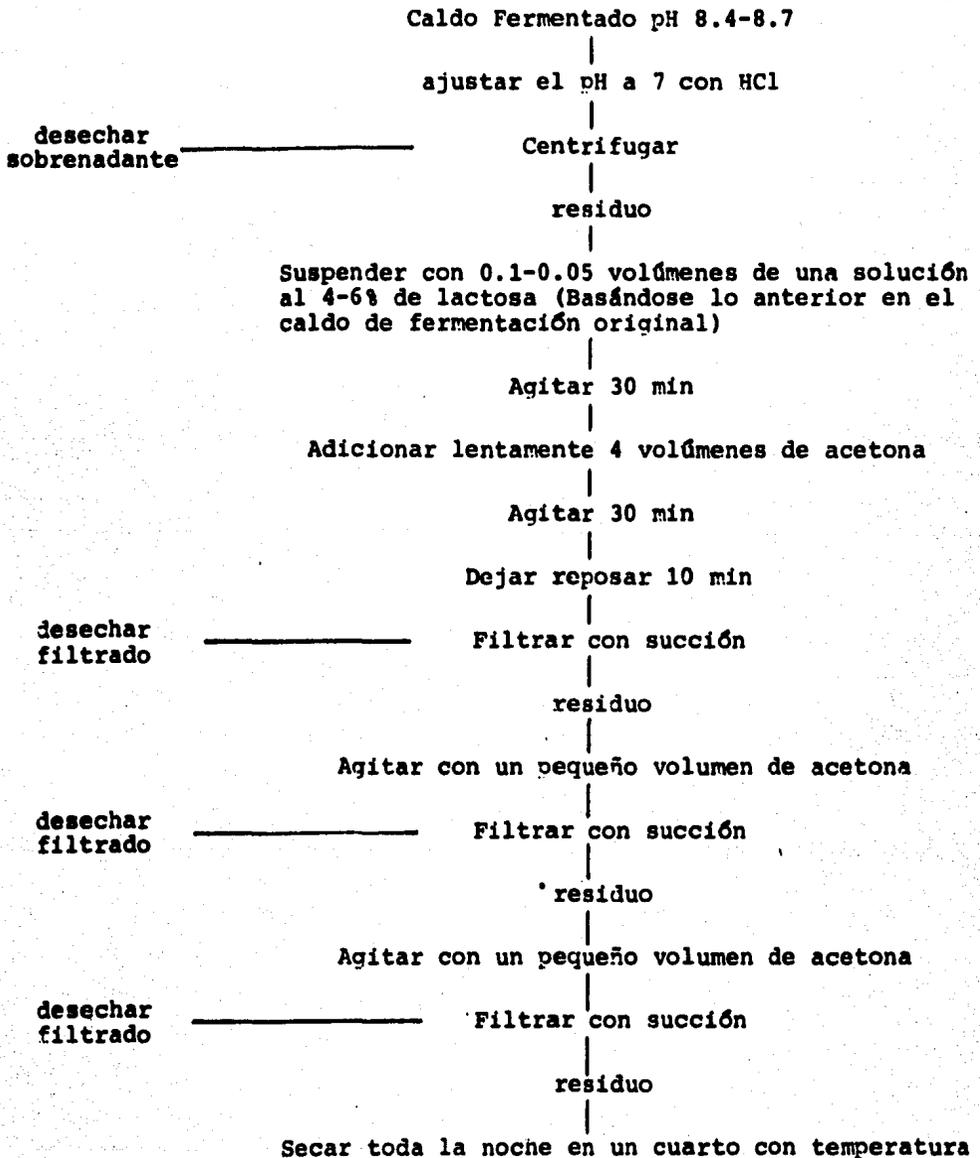


Fig.1 Fermentación sumergida de *B. thuringiensis* ²¹

Fig. 4. PROCESO DE RECUPERACION DEL COMPLEJO "ESFORA-CRISTAL"
DE Bacillus thuringiensis²¹



se debe llevar a cabo la producción de esporas y toxinas de B. thuringiensis, el cual aún se sigue utilizando (Figura 3). Este procedimiento se inicia a partir de un -- "slant", con el cual se hacen dos pases a nivel matraz antes de inocular el fermentador semilla, teniendo todos éstos el mismo medio compuesto de 1% de melaza de remolacha, 0.85% de agua de cocimiento de maíz y 0.1% de CaCO_3 . Para cada matraz en agitación el tiempo de incubación es de 24 h, en cambio, para el fermentador semilla este tiempo varía debido a que ésta se detiene hasta obtener un crecimiento muy abundante, usándose así para inocular el tanque de producción, el cual está compuesto de 1.86% de melaza de remolacha, 1.4% de polvo de semilla de algodón, - 1.7% de agua de cocimiento de maíz y 0.1% de CaCO_3 .

Cuando termina la fermentación,²⁰ esto es, cuando los sustratos disponibles se han agotado y la mayor parte de las células han esporulado se inicia el proceso de recuperación (Figura 4). Se menciona que de este proceso se obtiene 2×10^9 esporas viables/ml.²¹

La elaboración comercial del bioinsecticida se recomienda llevarla a cabo en lote, de aquí que se analice la inversión total que se tendría que realizar para abastecer la demanda del producto a través de una fermentación sumergida.

Proceso.

Este estudio se realiza conforme a lineamientos sencillos ya establecidos para realizar una inversión de tipo industrial.²⁶

En primera instancia se establece el volumen de trabajo que se necesita para llevar a cabo el proceso de fermentación propuesto para satisfacer la demanda actual del mercado, la cual es de 20 toneladas. Esto equivale a 640Kg de biomasa, debido a que el 96.8% del contenido es material inerte, de donde el contenido de biomasa por paquete es de 0.032 Kg.

Se sabe que el proceso de fermentación dura 120 h, - cada fermentación será capaz de realizarse en:

$$\frac{168 \text{ h/semana}}{120 \text{ h}} = 1.4 \text{ ciclos/semana}$$

Lo cual se puede dejar por aproximación en un ciclo por semana, debido a tiempos muertos del fermentador.

Si la demanda requiere producir 640 Kg de biomasa al año³, se tendrán que producir por semana;

$$\frac{640 \text{ Kg}}{48 \text{ semanas}} = 13.3 \text{ Kg/semana} *$$

48 semanas

Tomando en cuenta que el mínimo rendimiento de biomasa reportado¹ para el microorganismo es de 0.01 Kg/l se tiene lo siguiente:

$$\frac{13.3 \text{ Kg/semana}}{0.01 \text{ Kg/l}} = 1330 \text{ l/semana}$$

Esto es que tendríamos que efectuar una fermentación de -- 1330 l por semana, para satisfacer la demanda del mercado actual.

Ventas anuales

Si el precio propuesto del bioinsecticida es de \$ 12 dólares (esperandose una equivalencia aproximada por dólar de --- 1035.6 pesos a fin del presente año, dado esto por los indicadores económicos del⁵⁹ Banco de México). Tenemos que el volumen de ventas anual alcanzará un valor de:

$$\begin{array}{r} \$ 12,427 \text{ -----} 0.032 \text{ Kg de biomasa} \\ X \text{ -----} 1.0 \text{ Kg de biomasa} \\ X = \$ 388,343.7 \end{array}$$

$$\$ 388,343.7/\text{Kg} \times 640 \text{ Kg} = \$ 248,544,000.00$$

Los valores anteriores se consideran relativos y necesariamente actualizables hacia la fecha en que se estudien

* rendimiento mínimo teórico

** cantidad de biomasa por paquete comercial

Inversión

Para los siguientes cálculos se toma en consideración la siguiente fórmula que nos estima el monto de la inversión:

$$\text{Inversión} = 4.3^a \times \text{costo unitario del fermentador} \times \text{No. de fermentadores.}$$

$$\text{Inversión} = 4.3 \times 45,000,000.00 \times 1 = \$ 193,500,000.00$$

Lo anterior representa la inversión total proyectada en el activo para el establecimiento y desarrollo de este proceso biotecnológico.

Costo variable.

Cálculo del costo variable para un rendimiento producción de 10.0 g/l (rendimiento mínimo necesario para satisfacer la demanda).

Componentes del medio ²¹	Concentración* en el medio de fermentación (g/l)	Cantidad para 1 Kg de biomasa (Kg)	Costo de materia prima (\$/Kg)	Costo (\$/Kg biomasa)
Melaza de remolacha	18.6	1.86	1.34	2.5
Harina de semilla de algodón	14	1.40	189.00	264.6
Agua de cocimiento de maíz	17	1.70	209.42	356.0
CaCO ₃	1	0.10	326.00	32.6
T o t a l				\$ 655.7

a - Factor práctico en base al costo de los fermentadores incluye servicios, accesorios, recuperación, etc.

*Nota: Para este cálculo se consideraron las concentraciones que se están utilizando actualmente para obtener 10 g/l de biomasa.

Los costos variables al año serán de:

$$\$655.7/\text{Kg} \times 640 \text{ Kg/año} = 419,648/\text{año}$$

Costo fijo (anual)

Mano de obra (6 trabajadores con \$ 90,000 promedio)	\$ 6.480.000.00
Depreciación (25% del activo)	48,375,000.00
Regalías sobre ventas (2% de ventas anuales)	4,970,880.00
Servicios (10% sobre materias primas)	41,964.00
	<hr/>
	\$ 59.867.844.00

$$\frac{\text{Costo fijo anual } \$59.867.844.00/\text{año}}{\text{Kg/año}} = \frac{\$59.867.844.00/\text{año}}{640 \text{ Kg/año}} \$93.543.5/\text{Kg}$$

Costo financiero.

Para una empresa de este tipo, es muy seguro que se recurra a un financiamiento tipo industrial, de aquí -- que se hagan las siguientes consideraciones; un interes -- por financiamiento del 60% de la inversión a un 100% anual**

** se consideran intereses altos debido a la situación por la que pasa el país.

$$193,500,000.00 \times 0.6 \times 10 = 116,100,000.00$$

$$\frac{116,100,000.00/\text{año}}{640 \text{ Kg/año}} = \$ 181,406.25/\text{Kg}$$

640 Kg/año

Costo total

Costo variable	\$ 655.7/Kg
Costo fijo	\$ 93,543.5/Kg
Costo financiero	<u>\$181,406.25</u>
	\$275,605.45/Kg

si se tiene un precio de venta del producto de \$ 388,343.7 - por Kg de biomasa, se tendrá una utilidad de:

Precio de venta	\$ 388,343.70/Kg
Costo total	<u>\$ 275,605.45/Kg</u>
	\$ 112,738.25/Kg

$$\text{Utilidad de operación} = 112,738.25/\text{Kg} \times 640 \text{ Kg/año} = 72,152,480/\text{año}$$

Cabe aclarar que la utilidad de operación o utilidad antes de intereses e impuestos incluye toda utilidad producida por el activo total en operación y excluye cualquier partida de utilidad producida por activos fuera de la operación normal de la Empresa. En otras palabras el activo en operación produce una corriente de ingresos conocida como utilidad de operación. Se excluye para este efecto los intereses y el impuesto sobre la utilidad y la participación de los trabajadores en virtud de que lo que produce el activo es independiente de los gastos y costos que implique la obtención de los fondos y la forzada asociación con el gobierno.

Rentabilidad.

Para medir la rentabilidad o rendimiento de la inversión activa de la Empresa, bastará con dividir la utilidad neta - de operación (utilidad antes de intereses e impuestos) obtenida o planeada para el periodo antes estipulado, entre el activo total en operación obteniéndose lo siguiente:

$$\text{Rentabilidad} = \frac{\text{Utilidad}}{\text{Activo total}} = \frac{72,152,480.00}{193,500,000.00} = 0.37 = 37\%$$

El valor encontrado del 37% indica que el rendimiento de las inversiones en el activo son bajas en comparación, de la que se obtendrían esos mismos fondos si se encontraran en -- una Institución Bancaria (84.6% anual)*. Aunque el resultado es escueto, nos da idea de que por el momento no es factible llevar a cabo la inversión en el proceso.

Los cambios o alternativas a mediano o largo plazo que podrían utilizarse para aumentar el rendimiento de esta inversión son los siguientes:

1. Aumentando el margen de utilidad de las ventas.

Para aumentar este margen existen - dos posibilidades:

- a) Aumentando las ventas en mayor proporción a costos y gastos de operación;
- b) Disminuyendo costos y gastos de operación en mayor proporción a una disminución de ventas.

* Máximo interés a plazo fijo en Septiembre de 1986.

2. Aumentando el índice de rotación del activo.

Un aumento en este índice se puede lograr de la siguiente forma:

- a) Aumentando las ventas en mayor proporción a la inversión en el activo.
- b) Disminuyendo las inversiones en el activo en mayor proporción a una disminución de ventas.

Estas dos posibilidades se consideran las más importantes para obtener incrementos en la rentabilidad del activo.

VII - DISCUSION

La comparación de las características del efecto sobre el ecosistema de los plaguicidas químico y de los bioinsecticidas indica que independientemente de otras consideraciones, como las económicas, los insecticidas biológicos son altamente recomendables por no representar peligro para otras especies del ecosistema. Sin embargo, se encuentran aún en etapa de desarrollo. Requieren de estudios más detallados, pues precisamente su especificidad implica un gran número de horas de investigación para determinar especies afectadas, climas adecuados, vegetales protegidos, dosis, tiempo y forma de aplicación, etc.

Entre las diversas formas de control biológico de insectos destacan los insecticidas bacterianos, específicamente los derivados de *Bacillus* y especialmente las de la especie *thuringiensis*.

Una característica importante que poseen estos bioinsecticidas y que deberá ampliar su consumo es el hecho de estos sean compatibles con algunos químicos tales como insecticidas, fungicidas, reguladores de crecimiento y fertilizantes foliares. La necesidad de esta combinación se basa en el estricto control de plagas de alta resistencia.

B. thuringiensis. además presenta la ventaja sobre otros Bacillus que solo pueden ser producido "in vivo", de producirse en sistemas de fermentación sólida o sumergida. La fermentación sumergida en lote, parece ser el modo más idóneo para llevar a cabo la producción de "cristal-espora" de B. thuringiensis en forma comercial, ya que en ésta se puede tener un control más estricto en el fermentador en los siguientes aspectos: crecimiento microbiano, concentración de sustrato, disolución de oxígeno en el medio de cultivo, pH, temperatura y formación de toxina. Uno de los aspectos más importantes de esta fermentación es la evolución en la formación del bioinsecticida, ya que esta fermentación tiene la característica de presentar una gran cantidad de impurezas en el producto final, donde el ingrediente activo representa solo un pequeño porcentaje. La cantidad del complejo "cristal-espora" no necesariamente indica la actividad del insecticida ésta va a depender de la medición de su virulencia o actividad biológica a través de un bioensayo donde se desea conocer el factor CL_{50} , con una larva de prueba (Trichoplusia ni) y estándares conocidos de bioinsecticidas para poder validar la potencia del bioinsecticida en la fermentación.

Una ventaja adicional de B. thuringiensis es que es

un microorganismo conocido genéticamente y cuya información ha sido introducida en plásmidos, lo que permite prever nuevas formas de incrementar la producción del complejo-cristal espora por las nuevas técnicas genéticas.

En los últimos seis años se ha presentado en el país un incremento en la demanda de este producto de importación de aproximadamente un 35%, indicando esto que el producto está mostrando las ventajas que posee al sector agrícola mexicano; por lo tanto a corto o mediano plazo el productor tendrá que elevar su oferta, la cual aún será mayor cuando se lleguen a establecer normas y leyes restrictivas en el uso de los insecticidas de tipo químico, como ya lo han hecho países de alto desarrollo tecnológico.

Por otro lado la necesidad de seguir llevando a cabo investigaciones en este campo a través de instituciones de prestigio se debe considerar como un punto importante, ya que el establecimiento de las bases de este proceso biotecnológico por investigadores nacionales deberán estar bien elaboradas, para que en el momento que sea requerida esta tecnología por nuestro sector productivo sea utilizada sin necesidad de recurrir a la importación de la misma. Sin embargo, el buen desarrollo de este proceso biotecnológico se favorecerá cuando se establezca un ma -

por vínculo o colaboración entre el gobierno, industria e instituciones de investigación, lo cual se vislumbra a largo plazo.

El análisis de factibilidad del proceso fermentativo presenta ciertas dificultades, especialmente si se considera que se vive un momento de alta inflación, a las tasas de interés y devaluación, todas cercanas al 100 %.

Aunque se presentó el análisis para implantar el proceso partiendo de CERO, hay opciones que pueden facilitar la implementación. Dado que el volumen requerido no es muy grande y como se vió, puede ser satisfecho con niveles de producción de planta piloto, podría pensarse también en maquilar y producir en 2 o 3 fermentadores grandes cantidades con la idea de almacenar el producto, el cual es bastante estable a temperatura ambiente .

VI - CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- a) Las ventajas que presentan los bioinsecticidas en favor de los ecosistemas son altas en comparación de las que dan los insecticidas químicos.
- b) Dentro de los bioinsecticidas, los microorganismos B. sphaericus y B. popillae presentan un uso más restringido, debido a que el rango de plagas al cual atacan es muy pequeño.
- c) El microorganismo con más posibilidades de comercializarse en México es B. thuringiensis var kurstaki (por su potencia HD-1 y HD-263), ya que esta especie posee un amplio rango de acción contra larvas de importancia agrícola y médica.
- d) Se recomienda analizar , si los grupos nacionales de investigación tienen la capacidad de generar paquetes tecnológicos para impedir la importación de la tecnología, de no ser así apoyarlos en este sentido para obtener el proceso a mediano plazo.
- e) Nuestro país debido a su gran actividad agrícola, presenta continuamente una gran proporción de problemas de infestación de cultivos, de aquí que el mercado sea muy atractivo para la producción de insecticidas biológicos (siempre y cuando existan restricciones en el uso de los

productos químicos).

f) De llevarse a cabo este proceso biotecnológico a media no o corto plazo, debido a la poca demanda del producto, se recomienda satisfacer la misma con un fermentador de 1730 l de volumen nominal (planta piloto).

g) Si a corto plazo se desea industrializar este proceso, se recomienda el arrendamiento de una planta piloto, con las bases tecnológicas ya establecidas por investigadores Nacionales .

REFERENCIAS

1. Aiba, S. 1973. Biochemical Engineering. Ed. Academic Press, N.Y. p. 18-217.
2. Aronson, J.N. and Tillinghast, J. 1977. A chemical study of the parasporal crystal of Bacillus thuringiensis. In: Spore Research 1976 Vol. 1 (Ed. A.N. Baker, L.J. Wolf, D.J. Ellar, G.J. Dring and G.W. Gould), London and New York: Academic Press. p. 351-357.
3. Alvarez, U.M. Representante Técnico en Desarrollo Agroquímico. Sandoz de México, S.A. de C.V. Comunicación Personal.
4. Beegle, C.C. 1979. Use of Entomogenous Bacteria in Agroecosystems. In: Developments in Industrial Microbiology. Ed. Society of Industrial Microbiology. Vol. 20: 97-104.
5. Brian, L. 1981. Pests Control pests: but what price? New Scientist 15 January. p. 150-152.
6. Bulla, L.A., Andrews, R.E. and Kramer, K.J. 1981. Comparative biochemistry of entomocidae parasporal crystal of selected Bacillus thuringiensis strains. Journal of Bacteriology 145: 1051-62.
7. Bulla, L.A. and Yousten, A.A. 1979. Bacterial Insecticides. In: Economic Microbiology. Vol. 4. Microbial Biomass. Ed. A.H. Rose. Academic Press, Inc. Ltd. p. 91-113.
8. Burges, H.D. 1982. Control of insects by bacteria. Parasitology. 84: 79-117.
9. Burges, H.D. 1981. Safety testing and quality control of microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980 (Ed. H.D. Burges). London and New York, Academic Press. p. 736-767.
10. Burges, H.D. 1981. Strategy for the microbial control of pests and Plant Diseases 1970-1980 (Ed. H.D. Burges). London and New York. Academic Press. p. 798-836.

11. Burges, H.D., Thomsom, E.M. and Latchford, R.S. 1976. Importance of spores and δ -endotoxin protein crystals of Bacillus thuringiensis in Galleria mellonella. Journal of Invertebrate Pathology. 27: 87-94.
12. Carlberg, G., Holmberg, A. and Sievämen, R. 1978. Fermentation of Bacillus thuringiensis for exotoxin production a process analysis study. Report B51, December 1978. Systems theory laboratory Report Series. Helsinki. University of Technology.
13. Cheng, C.T. 1973. General Parasitology. Academic Press. p. 814-855.
14. Chestukina, G.G., Zalunin, I.A., Kostina, L.I., Kotova, T.S., Kattrukha, S.P. and Stepanov, V.M. 1980. Crystal-forming proteins of Bacillus thuringiensis the limited hydrolysis by endogenous proteinases as a cause of their apparent multiplicity. Biochemistry Journal. 187: 457-65.
15. Couch, T.L. 1981. Mosquito pathogenicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis. Developments in Industrial Microbiology. 22: 61-68.
16. Couch, T.L. and Inguaffo, C.C. 1981. Formulation of insect pathogens. In: Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. (Ed. H.D. Burges). London and New York. Academic Press. p. 621-634.
17. Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Murray, R.G., Niven, C.F., Ravin, A. and Stainer, R. 1975. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eight Edition. Williams and Wilkins. p. 529-549.
18. Dasticlar, P.G. and Nickerson, K.W. 1979. Inter-chain crosslinks in the entomocidal Bacillus thuringiensis crystal. FEBS letters 108. p. 411-14.
19. Davidson, E.W., Sweeney, A.W. and Cooper, R. 1981. Comparative field trials of Bacillus sphaericus strain 1593 and B. thuringiensis var. israelensis commercial powder formulations. Journal of Economic Entomology. 74, 350-4.

20. Davidson, E. W. 1979. Ultrastructure of midgut events in the pathogenesis of Bacillus sphaericus strain SSII-1 infections of Culex pipiens quinquefasciatus larvae. -- Can. J. Microbiol. 25: 178-184.
21. Dulmage, H.T. and Rhodes, R.A. 1971. Production of Pathogens in artificial media In: Microbial Control of Insects and Mites (Ed. H.D. Burges and N. W. Hussey) London and New York. Academic Press. p. 507-504.
22. Dulmage, H.T., Wolfenbarger, D.A., Lukefahr, M.J. and Correa, J.A. 1971. Field test with the HD-1 formulation of the δ -endotoxin of Bacillus thuringiensis against the cabbage looper cabbage. Journal of Economic Entomology. 64: 1421-2.
23. Dutky, S.R. 1963 The milky diseases. In Insect Pathology, Vol. 2. (Ed. E.A. Stenshaus) New York and London - Academic Press. p. 75-115.
24. Falcon, L.A. 1971. Use of Bacteria for microbial Control. In: Microbial Control of Insects and Mites. Ed. Academic Press. p. 67-204.
25. Fast, P.G. and Martin, W.G. 1980. Bacillus thuringiensis parasporal cristal toxin: dissociation into toxic -- low molecular weight peptides. Biochemical and Biophysical Research. Communications 95: 1314-20.
26. Fischer, R. and Rosner, L. 1959. Toxicology of the microbial insecticide, thuricide. Journal of agricultural - and food Chemistry. 7: 686-8.
- 26a. García Correa O. 1986. Desarrollo de un proceso para la producción de ácido glutámico por fermentación de un medio no convencional. Tesis Maestria en proceso.
27. Goldberg, L.J. and Ford, I. 1980. Studies on the mode of action of Bacillus thuringiensis var. israelensis (BTI). Application to formulation and field larviciding. XVI International Congress of Entomology, Kyoto, Japan. 3rd August.
28. Goldberg, L., Sueh, B., Battat, C. and Klein, D. 1980. - Optimization of a medium for a high yield production of - sporecrystal preparation of Bacillus thuringiensis effective against the Egyptian cotton leaf worm Spodoptera littoralis. Boisd, Biotechnology letters. 2: 419-26.

29. Hall, I.M., Arakawa, K.Y., Dulmage, H.T. and Corea, J.A. 1977. The pathogenicity of strains of Bacillus thuringiensis to larvae of Aedes and to Culex mosquito-
toes. Mosquito News. 37: 246-251.
30. Heimpel, A.M. 1971. Safety of insect Pathogens for Man and Vertebrates. In: Microbiol Control of In-
sects and Mites. Academic Press. p. 469-487.
31. Huber, H.E. and Luthy, P. 1981. Bacillus thuringien-
sis delta endotoxin: composition and activation. In: Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases (Ed. E.W. Davidson). Totowa: N.J. Allanheld, Osmun. p. 209-67.
32. Huber, H.E., Luthy, P., Ebersold, H.R. and Cordier, J.L. 1981. The subunits of the parasporal crystal of Bacillus thuringiensis: size, linkage and toxicity. Archives of Microbiology. 129: 14-18.
33. Kenward, M. 1981. Crop Protection without Chemical Warfare. New Scientist. 2 April. p. 32-33.
34. Klein M., G. 1981. Advances in the use of Bacillus popilliae for pest control. In: Microbial Control of pest and Plant Diseases 1970-1980 (Ed. H.D. Burges). London and New York. Academic Press. p. 183-192.
35. Lacey, L.A. and Federici, B.A. 1979. Pathogenesis and midgut histopathology of Bacillus thuringiensis in Simulium vittatum (Diptera: Simuliidae). Journal of Invertebrate Pathology. 33: 171-182.
36. Lacey, L.A. and Mulla, M.S. 1977. A new bioassay unit for evaluating larvicides against blackflies. Journal of Economic Entomology. 70: 453-6.
37. Laird, M. 1971. Microbial Control of Arthropods of Medical Importance. In: Microbiol Control of In-
sects and Mites. Academic Press. p. 387-468.
38. Luthy, P. 1980. Insecticidal toxins of Bacillus thuringiensis FEMS Microbiology letters. 8: 1-7.
39. McGaughey, W.H. 1976. Bacillus thuringiensis for controlling three species of moths in stored grain. Canadian Entomologist. 108: 105-12.

40. McGaughey, W.H. 1980. Bacillus thuringiensis grain insects. Agricultural Research. 28: 4-6.
41. McLaughlin. 1971. Use of Protozoan for Microbial Control of Insects. In: Microbiol Control of Insects and Mites. Academic Press. p. 151-170.
42. Miller, L.K., Lingg, A.J., Bylla, L.A. 1983. Bacterial, Viral and Fungal Insecticides. Science. Vol. 219. p. 715-721.
43. Milner, R.J., Wood, J.T. and Williams, E.R. 1980. The development of milky disease under laboratory and field temperature regimes. Journal of Invertebrate Pathology. 36: 203-10.
44. Morales, C.B. and Magliola-Mundet, L.D. 1977. Efecto de cuatro pesticidas sobre la nitrificación del suelo en condiciones del altiplano boliviano. Rev. Lat-amer. Microbiol. 19: 217-222.
45. Morton, B. y Jacobson, M. 1964. Insect Attractants. Scientific American, Agosto. p. 20-27.
46. Myers, P.S. and Yousten, A.A. 1980. Localization of Mosquito larval toxin of Bacillus sphaericus 1593, Appl. and Environ. Microbiol. Vol. 39(6) p. 1205-1211.
47. Nickerson, K.W. 1980. Structure and Function of the Bacillus thuringiensis Protein Crystal. Bioeng. Vol. 22. p. 1305-1333.
48. Plimmer, J.R., Inscoe, M.N. and McGovern, T.P. 1982. Insect Attractants. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 22: 297-320.
49. Poinar, G.O. Use of Nematodes for Microbial Control of Insects. In: Microbial Control of Insects and Mites. Academic Press. p. 181-201.
50. Ramírez, M., Carranco, D., Quintero, M. y Bailon, A. 1986. Estudio preliminar para la producción de bioinsecticida por fermentación a partir de B. thuringiensis para el control de plagas agrícolas. Gestión Tecnológica. SEP No. 2. p. 54-56.

51. Saleh, S.M., Harris, R.R. and Allen, O.N. 1969. Method for determining Bacillus thuringiensis var. berliner in soil. Can Jour. of Microbiol. Vol. 15, p. 1101-1104.
52. SEP/COSNET, 1984. Catálogo de la Investigación en Biotecnología y Bioingeniería. Ed. Subsecretaría de Educación e Investigación Tecnológicas. México, D.F. p. 144-272.
53. Sidén, I., Delhammar, G., Telauder, B., Boman, H.G. and Somerville. 1979. Virulence Factor in Bacillus thuringiensis: Purification and Properties of a Protein Inhibitor of Immunity in Insects. Jour. of Gral. Microbiol. Vol. 113, p. 45-52.
54. Singer, S. 1979. Use of Entomogenous Bacteria Against Insects of Public Health Importance. In: Development in Industrial Microbiology. Ed. Society of Industrial Microbiology. Vol. 20: 97-104.
55. Singer, S. 1974. Entomogenous bacilli against mosquito larval. Dev. Ind. Microbiol. 15: 187-194.
56. Singer, S. 1980. Bacillus sphaericus for the control of Mosquitos. Biotech. Bioeng. Vol. 22, 1335-1355.
57. Singer, S. 1981. Potential of Bacillus sphaericus and related spore-forming bacteria for pest control. In: Microbiol Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. (Ed. H.S. Burges). London and New York. Academic Press, p. 283-298.
58. Stairs, G.R. 1971. Use of Viruses for Microbial Control of Insects. In: Microbial Control of Insects and Mites. Academic Press. N.Y. p. 97-122.
59. Swedel K. 1986. Review of the Economic Situation of México. Banamex. Vol. LXII, No. 723, p. 39-53, 72-76.
60. Turk, A., Turk, J., Wittes, R. 1976. Tratado de Ecología. Ed. Interamericana. México. p. 209-230.

61. Tejada, L., Carrillo S. y Bravo M. Colegio de Posgrado de Chapingo. Comunicación personal.
62. Villa Torres Guadalupe. 1984. Toxicidad de cepas de Bacillus thuringiensis var. berliner en larvas de Heliothis virescens (Fabricus), Spodoptera frugiperda (Smith), Spodoptera exigua (Hubner) y Culex quinquefasciatus (Say). Tesis de M. en C. Colegio de Posgrado. Chapingo, Méx. p. 2-15.
63. Washino, R.K. and Garcia, R. 1980. Comparison of three formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis H-14 in a California rice field. Mosquito Control Research. Annual Report. University of California, p. 62-3.
64. Williams, C.M. 1967. Third Generation Pesticides Scientific American. Vol.157.jul. p.13-17 .
65. Wilkinson, C.F. Insecticide Biochemistry and Physiology. Plenum Press, N.Y. and London. p. 682-683.
66. Wilson, E.O. 1963. Pheromones. Scientific American.Vol.139 May. p. 100-114.
67. World Health Organization. 1975. Twenty-first report of the WHO expert committee on insecticides. Technical Report Series No. 561. World Health Organization. p. 35.
68. Yendol, G.W. and Roberts, D.W. 1971. Use of Fungi for Microbial Control of Insects. In: Microbial Control of Insects and Mites. Academic Press. p. 125-146.



Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado

Insurgentes Sur y Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, México, D.F., Código Postal: 04510

UNAM-CCH

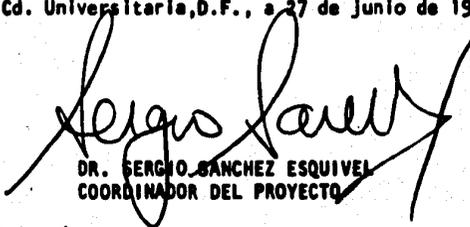
Q.B.P. MARCO ANTONIO ORTIZ JIMENEZ
ALUMNO DE ESPECIALIZACION DEL PRO-
YECTO ACADEMICO EN BIOTECNOLOGIA
P R E S E N T E

Por este conducto me permito comunicarle que después de analizar su solicitud en la última reunión extraordinaria del Consejo Interno celebrada el 26 de junio de 1986, éste tuvo a bien aprobar el jurado para sustentar Examen de Tesina sugerido por Ud., con la siguiente estructura:

PRESIDENTE:	DR. SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL
SECRETARIO:	M. en C. AMELIA FARRAS GONZALEZ-SARAVIA
VOCAL:	DR. DANIEL HURTADO MENDIALDUA
SUPLENTE:	M. en C. FERNANDO GARCIA HERNANDEZ
SUPLENTE:	M. en IBB LIDIA T. CASAS TORRES

Sin otro particular por el momento, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 27 de junio de 1986.



DR. SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL
COORDINADOR DEL PROYECTO

C.c.p. Miembros del Jurado
C.c.p. Archivo

lgg*

ESPECIALIZACION, MAESTRIA Y DOCTORADO
EN BIOTECNOLOGIA



Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado

Insurgentes Sur y Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, México, D.F., Código Postal: 04510

UNAM-CCH

LIC. MANUEL MARQUEZ FUENTES
DIRECTOR DE LA UNIDAD ACADÉMICA
DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE
POSGRADO DEL C.C.H.
P R E S E N T E

Por este conducto me permito informarle que he leído y analizado la
Tesis de Especialización (nivel) presentada por Marco Antonio
(nombre del alumno)
Ortiz Jiménez, intitulada "Las bacterias como una
(nombre de la tesis)
alternativa en el control de insectos en México".

Considero que este trabajo SI reúne los requisitos
(sí o no)
académicos para ser aceptada como Tesis para obtener el grado respecti-
vo .

Dicha consideración se encuentra fundamentada en las siguientes ob-
servaciones: Los objetivos de la tesina consisten en plantear
las bases teóricas para la resolución de un problema de inte-
rés aplicado. Considero que la selección del problema es co-
rrecta y de actualidad, que el procedimiento metodológico se-
guido es válido y que se logró plenamente establecer las bases
de un proyecto de inves-
tigación que eventualmente
puede desarrollarse.

Amelia Farrés González-Saravia
M. en C. Amelia Farrés González-Saravia

ESPECIALIZACION, MAESTRIA Y DOCTORADO
EN BIOTECNOLOGIA



Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado

Insurgentes Sur y Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, México, D.F., Código Postal: 04510

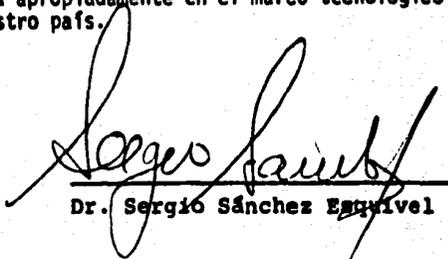
UNAM-CCH

LIC. MANUEL MARQUEZ FUENTES
DIRECTOR DE LA UNIDAD ACADEMICA
DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE
POSGRADO DEL C.C.H.
P R E S E N T E

Por este conducto me permito informarle que he leído y analizado la
Tesis de Especialización presentada por Marco Antonio
(nivel) (nombre del alumno)
Ortiz Jiménez, intitulada "Las bacterias como una
(nombre de la tesis)
alternativa en el control de insectos en México".

Considero que este trabajo SI reúne los requisitos
(si o no)
académicos para ser aceptada como Tesis para obtener el grado respecti-
vo .

Dicha consideración se encuentra fundamentada en las siguientes ob-
servaciones: Analiza y discute de manera muy fundamentada el potencial -
de los insecticidas de tipo biológico para el control de plagas
agrícolas y lo sitúa apropiadamente en el marco tecnológico
y económico de nuestro país.



Dr. Sergio Sánchez Espinosa

ESPECIALIZACION, MAESTRIA Y DOCTORADO
EN BIOTECNOLOGIA



Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado

Insurgentes Sur y Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, México, D.F., Código Postal: 04510

UNAM-CCH

LIC. MANUEL MARQUEZ FUENTES
DIRECTOR DE LA UNIDAD ACADÉMICA
DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE
POSGRADO DEL C.C.H.
P R E S E N T E

Por este conducto me permito informarle que he leído y analizado la
Tesis de Especialización presentada por Marco Antonio
(nivel) (nombre del alumno)
Ortiz Jiménez, intitulada "Las bacterias como una
(nombre de la tesis)
alternativa en el control de insectos en México".

Considero que este trabajo si reúne los requisitos
(sí o no)
académicos para ser aceptada como Tesis para obtener el grado respecti-
vo .

Dicha consideración se encuentra fundamentada en las siguientes ob-
servaciones:

*El trabajo está muy bien fundamentado, la
consulta fue extensa y profunda. Se analizó
desde el posible mercado, las alternativas para
diferentes aplicaciones, los procesos más viables
y prospectivos. Así se cumplen con todos los
objetivos de la especialización*

Lidia T. Casas
M. en IBB Lidia T. Casas Torres



Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado

Insurgentes Sur y Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, México, D.F., Código Postal: 04510

UNAM-CCH

LIC. MANUEL MARQUEZ FUENTES
DIRECTOR DE LA UNIDAD ACADÉMICA
DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE
POSGRADO DEL C.C.H.
P R E S E N T E

Por este conducto me permito informarle que he leído y analizado la
Tesis de Especialización presentada por Marco Antonio
(nivel) (nombre del alumno)
Ortiz Jiménez, intitulada "Las bacterias como una
(nombre de la tesis)
alternativa en el control de insectos en México".

Considero que este trabajo si reúne los requisitos
(si o no)
académicos para ser aceptada como Tesis para obtener el grado respecti-
vo .

Dicha consideración se encuentra fundamentada en las siguientes ob-

servaciones: *El trabajo es importante debido a que al controlar biológicamente ayuda a mejorar la producción y el control de la contaminación por productos*

genéticos, por lo que considero reúne los requisitos necesarios


Dr. Daniel Hurtado Mendialdua