



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

TESIS

PARA OBTENCIÓN DE GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA
AMBIENTAL

**“Diseño de un biopesticida híbrido Bt-HDL optimizado con inteligencia artificial para
el control sostenible de plagas.”**

presentada por:

Aldara Natalya Moreno Torres.

Ingeniera química

ASESOR: **ROBERTO GUERRA GONZÁLEZ.**

CO-ASESOR: **JOSE LUIS RIVERA ROJAS.**

Morelia, Michoacán, Agosto del 2025.

Resumen.

Autora: Aldara Natalya Moreno Torres. Asesor: Roberto Guerra González, Co-asesor: José Luis Rivera Rojas.

Se formuló un biopesticida híbrido a partir de *Bacillus thuringiensis* (Bt) incorporado en hidróxidos dobles laminares (HDL), materiales inorgánicos con propiedades de adsorción y liberación controlada. A su vez, se implementó un modelo predictivo basado en aprendizaje automático del tipo Random Forest, con el objetivo de identificar condiciones óptimas de concentración, tiempo de acción y necesidad de reaplicación.

Inicialmente, el modelo fue entrenado con datos del Bt técnico, alcanzando una precisión del 96 %. Posteriormente, fue reentrenado con datos experimentales reales del sistema híbrido Bt-HDL, logrando un 94.03 % de precisión, lo cual demuestra su solidez como herramienta predictiva en sistemas biológicos complejos. Los bioensayos larvales realizados con *Spodoptera frugiperda* evidenciaron que los tratamientos con Bt soportado en HDL presentaron mayores tasas de mortalidad que el Bt técnico, especialmente en los primeros instares, además de reducir la frecuencia de aplicación y prolongar la eficacia del producto.

La caracterización fisicoquímica mediante SEM, EDS y DRX confirmó la incorporación efectiva del agente biológico en la matriz inorgánica, respaldando la integridad del sistema propuesto. Este trabajo demuestra el potencial de la inteligencia artificial como aliada en el diseño de tecnologías sostenibles para el control de plagas agrícolas.

Palabras clave: agricultura sostenible, aprendizaje automático, control biológico, optimización algorítmica, tecnologías limpias.



Abstract

A hybrid biopesticide was formulated using *Bacillus thuringiensis* (Bt) incorporated into hydrotalcite-like compounds (HDL), which are inorganic materials with adsorption and controlled-release properties. A predictive model based on the Random Forest machine learning algorithm was implemented to identify optimal conditions of concentration, action time, and reapplication need.

Initially, the model was trained using data from technical-grade Bt, reaching a predictive accuracy of 96%. It was later retrained with experimental data from the hybrid Bt-HDL system, achieving 94.03% accuracy, demonstrating the model's robustness for biological prediction. Larval bioassays conducted on *Spodoptera frugiperda* revealed that treatments using Bt supported on HDL achieved higher mortality rates than technical Bt, particularly during early instar stages, while also reducing the need for reapplication and extending the product's efficacy.

Physicochemical characterization by SEM, EDS, and XRD confirmed the successful incorporation of the biological agent into the inorganic matrix, supporting the system's structural integrity. This work highlights the potential of artificial intelligence to enhance the design of sustainable technologies for agricultural pest control.

Keywords: sustainable agriculture, machine learning, biological control, algorithmic optimization, clean technologies.



Agradecimientos

Esta tesis representa un camino de esfuerzo constante, aprendizaje y crecimiento. Cada etapa del proyecto estuvo acompañada de desafíos y logros que reforzaron mi vocación científica y mi compromiso con una investigación significativa y con impacto real.

Agradezco a Dios, fuente de fortaleza y guía en los momentos clave de este proceso. Su presencia me dio claridad para seguir adelante y enfrentar cada reto con determinación.

A mis padres, Aldara y Guillermo, gracias por enseñarme a valorar el conocimiento, a actuar con principios y por impulsar desde siempre mi curiosidad por la ciencia. Su ejemplo y apoyo han sido fundamentales en mi vida personal y profesional.

A mi esposo Jonathan, mi compañero de vida, por estar presente en cada paso de este recorrido. Gracias por tu amor incondicional, por motivarme a ser mejor cada día y por recordarme que todo esfuerzo vale la pena. Tu presencia ha sido un apoyo firme en los momentos más exigentes de este proceso.

A mi abuela Yolanda, por su cariño y sus oraciones constantes. A mi hermana Hanna, por sus palabras sabias y su apoyo sincero en los momentos importantes.

Agradezco también a mis compañeros de la maestría, por haber compartido conmigo este proceso formativo. Sus ideas, su colaboración y su compañía hicieron de esta etapa algo valioso y enriquecedor.

A mi asesor y co-asesor, el Dr. Roberto Guerra y el Dr. José Luis Rivera, gracias por su acompañamiento, sus observaciones y su confianza en esta investigación. Su experiencia y orientación fueron clave para consolidar este trabajo.

Gracias.



Tabla de contenido

Resumen.....	2
Abstract.....	3
Agradecimientos.....	4
Lista de tablas.....	10
Lista de figuras.....	11
Capítulo 1. Introducción.....	14
1.1. Contexto global y problemática agrícola.....	15
1.2. Nuevas tecnologías para una agricultura más segura y eficiente.....	17
1.3. Inteligencia artificial como herramienta para optimizar soluciones agrícolas.....	17
1.4. Aplicabilidad del biopesticida Bt-HDL en la agricultura sostenible.....	18
Capítulo 2. Marco Teórico.....	19
2.1. <i>Bacillus thuringiensis</i> como agente biológico de control.....	19
2.1.1 Estructura del <i>Bacillus thuringiensis</i>	19
2.1.2. Tipos de cepas, diferencias y su impacto en especies objetivo.....	20
2.1.3. Mecanismo de acción de <i>Bacillus thuringiensis</i>	22
2.2. Hidróxidos dobles laminares (HDL).....	23
2.2.1. Hidróxidos dobles laminares: conceptos y funcionalidad.....	23
2.2.1.1 Perspectiva fisicoquímica y Punto isoelectrico.....	24



2.2.2 Características de los HDL.....	25
2.3. Random Forest: Historia, Conceptos y Aplicaciones.....	27
2.3.2. Uso de Random Forest en Python: una herramienta accesible y eficiente para la ciencia de datos.....	28
2.3.1.1. Explicación de diagrama de Toma de Decisiones en Random Forest.....	30
2.4 Antecedentes.....	32
2.4.1 Uso excesivo de plaguicidas y sus consecuencias.....	32
2.4.2 Propuestas previas para el control biológico con <i>Bacillus thuringiensis</i>	32
2.4.3 Limitaciones actuales de Bt en campo.	32
2.4.4 Funcionalidad de los hidróxidos dobles laminares (HDL) como soporte.	33
2.4.5 Aplicaciones recientes de HDL en medio ambiente y agricultura.	33
2.4.6 Potencial de la inteligencia artificial en formulaciones ambientales.....	33
2.5 Planteamiento del problema.	35
2.6 Justificación.....	36
2.7 Hipótesis.....	37
2.8 Objetivos.....	37
2.8.1 Objetivo general.	37
2.8.2 Objetivos Específicos.....	37
Capítulo 3. Metodología.....	38
3.1. Introducción Metodología.....	38



3.2. Modelado predictivo inicial (Random Forest).....	39
3.2.1 Justificación del modelo.	39
3.2.2 Construcción de la matriz experimental.	40
3.2.3 Configuración del algoritmo.....	43
3.2.4 Consideraciones finales	45
3.3 Síntesis de hidróxidos dobles laminares (HDL).	46
3.3.1 Etapas de la síntesis de hidróxidos dobles laminares.	47
3.4 Incorporación de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) en los hidróxidos dobles laminares (HDL).48	
3.4.1 Descripción detallada del procedimiento experimental.	50
3.4.1.1 Preparación de la fracción activa de <i>Bacillus thuringiensis</i>	50
3.4.1.2 Preparación de la suspensión de Bt purificado.....	51
3.4.1.3 Intercalación de Bt en HDL.....	51
3.4.1.4 Formulación final.	52
3.4.2 Consideraciones finales	53
3.5 Bioensayos de eficacia contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	53
3.5.1 Consideraciones éticas.....	55
3.6 Actualización del modelo de predicción con base de datos experimental.	55
3.6.1 Proceso de reentrenamiento.....	56
3.7 Caracterización	56
Capítulo 4. Resultados y discusión de resultados.....	58



4.1 Concentraciones óptimas obtenidas con el primer modelo predictivo de IA (Random Forest).....	58
4.2 Resultados del proceso de síntesis HDL e incorporación del biopesticida.	58
4.3 Resultados de la intercalación y formulación del bioplaguicida Bt–HDL.	60
4.4. Resultados de los Bioensayos Larvales.	61
4.4.1 Evolución temporal de la mortalidad larval.	63
4.4.2 Registro de análisis de comportamiento fisiológico Larval.	67
4.4.2.1 Análisis bioensayos tiempo vs instar vs mortalidad.	70
4.4.3 Distribución de Mortalidad por Instar.	72
4.4.3.1 Análisis relación de la mortalidad debido al Instar.....	73
4.4.4 Análisis preliminar cuantitativo de la eficiencia relativa de los tratamientos.	75
4.5 Resultados del modelo de inteligencia artificial entrenado con base de datos experimentales.....	77
4.5.1 Reentrenamiento del modelo con Random Forest.....	79
4.5.2 Evaluación de combinaciones óptimas mediante predicción inversa.....	83
4.6 Resultados de caracterización.....	91
4.6.1 Resultados del análisis morfológico por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).	92
4.6.1.1 Micrografías de HDL puro.	92
4.6.1.2 Micrografías del material híbrido (Bt/HDL).	94
4.6.2 Resultados de análisis elemental por Espectroscopía de Rayos X de Dispersión de Energía (EDS).	95
4.6.2.1 Espectro EDS del HDL puro.	96



4.6.2.2 Espectro EDS del material híbrido Bt-HDL.....	97
4.6.3 Análisis estructural por difracción de rayos X (DRX)	99
4.6.3.1 Patrón difractométrico del HDL puro.....	99
4.6.3.2 Patrón difractométrico del bioplaguicida Bt-HDL	101
Conclusiones.....	104
Glosario	106
Referencias.	108
Anexo I. de código I.....	116
Anexo II Código II	119
Anexo III Declaración originalidad.....	128



Lista de tablas.

Tabla 1. Matriz experimental simulada empleada para el entrenamiento del modelo Random Forest.	41
Tabla 2. Resumen de las condiciones experimentales para la incorporación de <i>Bacillus thuringiensis</i> en HDL.	52
Tabla 3. Condiciones experimentales de los bioensayos.	54
Tabla 4. Concentraciones óptimas predichas por el modelo Random Forest utilizadas como base para los tratamientos experimentales.	58
Tabla 5. Resumen de tratamientos aplicados en los bioensayos.	62
Tabla 6. Mortalidad acumulada de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> durante el bioensayo experimental.	64
Tabla 7. Registro de comportamiento fisiológico y progresión de la mortalidad larval en <i>Spodoptera frugiperda</i>	67
Tabla 8. Mortalidad acumulada por instar y tratamiento.	72
Tabla 9. Cálculo de eficiencia relativa compuesta para los tratamientos evaluados.	76
Tabla 10. Matriz de base de datos del modelo	78
Tabla 11. Comparación entre eficiencia observada y eficiencia predicha por el modelo reentrenado.	80
Tabla 12. Composición elemental del material HDL puro.	97
Tabla 13. Composición elemental del bioplaguicida Bt-HDL.	98



Lista de figuras.

Figura 1. Ciclo vicioso del impacto ambiental y sanitario asociado al uso intensivo de pesticidas químicos.	14
Figura 2. Impacto global de intoxicaciones por pesticidas (mortales y no mortales por región.	16
Figura 3. Micrografía SEM de <i>Bacillus thuringiensis</i> mostrando cristales proteicos y esporas	20
Figura 4. Diagrama jerárquico de las cepas de <i>Bacillus thuringiensis</i> y sus especies objetivo..	21
Figura 5. Estructura tridimensional de las ocho toxinas Cry conocidas.....	21
Figura 6. Diagrama del mecanismo de acción de <i>Bacillus thuringiensis</i>	23
Figura 7. Cristales naturales de hidrotalcita-2H (manasseíta) como representación mineralógica de los HDL.	24
Figura 8. Micrografía MEB de hidróxidos dobles laminares.	25
Figura 9. Estructura cristalina de los HDL con representación tridimensional.....	27
Figura 10. Diagrama de toma de Decisiones en Random Forest.	30
Figura 11. Diagrama esquemático de las etapas metodológicas desarrolladas en la investigación.	39
Figura 12. Superestructura del funcionamiento del modelo Random Forest aplicado a la predicción de mortalidad larval por <i>Bacillus thuringiensis</i>	43
Figura 13. Proceso de síntesis de hidróxidos dobles laminares (HDL) mediante método de coprecipitación controlada.....	46
Figura 14. Diagrama de flujo del proceso de obtención del bioplaguicida híbrido Bt-HDL....	49



Figura 15. Proceso de síntesis y obtención del material HDL.....	59
Figura 16. Proceso experimental de separación, lavado y secado del Bt. A la izquierda, manejo con pipeta; al centro, filtración con embudo de vidrio y papel filtro; a la derecha, aspecto del Bt seco tras el secado a baja temperatura.	60
Figura 17. Aspecto de la experimentación de la formulación Bt-HDL tras la intercalación. ...	61
Figura 18. Organización experimental inicial de los tratamientos y condición de las larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	63
Figura 19. Mortalidad acumulada de <i>Spodoptera frugiperda</i> por grupo de tratamiento a lo largo del tiempo.	66
Figura 20. Mapa de calor del efecto larvicida y evolución fisiológica en función del tratamiento y tiempo.	69
Figura 21. Comparación tridimensional de mortalidad acumulada según el tiempo y el estadio larval.	71
Figura 22. Evidencia visual de los efectos fisiológicos del bioplaguicida Bt-HDL según estadio larval.	73
Figura 23. Evidencia visual de daño digestivo en larva de <i>Spodoptera frugiperda</i> tras exposición al bioplaguicida Bt-HDL.	74
Figura 24. Comparación visual entre larvas de instares 3 y 4-5 tras exposición al bioplaguicida Bt-HDL.....	74
Figura 25. Gráfica comparativa de eficiencias relativas del material híbrido.....	77
Figura 26. Correlación entre la eficiencia observada y la eficiencia predicha por el modelo Random Forest.....	81
Figura 27. Diagrama de dispersión de los residuos respecto a las eficiencias predichas.	82



Figura 28, Distribución de residuos del modelo Random Forest.	82
Figura 29. Distribución de eficiencias predichas mediante análisis inverso con Random Forest.	83
Figura 30. Combinaciones óptimas predichas por el modelo en función de la concentración de Bt y HDL.	84
Figura 31. Predicción inversa del modelo Random Forest: Resaltando combinaciones Bt-HDL óptimas destacadas.	85
Figura 32. Importancia relativa de las variables en el modelo predictivo Random Forest.	86
Figura 33. Mapa de calor de correlación entre variables del modelo predictivo.....	87
Figura 34. Comparación de superficies interpoladas de eficiencia observada y predicha.	88
Figura 35. Gráfico de barras de comparación por variable entre tratamientos reales y combinaciones óptimas propuestas por el modelo.	89
Figura 36. Micrografía SEM del HDL puro a 40,000 aumentos.....	92
Figura 37. Micrografía SEM del HDL puro a 8,000 aumentos.....	93
Figura 38. Micrografías SEM del material híbrido Bt/HDL.....	94
Figura 39. Micrografía SEM del material híbrido Bt/HDL a 10,000 aumentos.	95
Figura 40. Espectro EDS del material HDL puro obtenido por SEM.	96
Figura 41. Espectro EDS del bioplaguicida Bt-HDL.	98
Figura 42. Difractograma de rayos X del material HDL puro (Mg-Al).	100
Figura 43. Difractograma de rayos X del material híbrido HDL(Mg-Al)-Bt.....	102

Capítulo 1. Introducción.

En la presente investigación se buscó desarrollar un material híbrido que contribuya al desarrollo sostenible en la agricultura actual, considerando que una de las causas más reconocidas de la crisis ambiental es el uso prolongado de productos agronómicos tóxicos. Estos compuestos químicos no solo degradan el suelo y contaminan los cultivos, sino que también alteran profundamente el equilibrio ecológico.

Frente a esta problemática, se propuso el diseño de un biopesticida de liberación controlada, formulado a partir de *Bacillus thuringiensis* (Bt) soportado en hidróxidos dobles laminares (HDL), cuyas concentraciones han sido optimizadas mediante herramientas de inteligencia artificial. Esta propuesta busca ofrecer una alternativa eficaz, específica y ambientalmente segura, enmarcada dentro de una visión de agricultura sostenible moderna y consciente.



Figura 1. Ciclo vicioso del impacto ambiental y sanitario asociado al uso intensivo de pesticidas químicos. Fuente: Elaboración propia con base en FAO, OMS y Fundación Heinrich Böll (2022).



Para contextualizar la necesidad de este tipo de soluciones, en la Figura 1 se presenta un esquema del ciclo vicioso provocado por el uso intensivo de pesticidas químicos, donde se resumen sus efectos acumulativos sobre el ambiente, los ecosistemas y la salud humana.

1.1. Contexto global y problemática agrícola.

La agricultura ha sido una actividad fundamental para la supervivencia humana desde tiempos prehistóricos. Sin embargo, en la actualidad ha experimentado una transformación profunda, impulsada por la creciente demanda alimentaria derivada del aumento poblacional, así como por el deterioro de los suelos agrícolas y la proliferación de plagas, factores estrechamente ligados al uso intensivo de productos agroquímicos tóxicos.

De acuerdo con estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se prevé que para el año 2050 la producción global de alimentos deberá incrementarse al menos en un 70 % para satisfacer las necesidades de una población mundial que continúa creciendo. Este desafío ha sido enfrentado, en gran medida, mediante el uso extensivo de pesticidas sintéticos y fertilizantes químicos que, aunque han permitido controlar plagas y elevar los rendimientos en el corto plazo, han generado consecuencias ambientales, ecológicas y sociales cada vez más difíciles de ignorar.

Entre estas consecuencias destacan la contaminación persistente del suelo y los cuerpos de agua, la disminución de la biodiversidad edáfica y aérea y la afectación directa a organismos no objetivo como polinizadores, aves y fauna acuática. Además, el uso constante de pesticidas ha favorecido la aparición de plagas resistentes, lo que obliga a aumentar las dosis aplicadas o a emplear mezclas más agresivas, generando un ciclo de dependencia química y acumulación tóxica en los ecosistemas agrícolas. Estos efectos se traducen en una pérdida progresiva de resiliencia agroambiental y en muchos casos, en impactos negativos para la salud humana por la exposición directa o el consumo de alimentos contaminados.

En el caso de México, la situación se agrava por la diversidad de sistemas productivos y la falta de regulaciones homogéneas. A pesar de contar con regiones de gran riqueza agrícola, muchas zonas rurales siguen operando bajo esquemas de manejo intensivo que priorizan la

productividad inmediata, sin considerar las consecuencias ambientales a largo plazo. Esta realidad ha sido señalada por organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS), que advierten sobre la urgencia de adoptar prácticas más sostenibles agrícolas ya que se han encontrado residuos de pesticidas en los alimentos. Frente a este panorama, el uso de agentes biológicos como *Bacillus thuringiensis* (Bt), ampliamente reconocido por su eficacia en el control selectivo de insectos plaga, ha cobrado relevancia como una alternativa más segura. Sin embargo, sus limitaciones ambientales han motivado nuevas estrategias de formulación y soporte que potencien su efectividad y estabilidad en campo. Esta investigación se enmarca precisamente en esa línea, al proponer una estrategia integral basada en el diseño de un biopesticida soportado y optimizado mediante herramientas de inteligencia artificial, con el objetivo de contribuir al desarrollo de una agricultura más segura.

Como reflejo de esta problemática a escala internacional, la Figura 2 presenta un mapa elaborado por la Fundación Heinrich Böll en su Atlas de los Pesticidas (2022), donde se

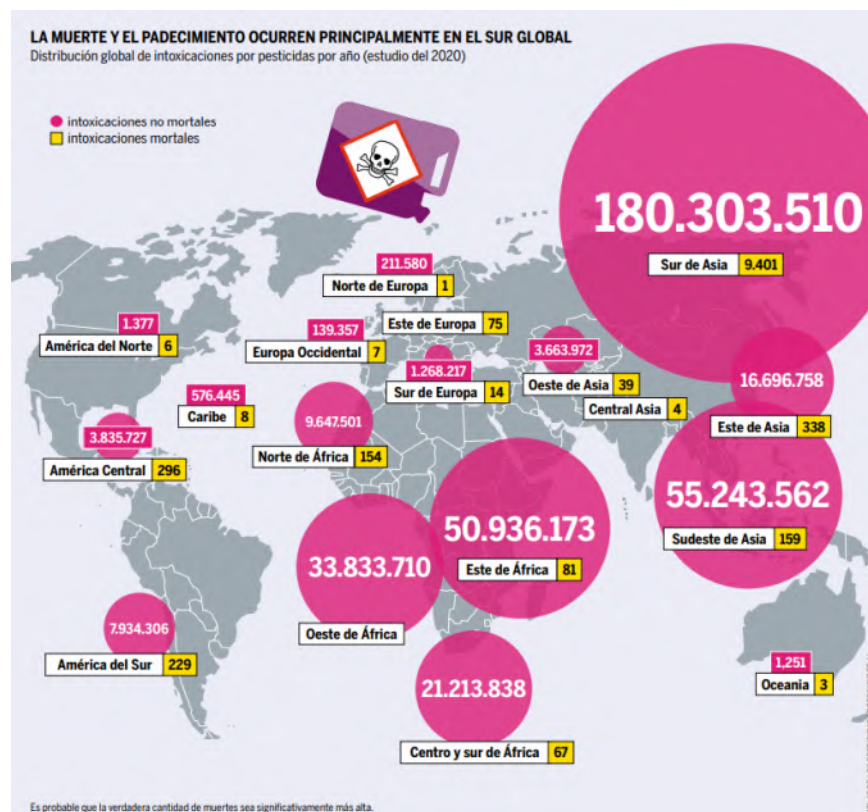


Figura 2. Impacto global de intoxicaciones por pesticidas (mortales y no mortales por región).

Fuente: Heinrich Böll Stiftung et al. (2022).



visualiza la magnitud global de las intoxicaciones humanas asociadas al uso de pesticidas. Este tipo de datos permite dimensionar los impactos no solo ecológicos, sino también sanitarios de un modelo agrícola basado en insumos altamente tóxicos.

1.2. Nuevas tecnologías para una agricultura más segura y eficiente.

Frente a los impactos negativos del modelo agrícola convencional, diversas disciplinas han impulsado el desarrollo de tecnologías que permitan reducir el uso de insumos tóxicos sin comprometer la productividad. Entre estas alternativas destacan los sistemas de liberación controlada, ampliamente utilizados en farmacología, pero aún poco explorados en el ámbito agrícola. En este caso de estudio se seleccionaron los hidróxidos dobles laminares (HDL) ya que son materiales que se destacan por su capacidad de retener y liberar moléculas activas de manera precisa y prolongada. Estos materiales, desarrollados originalmente por Miyata (1983), poseen propiedades únicas como el intercambio iónico y la adsorción molecular, lo que los hace altamente versátiles en aplicaciones agrícolas, médicas y ambientales (Zhang & Dou, 2014).

En el presente trabajo se propuso utilizar HDL como soporte para *Bacillus thuringiensis* (Bt), una bacteria de uso reconocido en el control biológico de plagas del orden *Lepidoptera*, como *Spodoptera frugiperda* y que actúa mediante la liberación de proteínas cristalinas (Cry) que afectan de forma específica al sistema digestivo de las larvas. La combinación de ambos componentes busca mejorar la estabilidad del Bt en condiciones ambientales variables, reduciendo la necesidad de reaplicación y por ende, minimizando el impacto ambiental asociado al uso excesivo de insumos.

1.3. Inteligencia artificial como herramienta para optimizar soluciones agrícolas.

La incorporación de inteligencia artificial (IA) en el ámbito agrícola ha comenzado a transformar la manera en que se toman decisiones relacionadas con la producción, el manejo de recursos y el control de plagas. Estas tecnologías permiten procesar grandes volúmenes de datos experimentales, identificar patrones complejos y generar predicciones que serían difíciles de alcanzar mediante enfoques tradicionales. En particular, los modelos de aprendizaje automático como Random Forest se han consolidado como herramientas eficientes para predecir variables



críticas en agricultura, dada su capacidad para manejar datos heterogéneos y ruidosos (Breiman, 2001; Liakos et al., 2018). Estudios recientes incluso han demostrado su utilidad para estimar humedad del suelo a escala global con alta precisión (Zhang et al., 2021).

1.4. Aplicabilidad del biopesticida Bt-HDL en la agricultura sostenible.

El desarrollo de un biopesticida basado en *Bacillus thuringiensis* (Bt) soportado en hidróxidos dobles laminares (HDL) representa un avance estratégico hacia la consolidación de una agricultura más eficiente, segura y con menor impacto ambiental. Esta propuesta no solo responde a la necesidad de reducir el uso de insumos tóxicos, sino que también incorpora innovación tecnológica al integrar modelos de inteligencia artificial para optimizar su formulación y aplicación.

Al vincular materiales híbridos con herramientas digitales, se plantea una solución que puede adaptarse a distintas condiciones de manejo agrícola, promoviendo prácticas más sostenibles en el mediano plazo. Este enfoque está alineado con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la ONU, particularmente el ODS 12 (producción y consumo responsables) y el ODS 13 (acción por el clima), ya que propone una alternativa que mejora la eficiencia del control de plagas sin comprometer la salud de los agroecosistemas.

La implementación de este tipo de bioplaguicidas en contextos como el mexicano podría representar no solo una mejora en la rentabilidad de los cultivos, sino también una vía concreta para disminuir la dependencia de pesticidas sintéticos y sus efectos colaterales.



Capítulo 2. Marco Teórico.

2.1. *Bacillus thuringiensis* como agente biológico de control.

Bacillus thuringiensis (Bt) es una bacteria grampositiva formadora de esporas, ampliamente utilizada como bioplaguicida en la agricultura debido a su capacidad de producir cristales proteicos conocidos como δ -endotoxinas (Cry y Cyt).

Estas toxinas son altamente específicas para insectos de ciertos órdenes como *Lepidoptera*, *Coleoptera* y *Diptera* y se activan una vez ingeridas por el insecto, actuando en el ambiente alcalino del intestino medio. Allí, las toxinas se solubilizan y perforan el epitelio intestinal, generando una lisis celular que provoca parálisis del aparato digestivo y finalmente, la muerte del insecto (Bravo et al., 2007).

Gracias a esta especificidad biológica, el uso de Bt es considerado seguro para organismos no objetivo como aves, mamíferos, abejas y seres humanos, lo que ha favorecido su aplicación en el manejo sostenible de plagas agrícolas.

2.1.1 Estructura del *Bacillus thuringiensis*.

La efectividad de *Bacillus thuringiensis* (Bt) como biopesticida radica en la estructura y función de sus cristales proteicos. Estas proteínas, conocidas como δ -endotoxinas o toxinas Cry, se agrupan en cristales parasporales que se forman durante la esporulación de la bacteria. Su morfología ha sido ampliamente estudiada mediante técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM) como se muestra en la figura 3 donde se resalta los cristales proteicos y esporas que desempeñan un papel clave en la interacción con el epitelio intestinal de los insectos plaga.

. Diversos estudios han demostrado la especificidad de las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* frente a diferentes órdenes de insectos, lo que ha permitido su aplicación selectiva en el control de plagas. Schnepf et al. (1998) detallaron la estructura molecular de estas proteínas, describiendo cómo las δ -endotoxinas forman cristales parasporales que se activan en el intestino alcalino de los insectos, perforando la membrana del epitelio intestinal. Posteriormente estudios como el de Bravo et al. (2007) profundizaron en la interacción de estas

toxinas con receptores específicos en el intestino medio de los insectos plaga, lo que explica su alta especificidad y su bajo impacto en organismos no objetivo. Estos avances consolidan a *Bt* como una herramienta eficaz y segura en la agricultura sostenible.

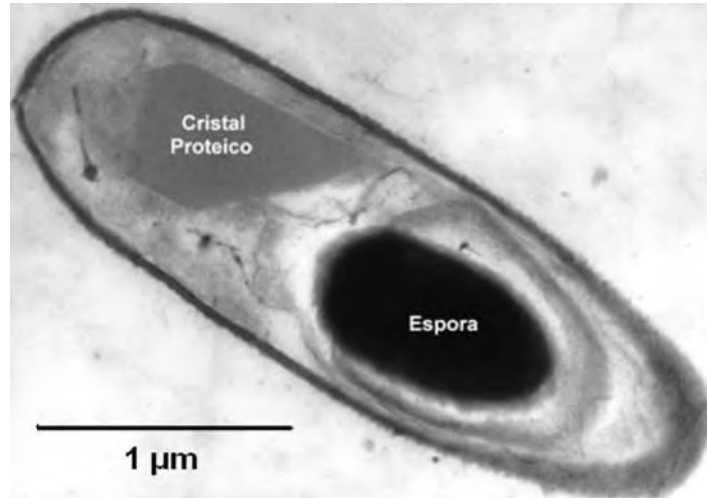


Figura 3. Micrografía SEM de *Bacillus thuringiensis* mostrando cristales proteicos y esporas.

Fuente: Sanchis y Bourguet (2008)

2.1.2. Tipos de cepas, diferencias y su impacto en especies objetivo.

El *Bacillus thuringiensis* presenta diversas cepas adaptadas a distintos grupos de insectos plaga. Las más reconocidas son *Bt aizawai*, *Bt kurstaki* y *Bt israelensis*, cuya especificidad depende de las toxinas Cry y Cyt que producen. La Figura 4 presenta un diagrama jerárquico que clasifica tres subespecies principales de Bt según sus especies objetivo.

Por ejemplo, *Bt aizawai* y *Bt kurstaki* tienen como blanco insectos del orden *Lepidóptera*, mientras que *Bt israelensis* actúa sobre insectos del orden *Diptera*, como mosquitos vectores de enfermedades. La actividad insecticida de cada cepa depende en gran medida de la composición de toxinas Cry y Cyt que produce. Las toxinas Cry1Ab y Cry2Ab, presentes en *Bt kurstaki*, se adhieren a receptores específicos en el epitelio intestinal de plagas como *Helicoverpa armigera* y *Plutella xylostella*, generando la formación de poros, disrupción celular y muerte del insecto (Bravo et al., 2007; Schnepf et al., 1998). Por otra parte, el *Bt israelensis* es efectivo contra larvas de mosquitos estos insectos de orden *Diptera*, incluyendo mosquitos vectores de enfermedades como el dengue y la malaria, su mecanismo sucede gracias

a la acción sinérgica de las toxinas Cry y Cyt en las membranas celulares del intestino medio (Bravo et al., 2007; Chamorro, 2023; Schnepf et al., 1998).

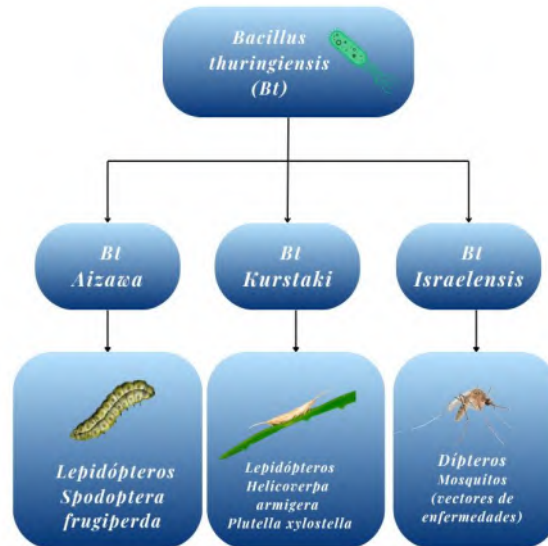


Figura 4. Diagrama jerárquico de las cepas de *Bacillus thuringiensis* y sus especies objetivo.

Fuente: Elaboración propia basada en Bravo et al. (2007)

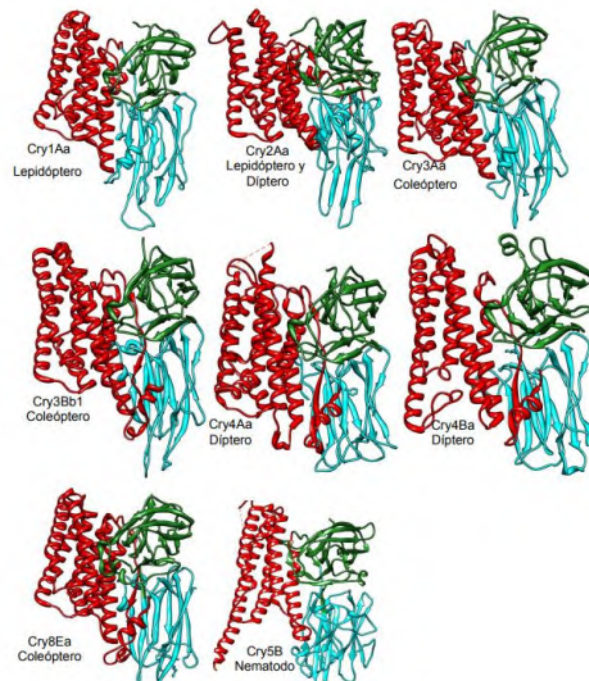


Figura 5. Estructura tridimensional de las ocho toxinas Cry conocidas, mostrando especificidad hacia diferentes órdenes de insectos. Fuente: Chamorro, D. (2023).



Estas diferencias de selectividad se deben a la estructura molecular de las toxinas. En consecuencia, esto ha permitido su aplicación selectiva en distintos cultivos agrícolas. La Figura 5 muestra un modelo tridimensional de ocho toxinas Cry, donde se destacan los dominios estructurales I, II y III responsables de la unión a receptores en los insectos plaga. Este tipo de análisis ha sido clave para comprender las interacciones moleculares entre toxinas y blancos biológicos, permitiendo diseñar variantes más eficaces y reducir la aparición de resistencias.

En base a lo anterior podemos afirmar que la diversidad de cepas y la especificidad de sus toxinas consolidan a *Bacillus thuringiensis* como una herramienta biotecnológica altamente adaptable para el manejo de plagas, con un perfil de seguridad favorable hacia organismos no objetivo.

2.1.3. Mecanismo de acción de *Bacillus thuringiensis*.

El mecanismo de acción de *Bacillus thuringiensis* (Bt) es altamente específico y solo se activa en el tracto digestivo de ciertos insectos plaga. Una vez que el insecto ingiere los cristales proteicos conocidos como δ -endotoxinas o toxinas Cry, estas se solubilizan en el ambiente alcalino del intestino medio, donde el pH puede alcanzar valores cercanos a 10. En ese entorno, las protoxinas son activadas por enzimas digestivas endógenas, lo que permite que se unan a receptores específicos localizados en la membrana del epitelio intestinal, como cadherinas, aminopeptidasa N (APN) y fosfatasa alcalina (ALP) (Bravo, Gill & Soberón, 2007; Adang, Crickmore & Jurat-Fuentes, 2014).

Esta unión desencadena la formación de poros en la membrana celular, lo que provoca una pérdida de equilibrio osmótico, lisis celular y finalmente, la muerte del insecto. La Figura 6 muestra un esquema general de este proceso, desde la ingestión de los cristales hasta la ruptura del epitelio intestinal.

Este mecanismo altamente selectivo también explica por qué Bt es considerado seguro para organismos no objetivo. En humanos y otros vertebrados, el entorno ácido del estómago impide la activación de las toxinas y además no existen receptores equivalentes en el epitelio intestinal que permitan la unión y acción de las proteínas Cry. Por lo tanto, incluso si quedaran

residuos de Bt en los alimentos, no representarían un riesgo para la salud humana. Estudios anteriores, por ejemplo el de Ge et al. (1989) identificaron regiones específicas de las toxinas Cry responsables de su afinidad por determinados receptores. Años más tarde, Adang et al. (2014) profundizaron en la interacción entre las toxinas y las proteínas del hospedero, contribuyendo a una comprensión más precisa de su especificidad.

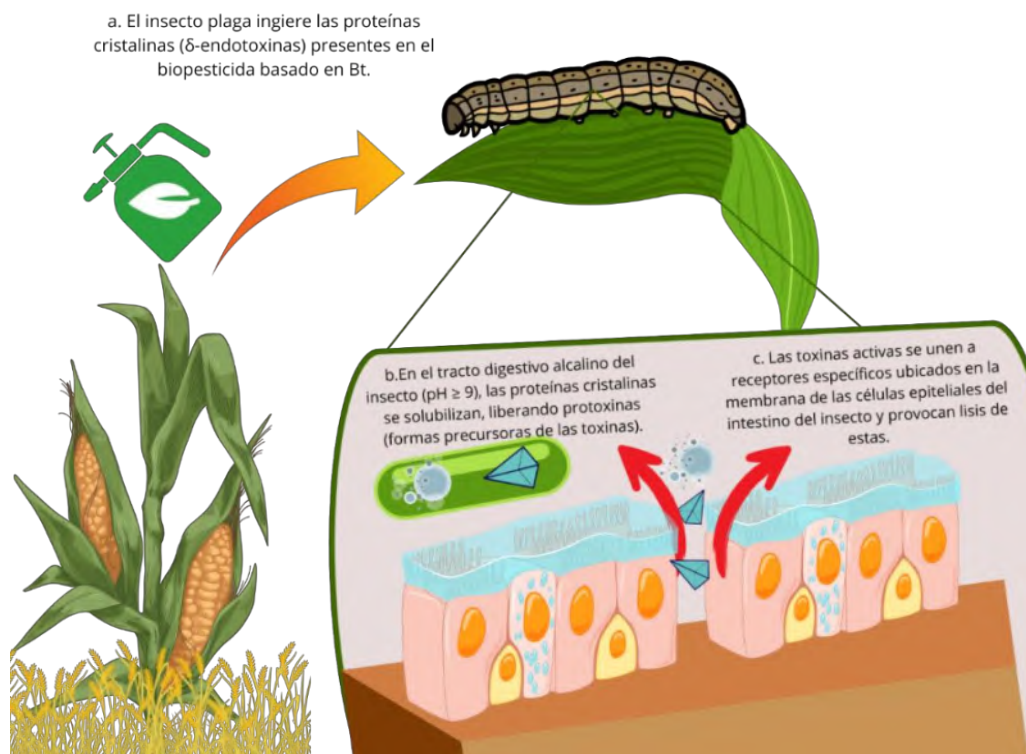


Figura 6. Diagrama del mecanismo de acción de *Bacillus thuringiensis*. Fuente: Elaboración propia (2025).

2.2. Hidróxidos dobles laminares (HDL)

2.2.1. Hidróxidos dobles laminares: conceptos y funcionalidad.

Los hidróxidos dobles laminares (HDL) son materiales inorgánicos con estructura tipo hidrotalcita, formados por capas alternadas de cationes metálicos divalentes y trivalentes (como Mg^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+}), entre las cuales se alojan aniones intercambiables (como carbonatos, nitratos o fosfatos) y moléculas de agua. Esta arquitectura les confiere propiedades bastante



interesantes que los hacen altamente aplicables en agricultura, farmacología, remediación ambiental y liberación controlada de compuestos activos.

La Figura 7 muestra cristales naturales de hidrotalcita-2H, también conocida como manasseíta, provenientes de la mina Jacupiranga en Brasil. Al principio, este tipo de minerales llamaban la atención principalmente por su rareza y apariencia, por eso eran exhibidos en museos o colecciones. Pero con el paso del tiempo y el avance en técnicas de caracterización, se descubrió que no solo eran visualmente interesantes, sino que también contaban con propiedades estructurales únicas.



Figura 7. Cristales naturales de hidrotalcita-2H (manasseíta) como representación mineralógica de los HDL. Fuente: [Betts, J Fine\(n.d.\)](#)

2.2.1.1 Perspectiva fisicoquímica y Punto isoeléctrico.

Desde una perspectiva fisicoquímica, su funcionalidad radica en fenómenos de adsorción superficial e intercambio aniónico dentro del espacio interlaminar. Los aniones presentes pueden ser desplazados fácilmente por otros del entorno, lo que permite que los HDL actúen como portadores o captadores selectivos (Vaccari, 1998).

En la Figura 8 se presentan micrografías SEM que ilustran la disposición nanométrica en láminas de los HDL, evidenciando su morfología estratificada, clave para comprender su comportamiento funcional. Estas imágenes permiten visualizar su arquitectura tridimensional y refuerzan su potencial como matrices para diferentes aplicaciones.

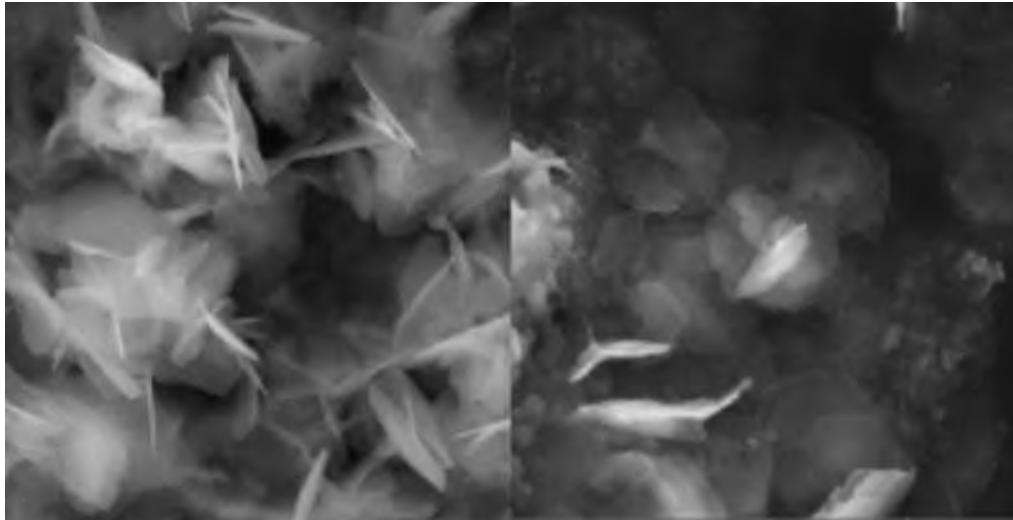


Figura 8. Micrografía MEB de hidróxidos dobles laminares. Fuente: Cortés Ortega, J. A., & Carbajal Arizaga, G. G. (2019).

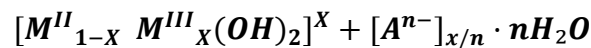
A partir de la estructura descrita y como complemento funcional clave, una propiedad fundamental de los HDL es su punto isoeléctrico, el cual determina el pH en el que la superficie del material posee una carga neta cero. Para los HDL de tipo MgAl este valor se encuentra típicamente en un rango de pH 8.5 a 9.5. Por debajo de este punto la superficie del material se vuelve positivamente cargada, lo cual favorece la adsorción de especies aniónicas. Esta característica es clave en procesos de intercalación, ya que facilita la incorporación de moléculas cargadas negativamente, como proteínas o ácidos orgánicos, en el espacio interlaminar, contribuyendo a su estabilización y posible liberación controlada (Fan et al., 2014).

2.2.2 Características de los HDL.

Su estructura tipo hidrotalcita fue descrita por primera vez por Miyata (1983) y puede representarse químicamente de la siguiente manera:



Formula general de HDL:



Donde M(II) y M(III) representan cationes metálicos divalentes y trivalentes, respectivamente, mientras que A^{n-} es un anión intercambiable alojado en el espacio interlaminar. Esta estructura confiere a los HDL una serie de propiedades funcionales que los hacen versátiles en distintas áreas tecnológicas:

- **Intercambio iónico:** Los aniones interlaminares pueden ser reemplazados por otros presentes en el medio, facilitando procesos de remediación o funcionalización (Vaccari, 1998).
- **Alta superficie específica:** Suele variar entre 50 y 200 m²/g, permitiendo una gran capacidad de adsorción de compuestos como pesticidas, fármacos o contaminantes (Zhang & Dou, 2014).
- **Estabilidad térmica y química:** Los HDL son capaces de conservar su estructura en condiciones alcalinas o a temperaturas elevadas, lo cual amplía sus posibles aplicaciones (Fu et al., 2023).
- **Capacidad de intercalación:** La arquitectura laminar permite alojar moléculas activas entre sus capas, protegiéndolas y controlando su liberación (Miyata, 1983).

La **Figura 9** muestra un modelo tridimensional generado con VESTA que representa la disposición típica de estos materiales: las láminas están formadas por cationes M(II) (esferas grandes) y M(III) (parte de la esfera amarilla), coordinados con grupos hidroxilo (esferas azules (oxígeno) y esferas rojas oscuras (hidrógeno)) y separados por capas de aniones intercambiables y moléculas de agua. Esta organización microscópica sustenta su comportamiento fisicoquímico, explicando su eficiencia en adsorción, intercambio iónico y liberación prolongada de compuestos activos.

Además, su elevada área superficial y morfología estructurada permite que los HDL actúen como “protectores” frente a condiciones adversas como el calor, la radiación UV o variaciones de pH. Gracias a ello, se logra una liberación más progresiva y controlada en el tiempo, optimizando el aprovechamiento del principio activo encapsulado.

En esta investigación, dicha capacidad estructural se aprovecha para encapsular y liberar de forma controlada los cristales proteicos del biopesticida *Bacillus thuringiensis* (Bt), proponiendo una alternativa innovadora para el manejo sustentable de plagas agrícolas.

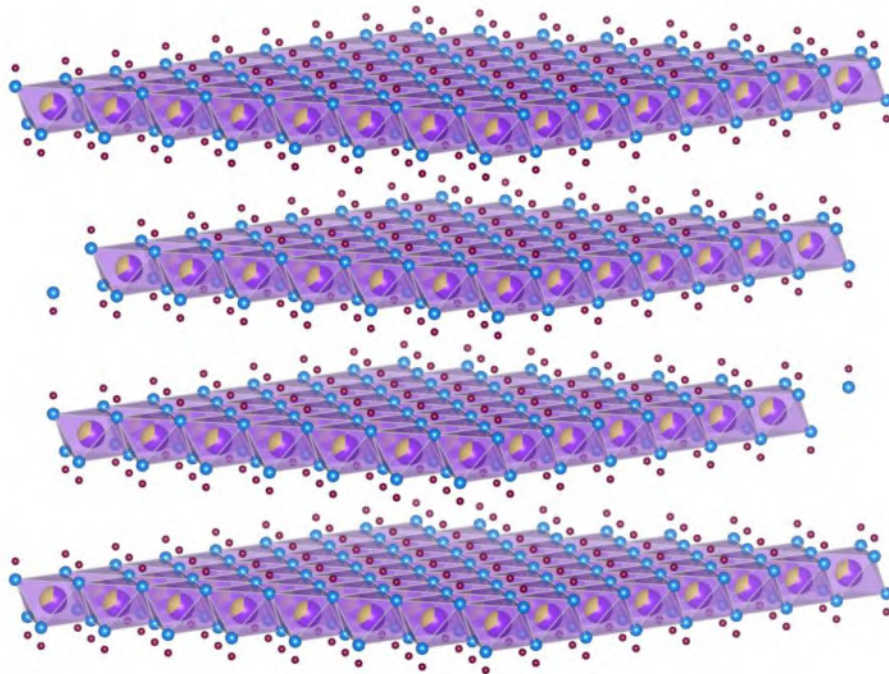


Figura 9. Estructura cristalina de los HDL con representación tridimensional. Fuente: Elaboración propia con software VESTA (2025).

2.3. Random Forest: Historia, Conceptos y Aplicaciones

El algoritmo Random Forest, desarrollado por Leo Breiman en 2001, representa uno de los avances más significativos en el ámbito del aprendizaje automático. Se trata de un método de conjunto basado en la construcción de múltiples árboles de decisión, cuya combinación permite mejorar la precisión y reducir el riesgo de sobreajuste, una limitación común en modelos



individuales de árboles de decisión (Breiman, 2001). La principal ventaja de Random Forest radica en su capacidad para manejar grandes volúmenes de datos, con una alta dimensionalidad y complejidad. El concepto de bosques aleatorios se fundamenta en el uso de la aleatorización durante el proceso de construcción de los árboles. En cada árbol, se selecciona una muestra aleatoria de los datos, así como un subconjunto aleatorio de variables para la división en cada nodo, lo que fomenta la diversidad entre los modelos generados. Finalmente, los resultados de todos los árboles se combinan a través de un proceso de votación mayoritaria o promedio ponderado, según se trate de problemas de clasificación o regresión (Breiman, 2001).

El desarrollo del algoritmo fue precedido por trabajos de Ho (1995), quien introdujo el concepto de "bosques de decisión aleatoria". Sin embargo, la propuesta de Breiman consolidó este enfoque al introducir mejoras como la selección aleatoria de variables en cada nodo, lo que marcó una diferencia clave en el rendimiento y la aplicabilidad del método.

2.3.2. Uso de *Random Forest* en Python: una herramienta accesible y eficiente para la ciencia de datos.

La aplicación del algoritmo *Random Forest* en contextos reales ha sido ampliamente facilitada gracias al desarrollo de bibliotecas de código abierto como **Scikit-learn**, una de las más utilizadas actualmente en la comunidad científica y tecnológica (Pedregosa et al., 2011). Esta biblioteca, desarrollada en Python, fue diseñada con un enfoque claro: permitir la implementación de modelos complejos sin necesidad de estructuras computacionales avanzadas o conocimientos profundos en programación.

Scikit-learn proporciona una estructura coherente para construir modelos de clasificación o regresión. El modelo se define como un objeto (*RandomForestClassifier* o *RandomForestRegressor*), se entrena con el método *fit()*, se hacen predicciones con *predict()*, se evalúa su rendimiento utilizando funciones específicas como *r2_score*, *mean_squared_error* o *accuracy_score*. Esta organización modular facilita la comprensión del flujo del modelo y permite adaptar el proceso a diversos problemas científicos.



Además, el ecosistema de Python permite complementar Scikit-learn con otras bibliotecas clave:

- **Pandas** es utilizada para manipular bases de datos estructuradas, facilitando tareas como filtrar, agrupar o transformar información.
- **NumPy** realiza operaciones matemáticas sobre arreglos numéricos de forma rápida y eficiente.
- **Matplotlib** y **Seaborn** ofrecen herramientas para visualizar datos de forma clara, lo que permite entender mejor los patrones detectados por el modelo y comunicar los resultados de manera efectiva.

El flujo de trabajo común para entrenar un modelo *Random Forest* incluye los siguientes pasos:

1. Carga y preparación de los datos, utilizando funciones como *read_csv()*, aplicando transformaciones para codificar variables categóricas, escalar valores y manejar datos faltantes.
2. Separación del conjunto de datos en subconjuntos de entrenamiento y prueba con *train_test_split*, lo que permite evaluar el modelo con datos no vistos durante el entrenamiento.
3. Configuración y ajuste del modelo, personalizando parámetros como:
 - *n_estimators*: número de árboles del bosque.
 - *max_depth*: profundidad máxima permitida para cada árbol.
 - *criterion*: métrica utilizada para dividir nodos (como *gini*, *entropy* o *squared_error*).
4. Evaluación del desempeño, mediante métricas como el error cuadrático medio (MSE), el coeficiente de determinación (R^2) o la precisión, según el tipo de problema.



5. Análisis de importancia de variables, una de las fortalezas del algoritmo, que permite identificar qué atributos tienen mayor influencia en las predicciones. Esta funcionalidad es especialmente útil en investigaciones aplicadas, ya que ayuda a interpretar el modelo y a obtener conclusiones valiosas más allá de la simple predicción.

Gracias a esta arquitectura flexible y a su integración con otras herramientas científicas, *Random Forest* se ha consolidado como un recurso accesible para múltiples disciplinas.

2.3.1.1. Explicación de diagrama de Toma de Decisiones en Random Forest

El diagrama del proceso de Random Forest describe las etapas clave que permiten al algoritmo construir múltiples árboles de decisión y combinar sus resultados para obtener una predicción precisa y robusta. A continuación, se explica cada etapa con ejemplos prácticos para facilitar su comprensión:

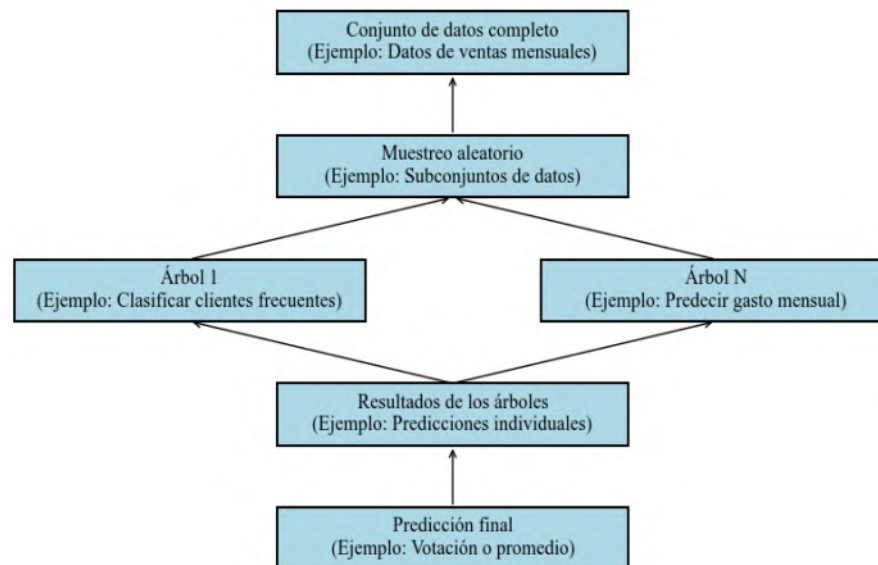


Figura 10. Diagrama de toma de Decisiones en Random Forest. Fuente: Elaboración propia (2025)

Conjunto de datos completo: El proceso comienza con un conjunto amplio de datos originales. Por ejemplo, en un análisis de clientes de una tienda, este dataset podría incluir información como nombres de clientes, frecuencia de compra y gasto mensual. Este conjunto inicial contiene toda la información necesaria para entrenar el modelo.



Muestreo aleatorio: A partir del conjunto completo, Random Forest genera subconjuntos aleatorios de datos utilizando el método de "bootstrap". Esto significa que algunos registros se seleccionan repetidamente, mientras que otros pueden no ser incluidos. Por ejemplo, en un estudio sobre ventas, algunos registros de clientes frecuentes podrían aparecer en varios subconjuntos, mientras que otros quedarían excluidos. Este muestreo asegura diversidad en los datos utilizados por cada árbol.

Construcción de árboles individuales: Cada árbol de decisión se entrena con uno de los subconjuntos generados. Durante su construcción, se selecciona aleatoriamente un subconjunto de variables en cada nodo para decidir la división. Por ejemplo:

Árbol 1 podría clasificar a los clientes como "frecuentes" o "ocasionales" basándose en su historial de compras.

Árbol N podría predecir el gasto mensual promedio utilizando datos como la frecuencia de visitas y las categorías de productos adquiridos.

Resultados individuales de los árboles: Cada árbol genera su propia predicción de forma independiente. Por ejemplo, un árbol podría determinar que un cliente es frecuente, mientras que otro podría predecir que el gasto promedio de dicho cliente será de \$1,200 pesos al mes. Estas predicciones individuales no son perfectas por sí solas, pero aportan diversidad al modelo final.

Predicción final: Las predicciones individuales de todos los árboles se combinan para obtener un resultado final. Este proceso depende del tipo de problema:

En tareas de clasificación (por ejemplo, determinar si un cliente es frecuente), el resultado final se decide por votación mayoritaria de todos los árboles. En tareas de regresión (por ejemplo, predecir el gasto mensual), el resultado es el promedio de las predicciones de los árboles.

Los conceptos explorados en este capítulo no solo sustentan el diseño experimental del presente estudio, sino que también reflejan el compromiso por desarrollar un bioplaguicida que combine eficacia tecnológica con responsabilidad ambiental.



2.4 Antecedentes.

2.4.1 Uso excesivo de plaguicidas y sus consecuencias.

Diversos estudios han alertado sobre las consecuencias negativas del uso excesivo de plaguicidas en la agricultura moderna. De acuerdo con el *Atlas de los Pesticidas* (Heinrich Böll Stiftung et al., 2022) más de 385 millones de personas en el mundo sufren intoxicaciones agudas por pesticidas cada año. Este fenómeno no solo afecta a los trabajadores agrícolas sino también al ambiente y a la salud pública en general. En países como México el marco regulatorio permite el uso de plaguicidas prohibidos en otras regiones, lo que acentúa los riesgos para las comunidades rurales y los ecosistemas agrícolas. Esta situación ha generado una creciente preocupación sobre la necesidad de transitar hacia alternativas más seguras y sostenibles.

2.4.2 Propuestas previas para el control biológico con *Bacillus thuringiensis*.

En respuesta a estas problemáticas se ha promovido el uso de bioplaguicidas como el *Bacillus thuringiensis* (Bt), una bacteria grampositiva capaz de producir toxinas proteicas específicas que afectan a insectos plaga sin dañar organismos no objetivo. Investigaciones como las de Bravo et al. (2007) y Schnepf et al. (1998) han documentado la especificidad de las toxinas Cry y Cyt producidas por Bt frente a distintos órdenes de insectos, incluyendo *Lepidoptera*, *Diptera* y *Coleoptera*. Estas propiedades han consolidado al Bt como una herramienta biotecnológica viable para la protección de cultivos.

2.4.3 Limitaciones actuales de Bt en campo.

Sin embargo, uno de los retos persistentes en el uso de Bt ha sido su baja estabilidad en condiciones ambientales. Las toxinas proteicas son susceptibles a la degradación por radiación ultravioleta, cambios de temperatura y pH, lo que limita su efectividad prolongada en campo abierto. Estudios como los de Cortés-Ortega y Carbajal-Arízaga (2019) han señalado que la eficacia de Bt puede reducirse considerablemente si no se estabiliza frente a condiciones ambientales adversas.



2.4.4 Funcionalidad de los hidróxidos dobles laminares (HDL) como soporte.

Ante este desafío, diversos trabajos han explorado el uso de hidróxidos dobles laminares (HDL) como soportes para la estabilización de compuestos bioactivos. Los HDL poseen una estructura laminar con aniones intercambiables que pueden proteger moléculas sensibles como las toxinas Cry. Fu et al. (2023) y Vaccari (1998) destacan sus propiedades de alta superficie específica, intercambio aniónico y estabilidad térmica, que los convierten en materiales versátiles para aplicaciones ambientales y agrícolas.

2.4.5 Aplicaciones recientes de HDL en medio ambiente y agricultura.

Los hidróxidos dobles laminares (HDL) han demostrado un alto potencial como soportes funcionales para la liberación controlada de compuestos bioactivos en aplicaciones agrícolas. Estudios recientes como los de Singha Roy, Pillai y Sinha Ray (2022, 2023) han demostrado que los HDL pueden actuar como fertilizantes de liberación lenta, controlando la dosificación de nitratos y otros nutrientes esenciales, lo cual reduce la necesidad de aplicaciones frecuentes y mejora la eficiencia en el uso de agroinsumos.

2.4.6 Potencial de la inteligencia artificial en formulaciones ambientales.

Islam et al. (2023) emplearon *Random Forest Regression* para predecir el caudal de una cuenca hidrológica en el Alto Río Grande, Colorado, utilizando variables climáticas como la profundidad de nieve y la temperatura mínima. Su modelo logró superar a métodos tradicionales como SWAT, evidenciando su capacidad para representar fenómenos naturales complejos con precisión.

Por su parte, Martínez Cuevas (2023) integró este algoritmo en un sistema de clasificación automática de bacterias filamentosas en plantas de tratamiento de aguas residuales, mejorando significativamente el monitoreo microbiológico y el control operacional de los fangos activos.

Finalmente, Dios-Castillo et al. (2024) realizaron una revisión sistemática sobre el uso de algoritmos de aprendizaje automático para detectar contaminación ambiental mediante



imágenes satelitales. Su estudio destacó la efectividad de *Random Forest* para identificar patrones de polución atmosférica en zonas urbanas y rurales de América Latina. Estos antecedentes no solo demuestran la solidez estadística del modelo, sino también su aplicabilidad en áreas donde las decisiones deben sustentarse en datos complejos y cambiantes, como es el caso de los sistemas agrícolas vulnerables ante condiciones ambientales impredecibles.



2.5 Planteamiento del problema.

En la actualidad, el modelo agrícola dominante sigue dependiendo de sustancias químicas de alta toxicidad que, si bien permiten elevar los rendimientos a corto plazo, han provocado consecuencias ambientales y sociales graves. El uso excesivo de pesticidas sintéticos ha deteriorado los suelos, contaminado cuerpos de agua y afectado tanto la biodiversidad como la salud humana.

Aunque se han explorado alternativas más seguras, como el uso de biopesticidas, su eficacia en campo sigue siendo un reto importante. Tal es el caso del *Bacillus thuringiensis* (Bt), una bacteria con eficacia comprobada en el control biológico de plagas, pero cuya estabilidad se ve comprometida por factores ambientales como la radiación UV, la humedad y la necesidad de múltiples reaplicaciones. Esta limitación no solo eleva los costos, sino que restringe su uso en sistemas agrícolas vulnerables, como los que predominan en muchas regiones rurales de México.

Frente a esta problemática, surge la pregunta central: ¿Cómo mejorar la estabilidad y eficacia del Bt para convertirlo en una solución realmente viable, económica y sostenible para los agricultores?

En este contexto, los hidróxidos dobles laminares (HDL) surgen como materiales prometedores gracias a su capacidad de retención y liberación controlada de moléculas bioactivas. Además, la incorporación de inteligencia artificial, particularmente mediante modelos como Random Forest, permite optimizar la dosificación y anticipar las condiciones ideales de aplicación.

Esta investigación parte de ese vacío: no basta con tener un bioplaguicida eficaz; es necesario diseñar un sistema de soporte inteligente y adaptable que permita trasladar ese potencial a condiciones reales de campo. El problema, entonces, no es solo técnico, sino también ambiental, económico y social y debe abordarse desde una perspectiva integradora, como la que aquí se propone.



2.6 Justificación.

El diseño de materiales híbridos que integren compuestos inorgánicos funcionales con agentes biológicos representa una de las líneas más prometedoras en la ciencia de materiales aplicada a la agricultura. Uno de los materiales inorgánicos más estudiados son los hidróxidos dobles laminares (HDL), los cuales se destacan por su capacidad de adsorber y liberar de manera controlada diversas moléculas activas. Aunque han sido ampliamente utilizados en campos como la farmacología o la remediación ambiental, su aplicación en el ámbito agrícola continúa siendo escasa. Esta área, aún poco explorada, abre la posibilidad de diseñar nuevas soluciones para el manejo de plagas desde un enfoque más preciso, eficiente y sustentable.

En el presente estudio se propone aprovechar las propiedades fisicoquímicas de los HDL como soporte para el biopesticida *Bacillus thuringiensis* (Bt), con el objetivo de mejorar su estabilidad frente a condiciones ambientales variables, prolongar su eficacia en campo y reducir la necesidad de reaplicaciones frecuentes, lo cual disminuye tanto los costos como la carga ambiental.

Complementariamente, la integración de herramientas de inteligencia artificial (IA), específicamente mediante el modelo Random Forest, permite optimizar la dosificación del biopesticida con base en datos experimentales. Esta metodología facilita la identificación de condiciones óptimas para su aplicación, incrementando la eficiencia del tratamiento y reduciendo los costos operativos, sin comprometer la salud del agroecosistema.

La presente investigación se planteó al considerar el panorama actual de la agricultura en México y América Latina, caracterizado por suelos degradados, plagas resistentes y un acceso desigual a tecnologías limpias. Ante esta realidad, es indispensable desarrollar alternativas que no solo ofrezcan soluciones técnicas viables, sino que también puedan adaptarse a distintos contextos productivos de forma escalable y responsable. En resumen, este estudio se buscó diseñar una solución innovadora que integra ciencia de materiales, agentes biológicos e inteligencia artificial, orientada a resolver un problema real con una visión sostenible, adaptable y escalable a diferentes escenarios agrícolas.



2.7 Hipótesis.

La formulación de un biopesticida híbrido mediante la incorporación de los cristales Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en una matriz de hidróxidos dobles laminares (HDL) permite mejorar su estabilidad y eficacia bajo condiciones ambientales variables, al favorecer una liberación controlada del agente biológico. A su vez, el uso de modelos de inteligencia artificial, como Random Forest, facilita la predicción de las concentraciones óptimas del material, optimizando el proceso experimental y reduciendo tanto la necesidad de reaplicaciones como el impacto ambiental y económico asociado al control convencional de plagas.

2.8 Objetivos.

2.8.1 Objetivo general.

Diseñar un biopesticida híbrido a partir de *Bacillus thuringiensis* (Bt) y hidróxidos dobles laminares (HDL) y desarrollar modelos predictivos basados en aprendizaje automático para anticipar las concentraciones óptimas de aplicación, evaluando su comportamiento, eficacia y sostenibilidad en el control de *Spodoptera frugiperda*.

2.8.2 Objetivos Específicos.

- Desarrollar un primer modelo predictivo preliminar para estimar concentraciones óptimas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) a incorporar en el soporte HDL.
- Incorporar Bt en los HDL sintetizados y realizar bioensayos larvales contra *Spodoptera frugiperda* para evaluar la eficacia biológica del material híbrido.
- Desarrollar y entrenar un segundo modelo de aprendizaje automático (Random Forest) con base en los resultados experimentales, con el fin de predecir condiciones óptimas de dosificación y mejorar la eficiencia del sistema.
- Caracterizar el material híbrido optimizado, evaluando sus propiedades estructurales y funcionales.
- Sintetizar hidróxidos dobles laminares (HDL) mediante un método reproducible y caracterizarlos fisicoquímicamente para evaluar su viabilidad como soporte inorgánico.



Capítulo 3. Metodología.

3.1. Introducción Metodología.

El presente capítulo describe detalladamente los procedimientos experimentales y analíticos empleados para desarrollar un biopesticida más eficiente que combina *Bacillus thuringiensis* (Bt) con un nanomaterial inorgánico, los hidróxidos dobles laminares (HDL).

A diferencia de enfoques convencionales, el proceso se inició con la construcción y validación de un modelo predictivo de inteligencia artificial (IA), específicamente Random Forest, basado en datos provenientes de la literatura, que permitió identificar la concentración óptima de Bt. A partir de esta predicción, se llevó a cabo la síntesis del HDL, la incorporación de Bt en la matriz híbrida, la evaluación de su eficacia mediante bioensayos in vivo y posteriormente, la caracterización fisicoquímica del material. El flujo general de este proceso se resume en la Figura 11, que presenta de manera general las etapas desarrolladas en la presente investigación. Las pruebas biológicas se realizaron con larvas de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) proporcionadas por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Este enfoque metodológico integró herramientas de inteligencia artificial y pruebas empíricas con bioensayos larvales, permitiendo cumplir los objetivos establecidos con rigor científico y aplicabilidad práctica.

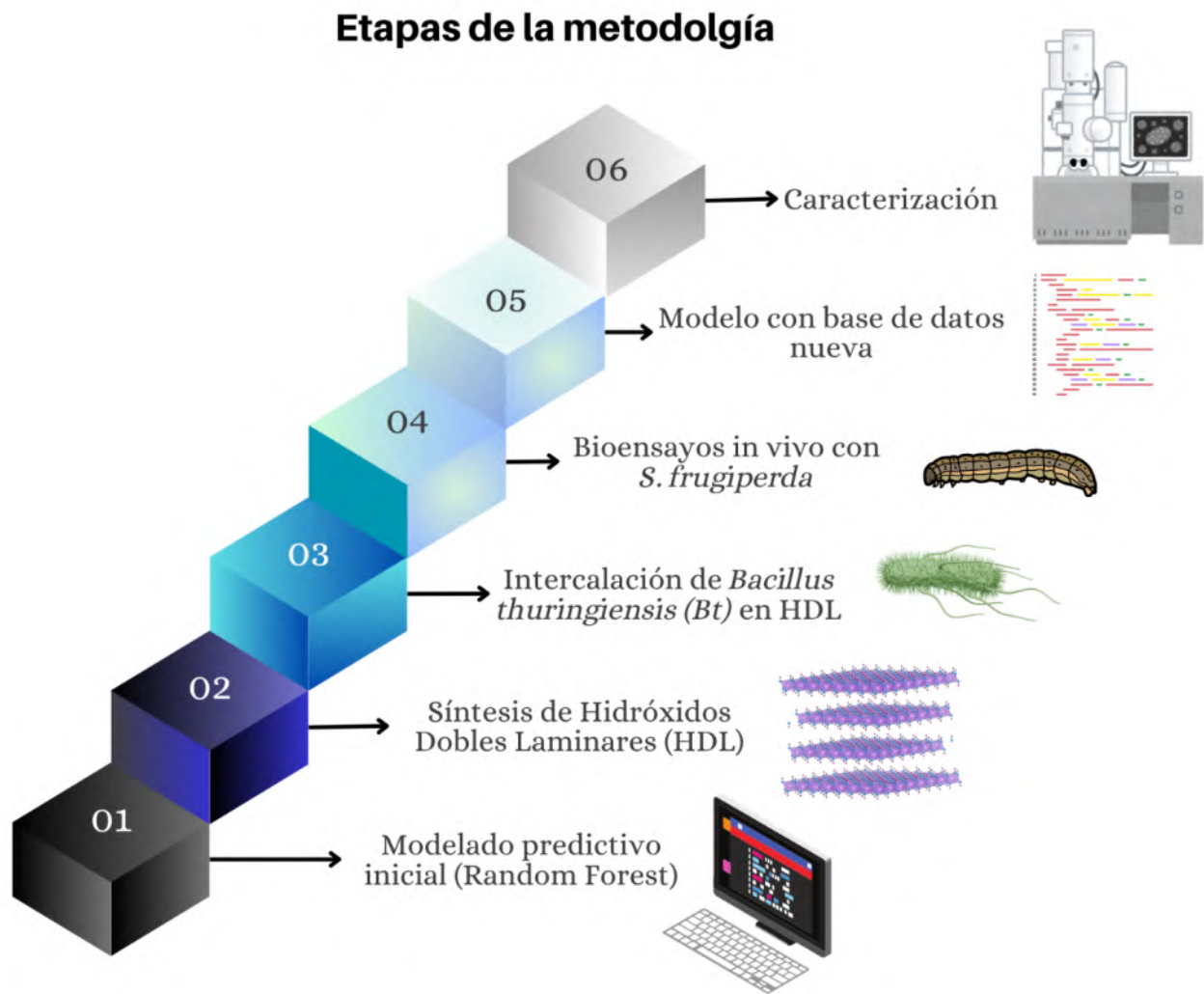


Figura 11. Diagrama esquemático de las etapas metodológicas desarrolladas en la investigación.

3.2. Modelado predictivo inicial (Random Forest)

3.2.1 Justificación del modelo.

Como se abordó en el marco teórico (sección 2.3), Random Forest es un algoritmo que permite modelar relaciones complejas entre múltiples variables, algo fundamental en este estudio, donde la eficacia del biopesticida híbrido *Bt*-HDL no depende de un único factor, sino



de la interacción entre concentración de *Bacillus thuringiensis*, pH, temperatura y tiempo de exposición.

Durante la fase de diseño experimental, era importante contar con un modelo que pudiera manejar estas interacciones sin asumir relaciones lineales simples, que además ofreciera resultados confiables aun cuando el conjunto de datos disponible fuese limitado. Por esta razón, se decidió utilizar Random Forest como herramienta para construir un modelo predictivo basado en una matriz experimental simulada. Esta matriz se elaboró a partir de rangos extraídos de literatura especializada en el uso de *Bt* y en sistemas de liberación controlada (EPA, 1998; Moustafa et al., 2018), con el fin de representar condiciones realistas y relevantes para la aplicación agrícola.

3.2.2 Construcción de la matriz experimental.

Para entrenar el modelo predictivo, fue necesario construir una matriz experimental que representara combinaciones realistas de las variables más relevantes en la eficacia del biopesticida a base *Bt* únicamente. Dado que en esta etapa aún no se contaba con un volumen suficiente de datos experimentales propios, se optó por desarrollar una matriz simulada, basada en rangos y criterios extraídos de literatura especializada y lineamientos técnicos (EPA, 1998; Moustafa et al., 2018; Fu et al., 2023).

Las variables seleccionadas fueron:

- Concentración de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*),
- pH.
- Temperatura.
- Tiempo de exposición.

La matriz se construyó considerando un diseño factorial parcial, con un total de 15 combinaciones ($n = 15$), abarcando un espacio experimental adecuado para esta fase exploratoria.



Los rangos definidos para cada variable fueron los siguientes:

- **Concentración de Bt:** 0.1 a 0.35 g/L (con base en formulaciones comerciales y reportes de eficacia en campo)
- **pH:** 6.5 a 7.8 (óptimo para la solubilización y estabilidad de las proteínas Cry)
- **Temperatura:** 25 a 38 °C (condiciones típicas de aplicación en cultivos tropicales y subtropicales)
- **Tiempo de exposición:** 12 a 42 horas (de acuerdo con cinéticas de acción observadas en bioensayos con *Spodoptera frugiperda*).

La variable respuesta fue definida como el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) de Bt, considerado un indicador de viabilidad y potencial eficacia biológica. La **Tabla 1** presenta la matriz experimental simulada utilizada como conjunto de entrenamiento para el modelo Random Forest.

Tabla 1. Matriz experimental simulada empleada para el entrenamiento del modelo Random Forest.

<i>Bt</i> (g/L)	pH	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	UFC (x10 ⁶ / mL)
0.10	6.5	25	12	50
0.20	7.0	30	24	60
0.30	7.5	35	36	70
0.12	6.8	28	18	55
0.25	7.2	32	34	68



0.35	7.6	36	39	73
0.15	7.0	29	20	58
0.22	7.4	33	38	67
0.32	7.5	36	40	75
0.18	6.9	27	16	53
0.28	7.1	31	26	63
0.34	7.7	38	42	77
0.20	6.7	26	14	52
0.30	7.3	34	32	69
0.10	6.6	25	12	51

Nota: La matriz fue construida a partir de combinaciones simuladas con base en rangos extraídos de literatura especializada y criterios técnicos (EPA, 1998; Moustafa et al., 2018; Fu et al., 2023).

El flujo completo de procesamiento de estos datos mediante el modelo Random Forest se muestra en la Figura 12.

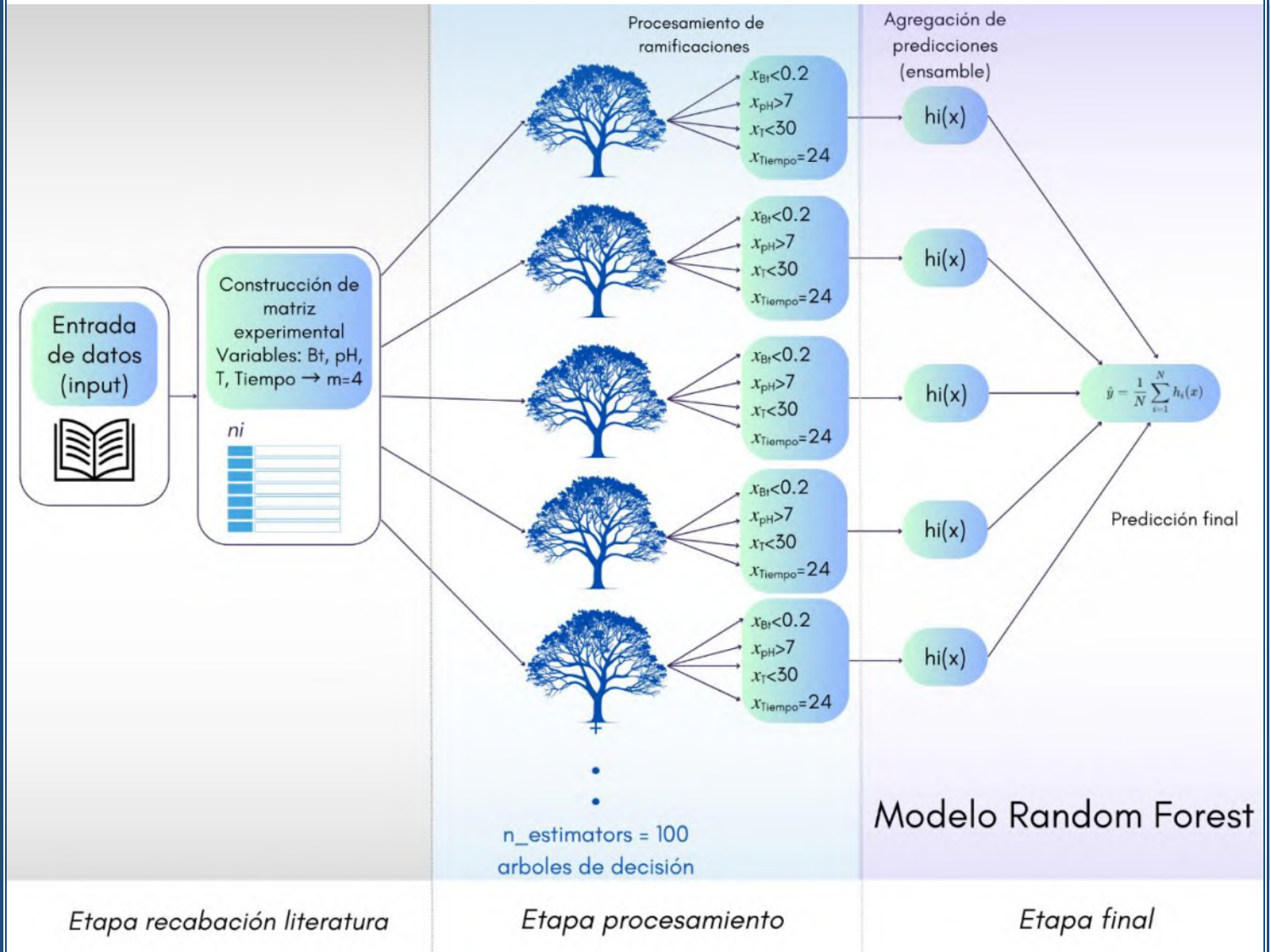


Figura 12. Superestructura del funcionamiento del modelo Random Forest aplicado a la predicción de mortalidad larval por *Bacillus thuringiensis*. Fuente: Elaboración propia (2025).

3.2.3 Configuración del algoritmo

El modelo se implementó en el lenguaje de programación Python (versión 3.11), utilizando la biblioteca Scikit-learn (versión 1.4), ampliamente reconocida en la comunidad



científica por su robustez y versatilidad en el desarrollo de algoritmos de aprendizaje supervisado (Pedregosa et al., 2011).

En este caso, el objetivo no era únicamente obtener un modelo con alta precisión, sino también contar con una herramienta interpretable que permitiera identificar las variables más influyentes en la eficacia del biopesticida. Por esta razón, se configuró el algoritmo Random Forest con los siguientes hiperparámetros:

- $n_estimators = 100$ → número total de árboles en el bosque, lo que proporciona un equilibrio entre estabilidad y capacidad de generalización.
- $criterion = 'squared_error'$ → función de pérdida adecuada para el tipo de variable respuesta continua (eficacia medida como conteo de colonias viables, $colony_count$).
- $max_depth = None$ → sin restricción de profundidad, permitiendo que cada árbol explore a fondo las posibles interacciones.
- $random_state = 42$ → para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

El entrenamiento se realizó aplicando una validación cruzada de cinco particiones ($k\text{-fold} = 5$), con el fin de evaluar la estabilidad del modelo frente a diferentes subconjuntos de datos. Asimismo, el conjunto de datos completo se dividió en un 80 % para entrenamiento y 20 % para validación, lo que permitió obtener métricas confiables para valorar el desempeño del modelo.

Las variables de entrada se representaron como:

$$x = x_1, x_2, x_3, x_4$$

donde:

- x_1 = concentración de Bt (g/L).
- x_2 = pH.
- x_3 = temperatura (°C).



- x_4 = tiempo de exposición (h).

La predicción final del modelo Random Forest se obtiene mediante el promedio de las predicciones individuales generadas por cada árbol, de acuerdo con la siguiente expresión:

Fórmula matemática del modelo Random Forest general.

$$\check{y} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N h_i(x)$$

donde \check{y} es la predicción final, N es el número total de árboles (en este caso, 100) y $h_i(x)$ corresponde a la predicción realizada por el árbol correspondiente.

El código completo utilizado para la implementación de este modelo se presenta en el Anexo I de esta tesis, donde se detalla el flujo de trabajo en Python y las funciones empleadas para el entrenamiento y evaluación del algoritmo.

3.2.4 Consideraciones finales

El modelo predictivo desarrollado en esta etapa permitió establecer una primera versión de la predicción de condiciones óptimas para la aplicación de *Bacillus thuringiensis* (Bt), considerando variables clave como concentración, pH, temperatura y tiempo de exposición. Los resultados obtenidos a partir del modelo definieron las concentraciones óptimas de Bt que fueron empleadas en el diseño de las formulaciones experimentales.

Estas condiciones sirvieron como base fundamental para la etapa de intercalación de Bt en hidróxidos dobles laminares (HDL), asegurando que las formulaciones se ajustaran a parámetros previamente optimizados. Además, el uso de un modelo predictivo en esta etapa permitió reducir la necesidad de pruebas físicas extensivas, lo cual representó un ahorro significativo en recursos y tiempo experimental.

3.3 Síntesis de hidróxidos dobles laminares (HDL).

La síntesis de HDL se realizó mediante el método de coprecipitación, ampliamente reconocido por su eficiencia en la obtención de materiales con alta cristalinidad. Esta técnica es una de las más robustas y versátiles para la síntesis de hidróxidos dobles laminares, debido a su capacidad para generar estructuras con elevada cristalinidad, buena uniformidad y propiedades fisicoquímicas reproducibles (Miyata, 1983; Fan et al., 2014). La elección de este procedimiento permitió obtener un soporte inorgánico adecuado para la posterior incorporación del bioplaguicida, con el objetivo de favorecer su liberación controlada y estabilidad en aplicaciones ambientales.

Como parte del diseño experimental de este estudio, el proceso de síntesis se resume esquemáticamente en la Figura 13, mediante un diagrama de flujo que presenta las principales etapas desarrolladas en el laboratorio.

SÍNTESIS DE HIDRÓXIDOS DOBLES LAMINARES



Figura 13. Proceso de síntesis de hidróxidos dobles laminares (HDL) mediante método de coprecipitación controlada.



3.3.1 Etapas de la síntesis de hidróxidos dobles laminares.

I. **Preparación de soluciones:** Se prepararon soluciones acuosas de nitrato de magnesio hexahidratado ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y nitrato de aluminio nonahidratado ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), en una proporción molar $\text{Mg}/\text{Al} = 3:1$.

El cálculo de la cantidad de reactivos se realizó con base a una concentración final aproximada de 0.5 M en 100 mL de solución. Para cada reactivo, se empleó la expresión:

Cálculo analítico(n(mol) y masa (gr))

$$n(\text{mol}) = C \left(\frac{\text{mol}}{\text{litro}} \right) * V (\text{litro})$$

$$\text{masa}(\text{g}) = n (\text{mol}) * PM \left(\frac{\text{gr}}{\text{mol}} \right)$$

Donde PM= peso molecular compuesto

Los valores calculados fueron los siguientes:

- Para $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (PM = 256.41 g/mol):

$$n=0.375 \text{ mol}, \text{masa}=0.375 \times 256.41 = 96.15 \text{ g/L} = 9.615 \text{ g en } 100 \text{ mL}$$

- Para $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (PM = 375.13 g/mol):

$$n=0.125 \text{ mol}, \text{masa}=0.125 \times 375.13 = 46.89 \text{ g/L} = 4.689 \text{ g en } 100 \text{ mL}$$

Cada sal se disolvió por separado en aproximadamente 50 mL de agua desionizada, posteriormente las soluciones se combinaron y se ajustó el volumen final a 100 mL.

II. **Coprecipitación:** El proceso de coprecipitación consistió en la adición lenta de una solución de NaOH 1 M a la solución combinada de sales, bajo agitación constante en un agitador magnético Thermolyne, velocidad nivel 4. Durante esta etapa, se midió constantemente el pH de la solución y la adición de NaOH se detuvo al alcanzar un pH entre 10 y 11. Este procedimiento se llevó a cabo a temperatura ambiente, sin tiempo de



residencia prolongado, esto debido a que la adición se realizó únicamente hasta el ajuste del pH.

III. **Añejamiento:** Posteriormente, la mezcla se sometió a una etapa de añejamiento. La solución se mantuvo bajo agitación continua en el mismo agitador Thermolyne equipado con calentador, estableciendo la temperatura a 80 °C. Se empleó un flujo continuo de gas argón para mantener una atmósfera inerte durante todo el proceso, evitando la incorporación de CO₂ atmosférico y favoreciendo la correcta formación y ordenamiento de las láminas cristalinas. La etapa de añejamiento se prolongó durante 18 horas.

IV. **Lavado:** El sólido recuperado se lavó con agua desionizada, en tres ciclos sucesivos, hasta que el pH del filtrado alcanzó valores próximos a neutro (pH ≈ 7). Este paso fue esencial para eliminar residuos de NaOH y aniones nitrato no incorporados en la estructura del HDL.

V. **Filtración:** Finalizada la etapa de añejamiento, la suspensión se dejó en reposo durante 1.5 horas a temperatura ambiente, para permitir una sedimentación parcial del precipitado. El sólido resultante se recuperó mediante filtración, utilizando papel filtro Whatman No. 1, de tamaño de poro aproximado 11 μm, adecuado para retener los agregados de partículas de HDL (que se encuentran típicamente en el rango de 1–10 μm).

VI. **Secado:** Finalmente, el sólido lavado se secó en un horno con convección dual ECOSHEL FA-45B, a una temperatura de 60 °C durante 12 horas. El material obtenido fue un sólido cristalino de color blanco, característico de hidróxidos dobles laminares con elevada cristalinidad y pureza.

3.4 Incorporación de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en los hidróxidos dobles laminares (HDL).

La incorporación controlada de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en la matriz de hidróxidos dobles laminares (HDL) constituye una etapa esencial en el desarrollo del bioplaguicida híbrido diseñado en este trabajo. Este proceso busca proteger las toxinas insecticidas Cry y esporas viables de Bt frente a condiciones ambientales adversas y promover una liberación sostenida y eficaz del principio activo.

Para asegurar la adecuada intercalación y bioactividad del Bt, se realizó previamente un proceso de purificación de la fracción activa (cristales y esporas), a partir de un concentrado técnico de *Bacillus thuringiensis subsp. aizawai*, con una actividad de 25,000 unidades internacionales (UI) por miligramo y una concentración de 3.80 % p/p. Este paso de purificación fue necesario debido a la presencia de excipientes, dispersantes y otros componentes inertes en la formulación original, los cuales podrían interferir con la interacción entre el Bt y la matriz HDL.

La arquitectura de los HDL y su capacidad de proteger biomoléculas ofrecen un entorno ideal para estabilizar las toxinas Cry y prolongar su eficacia en condiciones de aplicación agrícola (Miyata, 1983; Fan et al., 2014). El procedimiento seguido se esquematiza en la Figura 14 y se describe a continuación.



Figura 14. Diagrama de flujo del proceso de obtención del bioplaguicida híbrido Bt-HDL.



3.4.1 Descripción detallada del procedimiento experimental.

3.4.1.1 Preparación de la fracción activa de *Bacillus thuringiensis*.

Se partió de un concentrado técnico de *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, con una actividad de 25,000 unidades internacionales por miligramo (UI/mg) y una concentración de 3.80 % en peso. Según la literatura, los cristales de toxinas Cry y las esporas viables de esta subespecie presentan un tamaño micrométrico y son insolubles en agua, lo que favorece la separación de fases en suspensión acuosa.

Con el objetivo de obtener una fracción purificada adecuada para su intercalación en la matriz HDL, se implementó un proceso de purificación en tres etapas:

1. Sedimentación inicial y retiro de sobrenadante: se pesaron 9.000 g de Bt técnico, que se dispersaron en 250 mL de agua destilada, utilizando este volumen para minimizar la saturación de dispersantes presentes en la formulación original. La dispersión se agitó suavemente durante 15 minutos a temperatura ambiente (25–30 °C), se dejó sedimentar por gravedad durante 2 horas. Posteriormente, el sobrenadante que contenía dispersantes, surfactantes y componentes solubles del medio de cultivo se retiró cuidadosamente mediante pipeteo manual, sin perturbar la fracción sedimentada.

2. Lavado en filtro por gravedad: la fracción sedimentada se transfirió cuidadosamente a un embudo con papel filtro (Whatman No. 1), se sometió a tres lavados consecutivos directamente en el filtro. Cada lavado consistió en adicionar agua destilada sobre el precipitado, permitiendo su paso por el filtro por gravedad.

3. Secado y cuantificación: tras el tercer lavado, el material se dejó secar a temperatura ambiente. Una vez seco, el Bt purificado se recuperó y se cuantificó para ajustar con precisión las masas requeridas en las formulaciones de intercalación. Cabe señalar que el peso considerado para la etapa de intercalación corresponde exclusivamente al Bt purificado obtenido tras este tratamiento.



3.4.1.2 Preparación de la suspensión de Bt purificado.

Las concentraciones finales de Bt purificado se ajustaron de acuerdo con las condiciones optimizadas mediante el modelo Random Forest. La preparación de la suspensión se realizó en agua destilada, asegurando una adecuada dispersión para su posterior intercalación.

3.4.1.3 Intercalación de Bt en HDL.

Para definir la formulación final del bioplaguicida, se tomaron en cuenta dos criterios complementarios. Por un lado, el modelo Random Forest permitió identificar la concentración óptima de *Bacillus thuringiensis* (Bt) con base en su eficacia estimada. Por otro, la cantidad de hidróxidos dobles laminares (HDL) utilizada en la intercalación se estableció considerando propiedades fisicoquímicas clave que garantizaran una interacción eficiente y estable entre ambos componentes.

En primer lugar, los HDL sintetizados por coprecipitación presentan un área superficial específica que puede oscilar entre 100 y 300 m²/g, lo que les confiere una notable capacidad de adsorción para partículas de tamaño micro o nanométrico, como las esporas y cristales del Bt (Fan et al., 2014). Se ha reportado que las esporas de Bt miden entre 0.5 y 0.8 μm, que los cristales Cry suelen tener dimensiones de entre 0.2 y 1.5 μm, con morfologías variadas como romboidales, bipiramidales o cúbicas (Bravo et al., 2007; Sanchis & Bourguet, 2008). Esta compatibilidad dimensional favorece una interacción adecuada con la superficie activa de los HDL.

Además, se tomó en cuenta la afinidad electrostática entre ambos componentes. Las proteínas Cry, de naturaleza ácida, tienden a presentar carga negativa en soluciones neutras, mientras que los HDL conservan una carga superficial positiva en ese mismo intervalo de pH. Esta diferencia de carga crea condiciones ideales para la adsorción, especialmente en un medio acuoso neutro como el proporcionado por agua destilada, que además evita interferencias iónicas y protege la viabilidad del Bt (Adang et al., 2014).

Bajo estas condiciones, se estableció que una proporción de aproximadamente 0.4–0.6 g de Bt por cada 100 mL de suspensión era adecuada para cubrir una fracción significativa de la



superficie del HDL sin provocar sobresaturación ni dispersión deficiente. Esta relación técnica, en conjunto con los resultados del modelo predictivo, sirvió como base para los tratamientos T1 a T4 empleados en los bioensayos.

3.4.1.4 Formulación final.

Tras la etapa de intercalación, la suspensión resultante de Bt-HDL se envasó directamente en frascos goteros ámbar, con el objetivo de proteger el producto frente a la exposición lumínica y conservar su estabilidad para los bioensayos posteriores. No se realizó una etapa de filtración ni secado adicional, dado que el formato en suspensión líquida fue considerado el más adecuado para la dosificación controlada en las pruebas biológicas.

Tabla 2. Resumen de las condiciones experimentales para la incorporación de *Bacillus thuringiensis* en HDL.

Parámetro	Condición
Tipo de Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> , 25,000 UI/mg, 3.80 % p/p
Cantidad inicial de Bt técnico	9.000 g
Volumen de dispersión inicial	250 mL de agua destilada
Sedimentación inicial	2 h, temperatura ambiente.
Retiro del sobrenadante	Pipeteo manual
Lavado	3 lavados en papel filtro (por gravedad)



Secado

Temperatura ambiente

Preparación de suspensión de Bt purificado

En agua destilada.

Intercalación Bt + HDL

300 rpm, 18 h, 25–30 °C (temperatura ambiente), proporciones optimizadas por Random Forest.

Formulación final

Suspensión en frascos goteros ámbar

Destino

Bioensayos y caracterización

3.4.2 Consideraciones finales

El protocolo desarrollado permitió obtener un bioplaguicida híbrido Bt–HDL en suspensión líquida, con características prometedoras en cuanto a estabilidad y eficacia frente a *Spodoptera frugiperda*. El uso de proporciones optimizadas mediante un modelo de inteligencia artificial (Random Forest), constituye un enfoque innovador y práctico para el diseño de este tipo de formulaciones. Los resultados de la caracterización y los bioensayos se presentan en los capítulos siguientes.

3.5 Bioensayos de eficacia contra *Spodoptera frugiperda*.

Para evaluar la eficacia del bioplaguicida híbrido Bt–HDL desarrollado en este estudio, se realizaron bioensayos controlados utilizando larvas vivas de *Spodoptera frugiperda*. Estos ensayos permitieron generar datos experimentales que fueron posteriormente incorporados al modelo de predicción basado en Random Forest. Las condiciones experimentales de los bioensayos se resumen en la tabla 3.



Tabla 3. Condiciones experimentales de los bioensayos.

Parámetro	Condición
<i>Especie evaluada</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i>
<i>Fuente de larvas</i>	Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), UMSNH
<i>Número total de larvas</i>	43
<i>Distribución en grupos</i>	T1–T4 y un grupo de control (10 larvas en T1–T3 y grupo de control, 8 larvas en T4)
<i>Formulaciones aplicadas</i>	T1: 0.3606 g HDL + 0.2003 g Bt en 12.5 mL T2: 0.4602 g Bt + 0.1349 g HDL en 25 mL T3: derivada de solución madre en 25 mL T4: exceso de HDL 0.2505 gr Bt + 0.550 g de HDL en 12.5 mL. Grupo de control (sin soporte) 0.2003 g Bt en 12.5 mL
<i>Condiciones de incubación</i>	Temperatura ambiente (25–28 °C), luz natural difusa
<i>Tiempos de observación</i>	12 h, 42 h, 66 h, 90 h, 1 semana (168 h)
<i>VARIABLES REGISTRADAS</i>	Letargo, mortalidad, avance de instar, comportamiento



Clasificación por estadio larval	Instares 1–3 y 4–5
Reaplicación en resistentes	T1 ajustada (0.555 Bt/HDL), en instares 4–5
Datos utilizados para modelado de IA	Concentración de Bt y HDL, pH, temperatura, tiempo, eficacia (% observada)

Nota: Los resultados obtenidos de estos bioensayos se presentan y analizan en el Capítulo 4 de esta tesis.

3.5.1 Consideraciones éticas.

El diseño y la ejecución de los bioensayos se realizaron siguiendo los principios éticos para el uso responsable de organismos vivos en investigación científica. Aunque *Spodoptera frugiperda* es una especie invertebrada, se a buenas prácticas de manejo y bienestar animal, respetando las normativas institucionales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y las recomendaciones internacionales para la investigación con insectos de interés agrícola.

3.6 Actualización del modelo de predicción con base de datos experimental.

Con el objetivo de incrementar la precisión y la capacidad de generalización del modelo predictivo desarrollado en este estudio, se llevó a cabo un proceso de reentrenamiento del algoritmo Random Forest, incorporando los datos obtenidos en los bioensayos experimentales con *Spodoptera frugiperda*.

Este proceso permitió ajustar el modelo a las condiciones reales observadas en las formulaciones de Bt–HDL desarrolladas, mejorando su capacidad para predecir la eficacia del bioplaguicida bajo diferentes combinaciones de variables.



3.6.1 Proceso de reentrenamiento.

Los datos experimentales de los bioensayos obtenidos fueron organizados en un dataset estructurado que incluyó las siguientes variables:

- Bt (g/mL)
- HDL (g/mL)
- Tiempo de exposición (h)
- Eficacia (%) observada

Este dataset actualizado fue utilizado para reentrenar el modelo Random Forest previamente desarrollado (sección 3.2). El código completo utilizado para este proceso se presenta en el Anexo II. El reentrenamiento se implementó en Python, utilizando la librería scikit-learn, con validación cruzada tipo k-fold ($k = 5$) para asegurar la robustez del modelo.

El desempeño del modelo actualizado se reporta en el Capítulo 4, donde se presentan los resultados obtenidos y la comparación entre la eficacia observada y la eficacia predicha por el modelo.

3.7 Caracterización

Para confirmar la correcta síntesis de los hidróxidos dobles laminares (HDL) y la efectiva intercalación de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en la matriz, se realizaron las siguientes técnicas analíticas complementarias:

I. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM):

Permitió observar la morfología superficial del material híbrido y evaluar la distribución del Bt en la matriz laminar, así como posibles cambios en la estructura tras la intercalación.

II. Espectroscopía de Dispersión de Rayos X (EDS):

El objetivo de esta técnica fue identificar y cuantificar de manera semicuantitativa los elementos presentes en la matriz Bt-HDL, permitiendo confirmar la presencia de los



elementos característicos de los HDL (tales como Mg, Al y O), así como la incorporación de componentes asociados a *Bacillus thuringiensis*, incluyendo C y N derivados de su estructura orgánica. Esta información complementa el análisis morfológico al aportar evidencia de la composición química del material híbrido.

III. Difracción de Rayos X (XRD):

Se utilizó para identificar la estructura cristalina del material, evaluar posibles cambios en el orden laminar tras la intercalación del Bt y confirmar la formación de las fases características de los hidróxidos dobles laminares.



Capítulo 4. Resultados y discusión de resultados.

4.1 Concentraciones óptimas obtenidas con el primer modelo predictivo de IA (Random Forest).

Como se mencionó en el capítulo anterior, se utilizó el primer modelo con Random Forest (ver Sección 3.2.4) para predecir las combinaciones óptimas de concentración de *Bacillus thuringiensis* (Bt), pH, temperatura y tiempo de exposición. Este modelo permitió seleccionar, con base en las predicciones generadas, las formulaciones con mayor potencial de eficacia, evitando un procedimiento experimental arbitrario y reduciendo el desperdicio de material, además de mejorar la eficiencia en el tiempo de experimentación.

Con base en los resultados obtenidos del modelo (ver Anexo I) con un coeficiente de determinación de $R^2=0.96$, se determinaron los tratamientos experimentales que serían posteriormente evaluados en los bioensayos larvales. Estos tratamientos se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 4. Concentraciones óptimas predichas por el modelo Random Forest utilizadas como base para los tratamientos experimentales.

Tratamiento	Bt (g/L)	pH	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Eficacia estimada (%)
T1	0.2003	7.0	25	42	80
T2	0.4602	7.2	28	66	85
T3	0.5806	7.5	30	90	90
T4	0.2003	7.0	25	90	95

4.2 Resultados del proceso de síntesis HDL e incorporación del biopesticida.

Con base en las formulaciones seleccionadas por el modelo predictivo, se llevó a cabo de forma experimental el procedimiento completo para la obtención del bioplaguicida híbrido Bt-HDL. Este proceso incluyó dos etapas fundamentales: la síntesis del soporte inorgánico mediante

coprecipitación de hidróxidos dobles laminares (HDL) y la incorporación posterior de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en la matriz laminar.

Durante la primera etapa, se obtuvieron los HDL en forma de un sólido blanco de apariencia fina, como se aprecia en la Figura 15. La síntesis se realizó bajo agitación constante y atmósfera controlada, con monitoreo del pH para asegurar una formación estructural adecuada. Tras la coprecipitación, el material fue filtrado, lavado y sometido a un secado controlado. El resultado fue un sólido cristalino que posteriormente sería empleado como soporte para la incorporación del agente biológico.

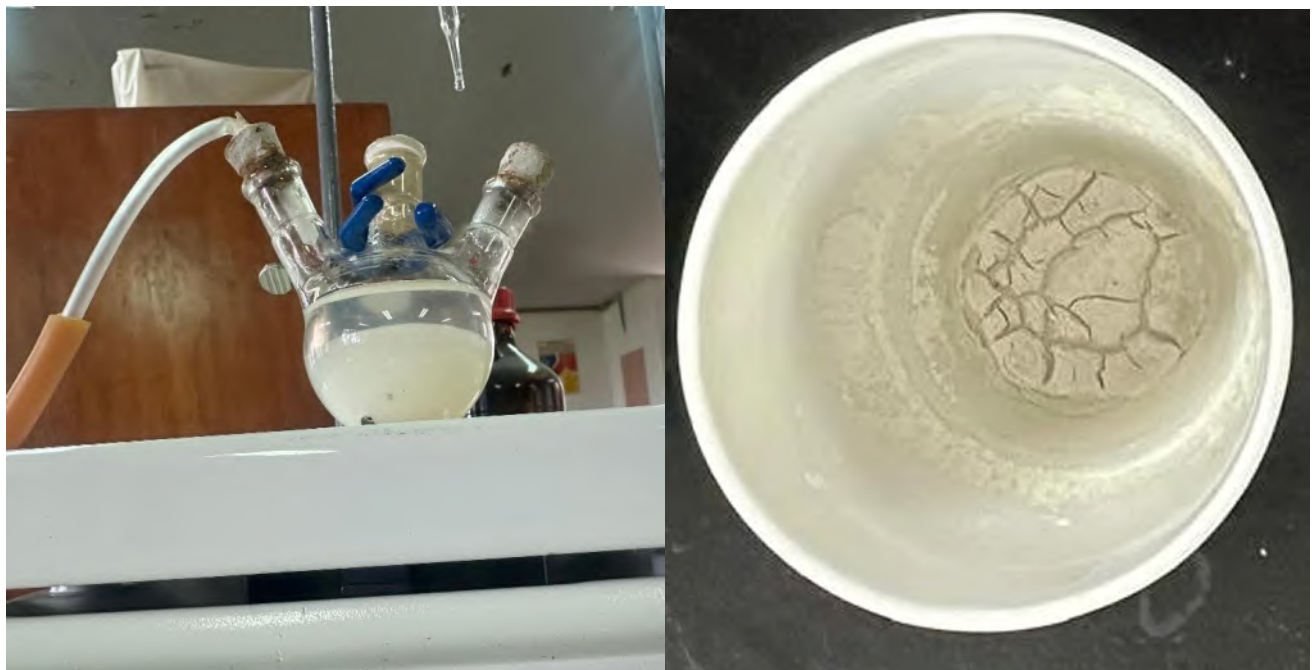


Figura 15. Proceso de síntesis y obtención del material HDL.

Izquierda: mezcla de reacción bajo agitación constante y atmósfera cerrada, durante la etapa de coprecipitación. Derecha: sólido cristalino blanco resultante tras el proceso de filtrado, lavado y secado controlado. El material obtenido presenta una textura fina y uniforme.

Una vez sintetizado el HDL, se procedió a la obtención y purificación del *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, a partir de un concentrado técnico. Este proceso incluyó una etapa de separación del sobrenadante y recuperación de cristales y esporas mediante pipeteo y filtración controlada. En la Figura 16 se presenta una secuencia visual del procedimiento experimental realizado,

desde la manipulación con pipeta hasta el filtrado usando un embudo de vidrio con papel filtro. Posteriormente, el material recolectado fue secado a temperatura ambiente (25–30 °C), una temperatura seleccionada para preservar la viabilidad biológica del Bt y evitar la desactivación de sus proteínas cristalinas. El resultado fue un polvo café, seco y homogéneo, que fue empleado como fase activa en la intercalación con HDL. Dicho aspecto final puede observarse en la misma figura.



Figura 16. Proceso experimental de separación, lavado y secado del Bt.

Secuencia visual del tratamiento previo del biocomponente biológico. Izquierda: preparación y manejo de la suspensión de Bt con pipeta. Centro: filtración mediante embudo de vidrio y papel filtro. Derecha: aspecto del Bt seco tras el proceso de secado controlado a baja temperatura.

4.3 Resultados de la intercalación y formulación del bioplaguicida Bt–HDL.

Con el Bt purificado y el HDL previamente sintetizado, se llevó a cabo la incorporación del agente biológico en la matriz inorgánica, respetando las proporciones definidas según el modelo predictivo y los criterios fisicoquímicos explicados en el Capítulo 3. La mezcla se mantuvo en agitación continua durante 18 horas.



El producto obtenido fue una suspensión líquida homogénea, de color beige claro y textura opaca. Inicialmente, no se observaron fases separadas ni grumos, pero tras algunas horas en reposo, se presentó una ligera sedimentación, atribuida al carácter coloidal del sistema y a la ausencia de estabilizantes. Esta sedimentación fue completamente reversible con una agitación suave, sin comprometer la integridad ni la aplicabilidad del bioplaguicida.

En la **Figura 17** se muestra la apariencia de la formulación tras la intercalación. Esta fue envasada directamente en frascos goteros ámbar, lo que permitió protegerla de la luz y facilitar su dosificación durante los bioensayos.



Figura 17. Aspecto de la experimentación de la formulación Bt-HDL tras la intercalación.

La mezcla mostró una apariencia opaca y homogénea, adecuada para su posterior envasado en frascos ámbar, con el fin de protegerla de la luz y facilitar su dosificación controlada durante los bioensayos larvales.

4.4. Resultados de los Bioensayos Larvales.

Este apartado presenta los resultados experimentales obtenidos al evaluar la eficacia de diferentes formulaciones del biopesticida híbrido *Bacillus thuringiensis*/Hidróxidos Dobles Laminares (Bt-HDL) sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*. Se analizaron los tratamientos T1–T4, considerando mortalidad acumulada, distribución por instar, efecto fisiológico, necesidad



de reaplicación y comparación con un grupo control técnico de Bt puro experimental y datos de literatura.

Para ello, se dividieron 40 larvas vivas en grupos experimentales conforme a los tratamientos definidos previamente, se incluyó un grupo adicional de control técnico tratado únicamente con Bt comercial sin HDL. En la Tabla 5 se muestra la organización general de los grupos utilizados durante los bioensayos, así como las condiciones de observación y el número de individuos evaluados en cada caso.

Tabla 5. Resumen de tratamientos aplicados en los bioensayos.

Tratamiento	Descripción	Bt (g)	HDL (g)	Volumen (ml)	Larvas evaluadas	Tiempo total de observación
<i>T1</i>	Solución madre optimizada	0.2003	0.3606	12.5	10	168 hrs.
<i>T2</i>	Formulación intermedia	0.4602	0.1349	25	10	168 hrs.
<i>T3</i>	Formulación baja derivada	0.3606	0.2003	25	10	168 hrs.
<i>T4</i>	Exceso de HDL	0.2003	0.9509	12.5	8	169 hrs.



<i>Reaplicación</i>	T1 ajustado (Bt/HDL = 0.555)	0.2003	0.3606	12.5	Sobrevivientes	48 hrs post-reaplicación
<i>Control</i>	Bt técnico sin HDL (2000 ppm aprox.)	0.2003	0	12.5	5	168 hrs.



Figura 18. Organización experimental inicial de los tratamientos y condición de las larvas de *Spodoptera frugiperda*.

4.4.1 Evolución temporal de la mortalidad larval.

Los resultados obtenidos de la evolución del efecto biológico del bioplaguicida Bt-HDL sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* fueron monitoreados durante 168 horas. Este seguimiento permitió observar el ritmo con el que las distintas formulaciones afectaron a los organismos, así como identificar los momentos clave en los que ocurrieron muertes, letargo o la necesidad de una reaplicación.

La tabla 6 muestra el número acumulado de larvas muertas a lo largo del tiempo para cada tratamiento. Los datos fueron obtenidos directamente durante los bioensayos.



Tabla 6. Mortalidad acumulada de larvas de *Spodoptera frugiperda* durante el bioensayo experimental.

Tiempo (horas)	Grupo de tratamiento	Larvas Totales	Muertes de larva
12	Control	5	0
42	Control	5	2
66	Control	5	3
90	Control	5	4
168	Control	5	5
12	T1	10	0
42	T1	10	3
66	T1	10	6
90	T1	10	8
168	T1	10	10
12	T2	10	0
42	T2	10	3
66	T2	10	5
90	T2	10	6
168	T2	10	10
12	T3	10	0



42	T3	10	2
66	T3	10	3
90	T3	10	4
168	T3	10	8
12	T4	8	0
42	T4	8	2
66	T4	8	4
90	T4	8	4
168	T4	8	6

La Figura 19 muestra la evolución de estos datos en una gráfica de líneas, donde puede observarse el ritmo y la intensidad del efecto insecticida en cada caso. Con el gráfico pudimos analizar la evolución de la mortalidad acumulada en larvas de *Spodoptera frugiperda* durante un periodo de 168 horas, comparando cinco grupos experimentales: cuatro tratamientos (T1 a T4) con diferentes formulaciones y concentraciones del material híbrido de *Bacillus thuringiensis* (Bt) con HDL y un grupo control con Bt puro.

Se observó una clara diferenciación en la respuesta larval dependiendo del tratamiento recibido. Así como una diferenciación clara en la respuesta larval según la formulación administrada. El tratamiento T1 (correspondiente a la concentración óptima predicha por el modelo Random Forest) mostró una curva ascendente definida, alcanzando el 100 % de mortalidad antes de la semana sin necesidad de reaplicación. Este comportamiento confirma su eficacia y coincide con la predicción teórica.

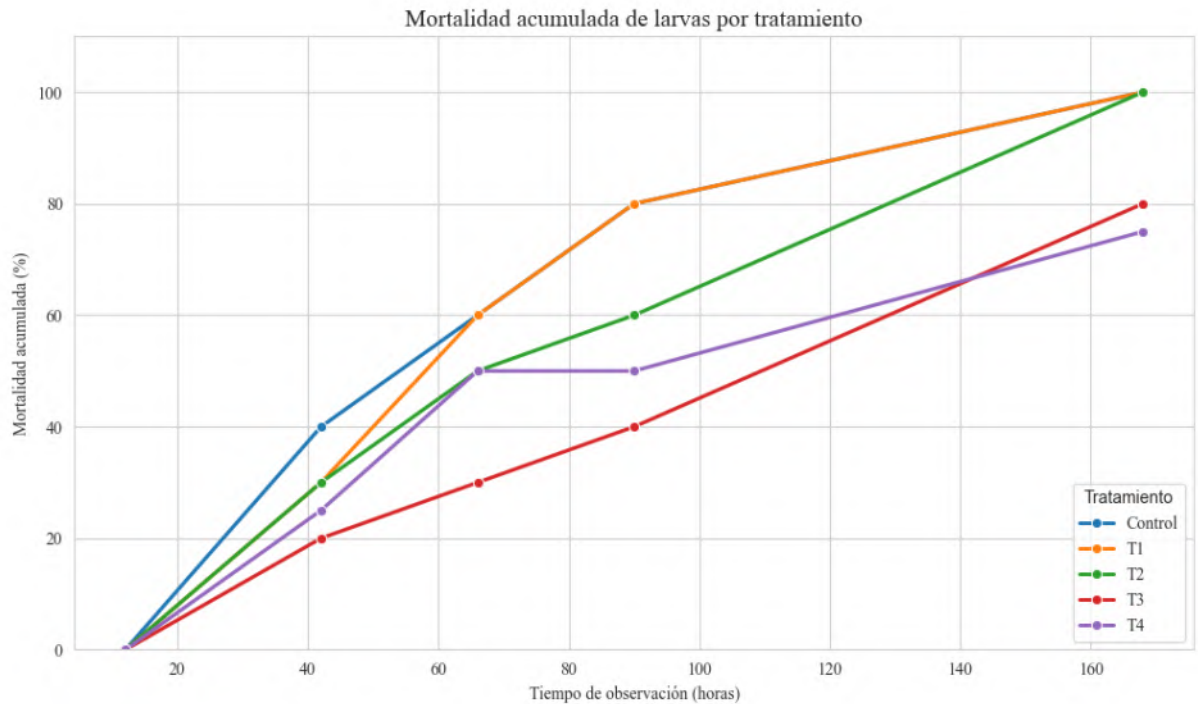


Figura 19. Mortalidad acumulada de *Spodoptera frugiperda* por grupo de tratamiento a lo largo del tiempo.

T2, que utilizó una concentración intermedia, presentó un comportamiento similar al inicio, pero mostró una meseta entre las 66 y 90 horas. Este estancamiento fue observado durante los ensayos y motivó una re replicación puntual, lo cual permitió alcanzar finalmente una mortalidad total al término del experimento. La intervención destaca la importancia de ajustar la estrategia según el comportamiento larval observado en campo.

En contraste, T3 y T4 manifestaron trayectorias más lentas y menos efectivas. Aunque ambos tratamientos causaron letargo inicial, sus curvas de mortalidad se estabilizaron sin alcanzar el 100 %. En el caso de T4 que corresponde a la formulación con exceso de HDL, la mortalidad acumulada no superó el 75 %, lo que sugiere que una sobresaturación del soporte puede interferir con la liberación eficiente del Bt, reduciendo su acción especialmente en instares avanzados.

El grupo control evolucionó de forma más gradual, alcanzando el 100 % de mortalidad solo al final del periodo experimental. Esta progresión confirma que la acción larvicida en los



tratamientos experimentales se debió al efecto del Bt soportado y no a condiciones ambientales o factores externos.

La inclusión de una línea punteada vertical en la figura, ubicada a las 90 horas, indica el momento de reaplicación en T2 y T3. Esta referencia visual resulta clave para comprender el cambio en la pendiente de las curvas y resalta cómo el tiempo de acción y la etapa larval influyen directamente en la eficacia de cada formulación.

En conjunto, esta figura valida empíricamente las predicciones del modelo de inteligencia artificial, al demostrar que la concentración óptima sugerida (T1) logró el efecto biológico más favorable en condiciones reales. Además, evidencia la importancia de considerar tanto la composición como la oportunidad de aplicación, consolidando el valor del enfoque integrado propuesto en el presente trabajo.

4.4.2 Registro de análisis de comportamiento fisiológico Larval.

Además de los registros de muerte, se llevó un seguimiento puntual de los signos fisiológicos. En la **Tabla 7**, se documentan los eventos de letargo, número de muertes de acuerdo con su instar correspondiente a cada tratamiento, lo que permite entender con mayor precisión el comportamiento progresivo del bioplaguicida.

Tabla 7. Registro de comportamiento fisiológico y progresión de la mortalidad larval en *Spodoptera frugiperda*.

Tiempo de Observación	T1 (Solución OPTIMA)	T2 (Intermedia)	T3 (Baja)	T4 (Exceso de HDL)
12 hrs	Letargo muy marcado	Letargo moderado	Letargo leve	Letargo leve
42 hrs	3 muertes (instares 1-3)	3 muertes (instares 1-3)	2 muertes (instares 1-3)	2 muertes



66 hrs	+3 muertes (instares 1-3)	+2 muertes (instares 1-3)	+1 muerte (instares 1-3)	+2 muertes
90 hrs	+2 muertes; (4-5)	+2 muertes (2 sobrevivientes de instares 4-5)	+1 muerte (Instares 4-5)	2 sobrevivientes (Instares 4-5)
1 semana (168 hrs)	Mortalidad total (10/10)	10/10 muertes	8/10 muertes	6/8 muertes
Reaplicación	No necesaria	Aplicación con T1: 100% eficacia	Aplicación con T1: 100% eficacia	No se reaplicó

Con los datos de la tabla anterior se realizó la Figura 20 que representa un mapa de calor cualitativo donde se muestra en cada celda su la intensidad del efecto en forma de color: desde el letargo leve hasta la mortalidad total, permitiendo así un análisis visual de la progresión larval frente a las distintas formulaciones del bioplaguicida. Desde las primeras horas, es evidente que el tratamiento T1 produjo un letargo muy marcado, incluso antes de las primeras 42 horas. Este efecto precoz fue exclusivo de T1, ya que el resto de los tratamientos mostraron solo signos leves o moderados de alteración conductual inicial. Para T2, el letargo fue perceptible pero menos intenso, mientras que en T3 y T4 fue claramente más débil, lo que sugiere una menor velocidad de liberación del principio activo. A partir de las 42 horas, comienzan a registrarse muertes en todos los tratamientos, especialmente en instares 1 a 3. El hecho de que las muertes ocurran inicialmente en estos estadios concuerda con la mayor susceptibilidad biológica de los primeros instares al Bt, como se ha reportado en estudios previos. Entre las 66 y 90 horas, la progresión de la mortalidad se vuelve más diferenciada: T1 continúa con eficacia creciente sin interrupciones, mientras que T2 y T3 muestran una estabilización. Esta pausa coincide con el



cambio de instares (de 3 a 4–5), reflejando una resistencia parcial propia del desarrollo larval avanzado.

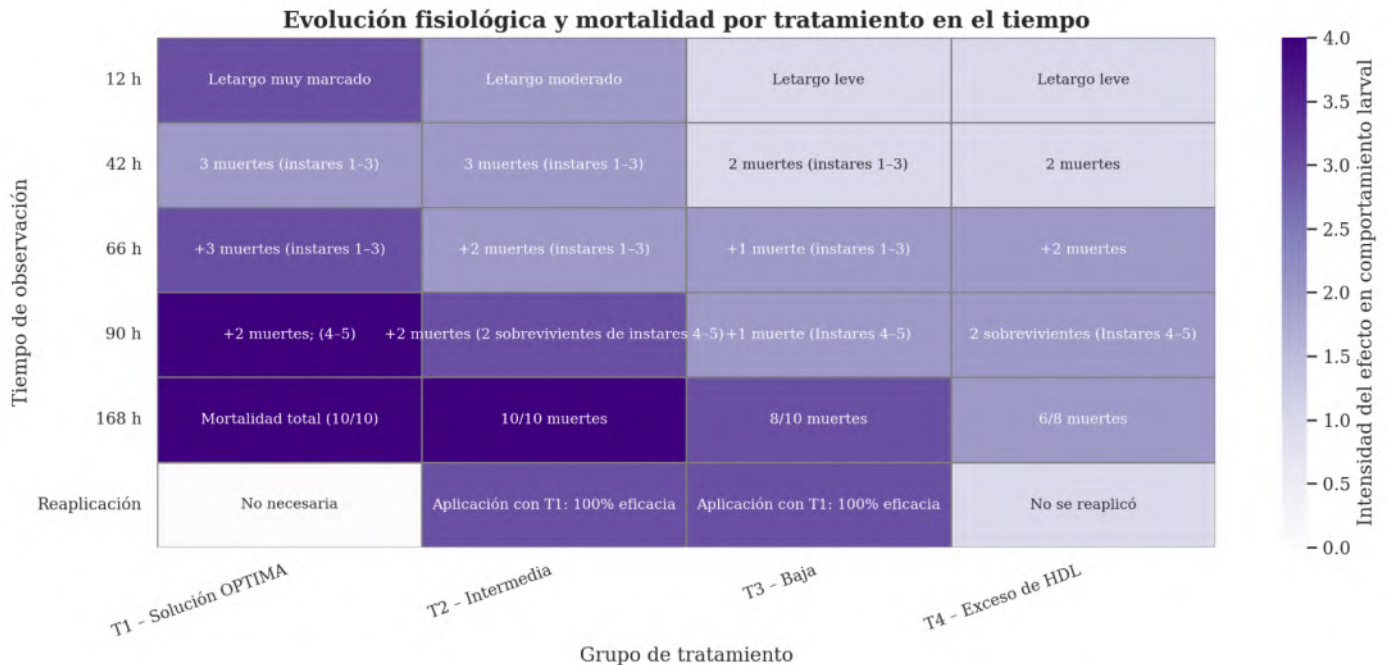


Figura 20. Mapa de calor del efecto larvicida y evolución fisiológica en función del tratamiento y tiempo.

Este mapa de calor también permite identificar de forma intuitiva cómo el avance en el estadio larval (de instares 1–3 a 4–5) representa una barrera para la acción rápida del bioplaguicida, especialmente en dosis subóptimas. La progresión de colores en los tratamientos T2 y T3 ilustra claramente esa resistencia parcial y cómo puede ser compensada con intervenciones estratégicas como la reaplicación.



4.4.2.1 Análisis bioensayos tiempo vs instar vs mortalidad.

Después de analizar el avance temporal y los efectos visibles del bioplaguicida en los ensayos, esta sección presenta una visualización tridimensional que integra tres dimensiones clave: el tiempo de exposición, el estadio larval y la mortalidad acumulada. Esta representación permite comprender de manera más profunda cómo evoluciona la respuesta biológica en función del tratamiento aplicado.

En la Figura 21 se muestra esta gráfica 3D construida con los datos experimentales reales. Los tratamientos T1 y T2 destacan por mostrar trayectorias ascendentes bien definidas, reflejando una respuesta temprana y progresiva, especialmente en los primeros instares larvales (1–3). T1 alcanzó el 100 % de mortalidad antes de las 168 horas sin necesidad de reaplicación, lo que reafirma su eficacia. En cambio, T2 presentó una meseta entre las 66 y 90 horas, justo cuando las larvas avanzaban a los instares 4 y 5, típicamente más resistentes. Posterior a la reaplicación, la curva volvió a incrementarse, evidenciando el efecto positivo de dicha intervención.

En contraste, los tratamientos T3 y T4 evidenciaron una mortalidad más contenida, especialmente a medida que las larvas alcanzaron estadios avanzados. En T4, la eficacia fue particularmente baja al cierre del experimento, lo cual respalda la hipótesis de que un exceso de soporte HDL podría interferir en la liberación adecuada del Bt, reduciendo su acción en momentos críticos del desarrollo larval.

Como era previsible, la curva del grupo control mostró una progresión lenta y estable, sin saltos abruptos. Este comportamiento valida que los efectos observados en los tratamientos sí pueden atribuirse directamente al bioplaguicida y no a factores externos.

La gráfica 3D permite visualizar con claridad la distancia entre los instares tempranos y tardíos, además de cómo varía la eficacia según el momento biológico. El eje continuo de instar larval pone en evidencia que, conforme las larvas maduran, se requiere no solo mayor concentración



activa, sino también una formulación adecuada y un momento de aplicación estratégico para lograr efectos eficaces.

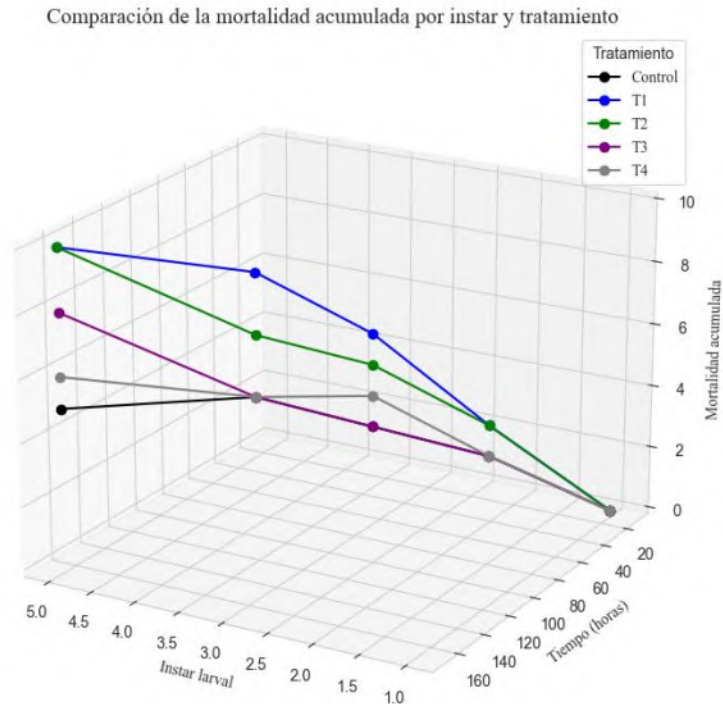


Figura 21. Comparación tridimensional de mortalidad acumulada según el tiempo y el estadio larval.

Las trayectorias de los tratamientos no siguen un patrón uniforme. Cada línea refleja una dinámica propia, determinada tanto por la composición de la formulación como por la etapa fisiológica de la plaga. Esta visualización confirma la importancia de diseñar estrategias de control específicas, que consideren el estado biológico del objetivo y no únicamente el producto aplicado.

En conclusión, la mortalidad acumulada no depende exclusivamente de la dosis, sino de la interacción entre formulación, desarrollo larval y tiempo de exposición. Esta figura aporta evidencia visual clara de la complejidad biológica del control de plagas y resalta la necesidad de enfoques integrales en el diseño de bioformulaciones.



4.4.3 Distribución de Mortalidad por Instar.

La distribución de la mortalidad acumulada según el estadio de desarrollo larval permitió identificar diferencias claras en la susceptibilidad frente al bioplaguicida. Tal como se resume en la tabla 8, los tres tratamientos principales (T1, T2 y T3) provocaron una muerte acelerada y prácticamente total en los instares 1 a 3, donde se observó un colapso fisiológico entre las 42 y 66 horas post-aplicación.

Tabla 8. Mortalidad acumulada por instar y tratamiento.

<i>Instar</i>	T1–Solución Madre	T2 – Intermedia	T3 – Baja
<i>Instares 1–3</i>	100 % (42–66 h)	100 % (42–66 h)	100 % (42–66 h)
<i>Instares 4–5</i>	2 sobrevivientes (90 hrs.)	5 sobrevivientes (sin reaplicación) (66 hrs.)	4 sobrevivientes (90 hrs.)
<i>Instares 4–5</i>	0 sobrevivientes (168 hrs.)	0 sobrevivientes, pero con reaplicación (168 hrs.)	2 sobrevivientes, pero con reaplicación (168 hrs.)

Estos resultados sugieren una fuerte acción del bioplaguicida en los estadios tempranos, lo cual se relaciona con características fisiológicas propias de los primeros instares: cutícula más delgada, menor masa corporal, alta permeabilidad intestinal y menores reservas metabólicas.

En la Figura 22 se observa evidencia visual de larvas fallecidas en instares 1 a 3. Estas presentaban una coloración oscura, cuerpo rígido, ligera curvatura y pérdida de masa, lo que concuerda con los signos clásicos de intoxicación larval por Bt.

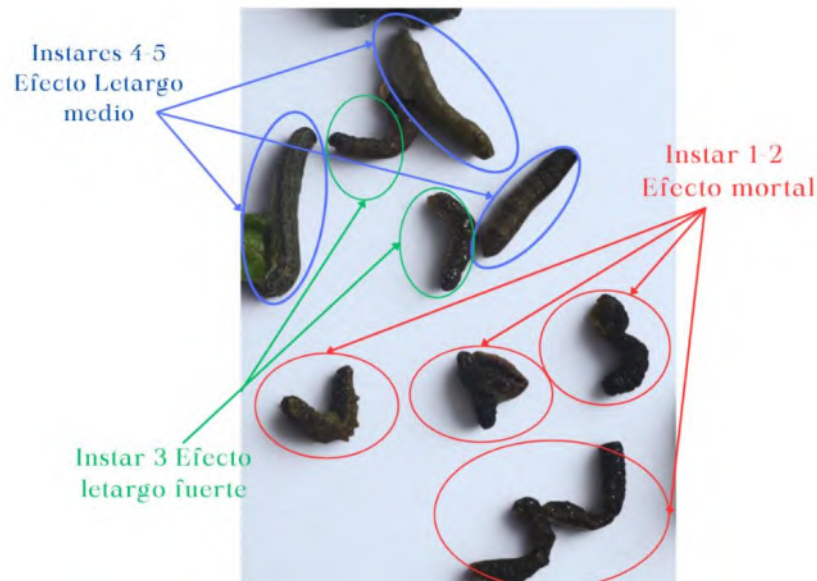


Figura 22. Evidencia visual de los efectos fisiológicos del bioplaguicida Bt-HDL según estadio larval.

En la fotografía se observan larvas de *Spodoptera frugiperda* en distintos estadios larvales. En rojo se destacan individuos en instares 1–2 con mortalidad temprana; en verde, larvas en instar 3 con signos de letargo marcado; y en azul, larvas en instares 4–5 aún vivas, pero con movilidad reducida. La imagen fue editada para resaltar visualmente los efectos diferenciados según el desarrollo larval.

4.4.3.1 Análisis relación de la mortalidad debido al Instar.

Las diferencias observadas en la eficacia del bioplaguicida según el estadio larval pueden explicarse a partir de características fisiológicas propias del desarrollo de *Spodoptera frugiperda*. Las larvas en instares 1 a 3 presentaron una mortalidad rápida, atribuible a su menor masa corporal, cutícula más delgada y mayor permeabilidad intestinal. Esta condición favorece la acción directa de las toxinas del *Bacillus thuringiensis*, que actúan principalmente en el sistema digestivo.

En cambio, las larvas en instares 4 y 5 demostraron mayor resistencia inicial, probablemente asociada a un sistema inmune más desarrollado y una barrera cuticular más eficaz.

En la Figura 23 se muestra una larva con contenido intestinal exudado, secreción amarillenta y coloración anormal, acompañado de secreciones externas. Estos signos son indicativos de una degradación digestiva asociada a la acción del bioplaguicida.



Figura 24. Evidencia visual de daño digestivo en larva de *Spodoptera frugiperda* tras exposición al bioplaguicida Bt-HDL.



Figura 23. Comparación visual entre larvas de instares 3 y 4-5 tras exposición al bioplaguicida Bt-HDL.

En la figura 24 se observó el contraste fisiológico entre larvas afectadas en distintos estadios. A la derecha, individuos en instar 3 con signos evidentes de degradación intestinal, incluyendo curvatura, rigidez y pérdida de integridad tisular. A la izquierda, larvas en instares 4-5 con



tamaño más robusto y aparente resistencia al daño, aunque con signos leves de letargo. Esta comparación visual refuerza el efecto diferenciado del bioplaguicida según la etapa de desarrollo larval.

4.4.4 Análisis preliminar cuantitativo de la eficiencia relativa de los tratamientos.

Con el fin de evaluar comparativa y cualitativamente la eficiencia de los tratamientos híbridos Bt-HDL aplicados durante los bioensayos larvales, se diseñó una métrica preliminar de eficiencia compuesta, construida con base en criterios experimentales y orientada a integrar múltiples factores que influyen de manera decisiva en la respuesta del insecto plaga.

Esta fórmula fue desarrollada considerando que la mortalidad por sí sola no es un indicador suficiente de eficacia en condiciones reales. Por ello, se incorporaron otros elementos clave como el uso total de ingredientes activos, el tiempo requerido para alcanzar el efecto larvicida y la necesidad de reaplicación. Con estos criterios, se buscó identificar formulaciones que no solo fueran efectivas, sino también rápidas, autosuficientes y sostenibles.

La eficiencia relativa se definió conforme a la siguiente expresión:

Eficiencia Relativa

$$= \left(\frac{\text{Larvas muertas}}{\text{Larvas totales}} \right) * \left(\frac{U_{\text{mínima}}}{\text{Bt} \left(\frac{g}{L} \right) + \text{HDL} \left(\frac{g}{L} \right)} \right) * \left(\frac{T_{\text{mínimo}}}{\text{Tiempo}_{\text{horas}}} \right) * \left(\frac{1}{1 + R} \right)$$

Donde:

- *Larvas muertas/Larvas totales: proporción de mortalidad observada.*
- *Bt (g/L): concentración del ingrediente activo.*
- *HDL (g/L): concentración del soporte.*
- *U_{mínimo}: Uso mínimo total de ingredientes activos observado entre los tratamientos. (g/L)*
- *T_{mínimo}: tiempo mínimo de acción registrados entre los tratamientos evaluados (horas).*



- T_{tiempo} (horas) : tiempo total de evaluación del tratamiento.
- R : indicador de reaplicación (0 = no hubo, 1 = sí hubo).

Esta expresión penaliza formulaciones que requieran más tiempo, reaplicación o altas concentraciones, priorizando aquellas que resultan eficaces, rápidas y autosuficientes.

Los resultados de eficiencia relativa obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 9. Cálculo de eficiencia relativa compuesta para los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Larvas muertas	Larvas totales	Bt (g/L)	HDL (g/L)	Tiempo (h)	Reaplicación	Eficiencia compuesta
<i>T1</i>	10	10	16.02	28.85	90	No (0)	0.298805491
<i>T2</i>	10	10	18.40	5.39	168	Si (1)	0.150875003
<i>T3</i>	8	10	8.01	14.424	168	Sí (1)	0.128059496
<i>T4</i>	5	8	20.04	44.07	169	No (0)	0.069608215

El gráfico generado (ver Figura 25) evidencia que el tratamiento T1 alcanzó la mayor eficiencia compuesta, gracias a su alta mortalidad, menor tiempo de acción y ausencia de reaplicación. Este resultado resalta la importancia de formular de manera equilibrada, evitando excesos en la concentración de componentes sin sacrificar eficacia.

En contraste, el tratamiento T4 mostró la menor eficiencia, a pesar de contener una mayor cantidad de Bt. Esto podría indicar que una dosis elevada no garantiza mejores resultados, especialmente si la proporción con el soporte no es adecuada. De hecho, es posible que el exceso de HDL haya dificultado la liberación oportuna del ingrediente activo.

Este análisis permite entender que la eficiencia de un bioplaguicida no depende únicamente de cuánto mortalidad alcanza, sino de cómo, cuándo y con qué equilibrio lo hace. Reflexionar sobre

ello resulta esencial, ya que, en condiciones reales, una formulación eficaz debe actuar con rapidez, sin depender de reaplicaciones y con un uso racional de recursos.

Estos hallazgos fundamentan el desarrollo posterior de un modelo predictivo orientado a identificar combinaciones más efectivas, sostenibles y aplicables en campo.

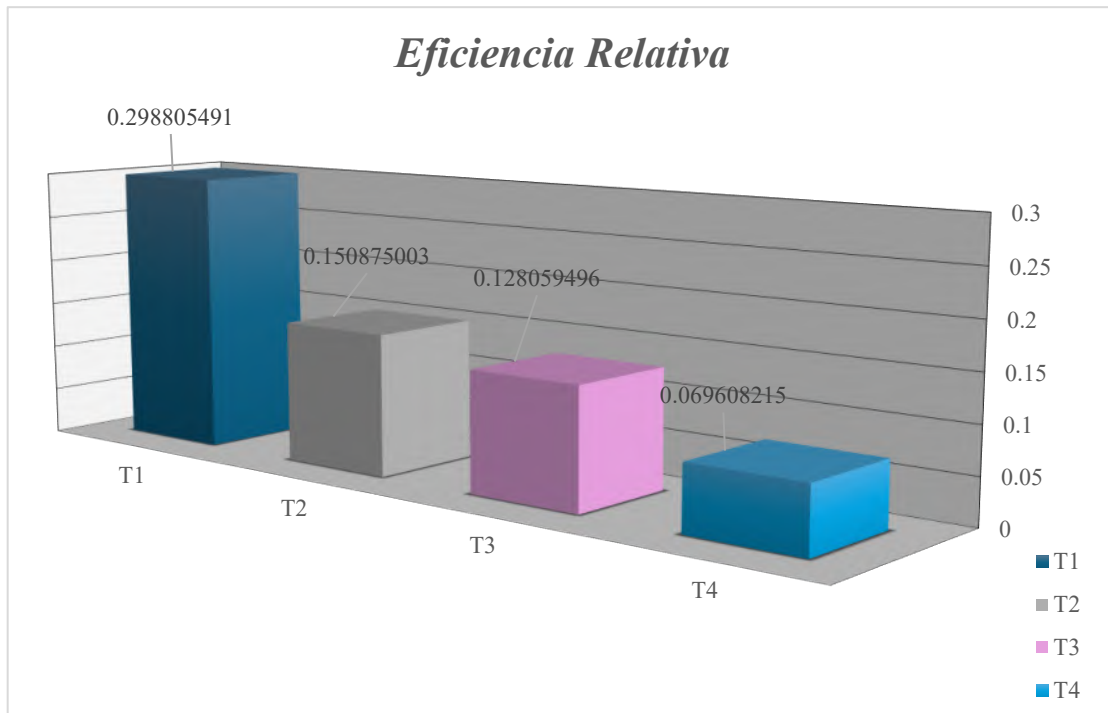


Figura 25. Gráfica comparativa de eficiencias relativas del material híbrido.

4.5 Resultados del modelo de inteligencia artificial entrenado con base de datos experimentales.

Con base en los resultados obtenidos en los bioensayos larvales previamente descritos en el apartado 4.4, se construyó una base de datos experimental que sirvió como insumo para el entrenamiento de un modelo de predicción. Esta base incluyó exclusivamente tratamientos formulados con *Bacillus thuringiensis* (Bt) soportado en hidróxidos doble laminares (HDL), excluyendo al grupo Control, debido a que sus resultados no correspondían a una formulación híbrida optimizada y presentan un comportamiento distinto que puede provocar sesgos al modelo.



Se consideraron como variables de entrada los factores que influyen directamente en la eficiencia observada del bioplaguicida:

- Concentración de Bt (g/L)
- Concentración de HDL (g/L)
- Tiempo de acción total (horas)
- Indicador binario de reaplicación (0 = no hubo; 1 = sí hubo)
- Proporción de mortalidad larval.

Estas variables fueron organizadas en una matriz que sintetiza los tratamientos más relevantes aplicados en los ensayos. La eficiencia relativa calculada anteriormente fue utilizada como variable de salida. A continuación, se presenta la tabla con los datos empleados para entrenar el modelo:

Tabla 10. Matriz de base de datos del modelo

<i>Tratamiento</i>	<i>Bt_g_L</i>	<i>HDL_g_L</i>	<i>Tiempo_h</i>	<i>Reaplicación</i>	<i>Larvas_muertas</i>	<i>Larvas_totales</i>
<i>T1</i>	16.024	28.848	168	0	10	10
<i>T1_90hr</i>	16.024	28.848	90	0	8	10
<i>T2</i>	18.408	5.396	168	1	10	10
<i>T3</i>	8.012	14.424	168	1	8	10
<i>T4</i>	20.04	44.072	169	0	6	8
<i>T1_66h</i>	16.024	28.848	66	0	6	10
<i>T1_42h</i>	16.024	28.848	42	0	3	10



T3_90hr	8.012	14.424	90	1	4	10
T3_66hr	8.012	14.424	66	0	3	10
T3_42hr	8.012	14.424	42	0	2	10
T2_90hr	18.408	5.396	90	1	8	10
T2_66h	18.408	5.396	66	0	5	10
T2_42h	18.408	5.396	42	0	3	10
T4_90h	20.04	44.072	90	0	4	8
T4_66h	20.04	44.072	66	0	4	8
T4_42h	20.04	44.072	42	0	2	8

4.5.1 Reentrenamiento del modelo con Random Forest

Una vez estructurada y validada la matriz de datos experimentales, se procedió al reentrenamiento del modelo predictivo empleando el algoritmo Random Forest con 100 árboles de decisión. Las variables de entrada consideradas fueron las concentraciones de Bt y HDL, el tiempo de acción (en horas) y la necesidad o no de reaplicación. El modelo fue entrenado para predecir la eficiencia compuesta como variable objetivo, previamente definida a partir de parámetros agronómicamente relevantes. El desempeño alcanzado fue sobresaliente: se obtuvo un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.9403$, lo que indica que el modelo explica aproximadamente el 94.03% de la variabilidad total en los datos. En términos absolutos, el error cuadrático medio (MSE) de 0.000096, reflejando un nivel de error muy bajo en la escala de eficiencia compuesta. Este alto grado de ajuste respalda la capacidad del modelo para aprender de manera precisa los patrones presentes en los datos sin incurrir en sobreajuste.

En la Tabla 11 se comparan los valores observados y predichos por el modelo. Las diferencias son mínimas y en muchos casos, apenas perceptibles, lo cual evidencia que el modelo logra



replicar fielmente el comportamiento de los tratamientos evaluados. Este nivel de precisión resulta especialmente valioso en contextos donde pequeñas variaciones en la formulación pueden representar diferencias significativas en el desempeño agronómico y económico del producto.

Tabla 11. Comparación entre eficiencia observada y eficiencia predicha por el modelo reentrenado.

Tratamiento	Eficiencia_Compuesta	Eficiencia_Predicha	Diferencia
T2_66h	0.179221	0.166772	0.012449
T2_42h	0.168980	0.162805	0.006175
T3_42hr	0.119522	0.112721	0.006801
T1_66h	0.114089	0.106797	0.007293
T3_66hr	0.114089	0.113817	0.000272
T2_90hr	0.111554	0.095920	0.015634
T2_90hr	0.105143	0.108450	0.003307
T1_42h	0.089642	0.096653	0.007011
T1	0.074701	0.077934	0.003233
T2	0.070408	0.083434	0.013025
T4_66h	0.066543	0.076444	0.009902
T3	0.059761	0.061603	0.001842
T3_90hr	0.055777	0.072943	0.017166



$T4_{42h}$	0.052284	0.069454	0.017171
$T4_{90h}$	0.048798	0.054411	0.005613
$T4$	0.038981	0.045551	0.006571

Nota: El grupo Control no fue incluido en el entrenamiento del modelo por tratarse de una formulación no soportada con HDL.

La Figura 26 complementa visualmente este análisis, mostrando la correlación entre eficiencia observada y eficiencia predicha. Los puntos se alinean muy cerca de la diagonal de identidad, lo que confirma que el modelo no solo generaliza bien, sino que también reproduce fielmente los valores experimentales. Esta gráfica es una prueba clara de que el modelo ha capturado adecuadamente la relación entre los componentes de la formulación y su eficacia.

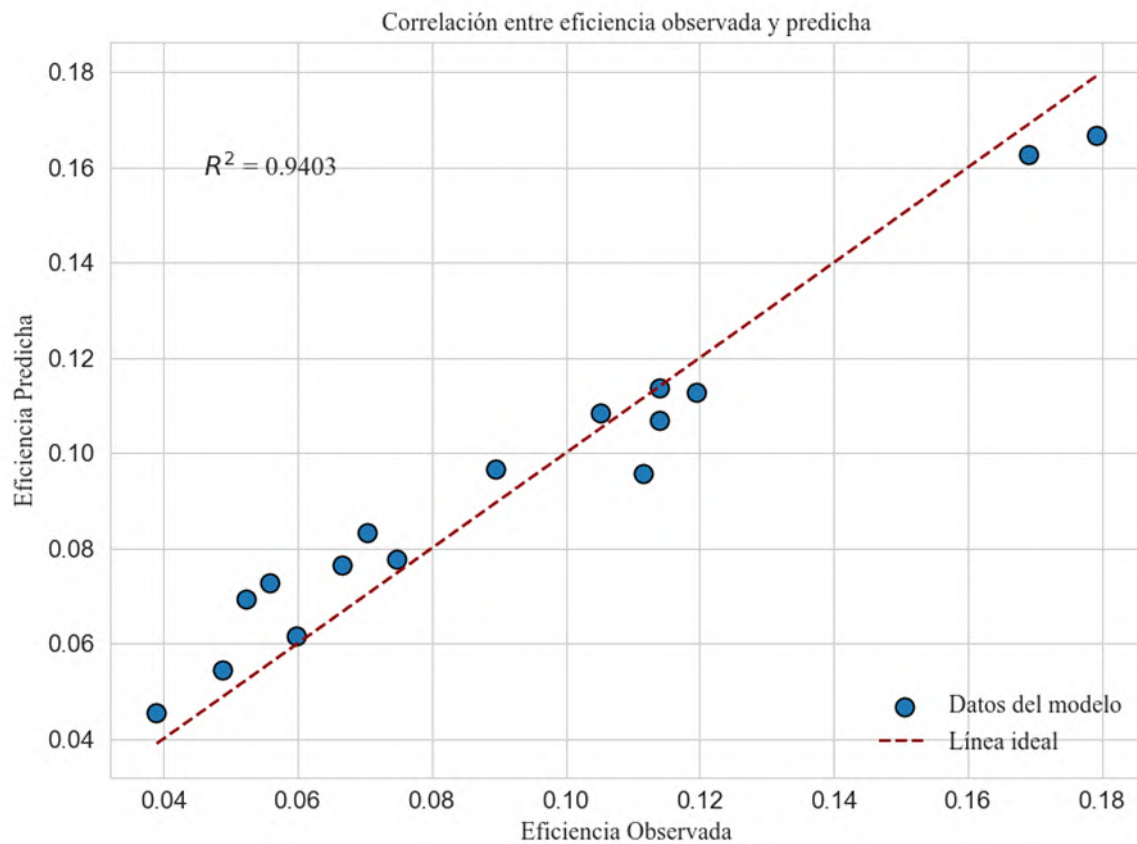


Figura 26. Correlación entre la eficiencia observada y la eficiencia predicha por el modelo Random Forest.



Además del ajuste global, se evaluó la calidad interna del modelo mediante el análisis de residuos.

La Figura 27 muestra la distribución de los errores residuales, los cuales se agrupan de forma simétrica en torno a cero y sin colas prolongadas. Este comportamiento es deseable, ya que indica que los errores son pequeños, distribuidos aleatoriamente y no sistemáticos.

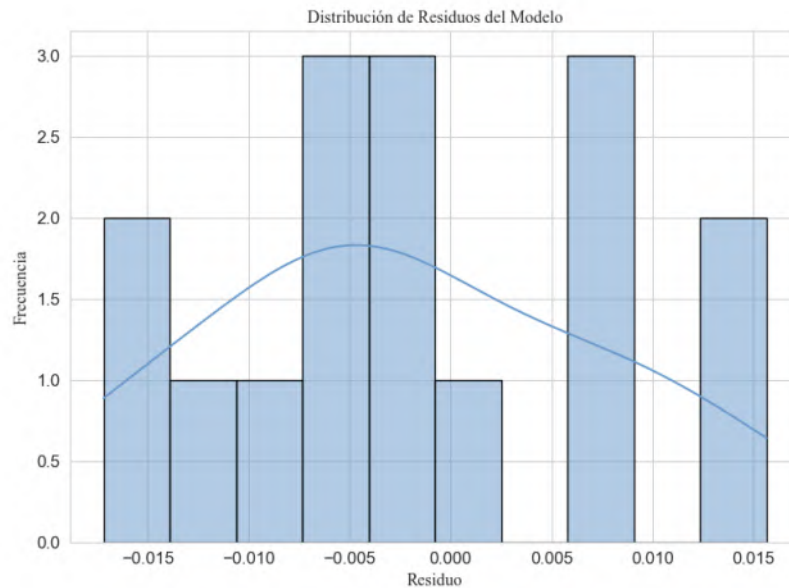


Figura 27. Diagrama de dispersión de los residuos respecto a las eficiencias predichas.

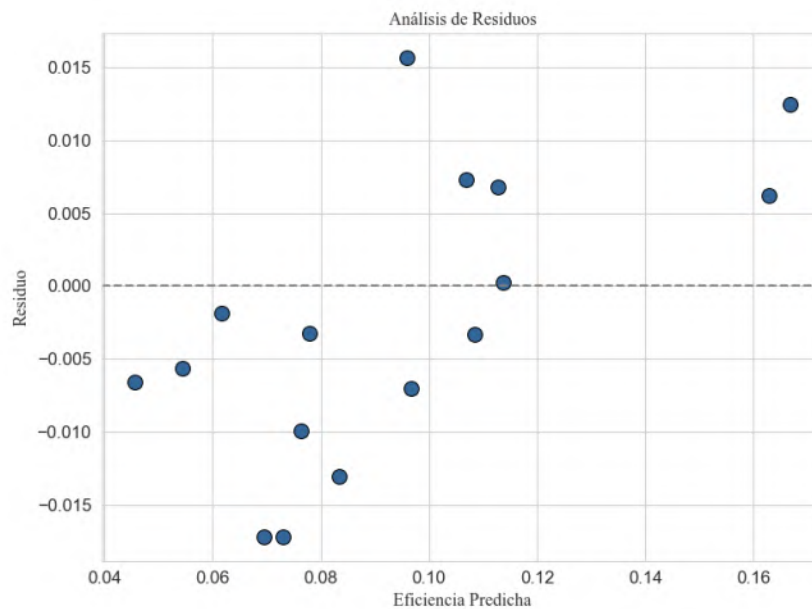


Figura 28, Distribución de residuos del modelo Random Forest.



La Figura 28 presenta la dispersión de los residuos en función de las eficiencias predichas. Los puntos se distribuyen de manera balanceada por encima y por debajo del eje horizontal, sin patrones visibles ni agrupamientos anómalos. Esto sugiere que el modelo mantiene un desempeño coherente a lo largo de todo el rango de eficiencia evaluado. Ambos gráficos fueron generados automáticamente desde el script en Python (ver Anexo II), estos constituyen evidencia estadística y visual del buen desempeño del modelo.

4.5.2 Evaluación de combinaciones óptimas mediante predicción inversa.

Con base en el modelo Random Forest previamente entrenado y validado con datos experimentales reales, el cual alcanzó una precisión del 94.03 % ($R^2 = 0.9403$), se llevó a cabo una predicción inversa fundamentada en los datos predictivos confiables del modelo. Esta estrategia consistió en generar 5,000 combinaciones teóricas de concentración de Bt, concentración de HDL, tiempo de acción y condición de reapiación, dentro de los rangos experimentales previamente establecidos. El objetivo fue identificar nuevas formulaciones con potencial de alta eficiencia compuesta, proyectadas bajo los patrones aprendidos por el modelo.

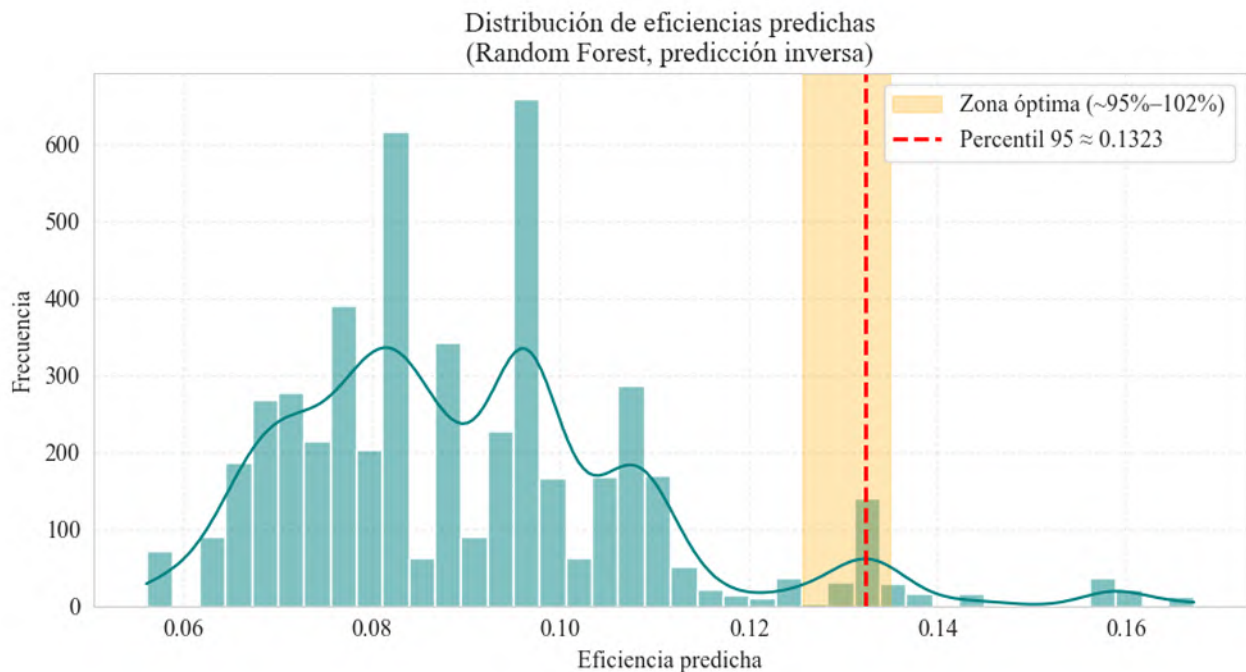


Figura 29. Distribución de eficiencias predichas mediante análisis inverso con Random Forest.



Esta predicción no fue aleatoria, sino orientada por las tendencias que el modelo reconoció como más favorables a partir de la base de datos experimental. Gracias a ello, se lograron estimaciones confiables que priorizan formulaciones rápidas, eficaces y sin reaplicación, con dosis optimizadas.

En la Figura 29 se presenta la distribución de eficiencias predichas para el conjunto de combinaciones generadas.

El gráfico reveló una distribución heterogénea, donde solo una fracción menor de combinaciones alcanza los valores más altos de eficiencia. Para facilitar su interpretación, se marcó visualmente la zona óptima, comprendida entre 0.16 y 0.18 de eficiencia compuesta, la cual representa el umbral de mayor desempeño predicho. Esta banda resalta el rango con mayor potencial biológico y permite identificar fácilmente las formulaciones más prometedoras. Su escasa frecuencia dentro del conjunto simulado refuerza la especificidad del modelo al discriminar con claridad qué perfiles de formulación podrían ser más exitosos y reafirma su coherencia con los rangos eficientes identificados en los bioensayos reales.

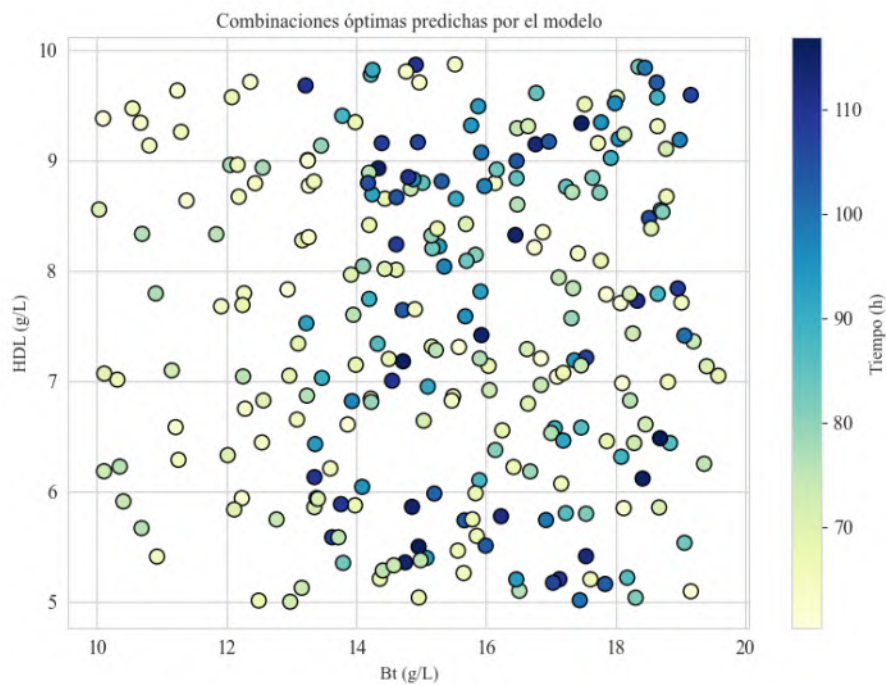


Figura 30. Combinaciones óptimas predichas por el modelo en función de la concentración de Bt y HDL.



La Figura 30 muestra las combinaciones óptimas proyectadas por el modelo, codificadas por el tiempo de acción. Se observa que los puntos de mayor eficiencia tienden a agruparse en regiones intermedias de concentración de Bt y HDL, con tiempos predominantes entre 66 y 78 horas.

En la Figura 31, se presenta una comparación visual entre todas las combinaciones generadas aleatoriamente (en gris) y las formulaciones óptimas identificadas por el modelo (en rojo), aquellas cuya eficiencia predicha fue igual o superior al percentil 95. Esta imagen permitió observar de manera clara que los puntos rojos no están distribuidos al azar: tienden a concentrarse en zonas específicas del plano Bt-HDL.

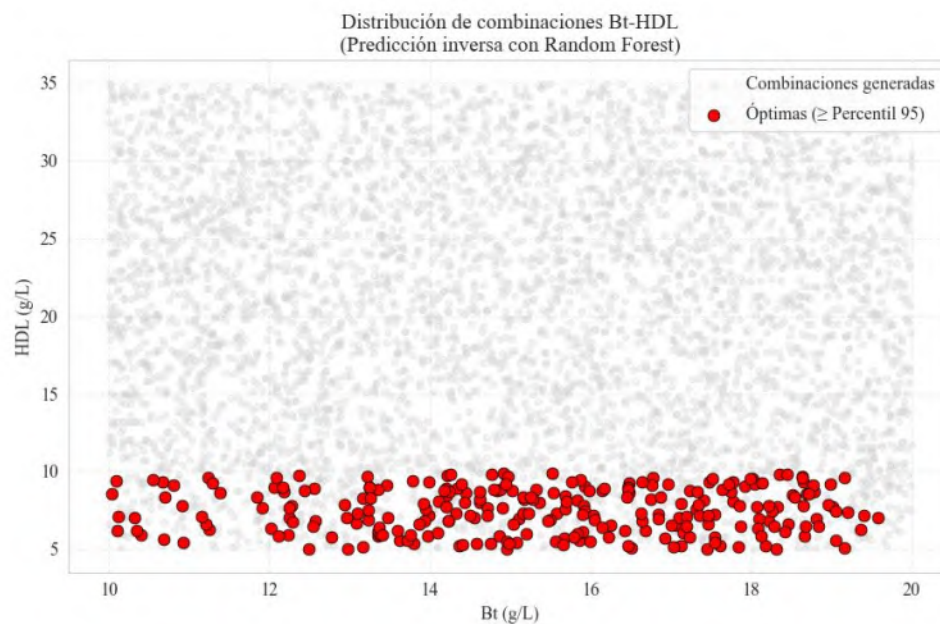


Figura 31. Predicción inversa del modelo Random Forest: Resaltando combinaciones Bt-HDL óptimas destacadas.

Lo más destacable es que las formulaciones óptimas no se ubican en los extremos del espacio de concentración, sino que se agrupan en un rango intermedio de Bt (entre ~12.5 y 17.5 g/L) y en un nivel bajo a moderado de HDL (entre aproximadamente 5 y 12 g/L). Esta concentración de puntos sugiere que el modelo no responde a un incremento lineal de los componentes, sino que aprendió una relación de equilibrio, donde no necesariamente “más es mejor”. Además, la nitidez con la que se forma esta zona óptima reafirma que el modelo es capaz de identificar regiones específicas de sinergia entre Bt y HDL, lo cual tiene gran valor práctico. Esta



visualización no solo valida la capacidad del modelo para generalizar con precisión, sino que también proporciona una guía clara para reducir la experimentación empírica en laboratorio, enfocando futuros ensayos en la región más prometedora del espacio de formulación.

La Figura 32 muestra la importancia relativa de cada variable dentro del modelo Random Forest. En este análisis se observó que la concentración de HDL fue el factor que más peso tuvo en la predicción de la eficiencia compuesta, seguido por el tiempo de acción, la concentración de Bt y finalmente la reaplicación. La prominencia de HDL sugiere que el modelo identificó su papel como un componente determinante en la eficacia de la formulación, probablemente por su capacidad de controlar la liberación del Bt en el tiempo. Esto refuerza lo observado experimentalmente: una dosis excesiva de HDL puede dificultar la liberación oportuna del principio activo, mientras que una cantidad óptima mejora la persistencia del efecto biológico sin generar saturación.

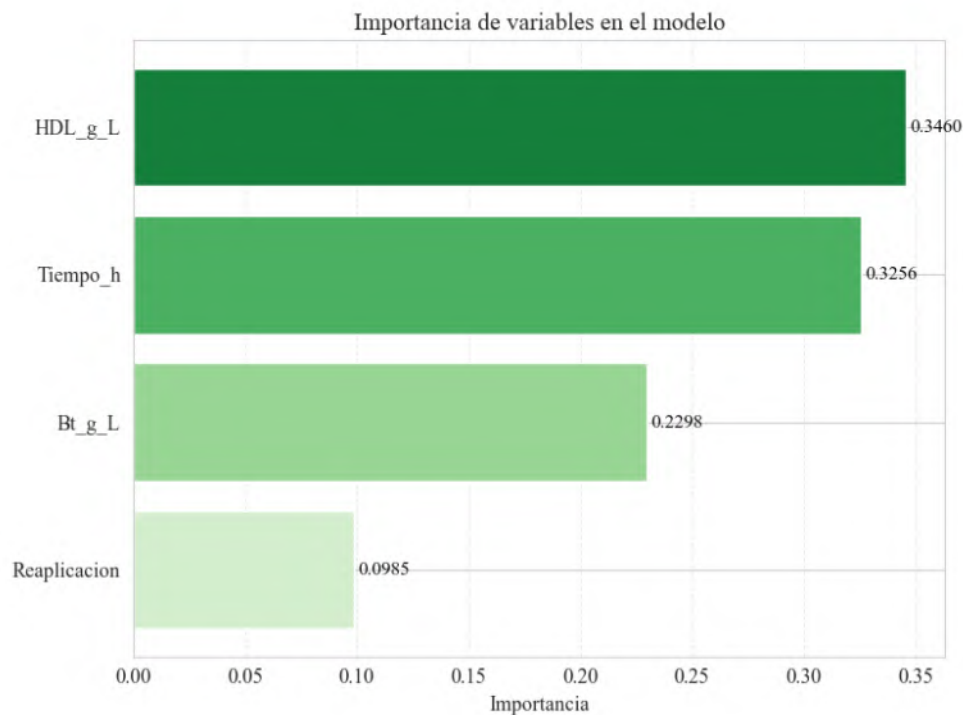


Figura 32. Importancia relativa de las variables en el modelo predictivo Random Forest.

El tiempo de acción aparece como la segunda variable más relevante, lo cual también es lógico, ya que una respuesta más rápida es deseable tanto desde el punto de vista biológico como



agronómico. Por su parte, la concentración de Bt mostró una importancia intermedia. Aunque sigue siendo un ingrediente activo clave, el modelo sugiere que aumentar su cantidad no garantiza por sí solo una mayor eficiencia ya que entre más cantidad más costos por materia prima habrá de acuerdo con el modelo empleado.

De manera complementaria, la Figura 33 muestra un mapa de correlación entre las variables incluidas en el modelo. Entre los hallazgos más relevantes, destaca la correlación negativa fuerte entre la concentración de HDL y la eficiencia compuesta ($r = -0.62$), lo cual indica que, al incrementar la cantidad de soporte, la eficiencia tiende a disminuir de manera significativa. Este resultado respalda la hipótesis de que un exceso de HDL podría generar un retardo en la liberación del Bt o una interferencia en su disponibilidad biológica. Esta observación es coherente con lo reportado en los tratamientos T3 y T4, donde la eficacia fue menor a pesar de las concentraciones elevadas de soporte.

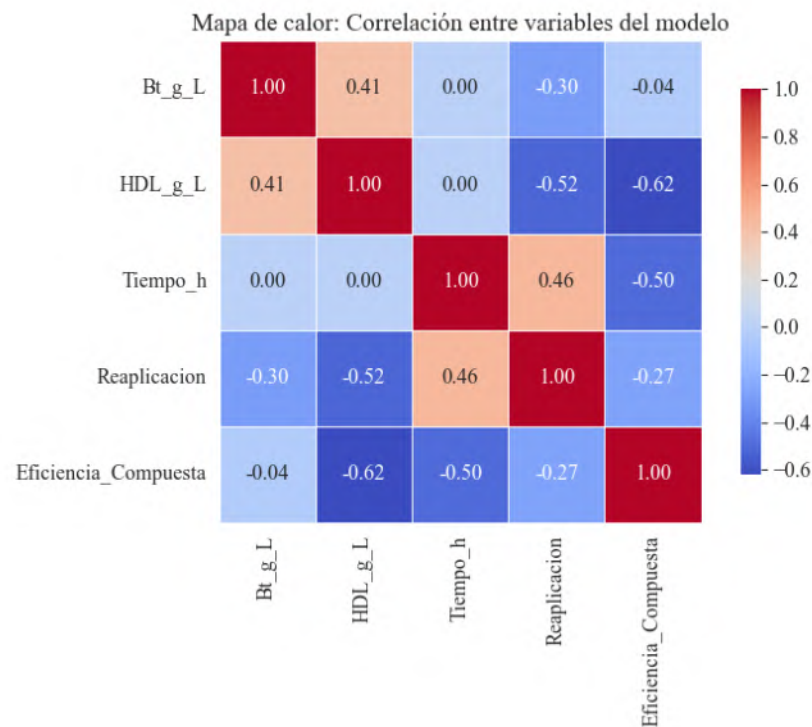


Figura 33. Mapa de calor de correlación entre variables del modelo predictivo.

Asimismo, se identificó una correlación negativa moderada entre el tiempo de acción y la eficiencia ($r = -0.50$), lo cual sugiere que las formulaciones más eficientes tienden a actuar más



rápido, tal como se había observado en los tratamientos con menor tiempo de respuesta y mayor mortalidad larval. Por último, aunque la variable de reaplicación mostró una correlación negativa más débil ($r = -0.27$), su dirección es consistente: las formulaciones que requieren ser reaplicadas suelen tener una eficiencia compuesta más baja, lo cual valida la inclusión de esta variable en la métrica de eficiencia.

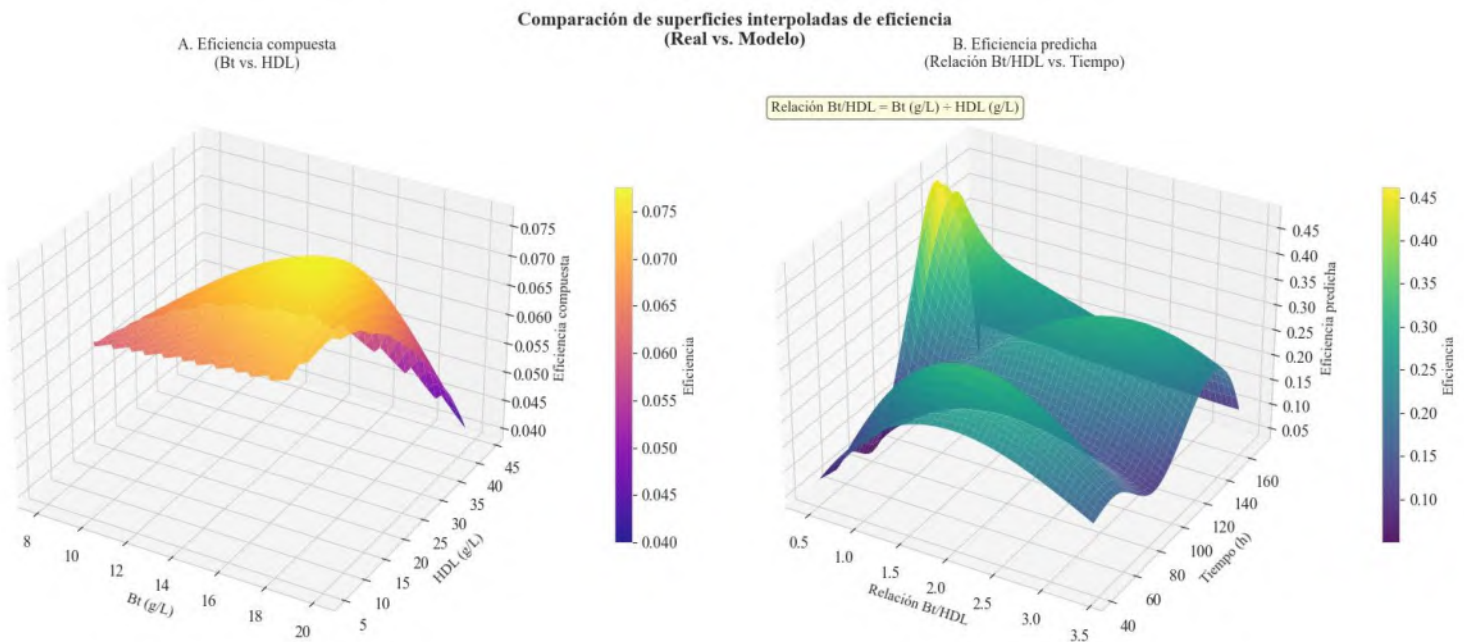


Figura 34. Comparación de superficies interpoladas de eficiencia observada y predicha.

La Figura 34 presentó una comparación visual valiosa entre las tendencias experimentales y las predicciones del modelo, mediante dos superficies tridimensionales interpoladas de eficiencia. En el gráfico A, se mostró la superficie obtenida directamente de los datos experimentales, donde la eficiencia compuesta se representó en función de las concentraciones de Bt y HDL. Se observó claramente que la región de máxima eficiencia no se ubicó en los extremos, sino en un punto de equilibrio: alrededor de 15 g/L de Bt y entre 20 y 30 g/L de HDL. Esta zona elevada de la superficie sugirió que, en condiciones reales, no fue la concentración absoluta lo que determinó la eficacia, sino la combinación adecuada entre ambos componentes. Un exceso de HDL, incluso con suficiente Bt, tendió a aplanar la superficie, lo que confirmó que podría haber un efecto de saturación o inhibición por sobrecarga de soporte.



En el gráfico B, se presentó la superficie generada por el modelo predictivo Random Forest, donde se graficó la eficiencia predicha en función de la relación Bt/HDL y el tiempo de acción. Esta visualización permitió interpretar de forma más compleja cómo la eficiencia no dependió únicamente de las cantidades, sino del balance entre ingredientes y del momento en que actuaron. Las zonas más altas se localizaron cuando la proporción Bt/HDL se mantuvo entre 0.5 y 0.7, el tiempo fue menor a 70 horas. Este hallazgo no solo coincidió con lo observado experimentalmente, sino que además sugirió que existió una sinergia temporal: el modelo aprendió que la combinación eficiente no fue solo química, sino también cronológica. De hecho, estas condiciones proyectadas por el modelo resultaron coherentes con el Tratamiento T1, el cual mostró la mayor eficacia en los bioensayos sin necesidad de reaplicación. Esta concordancia refuerza la confianza en los resultados del modelo, al demostrar que las formulaciones óptimas predichas no se alejan de la evidencia experimental, sino que la confirman y amplifican su aplicabilidad práctica.

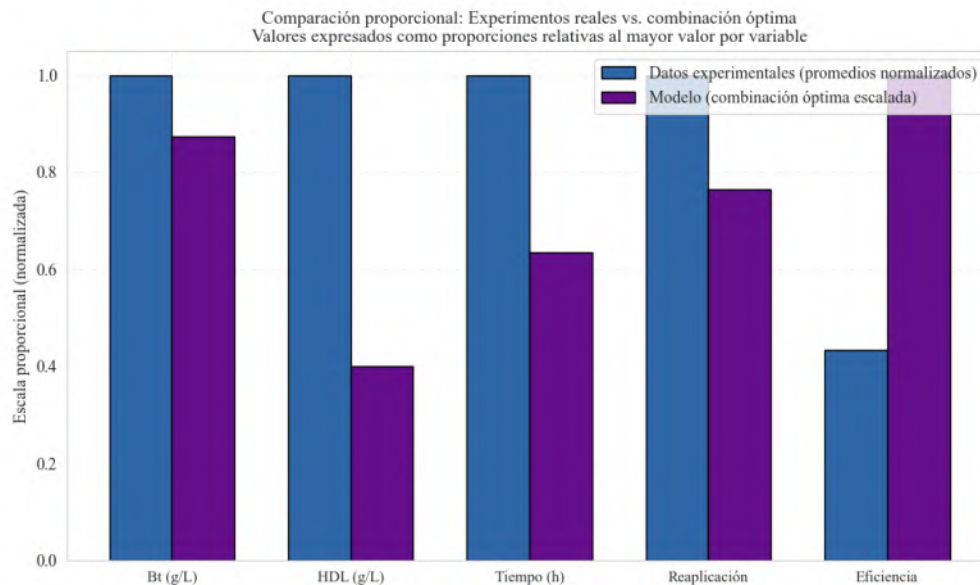


Figura 35. Gráfico de barras de comparación por variable entre tratamientos reales y combinaciones óptimas propuestas por el modelo.

La Figura 35 presentó un gráfico de barras comparativo que permitió observar las diferencias proporcionales entre los tratamientos experimentales reales y la combinación óptima sugerida por el modelo. Para esta comparación, se empleó una normalización por variable, donde todos



los valores fueron escalados respecto al mayor valor registrado, permitiendo así comparar tendencias relativas en lugar de cantidades absolutas. Este enfoque resultó útil para visualizar el comportamiento global de cada formulación en una escala compartida.

A partir de esta visualización, se evidenció que la formulación óptima propuesta por el modelo no fue simplemente una réplica de los tratamientos reales, sino una propuesta más estratégica. Mantuvo la concentración de Bt en un nivel elevado, pero sin exagerar su dosis; redujo la cantidad de HDL y el tiempo de acción de manera significativa; y logró eliminar la necesidad de reaplicación, mientras aumentó notablemente la eficiencia compuesta. Es decir, el modelo propuso una formulación que no solo fue más eficaz, sino también con menos desperdicio de material, más rápida y práctica.

Un aspecto clave de esta metodología fue que las combinaciones propuestas por el modelo no fueron aleatorias, sino que fueron generadas con base en los patrones aprendidos a partir de los datos experimentales reales. Esta diferencia es fundamental frente a otras metodologías de optimización tradicional. El modelo no exploró el espacio de formulación “aleatoriamente con restricciones”, sino que aprendió de la base de datos experimental y proyectó nuevas condiciones que respetan la lógica biológica del sistema. Este rasgo le otorga un valor añadido como herramienta de diseño racional, permitiendo reducir el número de ensayos necesarios y acelerar los procesos de validación en campo.

En conjunto, esta última gráfica no solo cerró el análisis comparativo, sino que reafirmó que el modelo logró una optimización integral, donde cada variable fue ajustada en función de su peso relativo en la eficiencia y no de forma aislada. Esta capacidad para integrar múltiples factores y generar soluciones viables, aplicables y sostenibles, abre la posibilidad de ampliar esta línea de investigación a una escala aún mayor.

A futuro, se prevé continuar con esta propuesta bajo un enfoque doctoral, incorporando nuevas variables predictoras como condiciones climáticas, tipo de cultivo, pH del suelo, o interacciones bióticas. Esta expansión del modelo no solo incrementaría su precisión, sino que permitiría adaptarlo a escenarios reales más dinámicos y diversos. De esta forma, se espera consolidar



modelos inteligentes capaces de diseñar materiales híbridos altamente eficientes, ecológicamente seguros y adecuados para una implementación agrícola a gran escala.

4.6 Resultados de caracterización.

Durante esta etapa del trabajo, se llevaron a cabo diversas técnicas de caracterización para observar los cambios estructurales generados por la incorporación del bioplaguicida *Bacillus thuringiensis* (Bt) en el soporte laminar. Particularmente, se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM) y Espectroscopía de Rayos X de Dispersión de Energía (EDS) para explorar la morfología superficial tanto del HDL puro como del material híbrido Bt/HDL.

Las micrografías fueron obtenidas con el microscopio electrónico del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, así como también en análisis EDS, utilizando condiciones de observación optimizadas para evitar artefactos por acumulación de carga. En los siguientes apartados, se describen de forma comparativa las observaciones obtenidas antes y después del proceso de incorporación del bioplaguicida.

4.6.1 Resultados del análisis morfológico por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

4.6.1.1 Micrografías de HDL puro.

En las micrografías correspondientes al HDL sin carga biológica de las Figuras 36 y 37, se observaron estructuras agregadas con disposición laminar, organizadas en formaciones tipo coliflor. Este patrón es característico de los hidróxidos dobles laminares (HDL) sintetizados por coprecipitación, estos han sido ampliamente documentados en la literatura (Miyata, 1983; Choy

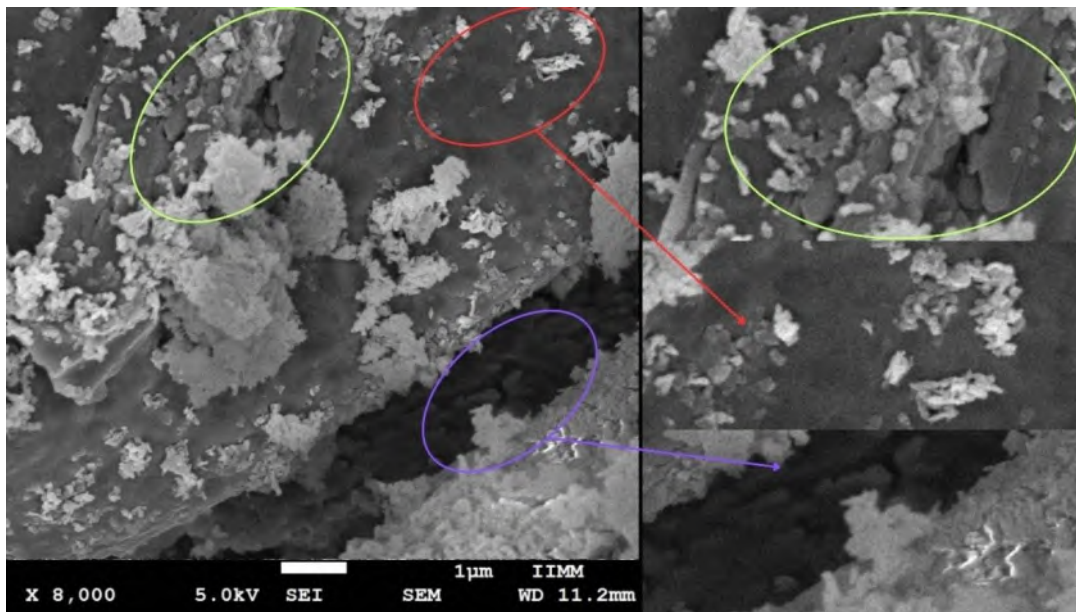


Figura 36. Micrografía SEM del HDL puro a 40,000 aumentos.

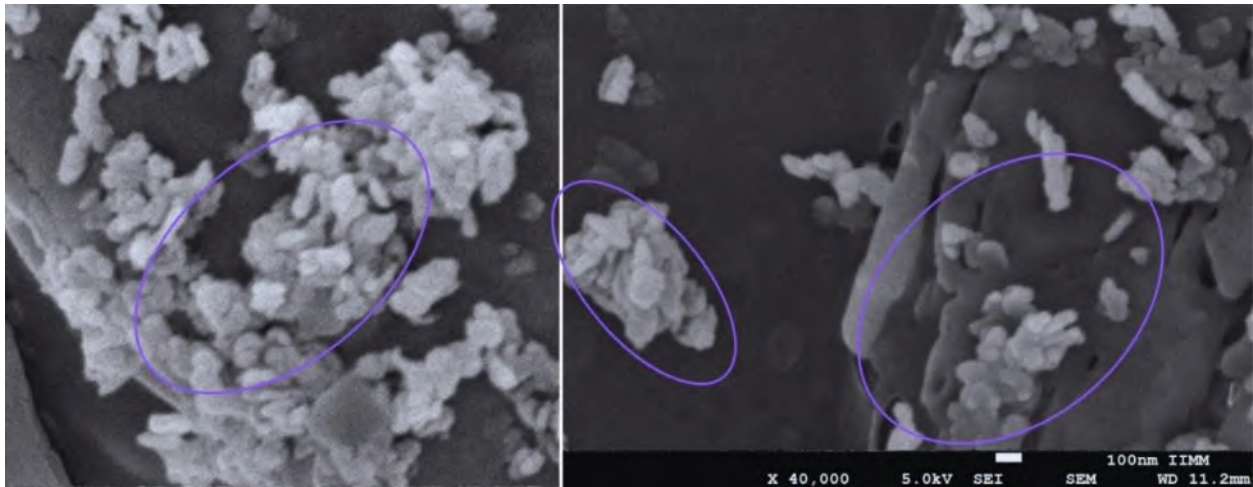


Figura 37. Micrografía SEM del HDL puro a 8,000 aumentos.

Las láminas presentaron longitudes de entre 2 y 4 μm , con anchos cercanos a los 200–500 nm, distribuyéndose en capas parcialmente superpuestas. En algunas zonas, se apreció un mayor grado de compactación, mientras que otras mostraron porosidad superficial, lo cual sugiere un crecimiento laminar no completamente homogéneo. Como era de esperarse, no se identificaron cuerpos biológicos ni residuos externos, lo que confirmó que el soporte se conservaba en su forma original, sin evidencia de incorporación previa de Bt.

4.6.1.2 Micrografías del material híbrido (Bt/HDL).

Posterior a la incorporación del bioplaguicida, se obtuvieron micrografías del material híbrido (Figuras 38 y 39), en las cuales se distinguieron varios cambios morfológicos importantes. Se identificaron cuerpos alargados con forma de aguja, de aproximadamente 180 nm de longitud, correspondientes a los cristales proteicos Cry del *Bacillus thuringiensis*. Estas estructuras resultaron visualmente compatibles con las δ -endotoxinas descritas por Bravo et al. (2007), típicamente producidas durante la fase esporulante de la bacteria.

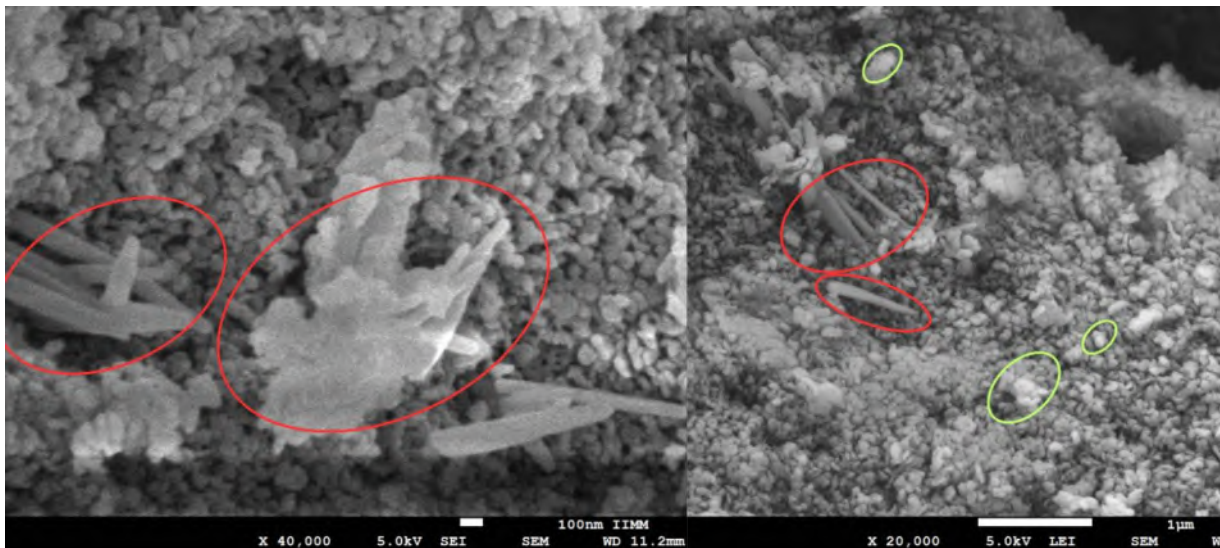


Figura 38. Micrografías SEM del material híbrido Bt/HDL a 40,000 (izquierda) y 20,000 aumentos (derecha).

Se distinguen cristales proteicos Cry (en rojo) y esporas de Bt (en verde) adheridas a las láminas de HDL. Escalas de 100 nm y 1 μ m, respectivamente.

Adicionalmente, se observaron partículas redondeadas, con diámetros entre 0.5 y 1.2 μ m, que fueron atribuidas a esporas de *B. thuringiensis*. Algunas de ellas aparecieron dispersas sobre la superficie del HDL, mientras que otras parecían parcialmente encapsuladas entre las láminas del soporte. Esta distribución sugiere un acoplamiento favorable, probablemente asistido por interacciones electrostáticas y por la propia porosidad del HDL.

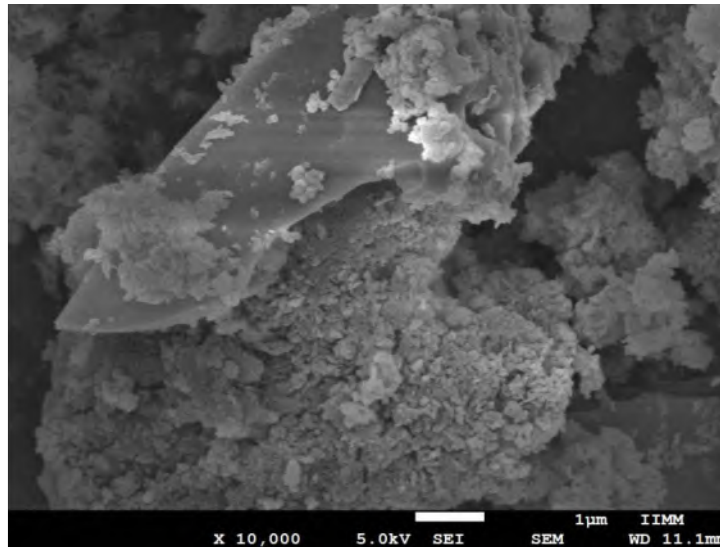


Figura 39. Micrografía SEM del material híbrido Bt/HDL a 10,000 aumentos.

Se observa un cristal Cry de gran tamaño parcialmente recubierto por HDL. Escala de 1 μm .

Una de las imágenes más representativas (Figura 40) mostró un cristal proteico de mayor tamaño (aproximadamente 2–3 μm) cubierto por capas de HDL. Esta evidencia respalda la hipótesis de que el HDL no solo actúa como soporte físico, sino también como matriz protectora y controlada para la liberación gradual del bioplaguicida. La conservación de la estructura laminar, incluso tras la incorporación del Bt, sugiere que el proceso fue exitoso sin comprometer la integridad del sistema.

4.6.2 Resultados de análisis elemental por Espectroscopía de Rayos X de Dispersión de Energía (EDS).

La caracterización elemental de las muestras se realizó mediante espectroscopía de dispersión de energía (EDS) acoplada al microscopio electrónico de barrido (SEM), en el Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Esta técnica permitió identificar los elementos presentes en las superficies analizadas del material precursor (HDL puro) y del material híbrido resultante tras la adsorción de *Bacillus thuringiensis* (Bt).

4.6.2.1 Espectro EDS del HDL puro.

La Figura 40 muestra el espectro EDS correspondiente al material precursor, donde se identificaron señales características de **carbono (C)**, **oxígeno (O)**, **magnesio (Mg)** y **aluminio (Al)**. Estos elementos son consistentes con la fórmula general de los hidróxidos dobles laminares tipo hidrotalcita, los cuales presentan una estructura de capas octaédricas compuestas por cationes divalentes y trivalentes (Mg^{2+} y Al^{3+}) y aniones compensadores, típicamente intercalados con OH^- y H_2O . Se observan señales representativas de C, O, Mg y Al, consistentes con la estructura laminar esperada.

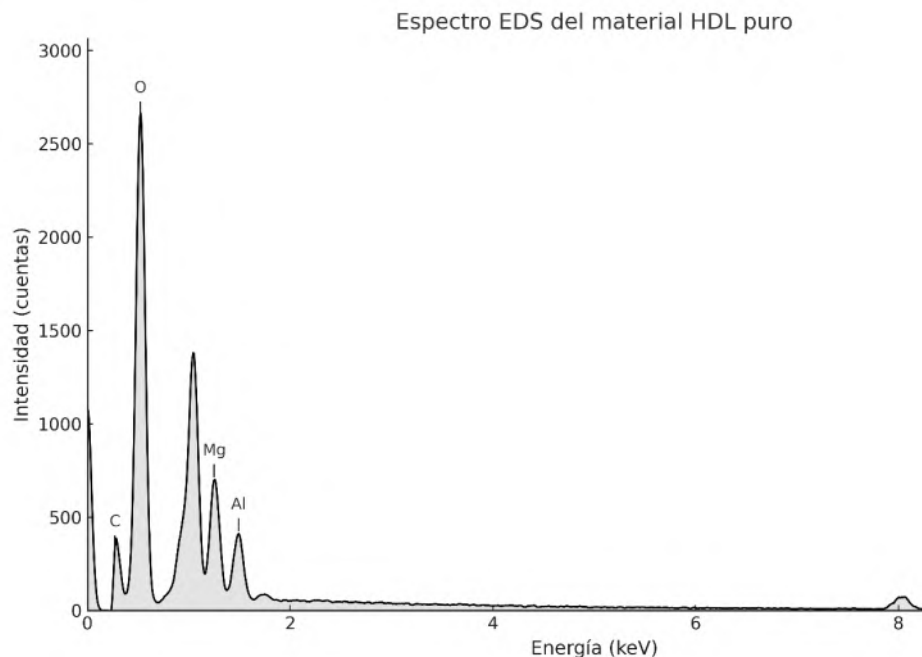


Figura 40. Espectro EDS del material HDL puro obtenido por SEM.

Se observan señales representativas de C, O, Mg y Al.

Resultados obtenidos en el Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, UMSNH.

La presencia de carbono puede atribuirse parcialmente a contaminantes orgánicos residuales del proceso de síntesis o a la cinta de montaje de carbono utilizada durante el análisis, lo cual es común en este tipo de caracterización. Sin embargo, su intensidad fue moderada y no sugiere presencia orgánica significativa dentro del material HDL puro.



Tabla 12. Composición elemental del material HDL puro.

<i>Elemento</i>	Porcentaje en masa (%)
<i>C</i>	8.28
<i>O</i>	42.16
<i>Mg</i>	18.60
<i>Al</i>	30.97

4.6.2.2 Espectro EDS del material híbrido Bt-HDL.

En el caso del material híbrido, mostrado en la Figura 41, se observaron las mismas señales base que en el HDL puro, pero además se identificaron nuevos elementos relevantes como fósforo (P) y cloro (Cl). También se detectó una mayor intensidad relativa del pico de carbono (C), lo cual se corresponde con la incorporación de biomoléculas provenientes de los cristales proteicos Cry y de las esporas del Bt.

Este incremento en carbono fue corroborado por la cuantificación en masa obtenida del análisis EDS, que mostró un porcentaje significativamente mayor de C en el Bt-HDL en comparación con el HDL puro. Esto resulta coherente con el hecho de que el biocomponente adsorbido está

constituido principalmente por compuestos orgánicos ricos en carbono, como proteínas y componentes esporales.

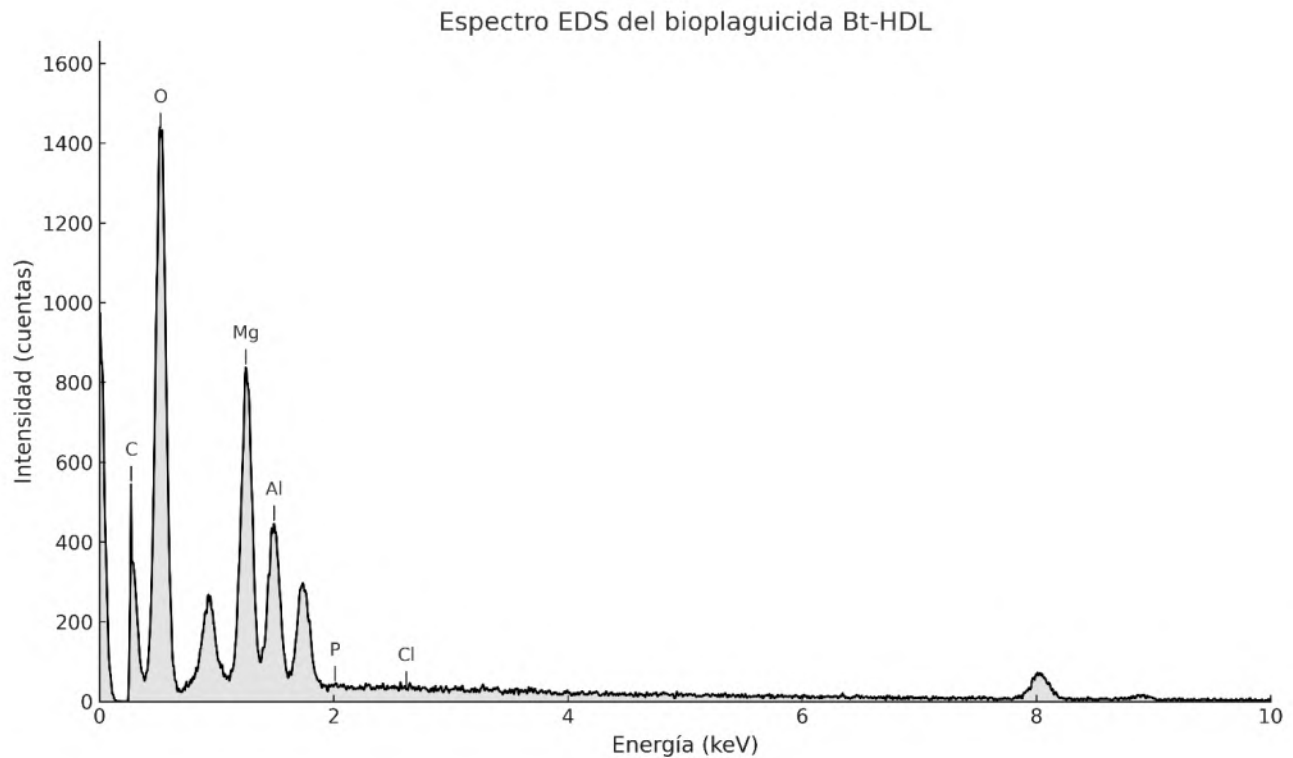


Figura 41. Espectro EDS del bioplaguicida Bt-HDL.

Se observa un incremento relativo del pico de C, así como la presencia de P y Cl, elementos ausentes en el HDL puro, lo cual indica la incorporación exitosa de biomaterial en la matriz laminar.

Resultados obtenidos en el Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales, UMSNH.

Además, la presencia de fósforo puede estar relacionada con residuos fosfolipídicos y componentes de membranas celulares bacterianas, mientras que el cloro podría corresponder a sales residuales del medio de cultivo.

Tabla 13. Composición elemental del bioplaguicida Bt-HDL.

Elemento

Porcentaje en masa (%)



C	20.03
O	39.95
Mg	17.11
Al	21.63
P	0.68
Cl	0.60

4.6.3 Análisis estructural por difracción de rayos X (DRX)

Posteriormente del análisis morfológico (SEM) y elemental (EDS) se llevó a cabo el análisis estructural el cual fue complementado mediante difracción de rayos X (DRX), con el objetivo de verificar las fases cristalinas tanto del material precursor (HDL) y los posibles cambios inducidos tras la incorporación de los cristales proteicos del *Bacillus thuringiensis* (Bt). Este estudio se llevó a cabo utilizando el difractómetro de rayos X del Instituto de Materiales de la Universidad Autónoma de México Morelia, bajo la configuración estándar para materiales laminares: radiación Cu K α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), con un barrido de [2θ inicial–final].

4.6.3.1 Patrón difractométrico del HDL puro.

En la Figura 40 se presenta el patrón difractométrico correspondiente al HDL puro, se observaron picos definidos en $2\theta \approx 11.6^\circ, 23.4^\circ, 34.7^\circ, 38.4^\circ, 46.2^\circ, 60.8^\circ, 62.2^\circ$ y 68.6° , los cuales concuerdan con planos típicos de la hidrotalcita tipo $\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, asociados a los planos (003), (006), (009), (015), (018), (110), (113) y (116), de acuerdo con la ficha del Comité Conjunto sobre Estándares de Difracción de Polvo (JCPDS 14-0191). La presencia definida de estos planos confirmó la correcta formación del HDL con alta cristalinidad.

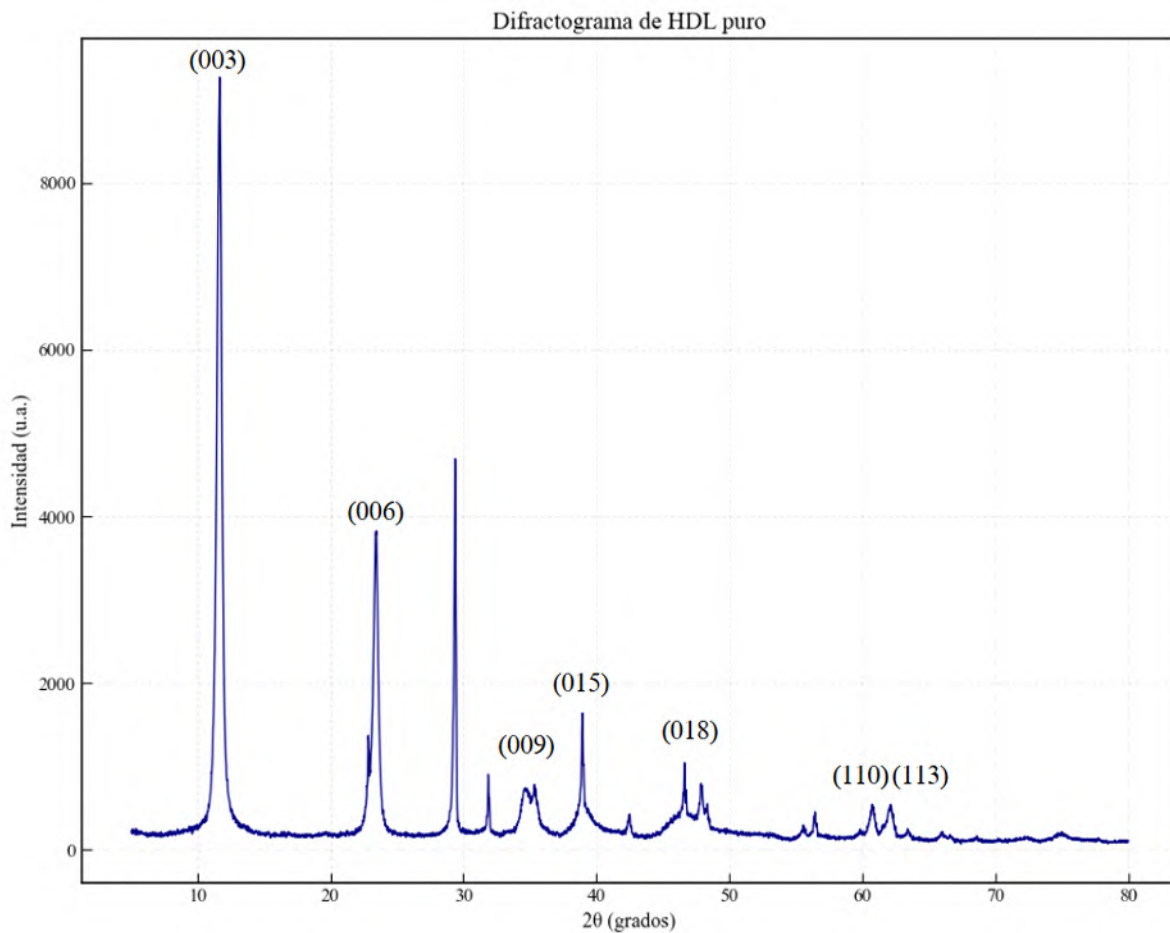


Figura 42. Difractograma de rayos X del material HDL puro (Mg–Al).

Para evaluar más detalladamente la estructura, se calcularon parámetros cristalográficos a partir de estas reflexiones.

Usando la ecuación de Bragg:

$$n\lambda = 2d * \text{sen } \theta$$

donde:

- n es el orden de difracción, considerado como 1,
- λ es la longitud de onda de la radiación Cu $K\alpha$ (1.5406 Å),



- θ es el ángulo de difracción, calculado como la mitad del valor de 2θ observado en el patrón.

Para el primer pico prominente (aproximadamente $2\theta = 11.5^\circ$), que corresponde al plano más basal, el cálculo fue:

$$\theta = 11.5^\circ / 2 = 5.75^\circ$$

$$d = \lambda / (2 \cdot \text{sen}\theta) \approx 1.5406 / (2 \cdot \text{sen}(5.75^\circ)) \approx 7.103 \text{ \AA}$$

Este valor concuerda con el espaciamento interlaminar típico de materiales con aniones CO_3^{2-} intercalados, esperable en HDL preparados en medio acuoso a partir de sales nitrato y expuestos a CO_2 atmosférico

Otro cálculo relevante se realizó sobre la reflexión en $2\theta \approx 60.7^\circ$ para el plano (110), cuya reflexión aparece en $2\theta \approx 60.7^\circ$:

$$\theta = 60.7^\circ / 2 = 30.35^\circ$$

$$d = \lambda / (2 \cdot \text{sen}\theta) \approx 1.5406 / (2 \cdot \text{sen}(30.35^\circ)) \approx 1.726 \text{ \AA}$$

Este valor corresponde a planos internos en la estructura laminar, relacionados con la organización de los cationes metálicos dentro de las capas octaédricas. La consistencia de estos resultados con valores reportados en la literatura refuerza la calidad estructural del material sintetizado. Ambos resultados están en coherencia con valores reportados en la literatura para HDL de buena cristalinidad. Cabe destacar que no se detectaron picos atribuibles a óxidos metálicos u otras fases contaminantes, lo que refuerza la pureza del material obtenido.

4.6.3.2 Patrón difractométrico del bioplaguicida Bt-HDL

La Figura 43 se presenta el patrón de DRX del material híbrido Bt-HDL. En este se conservan las reflexiones más representativas del HDL, lo cual sugiere que la incorporación de los cristales proteicos Cry, además que no se alteró de manera significativa la arquitectura laminar del soporte. No obstante, se observó una disminución moderada en la intensidad y un leve ensanchamiento de los picos principales en comparación con el HDL puro. Esta modificación

estructural se interpreta como evidencia de interacción entre el Bt y la matriz del HDL, posiblemente mediante adsorción superficial e incorporación parcial en sus espacios laminares.

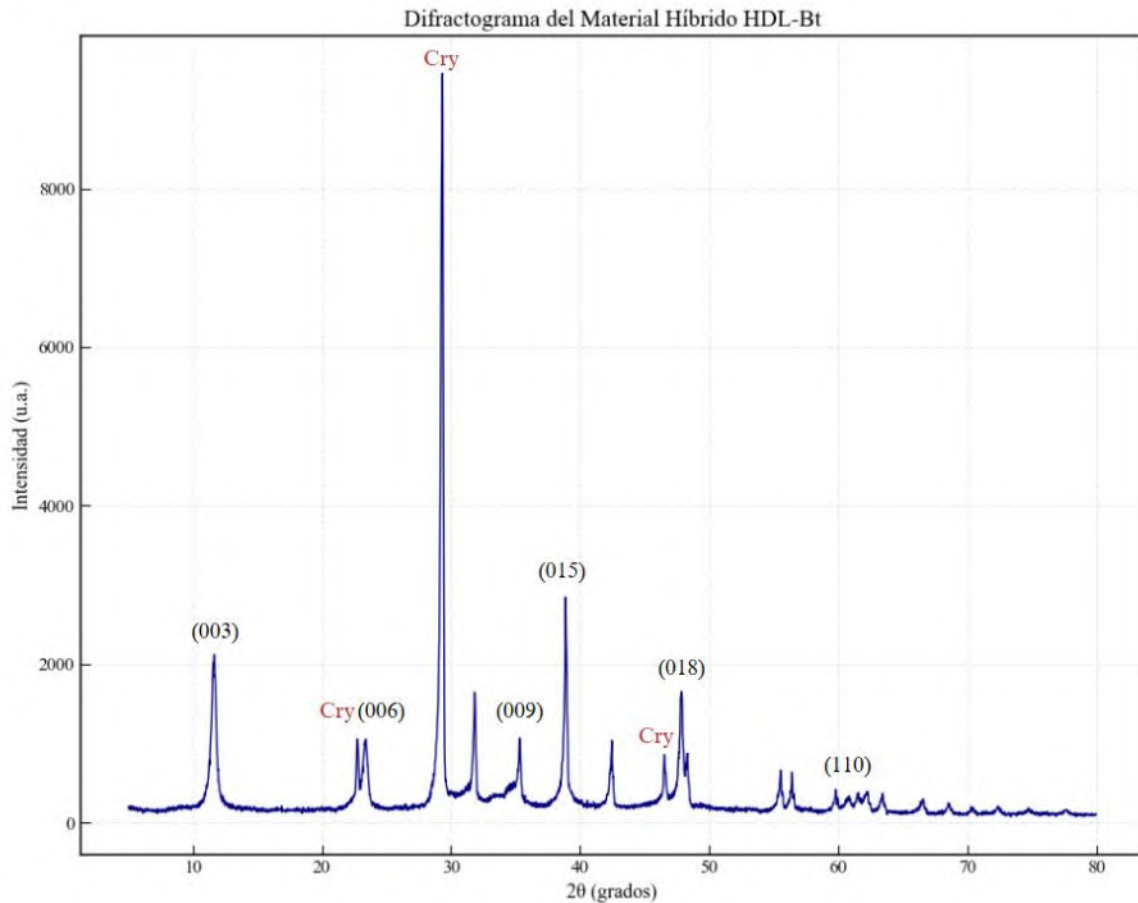


Figura 43. Difractograma de rayos X del material híbrido HDL(Mg-Al)-Bt.

También se observó picos nuevos de baja intensidad en posiciones como $2\theta \approx 14.5^\circ$, 28.4° y 45.1° , los cuales han sido reportados en la literatura como posibles indicadores de estructuras cristalinas tipo Cry de las proteínas del *Bacillus thuringiensis*, como las mencionadas por Bravo et al. (2007) y Ge et al. (2011). Estos hallazgos confirman lo analizado en el estudio EDS, en el cual existió un aumento elemental correspondiente a el componente biológico, el cual podemos confirmar estuvo presente en forma de estructuras parcialmente cristalinas. Aunque no se observó un patrón completo atribuible exclusivamente al Bt esto debido a que lo intercalado fueron directamente cristales y esporas en suspensión, la aparición de estas señales, junto con el halo amorfo característico en el fondo del difractograma, sugiere una incorporación ordenada



pero no únicamente entre sus laminas del biocomponente en la matriz HDL, reafirmando así la evidencia de una interacción efectiva entre ambos materiales.

Cabe destacar que se detectaron algunos picos menores no relacionados directamente con el HDL o el Bt. Estos pueden atribuirse a la afinidad natural de los HDL hacia aniones como carbonato (CO_3^{2-}) y nitrato (NO_3^-), los cuales tienden a intercalarse durante el proceso de síntesis. Aunque se utilizó atmósfera inerte durante el añejamiento, es factible que durante las etapas de lavado o secado haya ocurrido una ligera adsorción de CO_2 , fenómeno ampliamente reportado para materiales de este tipo. Esta intercalación aniónica no representa un defecto, sino una propiedad esperada y aprovechada de los HDL.

Si bien de manera general, el análisis de DRX corroboró que el HDL fue obtenido con alta cristalinidad y que la incorporación de Bt fue exitosa, sin pérdida de su estructura esencial. Estas observaciones son congruentes con los hallazgos de SEM y EDS, en los que se evidenció una distribución homogénea del Bt y una composición compatible. A su vez, la conservación de la estructura cristalina del soporte respalda los resultados positivos obtenidos en los ensayos larvales, donde se demostró la eficacia prolongada del material híbrido.

Estos resultados reafirman que el HDL no solo mantiene su funcionalidad como soporte inorgánico estable, sino que además facilita la protección y liberación controlada del agente biológico, confirmando su viabilidad como soporte viable para aplicaciones de control ambiental sostenible.



Conclusiones.

Esta investigación logró integrar dos pilares clave en el diseño de tecnologías ambientales inteligentes: por un lado, la formulación experimental de un bioplaguicida híbrido a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) y hidróxidos dobles laminares (HDL); por otro, la implementación de un modelo predictivo basado en inteligencia artificial (Random Forest), construido sobre una base de datos real cuidadosamente estructurada. Esta sinergia permitió desarrollar una herramienta robusta, capaz de optimizar formulaciones con alta precisión sin recurrir exclusivamente a metodologías empíricas tradicionales.

Los resultados superaron las expectativas iniciales. El modelo reentrenado alcanzó un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9403, validando su capacidad para identificar patrones complejos y no lineales que relacionan la mortalidad larval con las concentraciones de Bt y HDL, el tiempo de acción y la necesidad de reaplicación. A partir de este aprendizaje, se generaron combinaciones teóricas mediante predicción inversa, no aleatorias, sino fundamentadas en tendencias aprendidas desde la base experimental. Esto marcó una diferencia clave con respecto a estrategias clásicas de optimización, demostrando que el uso de inteligencia artificial no es solo complementario, sino metodológicamente disruptivo en el campo de la ingeniería de formulaciones.

Uno de los hallazgos más relevantes fue la validación del HDL como soporte funcional de liberación controlada. Se comprobó que concentraciones moderadas de HDL no solo reducen la necesidad de reaplicación, sino que permiten mantener o incluso aumentar la eficacia del Bt, disminuyendo su concentración sin comprometer la mortalidad larval. El tratamiento T2, por ejemplo, logró más del 90 % de mortalidad con menor dosis de Bt y sin pérdida de eficiencia, destacándose como formulación óptima en los ensayos reales y también por el modelo.

La caracterización material respaldó estos hallazgos. Las micrografías SEM, el análisis EDS y los patrones DRX confirmaron que la estructura laminar del HDL se mantuvo estable, funcionando efectivamente como matriz de anclaje y soporte sin alterar la viabilidad del Bt. Esta integración entre datos de laboratorio y resultados predictivos representa un avance metodológico con múltiples implicaciones prácticas.



A nivel práctico, la metodología desarrollada permitió reducir significativamente el número de ensayos necesarios, el consumo de insumos y el tiempo experimental. Más aún, estableció las bases para diseñar bioformulaciones con mayor eficiencia, menores costos y mejor impacto ambiental, sin depender exclusivamente del ensayo y error.

En términos de proyección, este enfoque puede escalar hacia nuevas líneas de investigación a nivel doctoral, integrando más variables ambientales (como humedad, pH del suelo, temperatura o tipo de cultivo), o explorando nuevos materiales con aplicaciones en liberación controlada, ingeniería catalítica o remediación ambiental. También se podrían emplear algoritmos más complejos, como redes neuronales o gradient boosting, ampliando la capacidad de predicción y su aplicabilidad en escenarios agronómicos reales. Así, esta tesis no solo cumplió con su objetivo de diseñar y optimizar una formulación eficiente de bioplaguicida, sino que abrió una ruta innovadora de trabajo interdisciplinario, uniendo la ingeniería química, la ciencia de materiales y la inteligencia artificial. El enfoque aquí planteado aporta una alternativa viable para una agricultura más eficiente, basada en datos, con menor impacto ambiental y con gran potencial de escalabilidad tecnológica.



Glosario

Bacillus thuringiensis (Bt): Bacteria entomopatógena utilizada como biopesticida debido a su capacidad de producir proteínas cristalinas tóxicas para ciertos insectos plaga, sin afectar a organismos no objetivo.

Difracción de Rayos X (DRX): Técnica utilizada para identificar la estructura cristalina de materiales. En esta tesis permitió confirmar la organización laminar de las hidrotalcitas.

Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS): Método acoplado al SEM que permite identificar los elementos químicos presentes en una muestra, útil para confirmar la composición elemental de los materiales analizados.

FAO (Food and Agriculture Organization): Organismo de las Naciones Unidas especializado en temas de alimentación y agricultura, citado como referente internacional sobre el uso seguro del Bt.

Hidrotalcitas (HDL): Compuestos laminares que actúan como soportes inorgánicos. En este trabajo se utilizaron para controlar la liberación del biopesticida, mejorando su estabilidad y eficacia.

IA (Inteligencia Artificial): Conjunto de técnicas computacionales que permiten a los sistemas aprender y tomar decisiones basadas en datos. En esta tesis se aplicó para optimizar las condiciones experimentales del biopesticida.

Instar larvario: Etapa del desarrollo de los insectos entre dos mudas sucesivas. Su identificación es clave para evaluar la eficacia del tratamiento en función del grado de madurez de la larva.

JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards): Organismo que proporciona patrones de difracción estandarizados. Sirve como referencia para la interpretación de análisis DRX.

Liberación controlada: Mecanismo que permite liberar una sustancia activa de forma gradual y sostenida. En este estudio, se empleó para dosificar el Bt mediante HDL.

Machine Learning: Rama de la inteligencia artificial que permite a los algoritmos aprender a partir de datos. Se aplicó para modelar y predecir la eficacia del biopesticida.

Mean Squared Error (MSE): Indicador estadístico que mide el error promedio al comparar valores reales y predichos por un modelo. Se utilizó para evaluar el desempeño del algoritmo.



Microscopía Electrónica de Barrido (SEM): Técnica de caracterización que permite observar la morfología superficial de los materiales con alta resolución.

Mortalidad acumulada: Porcentaje total de organismos que han muerto durante un periodo de evaluación. En esta tesis se utilizó como indicador principal de eficacia del biopesticida.

ODS (Objetivos de Desarrollo Sostenible): Metas propuestas por la ONU para promover el bienestar humano y ambiental. Este proyecto se vincula especialmente con los ODS relacionados con salud, medio ambiente y producción responsable.

Random Forest: Algoritmo de aprendizaje automático basado en múltiples árboles de decisión. Se empleó para predecir la combinación más efectiva de variables experimentales.

Replicación: Segunda administración de un tratamiento durante un bioensayo. En este estudio se evaluó su impacto en la eficacia del biopesticida.

UV (Ultravioleta): Tipo de radiación electromagnética que puede afectar la estabilidad de los bioplaguicidas. Se menciona al analizar factores ambientales que influyen en la eficacia del Bt.

XRD (X-ray Diffraction): Acrónimo equivalente a DRX. En esta tesis, ambos términos se refieren al análisis de difracción de rayos X.

EPA (Environmental Protection Agency): Agencia ambiental de los Estados Unidos, citada como fuente normativa sobre el uso y seguridad de pesticidas.

EFSA (European Food Safety Authority): Autoridad europea encargada de la evaluación de riesgos en alimentos y plaguicidas. Apoya con evidencia sobre la inocuidad del Bt.



Referencias.

Adang, M. J., Crickmore, N., & Jurat-Fuentes, J. L. (2014). "Diversity of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins and mechanism of action." *Advances in Insect Physiology*, 47, 39-87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800197-4.00002-6>

Adeleke, A. R., Stevenson, C. R., & Wu, X. (2023). Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1040901. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1040901>

Alliance of Bioversity International and CIAT. (2023). Inteligencia artificial: ¿Cómo podría transformar la agricultura? Recuperado de <https://alliancebioversityciat.org/es/stories/inteligencia-artificial-como-podria-transformar-agricultura>

Askeland, D. R., & Fulay, P. P. (2017). Estructuras cristalinas de materiales. En *Ciencia e Ingeniería de los materiales* (6ª ed., pp. 60-86). CENGAGE Learning. ISBN: 978-607-570-037-3

Berliner, E. (1915). Über die Schlauffsucht der Mehlmotterraupe (*Ephestia kuhniella* Zell.) und ihren Erreger, *Bacillus thuringiensis* n. sp. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 2(3), 29–56.

Betts, J. (n.d.). *Hydrotalcite-2H var. Manasseite from Jacupiranga Mine, Cajati, São Paulo, Brazil* [Fotografía]. John Betts Fine Minerals – Online Mineral Museum. Recuperado de <http://www.johnbetts-fineminerals.com/jhbnyc/mineralmuseum/picshow.php?id=64395>

Bravo, A., Gill, S. S., & Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49(4), 423-435. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.022>

Ben-Dov, E. (2014). *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins. *Toxins*, 6(4), 1222–1243. <https://doi.org/10.3390/toxins6041222>



Breiman, L. (2001). Random Forests. *Machine Learning*, 45(1), 5-32. <https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>

Chamorro, D. (2023). Identificación de receptores de la toxina Cry1Ca de *Bacillus thuringiensis* en *Spodoptera frugiperda* y *Manduca sexta*. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Disponible en: <https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000691875/3/0691875.pdf>

Chara, D., Pavlovic, I., Bruna, F., Ulibarri, M., & Barriga, C. (2010). Removal of nitrophenol pesticides from aqueous solutions by layered double hydroxides and their calcined products. *Applied Clay Science*, 50, 292-298. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.07.007>

Chen, T., & Guestrin, C. (2016). XGBoost: A Scalable Tree Boosting System. *Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*, 785-794. <https://doi.org/10.1145/2939672.2939785>

Cortés Ortega, J. A., & Carbajal Arizaga, G. G. (2019). Dosificación de NaOH mediante hidrogeles para regular el tamaño de partículas de hidróxidos dobles laminares. *Avances en Química*, 14(2), 67-71. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93365843002>

Dios-Castillo, C., Chafloque-Llontop, C., & Sánchez-Rentería, R. (2024). Efectividad del Machine Learning en el medio ambiente: contaminación de imágenes de teledetección. Revisión sistemática de la literatura. En 22nd LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology. https://laccei.org/LACCEI2024-CostaRica/full-papers/Contribution_1402_final_a.pdf

Domínguez Hernández, E. (2021). Evaluación de hidróxidos dobles laminares multimetálicos en la fotodegradación del ácido 2,4 diclorofenoxiacético. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/15236>

Duraisamy, K., et al. (2023). Development of a new broad-spectrum microencapsulation-based spray drying formulation of *Bacillus thuringiensis*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1273725. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1273725>



European Food Safety Authority (EFSA). (2020). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* strain SA-11. *EFSA Journal*, 18(10), e06261. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6261>

Environmental Protection Agency (EPA). (1998). Reregistration Eligibility Decision (RED) for *Bacillus thuringiensis*. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-006400_30-Mar-98.pdf

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2023). The state of food and agriculture. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/0927b048-75af-4f2a-94cb-fbc7a03469e3/content>

Fan, G., Li, F., Evans, D. G., & Duan, X. (2014). *Catalytic applications of layered double hydroxide-derived materials: recent advances and perspectives*. *Chemical Society Reviews*, 43(20), 7040–7066. <https://doi.org/10.1039/c4cs00160e>

Fisher, R. A. (2010). *Statistical Methods for Research Workers*. Genesis Publishing Pvt Ltd.

Fu, Y., Fu, X., Song, W., Li, Y., Li, X., & Yan, L. (2023). Recent progress of layered double hydroxide-based materials in wastewater treatment. *Materials*, 16(16), 5723. <https://doi.org/10.3390/ma16165723>

Frondel, C. (1941). *Constitution and polymorphism of the pyroaurite and sjögrenite groups*. *American Mineralogist*, 26(5), 295–315.

Ge, A. Z., Shivarova, N. I., & Dean, D. H. (1989). Location of the *Bombyx mori* specificity domain on a *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(11), 4037-4041. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.11.4037>

Geurts, P., Ernst, D., & Wehenkel, L. (2006). Extremely randomized trees. *Machine Learning*, 63, 3–42. <https://doi.org/10.1007/s10994-006-6226-1>



Glare, T. R. (2000). *Bacillus thuringiensis: Biology, ecology and safety*. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-4010-2>

Harris, C. R., Millman, K. J., van der Walt, S. J., Gommers, R., Virtanen, P., Cournapeau, D., Wieser, E., Taylor, J., Berg, S., Smith, N. J., ... & Oliphant, T. E. (2020). Array programming with NumPy. *Nature*, 585(7825), 357-362. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2649-2>

Heinrich Böll Stiftung, Friends of the Earth Europe, PAN Germany, & Rosa Luxemburg Stiftung. (2022). *Atlas de los pesticidas 2022: Datos y cifras sobre el uso de plaguicidas en el mundo*. Fundación Heinrich Böll. Recuperado de <https://eu.boell.org/en/PesticideAtlas>

Ho, T. K. (1995). Random Decision Forests. *Proceedings of the 3rd International Conference on Document Analysis and Recognition*, 278-282. <https://doi.org/10.1109/ICDAR.1995.598994>

Hochstetter, C. C. (1842). Ueber die Zusammensetzung einiger Mineralien aus Norwegen. *Journal für Praktische Chemie*, 27(1), 375–384.

Hunter, J. D. (2007). Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering*, 9(3), 90-95. <https://doi.org/10.1109/MCSE.2007.55>

Ishiwata, S. (1901). On a kind of severe flacherie (sotto disease). *Dainihon Sanshi Kaiho*, 114, 1-5. (Este artículo es muy antiguo y no tiene DOI; sin embargo, se le reconoce como la primera descripción de *Bacillus thuringiensis*).

Islam, K. I., Elias, E. H., Carroll, K. C., & Brown, C. (2023). Exploring random forest machine learning and remote sensing data for streamflow prediction: An alternative approach to a process-based hydrologic modeling in a snowmelt-driven watershed. *Remote Sensing*, 15(16), 3999. <https://doi.org/10.3390/rs15163999>

Jin, S., Fallgren, P., Morris, J., & Chen, Q. (2007). Removal of bacteria and viruses from waters using layered double hydroxide nanocomposites. *Science and Technology of Advanced Materials*, 8, 67-70. <https://doi.org/10.1080/14686990701228501>



Jones, G. W., & Nielsen-Leroux, C. (2007). A new Cry toxin with a unique two-component dependency from *Bacillus sphaericus*. *FASEB Journal*, 21(14), 4112–4120. <https://doi.org/10.1096/fj.07-8913com>

Kidane, A., & Bhatt, P. (2005). Recent advances in small molecule drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 9(4), 347-351. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.06.00>

Manasse, E. (1915). *Ricerche sui minerali del gruppo della brucite. Atti della Società Toscana di Scienze Naturali*, 24, 92–108.

Martínez, D. R., & Carbajal, G. G. (2012). Hidóxidos dobles laminares: Arcillas sintéticas con aplicaciones en nanotecnología. *Avances en Química*, 7(1), 87-99. <https://doi.org/10.1021/ie0608436>

Martínez Cuevas, A. (2023). *Modelos de clasificación de bacterias filamentosas mediante la aplicación de técnicas de Deep Learning: Aplicación al proceso de fangos activos* [Trabajo de Fin de Máster, Universidad de Sevilla]. <https://biblus.us.es/bibing/proyectos/abreproy/72689/fichero/TFM-2689%2BMart%C3%ADnez%2BCuevas.pdf>

McKinney, W., & Reback, J. (2020). pandas: Powerful Python data analysis toolkit. *Zenodo*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3509134>

Miyata, S. (1983). Anion-exchange properties of hydrotalcite-like compounds. *Clays and Clay Minerals*, 31(4), 305-311. <https://doi.org/10.1346/CCMN.1983.0310409>

Nguyen, P. H., Dao, N. K., & Nguyen, L. S. P. (2024). Development of machine learning and deep learning prediction models for PM2.5 in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Atmosphere*, 15(10), 1163. <https://doi.org/10.3390/atmos15101163>

Liakos, K. G., Busato, P., Moshou, D., Pearson, S., & Bochtis, D. (2018). Machine learning in agriculture: A review. *Sensors*, 18(8), 2674. <https://doi.org/10.3390/s18082674>



Liaw, A., & Wiener, M. (2002). Classification and regression by randomForest. *R News*, 2(3), 18–22.

Oliphant, T. (2006). *A Guide to NumPy*. USA: Trelgol Publishing.

Organización Mundial de la Salud. (2022, September 15). *Pesticide residues in food*. WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>

Park, M., Choi, C., Seo, Y., Yeo, J., Choi, S., Komarneni, S., & Lee, J. (2007). Reactions of Cu^{2+} and Pb^{2+} with Mg/Al layered double hydroxide. *Applied Clay Science*, 37, 143-148. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2007.02.005>

Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., Michel, V., Thirion, B., Grisel, O., Blondel, M., Prettenhofer, P., Weiss, R., Dubourg, V., Vanderplas, J., Passos, A., Cournapeau, D., Brucher, M., Perrot, M., & Duchesnay, É. (2011). Scikit-learn: Machine Learning in Python. *Journal of Machine Learning Research*, 12, 2825-2830. Recuperado de <http://www.jmlr.org/papers/volume12/pedregosa11a/pedregosa11a.pdf>

Rodríguez, F., Sosa, L., & Domínguez-Robles, J. (2022). *Hidróxidos dobles laminares (HDL) como material adsorbente en descontaminación de aguas contaminadas por colorantes azoicos*. *Revista Bionatura*, 7(3), 33. <https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.03.33>

Romero-Ortiz, G., Samaniego-Benítez, E., Lartundo-Rojas, L., Flores-Jiménez, Y., Tzompantzi, F., & Mantilla, A. (2020). Aplicación de hidróxidos dobles laminares de ZnCuAl modificados con SDS como fotocatalizadores para el tratamiento eficiente de agua contaminada con compuestos orgánicos. En E. San Martín Martínez & M. A. Ramírez Salinas (Eds.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías* (pp. 117–132). OmniaScience. <https://doi.org/10.3926/oms.401.4.2>

Sáez, V., Hernáez, E., & Angulo, L. S. (2002). Sistemas de liberación controlada de medicamentos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3(3), 01-17. ISSN 1988-4206.

Singha Roy, A., Kesavan Pillai, S., & Ray, S. S. (2023). A Comparison of Nitrate Release from Zn/Al-, Mg/Al-, and Mg-Zn/Al Layered Double Hydroxides and Composite Beads: Utilization



as Slow-Release Fertilizers. *ACS omega*, 8(9), 8427–8440.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07395>

Singha Roy, A., Kesavan Pillai, S., & Ray, S. S. (2022). Layered Double Hydroxides for Sustainable Agriculture and Environment: An Overview. *ACS omega*, 7(24), 20428–20440.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01405>

Sanchis, V., & Bourguet, D. (2008). *Bacillus thuringiensis*: applications in agriculture and insect resistance management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 31 (2), 217–231.
DOI:[10.1051/agro:2007054](https://doi.org/10.1051/agro:2007054)

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2018). Informe de la situación del medio ambiente en México. Dirección General de Estadística e Información Ambiental. Recuperado de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/pdf/Informe2018GMX_web.pdf

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R., & Dean, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 775-806. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.775-806.1998>

Moustafa, M. A. M., Saleh, M. A., Ateya, I. R., & Kandil, M. A. (2018). Influence of some environmental conditions on stability and activity of *Bacillus thuringiensis* formulations against the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 64. DOI: [10.1186/s41938-018-0064-x](https://doi.org/10.1186/s41938-018-0064-x)

U.S. Environmental Protection Agency. (1998). *Reregistration Eligibility Decision (RED) for Bacillus thuringiensis*. Office of Pesticide Programs. EPA 738-R-98-004. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-006400_30-Mar-98.pdf

Vaccari, A. (1998). Preparation and catalytic properties of cationic and anionic clays. *Applied Clay Science*, 14(2), 161-198. [https://doi.org/10.1016/S0169-1317\(98\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0169-1317(98)00012-2)



Vayssieres, L. (2009). On the tailored assembly of nano-objects into integrated systems: A multiple scale approach. *Journal of Advanced Functional Materials*, 19(5), 688-697. <https://doi.org/10.1002/adfm.200800968>

Waskom, M. L. (2021). Seaborn: Statistical data visualization. *Journal of Open-Source Software*, 6(60), 3021. <https://doi.org/10.21105/joss.03021>

Zhang, H., & Dou, L. (2014). Layered double hydroxide-based nanocarriers for drug delivery. *Pharmaceutics*, 6(2), 298-332. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics6020298>

Zhang, L., Zeng, Y., Zhuang, R., Szabó, B., Manfreda, S., Han, Q., & Su, Z. (2021). In situ observation-constrained global surface soil moisture using Random Forest model. *Remote Sensing*, 13(23), 4893. <https://doi.org/10.3390/rs13234893>



Anexo I. de código I

```
# Modelo Random Forest para predecir la eficacia del biopesticida
Bt-HDL
# Trabajo de tesis de Maestría - Aldara Natalya Moreno Torres

# Importación de librerías
import pandas as pd # type: ignore
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
from sklearn.model_selection import train_test_split
from sklearn.ensemble import RandomForestRegressor
from sklearn.metrics import mean_squared_error, r2_score

# Definición de la matriz experimental simulada
# Variables: concentración de Bt, pH, temperatura, tiempo de exposición
# Variable respuesta: eficacia (conteo de colonias viables)

data_experiment = {
    'Bt_concentracion_g_L': [0.1, 0.2, 0.3, 0.12, 0.25, 0.35, 0.15,
0.22, 0.32, 0.18, 0.28, 0.34, 0.2, 0.3, 0.1],
    'pH': [6.5, 7.0, 7.5, 6.8, 7.2, 7.6, 7.0, 7.4, 7.5, 6.9, 7.1, 7.7,
6.7, 7.3, 6.6],
    'temperatura_C': [25, 30, 35, 28, 32, 36, 29, 33, 36, 27, 31, 38,
26, 34, 25],
    'tiempo_exposicion_h': [12, 24, 36, 18, 34, 39, 20, 38, 40, 16,
26, 42, 14, 32, 12],
    'eficacia_colony_count': [50, 60, 70, 55, 68, 73, 58, 67, 75, 53,
63, 77, 52, 69, 51]
}
df_experiment = pd.DataFrame(data_experiment)
print("Primeros registros de la matriz experimental:")
print(df_experiment.head())
# Separación de variables predictoras (X) y variable respuesta (y)
X_exp = df_experiment[['Bt_concentracion_g_L', 'pH', 'temperatura_C',
'tiempo_exposicion_h']]
y_exp = df_experiment['eficacia_colony_count']

# División de los datos: 80 % entrenamiento, 20 % prueba
X_train_exp, X_test_exp, y_train_exp, y_test_exp =
train_test_split(X_exp, y_exp, test_size=0.2, random_state=42)

# Configuración y entrenamiento del modelo Random Forest
modelo_rf = RandomForestRegressor(
    n_estimators=100,
    criterion='squared_error',
```



```
        max_depth=None,
        random_state=42
    )
    modelo_rf.fit(X_train_exp, y_train_exp)

    # Predicción sobre el conjunto de prueba
    y_pred_exp = modelo_rf.predict(X_test_exp)

    # Cálculo de métricas de desempeño
    mse_exp = mean_squared_error(y_test_exp, y_pred_exp)
    r2_exp = r2_score(y_test_exp, y_pred_exp)

    print(f"\nResultados del modelo:")
    print(f"Error cuadrático medio (MSE): {mse_exp:.2f}")
    print(f"Coeficiente de determinación (R2): {r2_exp:.2f}")

    # Análisis de la importancia de las variables
    importancia_variables = modelo_rf.feature_importances_
    variables = X_exp.columns

    plt.figure(figsize=(8, 5))
    plt.barh(variables, importancia_variables, color='cornflowerblue')
    plt.xlabel('Importancia de la variable')
    plt.title('Importancia de variables en la predicción de la eficacia
del biopesticida')
    plt.grid(True)
    plt.tight_layout()
    plt.show()

    # Comparación de valores reales vs. predicciones
    plt.figure(figsize=(6, 6))
    plt.scatter(y_test_exp, y_pred_exp, color='mediumpurple',
edgecolor='black')
    plt.xlabel('Valores reales de eficacia')
    plt.ylabel('Predicciones del modelo')
    plt.title('Comparación: Valores reales vs. Predicciones')
    plt.grid(True)
    plt.tight_layout()
    plt.show()

    # Distribución de residuales
    residuales = y_test_exp - y_pred_exp

    plt.figure(figsize=(8, 5))
    sns.histplot(residuales, kde=True, color='mediumseagreen')
    plt.xlabel('Residuales')
    plt.title('Distribución de residuales del modelo')
    plt.grid(True)
    plt.tight_layout()
```



```
plt.show()
```



Anexo II Código II

```
# Modelo de predicción con Random Forest
# Proyecto de tesis: Evaluación de la eficiencia de un bioplaguicida Bt-HDL
# Importación de librerías
import pandas as pd
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
from sklearn.ensemble import RandomForestRegressor
from sklearn.metrics import r2_score, mean_squared_error
from mpl_toolkits.mplot3d import Axes3D
from scipy.interpolate import griddata

# Configuración de estilo
plt.rcParams.update({'font.family': 'Times New Roman', 'font.size': 12})
sns.set_style("whitegrid")

# Carga de datos
df = pd.read_csv("C:/Users/natto/Downloads/Base_de_datos_de_eficiencia.csv")

# Cálculo de eficiencia compuesta (solo para formulaciones Bt-HDL)
uso_min = df['Bt_g_L'].min() + df['HDL_g_L'].min()
tiempo_min = df['Tiempo_h'].min()
#Estas restricciones se utilizaron para que el modelo aprenda que el objetivo
de la eficiencia de acuerdo a nuestra base de datos es el uso minimo de
concentraciones en menos
#Y a mayor mortalidad mejor eficiencia

df['Eficiencia_Compuesta'] = ( (df['Larvas_muertas'] / df['Larvas_totales'])
*
    (uso_min / (df['Bt_g_L'] + df['HDL_g_L'])) *
    (tiempo_min / df['Tiempo_h']) *
    (1 / (1 + df['Reaplicacion'])) )

# Entrenamiento del modelo
X = df[['Bt_g_L', 'HDL_g_L', 'Tiempo_h', 'Reaplicacion']]
y = df['Eficiencia_Compuesta']
modelo = RandomForestRegressor(n_estimators=100, random_state=42)
modelo.fit(X, y)

# Predicciones y comparación
df['Eficiencia_Predicha'] = modelo.predict(X)
df['Diferencia'] = abs(df['Eficiencia_Compuesta'] -
df['Eficiencia_Predicha'])
```



```
# Evaluación del modelo
r2 = r2_score(y, df['Eficiencia_Predicha'])
mse = mean_squared_error(y, df['Eficiencia_Predicha'])
precision = r2 * 100

print("\n>> Evaluación del modelo Random Forest:")
print(f"Coeficiente de determinación R2: {r2:.4f}")
print(f"Error cuadrático medio (MSE): {mse:.6f}")
print(f"Precisión general estimada: {r2*100:.2f}%")

# Vista de comparación de datos
print("\n>> Comparación entre valores observados y predichos:")
print(df[['Tratamiento', 'Eficiencia_Compuesta', 'Eficiencia_Predicha',
'Diferencia']]
      .sort_values(by='Eficiencia_Compuesta',
ascending=False).to_string(index=False))

# Predicción inversa
np.random.seed(123)
n = 5000
pred_inv = pd.DataFrame({
    'Bt_g_L': np.random.uniform(10, 20, n),
    'HDL_g_L': np.random.uniform(5, 35, n),
    'Tiempo_h': np.random.uniform(60, 150, n),
    'Reaplicacion': np.random.choice([0, 1], n)
})
pred_inv['Eficiencia_Predicha'] = modelo.predict(pred_inv)

#filtro de eficiencia ideal
# Calcular percentil dinámico para seleccionar las mejores eficiencias
percentil_superior = np.percentile(pred_inv['Eficiencia_Predicha'], 95)

# Filtrar combinaciones con eficiencia óptima basada en percentil superior
optimas_inv = pred_inv[pred_inv['Eficiencia_Predicha'] >=
percentil_superior].copy()

#proteccion para asegurar que no se interrumpa la ejecución
# Mostrar las mejores 10 combinaciones
print("\n>> Combinaciones con eficiencia ideal para aplicación futura:")
if not optimas_inv.empty:
    print(optimas_inv.sort_values(by='Eficiencia_Predicha',
ascending=False).head(10).to_string(index=False))
else:
    print(">> No se encontró ninguna combinación óptima con el nuevo umbral.")

# Frecuencia de óptimos
frecuencia_optima = len(optimas_inv) / len(pred_inv) * 100
print(f"\nFrecuencia de combinaciones con eficiencia óptima:
{frecuencia_optima:.2f}%")
```



```
# HISTOGRAMA DE EFICIENCIA PREDICHA
import matplotlib as mpl
mpl.rcParams['font.family'] = 'Times New Roman'

# Definir nueva zona óptima como franja cercana al percentil superior (por
ejemplo ±5%)
zona_optima_inf = percentil_superior * 0.95
zona_optima_sup = percentil_superior * 1.02

plt.figure(figsize=(9, 5))
sns.histplot(pred_inv['Eficiencia_Predicha'], bins=40, kde=True,
color='teal')

# Nueva zona óptima basada en rango ajustado
plt.axvspan(zona_optima_inf, zona_optima_sup, color='orange', alpha=0.3,
label=f'Zona óptima (~95%-102%)')

# Línea exacta del percentil 95
plt.axvline(x=percentil_superior, color='red', linestyle='--', linewidth=2,
label=f'Percentil 95 ≈ {percentil_superior:.4f}')

plt.xlabel("Eficiencia predicha", fontsize=12)
plt.ylabel("Frecuencia", fontsize=12)
plt.title("Distribución de eficiencias predichas\n(Random Forest, predicción
inversa)", fontsize=14)
plt.legend()
plt.grid(True, linestyle='--', alpha=0.4)
plt.tight_layout()
plt.show()

#GRAFICO DE DISPERSION OPTIMA Y EN GENERAL CON RESPECTO A LA RELACION HDL/BT
import matplotlib as mpl
mpl.rcParams['font.family'] = 'Times New Roman'

plt.figure(figsize=(9, 6))

# Fondo gris: todas las combinaciones generadas por predicción inversa
plt.scatter(pred_inv['Bt_g_L'], pred_inv['HDL_g_L'],c='lightgray', s=18,
label='Combinaciones generadas', alpha=0.3)

# Combinaciones óptimas resaltadas en rojo brillante
plt.scatter(optimas_inv['Bt_g_L'], optimas_inv['HDL_g_L'], c='red', s=60,
label='Óptimas (≥ Percentil 95)', edgecolors='black', linewidths=0.6)

plt.xlabel("Bt (g/L)", fontsize=12)
plt.ylabel("HDL (g/L)", fontsize=12)
plt.title("Distribución de combinaciones Bt-HDL\n(Predicción inversa con
Random Forest)", fontsize=14)
```



```
plt.legend(loc='upper right')
plt.grid(True, linestyle='--', alpha=0.4)
plt.tight_layout()
plt.show()

# Comparación 3D: Superficies interpoladas
from scipy.interpolate import griddata
from mpl_toolkits.mplot3d import Axes3D
import matplotlib.pyplot as plt
from matplotlib import rcParams
import numpy as np

# Tipografía elegante
rcParams['font.family'] = 'serif'
rcParams['font.serif'] = ['Times New Roman']
plt.rcParams['axes.labelsize'] = 11
plt.rcParams['axes.titlesize'] = 12

# Calcular relación Bt/HDL una sola vez
df['Rel_Bt_HDL'] = df['Bt_g_L'] / df['HDL_g_L']

# Superficie A: Eficiencia compuesta (experimental observada)
bt_vals = np.linspace(df['Bt_g_L'].min(), df['Bt_g_L'].max(), 50)
hdl_vals = np.linspace(df['HDL_g_L'].min(), df['HDL_g_L'].max(), 50)
BT, HDL = np.meshgrid(bt_vals, hdl_vals)
points_obs = df[['Bt_g_L', 'HDL_g_L']].values
values_obs = df['Eficiencia_Compuesta'].values
Z_obs = griddata(points_obs, values_obs, (BT, HDL), method='cubic')

# Superficie B: Eficiencia predicha (relación Bt/HDL vs tiempo)
rel_vals = np.linspace(df['Rel_Bt_HDL'].min(), df['Rel_Bt_HDL'].max(), 50)
time_vals = np.linspace(df['Tiempo_h'].min(), df['Tiempo_h'].max(), 50)
REL, TIME = np.meshgrid(rel_vals, time_vals)
points_pred = df[['Rel_Bt_HDL', 'Tiempo_h']].values
values_pred = df['Eficiencia_Predicha'].values
Z_pred = griddata(points_pred, values_pred, (REL, TIME), method='cubic')

# Gráfica conjunta
fig = plt.figure(figsize=(16, 7))

# Subplot 1: Eficiencia compuesta
ax1 = fig.add_subplot(1, 2, 1, projection='3d')
surf1 = ax1.plot_surface(BT, HDL, Z_obs, cmap='plasma', edgecolor='none',
alpha=0.9)
ax1.set_title("A. Eficiencia compuesta\n(Bt vs. HDL)", pad=12)
ax1.set_xlabel("Bt (g/L)")
ax1.set_ylabel("HDL (g/L)")
ax1.set_zlabel("Eficiencia compuesta")
```



```
fig.colorbar(surf1, ax=ax1, shrink=0.6, pad=0.1, label="Eficiencia")

# Subplot 2: Eficiencia predicha
ax2 = fig.add_subplot(1, 2, 2, projection='3d')
surf2 = ax2.plot_surface(REL, TIME, Z_pred, cmap='viridis',
edgecolor='none', alpha=0.9)
ax2.set_title("B. Eficiencia predicha\n(Relación Bt/HDL vs. Tiempo)",
pad=12)
ax2.set_xlabel("Relación Bt/HDL")
ax2.set_ylabel("Tiempo (h)")
ax2.set_zlabel("Eficiencia predicha")
fig.colorbar(surf2, ax=ax2, shrink=0.6, pad=0.1, label="Eficiencia")

# Agregar texto explicativo al gráfico derecho
ax2.text2D(0.05, 0.95, "Relación Bt/HDL = Bt (g/L) ÷ HDL (g/L)",
transform=ax2.transAxes,
fontSize=11,
fontName='Times New Roman',
bbox=dict(boxstyle="round,pad=0.3", edgecolor="gray",
facecolor="lightyellow"))

plt.suptitle("Comparación de superficies interpoladas de eficiencia\n(Real
vs. Modelo)", fontsize=14, fontweight='bold')
plt.tight_layout()
plt.show()

# BLOQUE 1 - Mapa de calor: Correlación entre variables del modelo
import matplotlib as mpl
mpl.rcParams['font.family'] = 'Times New Roman'

plt.figure(figsize=(8, 6))
sns.heatmap(df[['Bt_g_L', 'HDL_g_L', 'Tiempo_h', 'Reaplicacion',
'Eficiencia_Compuesta']].corr(),
annot=True,
cmap='coolwarm',
fmt=".2f",
linewidths=0.5,
linecolor='white',
square=True,
cbar_kws={"shrink": 0.8})
plt.title('Mapa de calor: Correlación entre variables del modelo',
fontsize=14)
plt.tight_layout()
plt.grid(False)
plt.show()

# Importancia de variables del modelo Random Forest
importances = modelo.feature_importances_
features = X.columns
```



```
indices = np.argsort(importances)

plt.figure(figsize=(8, 6))
bars = plt.barh(range(len(importances)), importances[indices],
align='center', color=sns.color_palette("Greens", len(importances)))
plt.yticks(range(len(importances)), [features[i] for i in indices],
fontname='Times New Roman', fontsize=12)
plt.xlabel('Importancia', fontname='Times New Roman', fontsize=12)
plt.title('Importancia de variables en el modelo', fontname='Times New
Roman', fontsize=14)

# Añadir etiquetas numéricas a cada barra
for i, v in enumerate(importances[indices]):
    plt.text(v + 0.002, i, f"{v:.4f}", color='black', va='center',
fontname='Times New Roman', fontsize=11)

plt.grid(axis='x', linestyle='--', alpha=0.4)
plt.tight_layout()
plt.show()

# 5. Combinaciones óptimas predichas (Predicción inversa)
from matplotlib import rcParams
rcParams['font.family'] = 'serif'
rcParams['font.serif'] = ['Times New Roman']

plt.figure(figsize=(8, 6))
sc = plt.scatter(optimas_inv['Bt_g_L'], optimas_inv['HDL_g_L'],
c=optimas_inv['Tiempo_h'], cmap='YlGnBu', edgecolor='black', s=80)
plt.xlabel("Bt (g/L)")
plt.ylabel("HDL (g/L)")
plt.title("Combinaciones óptimas predichas por el modelo")
cbar = plt.colorbar(sc)
cbar.set_label("Tiempo (h)")
plt.tight_layout()
plt.show()

#regresion bloque
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
import matplotlib.font_manager as fm
from sklearn.linear_model import LinearRegression

# Ruta a la fuente Times New Roman en tu sistema
ruta_tnr = "C:/Windows/Fonts/times.ttf"
prop = fm.FontProperties(fname=ruta_tnr)

sns.set_style("whitegrid") # Estilo de fondo limpio

# --- Datos para regresión ---
```



```
X_reg = df['Eficiencia_Predicha'].values.reshape(-1, 1)
y_reg = df['Eficiencia_Compuesta'].values

modelo_lineal = LinearRegression()
modelo_lineal.fit(X_reg, y_reg)
y_pred_lineal = modelo_lineal.predict(X_reg)

# Usa R2 del modelo Random Forest entrenado
r2_rf = r2

# --- Gráfico de dispersión ---
plt.figure(figsize=(8, 6))
plt.scatter(y_reg, df['Eficiencia_Predicha'], s=80, color='#1f77b4',
            edgecolors='black', label='Datos del modelo')
min_val = min(y_reg.min(), df['Eficiencia_Predicha'].min())
max_val = max(y_reg.max(), df['Eficiencia_Predicha'].max())
plt.plot([min_val, max_val], [min_val, max_val], '--', color='darkred',
         linewidth=1.5, label='Línea ideal')

plt.text(min_val + 0.05*(max_val - min_val), max_val - 0.15*(max_val -
min_val),
         f"$R^2$ = {r2_rf:.4f}", fontsize=13, fontproperties=prop)

plt.title("Correlación entre eficiencia observada y predicha", fontsize=14,
fontproperties=prop)
plt.xlabel("Eficiencia Observada", fontproperties=prop)
plt.ylabel("Eficiencia Predicha", fontproperties=prop)
plt.legend(loc="lower right", frameon=False, prop=prop)
plt.tight_layout()
plt.show()

# --- Análisis de residuos ---
residuos = y_reg - df['Eficiencia_Predicha']

# Dispersión de residuos
plt.figure(figsize=(8, 6))
sns.scatterplot(x=df['Eficiencia_Predicha'], y=residuos, s=100,
color='#336699', edgecolor='black')
plt.axhline(0, linestyle='--', color='gray')
plt.xlabel("Eficiencia Predicha", fontproperties=prop)
plt.ylabel("Residuo", fontproperties=prop)
plt.title("Análisis de Residuos", fontproperties=prop)
plt.tight_layout()
plt.show()

# Histograma de residuos
plt.figure(figsize=(8, 6))
sns.histplot(residuos, bins=10, kde=True, color='#6699CC',
edgecolor='black')
```



```
plt.xlabel("Residuo", fontproperties=prop)
plt.ylabel("Frecuencia", fontproperties=prop)
plt.title("Distribución de Residuos del Modelo", fontproperties=prop)
plt.tight_layout()
plt.show()

# BLOQUE SUTITUTO DE MAPA DE CALOR ANTERIOR - Gráfico de barras: Comparación
por variable (modelo vs. tratamientos reales)

import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import matplotlib as mpl

# Estilo general
mpl.rcParams['font.family'] = 'Times New Roman'

# Datos reales (promedio experimental) y óptimos (modelo)
reales_mean = np.array([17.041, 25.293, 107.545, 0.364, 0.118]) # promedio
de tratamientos reales
optimos_mean = np.array([14.875, 10.144, 68.367, 0.278, 0.272]) # mejor
combinación predicha

# Nombres de las variables
variables_nombres = ['Bt (g/L)', 'HDL (g/L)', 'Tiempo (h)', 'Reaplicación',
'Eficiencia']

# Normalización (escala proporcional por variable)
valores_maximos = np.maximum(reales_mean, optimos_mean)
reales_norm = reales_mean / valores_maximos
optimos_norm = optimos_mean / valores_maximos

# Configuración del gráfico
x = np.arange(len(variables_nombres))
bar_width = 0.35

plt.figure(figsize=(10, 6))

# Barras experimentales
plt.bar(x - bar_width/2, reales_norm, width=bar_width, label='Datos
experimentales (promedios normalizados)', color="#2e66a7",
edgecolor='black')

# Barras del modelo
plt.bar(x + bar_width/2, optimos_norm, width=bar_width, label='Modelo
(combinación óptima escalada)', color="#640e8b", edgecolor='black')

# Etiquetas y estilo
plt.xticks(x, variables_nombres, fontsize=11)
plt.ylabel('Escala proporcional (normalizada)', fontsize=12)
```



```
plt.title('Comparación proporcional: Experimentos reales vs. combinación  
óptima\nValores expresados como proporciones relativas al mayor valor por  
variable', fontsize=13)  
plt.legend()  
plt.grid(True, linestyle='--', alpha=0.3)  
plt.tight_layout()  
plt.show()
```



Anexo III Declaración originalidad

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL	
Título del trabajo	Diseño de un biopesticida híbrido Bt-HDL optimizado con inteligencia artificial para el control sostenible de plagas.	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	ALDARA NATALYA MORENO TORRES.	aldara.moreno@umich.mx
Director	ROBERTO GUERRA GONZÁLEZ.	roberto.guerra@umich.mx
Codirector	JOSE LUIS RIVERA ROJAS.	jlrivera@umich.mx
Coordinador del programa	Salomón Ramiro Vásquez García.	mae.cs.ingenieria.ambiental@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	no	



Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	no	
Traducción a otra lengua	no	
Revisión y corrección de estilo	no	
Análisis de datos	no	
Búsqueda y organización de información	no	
Formateo de las referencias bibliográficas	no	
Generación de contenido multimedia	no	
Otro	no	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Aldara Natalya Moreno Torres
Lugar y fecha	Morelia Michoacan a 7 de Julio del 2025



Página 1 of 144 - Portada

Identificador de la entrega trn:oid::3117:472527739

Aldara Natalya Moreno Torres

Diseño de un biopesticida híbrido Bt-HDL optimizado con inteligencia artificial para el control sost

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:472527739

Fecha de entrega

8 jul 2025, 7:54 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

8 jul 2025, 7:58 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Diseño de un biopesticida híbrido Bt-HDL optimizado con inteligencia artificial para el control so....pdf

Tamaño de archivo

4.8 MB

127 Páginas

27.879 Palabras

170.853 Caracteres



Página 1 of 144 - Portada

Identificador de la entrega trn:oid::3117:472527739



16% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 16% Fuentes de Internet
- 10% Publicaciones
- 0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

