

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA –LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA
CARRERA DE INGENIERIA EN AGROECOLOGIA TROPICAL**



**EVALUCION DE LA EFECTIVIDAD DE LA MEZCLA DE DOS
AISLADOS VIRALES (*S.exigua* y *S. sunia*) EN AMBOS
HUESPEDES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO Y
CAMPO. CAMPUS AGROPECUARIO, 2005 UNAN-León.**

Previo para optar al título de ingeniero en Agroecología Tropical

PRESENTADO POR:

Br. Luis Emilio Maradiaga Gutiérrez

Tutor: MSc. Cony Narvárez

LEÓN SEPTIEMBRE 2006

AGRADECIMIENTO

A **DIOS**, creador del universo y de todas las cosas por darme la fortaleza para finalizar mi trabajo.

A mis padres: **María Gutiérrez** y **Alberto Maradiaga** quienes con consejos y regaños me guiaron por el camino correcto.

De manera especial a mi tutora: MSc, **Cony Narváez** quien me orientó a seguir adelante en mi investigación.

A todos los docentes del departamento de Agroecología de la UNAN-León, por contribuir a mi formación profesional.

Sinceramente

Luis Emilio Maradiaga Gutiérrez.

DEDICATORIA

A **DIOS**, por darme la vida y el tiempo para verme realizado como profesional y como hombre.

A mis padres: **María Gutiérrez** y **Alberto Mradiaga**, quienes me dieron el apoyo moral y económico para alcanzar mis sueños.

A mi hijo: Ese pequeño ser que después de una larga y angustiosa espera vino a este mundo, y su llegada a hecho de mi otra persona, donde he aprendido a darle mas valor a mi vida y poder estar presente cuando el se convierta en un hombre y día a día transmitirle una inspiración de amor como las que mis padres legaron en mi.

Con amor a ellos...

Luis Emilio Maradiaga Gutiérrez.

INDICE GENERAL

Contenido	Paginas
Agradecimiento.....	i
Dedicatoria.....	ii
Resumen.....	iii
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
III. HIPOTESIS.....	3
IV. MARCO TEORICO.....	4
4. Generalidades de los virus.....	4
4.1. Clasificación.....	4
4.2. Morfología.....	5
4.3. Modo de acción.....	5
4.4. Almacenamiento.....	6
4.5. Persistencia.....	6
4.6. Radiación.....	6
4.7. Producción de VPN.....	7
4.8. Aspectos generales de <i>S.exigua</i>	7
4.8. Aspectos generales de <i>S.sunia</i>	10
4.9.Efectividad de la mezcla de productos.....	10
V. MATERIALES Y METODO.....	11
Ubicación de lugar.....	11
Descripción del diseño y área experimental.....	11
preparación del virus no formulado.....	12
Tratamientos evaluados	12
VI. RESULTADOS Y DISCUCIONES.....	15
VII. CONCLUSIONES.....	21
VII. RECOMENDACIONES.....	22
IX. BIBLIOGRAFIA.....	23
X. ANEXOS.....	24

RESUMEN

En el Campos Agropecuario de la UNAN-León, departamento de Agroecología, se decidió realizar la prueba de la efectividad de la mezcla de dos aislados virales VPN (crudo) de dos especies diferentes, *Spodoptera sunia* y *Spodoptera exigua*, para identificar si mezclándolos causa igual o menor mortalidad que en su forma individual. Estableciéndose cuatro surcos del cultivo de ajonjolí (variedad criolla) por cada tratamiento. El área de cada parcela fue de 10m² y un área total de 50m². **Fase N 1:** Prueba de campo, Se tomaron 150 LE, de *S.sunia* y *S. exigua* por separado, las cuales se consideran larvas de último estadio muertas por virus. Luego se maceraron estas con 5 ml de agua destilada, lo que se obtuvo del virus, se filtro a través de una tela de organdí, para que se evitaran los restos de cápsulas cefálicas y patas de larvas. El virus obtenido se dividió en dos volúmenes iguales, tanto de **S, sunia** y **S, exigua**, luego se mezcló un volumen igual (50%) de ambos aislados y el 50% restante se dejó sin mezclar el cual sirvió como testigo. Ambos se ubicaron en un freezer para mantener su viabilidad, antes de la aplicación se calibro la bomba aplicando agua y poder calcular la cantidad de agua que se aplicara para la dilución de cada aislado en cada parcela. La aplicación se realizó con una bomba de mochila de 16 lt, en el estrato medio de las plantas, el número de hojas colectadas de cada parcela fue de 40, estas se colectaron 24 horas después de la aplicación la cual se realizo entre las 4:30 y 5:00pm. Previo a la aplicación se colectaron las hojas del testigo para evitar que se fuera a contaminar, los tratamientos evaluados fueron: SeVPN, SsVPN, Se+SsVPN50%, Se+SsVPN100% y Testigo sin aplicación. La toma de datos se realizo en un formato (ver Anexo 6). **Fase N° 2.** La prueba de laboratorio se realizo lo mismo que en la prueba de campo donde solamente los tratamientos SeVPN y Se+SsVPN100%, presentaron diferencias significativas al compararlos con los otros tratamientos y junto con el tratamiento Se+SsVPN50%, que obtuvo una diferencia significativa de 0.09 a un intervalo de confianza de 95%, se ubicaron en el grupo (1) (de los de mayor efectividad). De este estudio se puede concluir que los tratamientos mas efectivos en cada uno de sus huéspedes por cada una de las pruebas son: SeVPN, Se+SsVPN50% y Se+SsVPN100% , por lo que fueron los tratamientos que obtuvieron el mayor porcentaje de mortalidad al compararlos con el testigo, lo que nos indica que la. Los datos fueron analizados en el programa estadístico SPSS. Versión 11.5. Se realizó un análisis de tablas de frecuencias para determinar el porcentaje de larvas que fueron tomadas en cuenta para el análisis y determinar el porcentaje de larvas que murieron y enpuparon por cada una de las pruebas. Luego con la ayuda del análisis estadístico SNK (Student-Newman-Keuls) para separar los tratamientos por grado de mayor efectividad a los de menor efectividad y comprobar si existía alguna diferencia significativa entre los tratamientos de cada una de las pruebas. Resultando que en la prueba de campo los tratamientos Se+SsVPN 100% , Se+SsVPN50% y SeVPN, presentaron un porcentaje de mortalidad de 61% no existiendo diferencias significativas a un nivel de significancia de 0.05 y un intervalo de confianza al 95%. De este estudio se puede concluir que los tratamientos mas efectivos en cada uno de sus huéspedes por cada una de las pruebas son: SeVPN, Se+SsVPN50% y Se+SsVPN100% , por lo que fueron los tratamientos que obtuvieron el mayor porcentaje de mortalidad al compararlos con el testigo, lo que nos indica que la mortalidad causada por los demás tratamientos se debió al efecto del virus y no a otro agente externo.

I. INTRODUCCION

La agricultura se ha venido desarrollando a través del tiempo con el implemento de nuevas tecnologías, en áreas extensas de monocultivos, con el fin de satisfacer las necesidades de una población creciente, lo que ha provocado el uso intensivo de productos químicos para obtener mejor y mayor producción. Los agroquímicos han tenido un impacto negativo después de años de uso por un sin número de anomalías registradas en todo el mundo. (Hawley, G. 1985).

Por esa razón, se han buscado muchas alternativas novedosas para hacer agricultura. Una de ellas es el Control Biológico de Plagas, donde se hace uso de depredadores, parasitoides, bacterias, hongos y virus entomopatógenos para el control de plagas (Glare, T. 1995). En Nicaragua, la UNAN – LEON desde 1986, ha estado trabajando en el desarrollo de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), y actualmente se dispone de un laboratorio de producción de tres aislados virales como son: aislados viral de *Spodoptera frugiperda* (SfVPN), *Spodoptera exigua* (SeVPN) y *Spodoptera sunia* (SeVPN) que han sido utilizado por productores de diferentes sectores del país en su forma cruda (líquida). (Rizo C, 2004). El principal problema de utilizar VPN crudo (líquido), es que requiere de temperaturas bajas de almacenamiento, por otro lado, cuando en el cultivo se presentan diferentes tipos de especie de plagas como *Spodoptera sunia* y *Spodoptera exigua*, se necesitarían dos productos y esto elevaría los costos de producción. Esta es una limitante para los pequeños agricultores que no cuentan con las condiciones económicas y de almacenamiento, por esta razón es necesario probar si la mezcla de dos aislados virales SsVPN y SeVPN, tiene la misma efectividad que cada aislado individual, primero en condiciones de campo y posteriormente en laboratorio, esperando así poder resolver la problemática de los productores cuando se presenten diferentes especies de plagas.

II.OBJETIVOS

GENERAL:

- Evaluar la efectividad del virus crudo (líquido) en mezclas de dos aislados virales, SeVPN, SsVPN en sus propios huéspedes en condiciones de laboratorio y campo.

ESPECIFICOS:

- Evaluar la efectividad de la aplicación de la mezcla de dos aislados virales, crudo (líquido) en cada uno de sus huéspedes.
- Comparar la efectividad de la mezcla de dos aislados virales con la efectividad individual.

III. HIPOTESIS

- La mezcla de los virus aislados de SeVPN y SsVPN, no formulado (liquido) tienen igual efectividad que el virus sin mezclar en sus propios huéspedes.

IV. MARCO TOERICO

4. Generalidades de los virus

Los virus entomopatógenos son parásitos obligados, ya que tienen la necesidad de un hospedante vivo para multiplicarse y diseminarse en el agro ecosistema (Rizo, C. y Narváez, C., 2001).

Muchos virus son aislados de larvas de lepidópteros en diferente cultivos que se pueden presentar en forma enzoótica ó epizoótica. Estos virus aislados se han reproducido en laboratorios y formulados para aplicarlos como agente de control biológico (Rizo, C., y Narváez, C., 2001). La familia Baculoviridae es la más estudiada hasta el momento debido a las siguientes condiciones: a) tienen excelentes características agronómicas, b) brindan seguridad a la salud humana por ser específicos para los invertebrados. (Lecuona, 1996).

4.1. Clasificación

El virus de la poliedrosis nuclear es un virus que presenta una taxonomía de Orden Poxviridae, que pertenece a la familia Baculoviridae, y subfamilia Eubaculoviridae, del género VPN.

Los virus entomopatógenos se clasifican en: a) Los que presentan cuerpos de inclusión de naturaleza proteica y los que no presentan dicho cuerpo de inclusión. (Lecuona, 1996).

4.2. Morfología

Los virus presentan tres propiedades fundamentales. Las proteínas específicas del virus se sintetizan usando el ribosoma y la maquinaria celular del hospedante; los

virus contienen un solo tipo de ácido nucleico ADN ó ARN; los virus se multiplican por síntesis independiente de componentes, las cuales se acoplan luego para producir su progenie. (Glare, 1995).

4. 3. Modo de acción

El virus entra en el hospedante por ingestión, donde el estado larval es el que da la predisposición (hasta L3). El sitio de entrada para la unión y entrada de las partículas virales són las células epiteliales del intestino medio. (Rizo, C., y Narváez, C., 2001).

En el intestino el jugo digestivo alcalino y la proteasa son los que regulan el proceso de disolución de las partículas virales. Estas producen la infección primaria, luego se fusiona a la membrana plasmática de la región apical de las micro vellosidades del intestino medio, luego los nucleocápsides desnudos entran al citoplasma de las células. El ácido nucleico es liberado en el núcleo y comienza la réplica del virus. Durante la infección se forman dos tipos de virus, virus no incluso y virus incluso, los primeros brotan a través de la lámina basal y hacen la infección secundaria en el hemocele, los otros aparecen más tarde en el ciclo de infección como viriones envuelto en un cuerpo incluso, esta última es importante en la transmisión horizontal del virus. Es decir cuando el virus pasa de la fuente de inoculación, entra en el hospedante a través de la boca, esta depende de la densidad del hospedante para sobrevivir. En esencia, significa dispersión del virus dentro de la misma generación del hospedante. (Rizo, C., y Narváez, C., 2001).

El insecto muere después del sexto o séptimo día, variando según la cepa viral, el insecto y el ambiente al cual está expuesto.

Es importante que sean colectadas las larvas recién muertas, cuando presentan los síntomas típicos de virosis, despreciándose aquellas larvas que estén ennegrecidas o con señales de deterioro. De esta forma se está colectando larvas con bajo nivel de contaminación. (Rizo, C., y Narváez, C., 2001).

4. 4. Almacenamiento

El almacenamiento de las larvas en congelamiento mantiene la actividad del virus de uno a tres años, con una temperatura de 0 a 4° C con baja pérdida de viabilidad.

La temperatura es uno de los factores más importantes ya que afectan la estabilidad del virus y por consiguiente la eficacia al aplicarlo en el campo. Los patógenos no poseen sistemas para regular la temperatura, por lo tanto, son muy afectados por ella. Las temperaturas más adecuadas para la mayoría de patógenos son de 20-30° C.

4. 5. Persistencia

La radiación solar y el fotoperíodo son muy importantes para preservar la actividad biológica de los virus, porque la luz ultra violeta mata las partículas virales (ADN).

En algunos casos la temperatura del suelo es importante para la supervivencia del Virus en el ambiente que se da por medio de follajes de las plantas y del suelo. También persiste en el mismo hospedante. (Enwistle y Evans, 1985, citado por Rizo, C., 2001).

4. 6. Radiación

Hay evidencia que los rayos ultravioletas son responsables de la inactividad gradual de las partículas del virus. (Enwistle, 1978). Generalmente esas partículas no resisten una exposición de 24 horas a luz solar, por tal razón, se recomienda hacer

las aplicaciones por la noche o por la tarde, para evitar la desactivación del virus por los rayos ultravioletas. (Enwistle, 1978).

4. 7. Producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear

Para producir VPN se necesita establecer, la cría de las especies hospedantes, porque como se mencionó antes, son parásitos obligados. Estos virus también pueden producirse mediante cultivos de células, pero el costo de este proceso es mayor. (Stockdale y Couch, 1981, citado por Rizo, C., 2001).

4. 8. Aspectos generales de las especies noctuidos

4.8.1 *Spodoptera exigua*

Taxonomía

Esta especie es un insecto plaga que pertenece al orden Lepidóptero y a la familia Noctuidae. Fue descrita primero como *Noctua exigua* por Hubner en 1808. Fue renombrada como *Laphygma exigua* Hubner, por Hanpson en 1909 y actualmente ubicada en el género *Spodoptera exigua* por Zimmerman en 1958. (Smits, 1987).

Por su posición como plaga en todo el mundo, es conocida por muchos nombres en cada localidad, el más común el gusano soldado, el cual es ampliamente utilizado en diferentes partes del mundo y gusano verde en la región norte de Nicaragua.

Descripción, biología y daño

Spodoptera exigua está ampliamente distribuida en los países tropicales y subtropicales del mundo. El daño de estos insectos es ocasional, pero severo en algunas partes de país. Normalmente afecta las hojas, sin embargo, las condiciones ambientales y la presión de los plaguicidas hace incrementar las poblaciones de las

mismas, afectando también las vainas o estructuras reproductivas, produciendo roeduras superficiales que deprecian el producto.

Según King y Saunders (1984), han reportado al gusano soldado (*Spodoptera exigua*), como plaga secundaria en cultivos importantes como algodón (*Gossypium hirsutum*), sorgo (*Sorghum bicolor*), ajonjolí (*Sesamium indicum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), soya (*Glycine max*), cebolla (*Allium cepa* L), espárrago (*Asparagus officinalis* L), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y vid (*Vitis vinifera* L.).

Esta especie deposita los huevos sobre las hojas en masa de 50-150, cubiertos con escamas de color gris del abdomen de la hembra en oviposición. Las larvas pasan por 5 ó 6 estadios, alcanzando una longitud de 25-35mm. Cuando éstas están maduras, dorsalmente presentan un color gris-verdoso con una línea quebrada de color amarillo en medio del dorso y una línea pálida por debajo de éste; en la fase gregaria presentan un color verde oscuro a negro total. En el primer estadio la larva se alimenta por debajo de una telaraña de seda en el envés de la hoja, quedando esqueletonizadas. Los estadios posteriores se pueden encontrar alimentándose solos, en grupos o en agregados extensos, bajo estas condiciones pueden ocurrir defoliaciones serias y las larvas pueden migrar en grandes números hacia nuevos campos de alimentación. *Spodoptera exigua*, empupa en el suelo después de un período de prepupa de 1-2 días, este es un capullo suelto de color café. El adulto de esta especie tiene una envergadura de 5mm, presentando en las alas delanteras un color gris con una mancha central pálida y anaranjada de forma circular y alas posteriores blancas con venas café (King y Saunders, 1984).

La biología de *Spodoptera exigua* es muy similar a la de *Spodoptera frugiperda*, siendo la incidencia de estos insectos muy irregular; observándose en algunos años altas poblaciones y daños severos y en otras poblaciones bajas con daños de poca importancia.

La duración de los diferentes estadios son variables: Los huevos una vez depositado por las hembra pueden durar de 3-5 días para la eclosión, y el máximo desarrollo larvario ocurre entre los 10-16 días después de la eclosión, finalizando su estado larval para llegar al siguiente estadio de pupa el que durara de 6-7 días. En estado adulto duran 10 días, logrando un número de generaciones de 3 en zonas frías y 6 en zonas costeras. Según King y Saunders, 1984.

4.8. 2 *Spodoptera sunia*

Spodoptera sunia es una plaga común en los países latinos. La hembra es capaz de ovipositar masas de 60 a 600 huevos cada una, durante su ciclo de vida pone un promedio de 2200 huevos. La oviposición ocurre en el envés de las hojas, las masas de huevos son cubiertas con un filamento gris claro característico, los huevos son semiesféricos y se tornan oscuros antes de la eclosión, las larvas emergen de tres a cuatro días después de la postura, alimentándose primeramente del corium o cáscara de los huevos y luego se alimenta de las hojas más tiernas.

Los dos primeros estadios son gregarias pero al llegar al tercer estadio se dispersan hacia toda la planta. Durante el día las larvas no se alimentan y se encuentran escondidas entre los rastrojos o entre los follajes, alimentándose por la noche. Después del tercer estadio se caracterizan por ser de color gris-negruzco a gris-parduzco, con una línea dorsal de pares negros a oscuros; cada triángulo tiene un

punto central que puede ser blanco, amarillo o naranja brillante con marcas negras (King y Sanders, 1984).

El máximo desarrollo de las larvas ocurre de los 12 a 14 días después de la eclosión y llegan a medir de 30 a 40 mm de largo. Finalizando su estado larval, se dejan caer al suelo y se entierran para empupar. Las pupas son de color café brillante y miden de 19 a 20 mm de longitud, en este estado dura de 8 a 15 días. El adulto emerge entonces, caracterizándose por una banda negra delgada en su dorso en la posición de la cabeza y por un punto negro en cada una de sus alas. Son grisáceas y tienen una vida como adultos de alrededor de 4 a 8 días.

4.9. Efectividad de la mezcla de productos

Los compuestos tóxicos pueden tener efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos. En el primer caso, el efecto de la exposición combinada es igual a la suma de los efectos individuales, en el comportamiento sinérgico, el efecto de la exposición combinada es superior a la suma de los efectos individuales mientras que en el antagónico es inferior.

Antagonismo: es la base del uso de muchos antídotos y dependiendo de donde se produce la acción antagónica estos pueden ser:

Antagonismo funcional: Se produce cuando los dos compuestos administrados simultáneamente ejercen efectos contrapuestos sobre la misma función fisiológica.

Antagonismo receptor: es el resultado de la competencia que se establece entre dos compuestos que actúan a través de un único receptor lo cual da lugar a un descenso de los efectos tóxicos en relación con la suma de los efectos individuales.(Maria M.2003).

V. MATERIALES Y METODOS

5. Ubicación

Este trabajo se realizó en los laboratorios de Producción de Virus Entomopatógenos del Departamento de Agroecología, ubicada en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, ubicado a 1.5 Km. Carretera a La Ceiba, al este de la ciudad de León, en el período comprendido de junio 2005 a marzo 2006.

5.1. Descripción del área de estudio

El Campus Agropecuario cuenta con una extensión de 60 mz, en el cual predominan suelos franco-arenosos, con pendientes de 1-2%, topografía relativamente plana, temperatura promedio de 27.85° C, humedad relativa de 77.12%, precipitación media mensual de 128.11mm y evapotranspiración media mensual de 4.87mm.

5.2. Descripción del estudio

Para evaluar la efectividad de dos aislados virales mezclados **SsVPN** y **SeVPN** se trabajó la investigación con mezcla de virus no formulado (liquido) y se realizó una parte en el laboratorio y otra en el campo.

5.3. Establecimiento de parcelas.

Para el montaje del ensayo y la aplicación de los tratamientos y la obtención de hojas se establecieron 4 parcelas de 2 metros de ancho y 5 metros de largo. (Ver anexo 8) El cultivo que se sembró fue el de ajonjolí, de la variedad criolla en junio del 2005, con una distancia entre surco de 17 pulgadas y 1 metro entre parcelas, para un área total de 10 m² por parcela. El área útil de cada parcela fueron los dos surcos centrales, eliminando los otros dos surcos de los extremos. Los tratamientos que se evaluaron

fueron: 1) testigo (sin aplicación), 2) virus de SeVPN, 3) virus SsVPN, 4) Mezcla de virus de SeVPN+SsVPN (Dosis completa) y 5) Mezcla de Virus de SeVPN+SsVPN (50%).

5.4. Preparación del virus no formulado

Se tomaron 150 LE del aislado viral de *Spodoptera sunia* (SsVPN) e igual cantidad para el aislado viral de *Spodoptera exigua* (SeVPN) por separado. Las cuales se considera 1LE, larvas de último estadio larval muerta por virus. Luego se maceraron estas con 5ml de agua destilada, se filtró utilizando una tela de organdí, para separar los restos de cápsulas cefálicas y patas de larvas. El virus obtenido se dividió en dos volúmenes iguales, tanto de SsVPN y SeVPN, luego se mezcló un volumen igual del (50%) de ambos aislados y el 50% restante se dejó sin mezclar, para los tratamientos individuales. Ambos se almacenaron en un congelador para mantener su viabilidad.

5.5. Aplicación de los Tratamientos

-Tratamiento de SeVPN (T1) y SsVPN (T2)

La fecha de aplicación fue el 15 de marzo del 2006.

La aplicación de estos tratamientos se realizó utilizando el virus crudo (líquido), de SeVPN en una parcela de cultivo de ajonjolí en horas de la tarde y en otra parcela donde se aplicó el virus de SsVPN, con la ayuda de una bomba de mochila de 16 Lit. A las 24 horas después de la aplicación se colectaron las hojas del cultivo del estrato medio, las cuales mostraban una buena consistencia de color verde, la cantidad de hojas recolectada por tratamiento fue de 80 en total y se trasladaron al laboratorio para colocarlas en platos petri con sus respectivas larvas procedente de la cría de insectos de la especie respectiva una larva por cada plato petri ochenta en total estas fueron larvas de segundo instar (1.5 cm.). Se establecieron 4 repeticiones por cada tratamiento, para

un total de 80 platos petri. Una vez que las larvas se alimentaron (por dos días de la hoja de ajonjolí) se trasladaron a copitas plásticas de 3.5 onzas conteniendo dieta artificial de soya donde completaron su desarrollo.

-Tratamiento virus de SsVPN+SeVPN (dosis completa 100%) (T3)

Se mezcló una dosis de virus (150 LE/mz,) para *S.sunia* con una dosis de *S.exigua*, una vez mezclado fue aplicado a la parcela respectiva. El procedimiento para la evaluación fue igual que para el tratamiento T1 y T2.

-Tratamiento virus de SsVPN+SeVPN (50% de cada dosis) (T4)

Se mezcló la mitad de la dosis, 75LE de SsVPN y 75LEde SeVPN. Aquí también se utilizó la misma metodología.

-Tratamiento testigo

De la misma forma que los anteriores, se colectaron hojas de ajonjolí las que fueron llevadas al laboratorio y se colocó una hoja por plato petri, posteriormente se colocaron 2 larvas no mayor de 1.5 cm. de *S. sunia*. Lo mismo para *S. exigua*. Se establecieron cuatro repeticiones por cada tratamiento para un total de 80 platos petri con sus respectivas hojas y larvas.

5.6. Prueba de Laboratorio:

Las hojas fueron colectadas en el campo y se llevaron al laboratorio, donde se procedió a infectar cada una de estas con el aislado de cada tratamiento o especie respectiva, una vez infectadas se colocaron en platos petri debidamente identificados con su respectiva larva y se separaron por tratamiento, se realizo la toma de datos utilizando el mismo formato (ver anexo 7) que para la prueba de campo. Las larvas se trasladaron a dieta artificial a las cuarenta y ocho horas después donde terminaron su desarrollo.

5.7. Evaluación

El tipo de estudio fue de tipo experimental, los resultados se analizaron en el programa estadístico SPSS (Diseño estadístico de tablas de frecuencia) y con la ayuda del programa Excel se representaron en gráficos de barra los porcentajes de mortalidad por cada una de las pruebas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

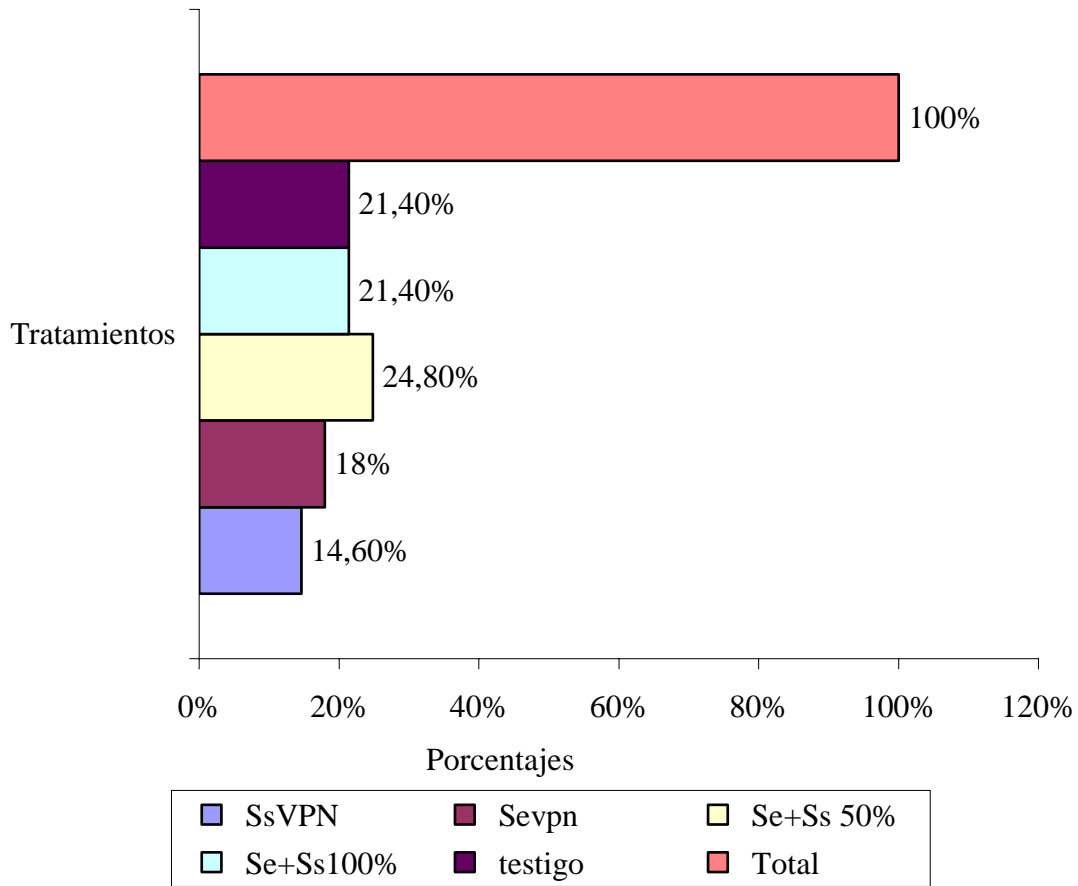


Grafico N° 1. Porcentaje de larvas utilizadas por cada tratamiento en la prueba de Campo. Laboratorio de Virus Entomopatógenos. UNAN-LEON. 2005.

Los porcentajes representados en el gráfico uno, corresponden al número de larvas utilizadas por cada uno de los tratamientos en la prueba de campo, siendo el tratamiento que presentó el menor número de larvas el tratamiento de SsVPN, con un 14.6% del porcentaje total lo cual representa un total de 37 larvas, a diferencia del tratamiento Se+SsVPN 50% el cual obtuvo un 24.8% representando un total de 51 larvas. Esto se debió a que no se tomaron en cuenta las larvas que escaparon o fueron comidas por las hormigas al momento de realizar el análisis, y no fue por efecto del virus. (Ver Anexo 1).

Tabla N° 1. Diferencia significativa por cada tratamiento en la prueba de de Campo ubicados en grupos (de mayor efectividad a los de menor efectividad).

VIVOS MUERTOS
Student-Newman-Keuls

	N	Subconjunto Para alfa = .05	
TRATAMIE		1	2
Se+SsVPN100%	38	.5526	
Se+SsVPN 50%	39	.5897	
SeVPN	37	.7027	
SsVPN	21		.9048
Testigo	44		1.0000
Sig.		.284	.336

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico, según SNK, los tratamientos Se+SsVPN100%, Se+SsVPN50%, y SeVPN, presentaron un promedio de mortalidad de 61%, no existiendo diferencias significativas entre estos a un nivel de significancia de 0.05 con un intervalo de confianza del 95%. Este comportamiento descendiente de la mortalidad original de estos tratamientos pudo deberse a la incidencia de los rayos solares, factor que pudo ocasionar la inactividad del virus VPN, según Jaques (1972) por lo que se ubicaron en el grupo (1), el de mayor efectividad.

Los tratamientos SsVPN y testigo se ubicaron en el grupo (2), el de menos efectividad, por lo que el porcentaje de mortalidad fue menor o casi cero obteniendo una diferencia significativa entre los tratamientos de 0.33, esto podría ser a causa de una cobertura inadecuada que a menudo dan como resultado una baja mortalidad, por lo tanto al comparar con los otros tratamientos esto nos indica que la mortalidad de los tratamientos ubicados en el grupo (1), de mayor efectividad, se debió exclusiva mente al efecto del virus y no aun factor aleatorio como se mencionó anteriormente.(Ver tabla 4).

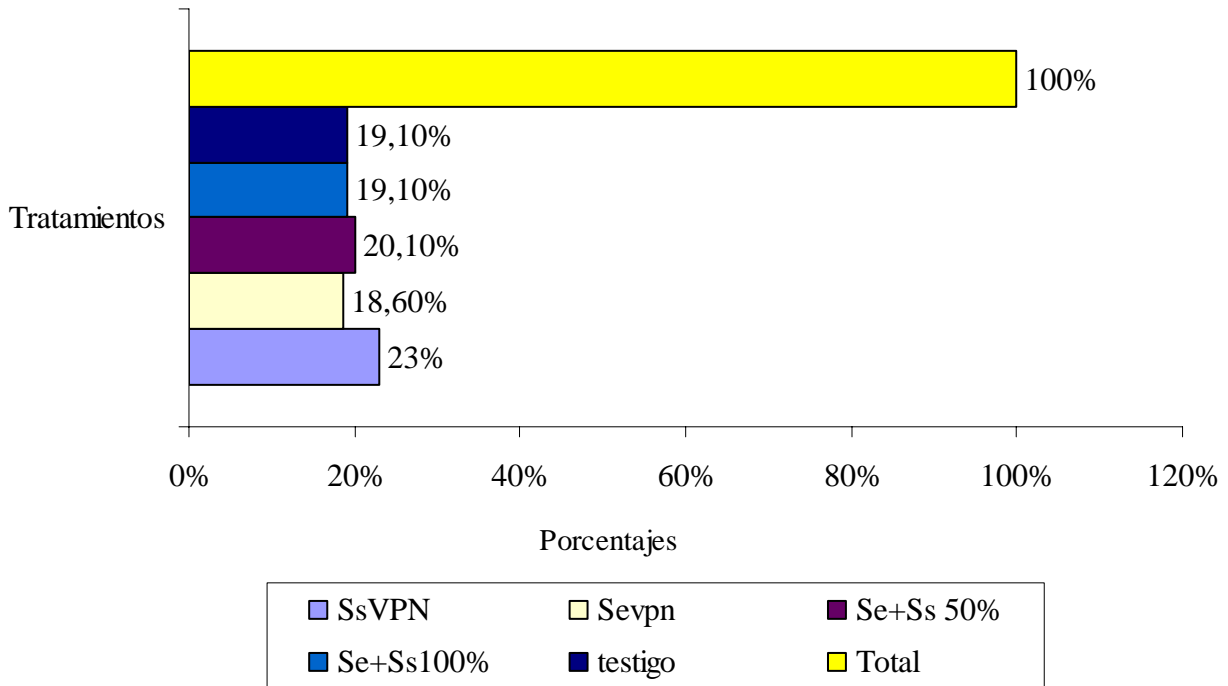


Gráfico N° 2. Porcentaje de larvas utilizadas para el análisis de cada tratamiento en la prueba de laboratorio. Laboratorio de Virus Entomopatógenos. UNAN-LEON. 2005.

Los porcentajes representados en el gráfico anterior, corresponden al número de larvas utilizadas para el análisis de cada uno de los tratamientos en la prueba de laboratorio.

El tratamiento que presentó el menor número de larvas fue el del tratamiento de SeVPN, con un 18.6% del porcentaje total, lo cual representa un total de 38 larvas a diferencia del tratamiento SsVPN, el cual obtuvo un 23.0%, representando un total de 47 larvas. Esto se debió a que no se tomaron en cuenta las larvas que se escaparon ó se las comieron las hormigas al momento de realizar el análisis, y no por efecto del virus.

(Ver Anexo N° 1)

Tabla N° 2. Diferencia significativa por cada tratamiento en la prueba de Laboratorio ubicados en grupos de los de mayor efectividad a los de menor efectividad.

Student-Newman-Keuls (SNK)

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = .05		
Grupos		1	2	3
SeVPN	38	.0000		
Se+SsVPN100%	39	.0000		
Se+SsVPN 50%	41	.0976		
SsVPN	40		.2250	
Testigo	39			1.0000
Sig.		.158	1.000	1.000

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico, según SNK, los tratamientos Se+SsVPN100%, Se+SsVPN50%, y SeVPN, presentaron un promedio de mortalidad de 3%, no existiendo diferencias significativas entre estos a un nivel de significancia de 0.05 y un intervalo de confianza del 95%. Este comportamiento de la mortalidad original de estos tratamientos se debe a que las condiciones de laboratorio estuvieron controladas y el virus no estuvo expuesto a los rayos solares, factor que pudo haber ocasionado la inactividad del virus VPN, tal como lo señala Jaques (1972), por lo que se ubicaron en el grupo (1), el cual significa que es el tratamiento más efectivo no que es el mejor. Se puede hacer notar que los tratamientos *SeVPN* y *Se+SsVPN100%*, presentaron una mortalidad de cero por ciento y el tratamiento *SeVPN+SsVPN*, presentó un 9% de mortalidad, sin embargo, el análisis estadístico SNK, demuestra que no existe diferencia significativa entre ellos. El tratamiento *SsVPN* se ubicó en el grupo (2), el cual es menos efectivo, por lo que el porcentaje de mortalidad fue de 22% y el nivel de significancia es de 1.000, mayor que el de los grupos antes mencionados.

Finalmente, el testigo ubicado en el grupo (3,) el cual no presentó ningún efecto de mortalidad, por lo tanto al comparar con los otros tratamientos esto nos indica que la mortalidad de los tratamientos ubicados en el grupo (1), de mayor efectividad y (2), el de menos efectividad, se debió exclusivamente al efecto del virus y no a un factor aleatorio. (Ver tabla 5).

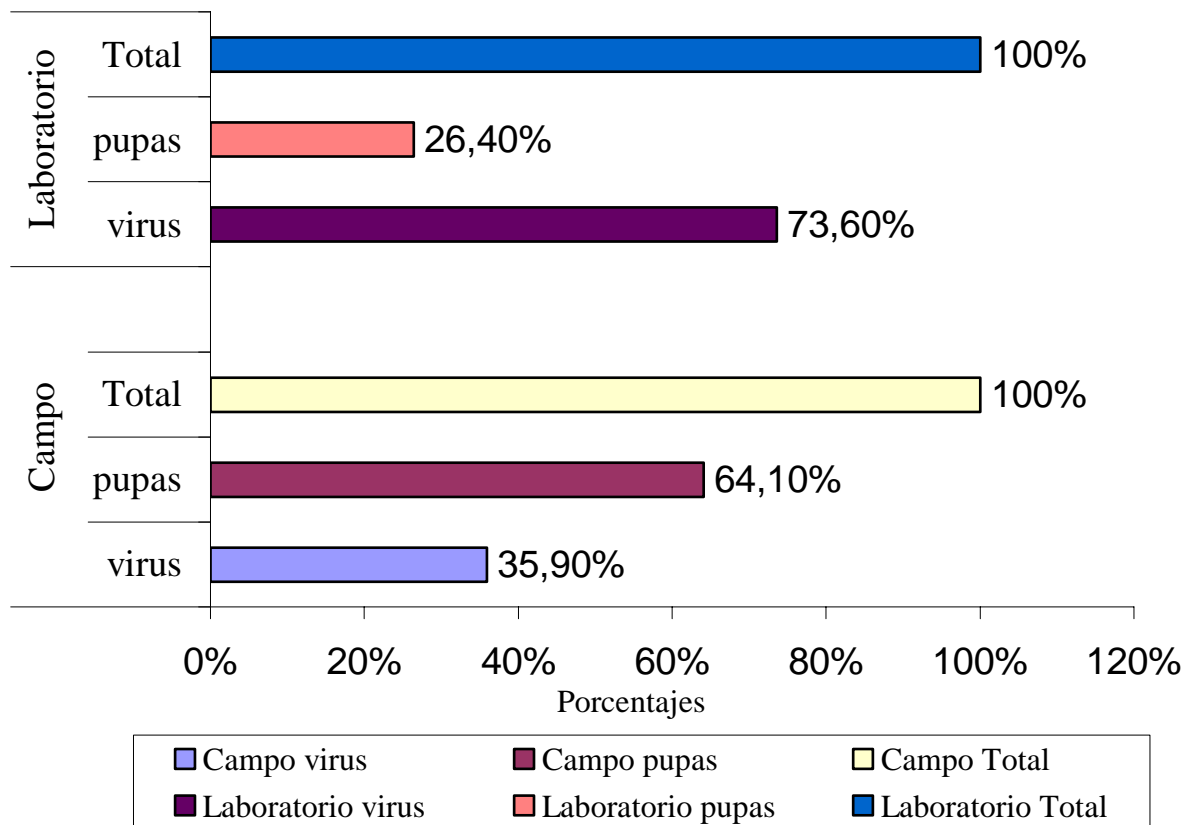


Gráfico N° 3. Porcentaje de larvas que murieron por Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) y empuparon por cada una de las pruebas (Campo y Laboratorio). Laboratorio de Virus Entomopatógenos. UNAN-LEON. 2005.

Los porcentajes representados en el gráfico tres, corresponden al número de larvas que murieron por efecto del virus y empuparon por cada una de las pruebas (Campo y Laboratorio), siendo la prueba de campo la que presentó el menor porcentaje de larvas muertas por VPN, con un 35.9%, representando un total de 74 larvas, a diferencia de la prueba de laboratorio que obtuvo un total de 73.6% de larvas muertas por VPN, representando un total de 145 larvas. Esto es debido a la diferencias de condiciones, ya que en el laboratorio el virus no está expuesto a la radiación solar, en relación a la temperatura en el campo. Hay que tomar en cuenta que la luz ultravioleta mata las partículas virales. (Bullock 1967). (Ver Anexo 2).

VII. CONCLUSIONES

1. De acuerdo al análisis de los resultados podemos concluir que la mejor efectividad de los tratamientos evaluados esta en los aislados de SeVPN, Se+SsVPN50% y Se+SsVPN100%.
2. El porcentaje de mortalidad de cada una de las pruebas demuestra que la mayor mortalidad se presentó en la prueba de laboratorio.
3. Al momento de realizar el análisis estadístico SNK, no se encontró diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos evaluados en la prueba de campo, lo contrario sucedió en la prueba de laboratorio, que al menos en dos tratamientos si existió alguna diferencia significativa, siendo estos SeVPN, y Se+SsVPN10%.a un nivel de significancia de .05.
4. Dentro de los tratamientos de mayor efectividad por cada una de las pruebas están SeVPN, Se+SsVPN50% y Se+SsVPN100% siendo ubicados en el grupo (1) el de mayor efectividad.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos con el fin de comparar la efectividad de la mezcla en distintas épocas (verano e invierno).
- Tomar en cuenta la fecha de mortalidad de cada una de las pruebas y los tratamientos al realizar el análisis.
- Evaluar la efectividad de la mezcla de virus formulado en cada uno de sus huéspedes.

IX. BIBLIOGRAFIA

- GLARE, T. Virus Entomopatogenos. [En línea] Lincoln, Nueva Zelanda, 1995.
- Rizo C; y Narváez C. Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua (En línea) Revista Manejo Integrado de Plagas. N° 61Septiembre 2001, CATIE – MIP, Costa Rica; 90-96 p.-www.catie.cr.ac.
- Comunicación Personal de MSc. Carmen Marina Rizo 2004.
- HAWLEY Diccionario de Química y de productos químicos, Traducción Española por Dr. Luis García Tramos. Editorial Omega. S A, Barcelona 1985. ISBN 84-282-0418-7.
- Leucona R. E. Microorganismos Patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas. Talleres gráficos Mariano Más. Buenos Aires 1996.338p.
- ENTWISTLE, P. F. Virases as pathogens for the control of insects. 1978, 326-331p.
- Merck. The Merck Index an encyclopedia of chemicals. Drugs, an biological CO. INC, Susan Buclavari, Ann Smiht, 1996.
- King y Saunders J. L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en America Central. Pag.46.
- BULLOCK, 1967Persistence of heliothis nuclear polyhedrosis virus on cotton foliage. Journal of invertebrate.
- Maria Dolores Moreno G. 2003. Toxicologia ambiental. Evaluacion y riesgo para la salud humana.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla No. 1. Porcentaje de larvas utilizadas por cada uno de los tratamiento en la prueba de Laboratorio, SeVPN, SsVPN, SeVPN +SsVPN 50% Y SeVPN+SsVPN100% y Testigo en Campus Agropecuario UNAN-León 2005 y 2006 (ver anexo N°5)

Tratamientos	Frecuencia	Porcentaje
SsVPN	47	23.0
Sevpn	38	18.6
Se+Ss 50%	41	20.1
Se+Ss100%	39	19.1
testigo	39	19.1
Total	204	100.0

Tabla No. 2. Porcentaje de larvas utilizadas por cada uno de los tratamiento en la prueba de Campo, SeVPN, SsVPN, SeVPN +SsVPN 50% Y SeVPN+SsVPN100% y Testigo en Campus Agropecuario UNAN-León 2005-2006 (ver anexo N°6)

Tratamientos	Frecuencia	Porcentajes
SsVPN	30	14.6
Sevpn	37	18.0
Se+Ss 50%	51	24.8
Se+Ss100%	44	21.4
testigo	44	21.4
Total	206	100.0

ANEXO 2

Tabla No. 3. Porcentaje de larvas que murieron por cada una de las pruebas (Campo y Laboratorio) alimentadas con hojas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) del estrato medio contaminadas con VPN en el campus Agropecuario UNAN-León 2005-2006.(ver anexo N° 5 y 6)

Prueba	Mortalidad	Frecuencia	Porcentaje
Campo	Virus	74	35.9
	Pupas	132	64.1
	Total	206	100.00
Laboratorio	Virus	145	73.6
	Pupas	52	26.4
	Total	197	100.00

ANEXO 3

Tabla No. 4. Prueba Tukey aplicada a la prueba de campo por cada uno de los tratamientos

Comparaciones múltiples

		Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación	Intervalo de confianza al 95%.	
(I) TRATAMIE	(J) TRATAMIE				Límite inferior	Límite superior
SsVPN	Sevpn	.1154	7.848E-02	.582	-9.8683E-02	.3295
	Se+Ss 50%	.0000	8.061E-02	1.000	-.2199	.2199
	Se+Ss100%	.0000	8.233E-02	1.000	-.2246	.2246
	testigo	.0000	7.138E-02	1.000	-.1947	.1947
Sevpn	SsVPN	-.1154	7.848E-02	.582	-.3295	9.868E-02
	Se+Ss 50%	-.1154	7.443E-02	.530	-.3184	8.764E-02
	Se+Ss100%	-.1154	7.629E-02	.554	-.3235	9.271E-02
	testigo	-.1154	6.432E-02	.377	-.2908	6.006E-02
Se+Ss 50%	SsVPN	.0000	8.061E-02	1.000	-.2199	.2199
	Sevpn	.1154	7.443E-02	.530	-8.7643E-02	.3184
	Se+Ss100%	.0000	7.848E-02	1.000	-.2141	.2141
	testigo	.0000	6.690E-02	1.000	-.1825	.1825
Se+Ss100%	SsVPN	.0000	8.233E-02	1.000	-.2246	.2246
	Sevpn	.1154	7.629E-02	.554	-9.2710E-02	.3235
	Se+Ss 50%	.0000	7.848E-02	1.000	-.2141	.2141
	testigo	.0000	6.896E-02	1.000	-.1881	.1881
testigo	SsVPN	.0000	7.138E-02	1.000	-.1947	.1947
	Sevpn	.1154	6.432E-02	.377	-6.0062E-02	.2908
	Se+Ss 50%	.0000	6.690E-02	1.000	-.1825	.1825
	Se+Ss100%	.0000	6.896E-02	1.000	-.1881	.1881

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

ANEXO 4

Tabla No. 5 Prueba Tukey aplicada a la prueba de laboratorio por cada uno de los tratamientos.

Comparaciones múltiples

		Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación	Intervalo de confianza al 95%.	
(I) TRATAMIE	(J) TRATAMIE				Límite inferior	Límite superior
SsVPN	Sevpn	.6750	.1596	.000	.2397	1.1103
	Se+Ss 50%	.3823	.1565	.104	-4.4696E-02	.8093
	Se+Ss100%	.6750	.1585	.000	.2426	1.1074
	testigo	-2.3250	.1585	.000	-2.7574	-1.8926
Sevpn	SsVPN	-.6750	.1596	.000	-1.1103	-.2397
	Se+Ss 50%	-.2927	.1586	.347	-.7253	.1400
	Se+Ss100%	.0000	.1606	1.000	-.4380	.4380
	testigo	-3.0000	.1606	.000	-3.4380	-2.5620
Se+Ss 50%	SsVPN	-.3823	.1565	.104	-.8093	4.470E-02
	Sevpn	.2927	.1586	.347	-.1400	.7253
	Se+Ss100%	.2927	.1576	.340	-.1371	.7225
	testigo	-2.7073	.1576	.000	-3.1371	-2.2775
Se+Ss100%	SsVPN	-.6750	.1585	.000	-1.1074	-.2426
	Sevpn	.0000	.1606	1.000	-.4380	.4380
	Se+Ss 50%	-.2927	.1576	.340	-.7225	.1371
	testigo	-3.0000	.1595	.000	-3.4351	-2.5649
testigo	SsVPN	2.3250	.1585	.000	1.8926	2.7574
	Sevpn	3.0000	.1606	.000	2.5620	3.4380
	Se+Ss 50%	2.7073	.1576	.000	2.2775	3.1371
	Se+Ss100%	3.0000	.1595	.000	2.5649	3.4351

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

ANEXO 5

RESULTADOS DE LABORATORIO

Tabla de frecuencias

Tratamientos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
SsVPN	47	22.7	23.0	23.0
Sevpn	38	18.4	18.6	41.7
Se+Ss 50%	41	19.8	20.1	61.8
Se+Ss100%	39	18.8	19.1	80.9
testigo	39	18.8	19.1	100.0
Total	204	98.6	100.0	

Tabla de frecuencias

Mortalidad larval prueba de Laboratorio

Mortalidad	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
virus	145	70.0	73.6	73.6
pupas	52	25.1	26.4	100.0
Total	197	95.2	100.0	

ANEXO 6

RESULTADOS DE CAMPO

Tablas de frecuencias

Tratamientos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
SsVPN	30	14,6	14,6	14,6
Sevpn	37	18,0	18,0	32,5
Se+Ss 50%	51	24,8	24,8	57,3
Se+Ss100%	44	21,4	21,4	78,6
testigo	44	21,4	21,4	100,0
Total	206	100,0	100,0	

Tabla de mortalidad larval

Mortalidad	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
virus	74	35,9	35,9	50,0
pupas	132	64,1	64,1	100,0
Total	206	100,0	100,0	

