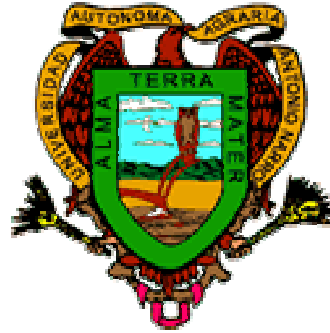


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA



EVALUACION DE DIFERENTES TECNICAS DE BIOENSAYO PARA
DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD DE *Tetranychus urticae*

Por:

MARIA DE JESUS JUAREZ GERARDO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

Buenavista, saltillo, Coahuila, México
Septiembre del 2004

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

EVALUACION DE DIFERENTES TECNICAS DE BIOENSAYO PARA
DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD DE *Tetranychus urticae*

Presentada por:

MARIA DE JESUS JUAREZ GERARDO

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el titulo de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

APROBADA
ASESOR PRINCIPAL

Dr. Jerónimo Landeros Flores

ASESOR

M. C. Ernesto Cerna Chávez

ASESOR

Ing. Carlos Enrique Ail Catzim.

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

M. C. Arnoldo Oyervides García

Buenavista, saltillo, Coahuila, México
Septiembre de 2004

DEDICATORIAS

A Dios, por haberme permitido vivir y crecer con una familia maravillosa.

A mi madre, Ángela Gerardo Merino. Por su lucha incansable, por el amor y la formación que me dio, por sus esfuerzos para sacar adelante a sus hijos.

Con respeto y admiración a mis hermanos, Licha, Carmen, Yola, Salo, Laura, Mati y Aarón. Gracias por sus esfuerzos y sacrificios para darme la carrera, por su apoyo incondicional, y por todas las experiencias que hemos tenido juntos.

A Guadalupe, Monce, Luis, Frida, Edgar, Alejandro, Miguel y los que vienen, por representar la esperanza y la ilusión de la familia.

A mi esposo Cruz González Jiménez. Quien me ofreció todo su apoyo sin pedir algo a cambio, por ser perseverante, por estar junto a mi en aquellos momentos difíciles y tristes, por compartir conmigo la vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Por darme la formación profesional.

A mis asesores. Dr. Jerónimo Landeros Flores, M. C. Ernesto Cerna Chávez y al Ing. Carlos Enrique Ail Catzim. Por su paciencia en la realización de esta investigación; pero sobre todo por su amistad y la confianza que depositaron en mí.

A COECYT. Por el apoyo económico que recibí para la realización de este trabajo.

A mi Tía Julia Gerardo y mi Abuela Columba Merino por su cariño y apoyo.

A mis amigos. Liz, Cheli, Ofelia, Laura, Jessica, Roberto, Diomedes, Josué, Alejandra, Gerardo, Eligio, Ramiro, Juanita, Jorge, Edilberto y Saúl. Por compartir momentos felices y tristes. Por su apoyo en aquellos momentos requeridos.

A Salvador. Por su amistad y por ayudarme con la traducción de artículos para la realización de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Bioensayo.....	3
Objetivo del bioensayo.....	4
La relación dosis-respuesta	4
Tipos de bioensayo.....	6
Bioensayo directo.....	6
Bioensayo indirecto.....	6
Métodos de bioensayo.....	6
Aplicación tópica.....	6
Fumigación.....	7
Exposición residual.....	7
Factores que afectan los resultados del bioensayo.....	7
Factores inherentes al organismo de prueba	8
Edad y estado de desarrollo.. ..	8
Sexo.....	8
Factores inherentes al procedimiento experimental.....	9
Factores ambientales y alimentación.....	9
Método de exposición.....	10
Criterio de mortalidad.....	10
Tiempo de evaluación.....	10
Solventes.....	10

Tamaño De Muestra.....	11
Uso de bioensayos en el orden acarina.....	11
Inmersión en portaobjetos (FAO, 1974).	11
Inmersión en hoja (FAO, 1974)	13
Película residual en caja petri (FAO, 1974).....	13
Película residual en hoja (FAO, 1974).	14
Película residual en papel filtro (FAO, 1974).	16
Productos Utilizados.....	18
Dicofol.....	18
Bionex	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
Establecimiento de los Bioensayos.....	22
Métodos de bioensayo por inmersión.....	22
Técnica de inmersión en hoja (FAO, 1974)	22
Técnica de inmersión en portaobjetos (FAO, 1974) modificado..	24
Métodos de bioensayo por película residual.....	26
Película residual en hojas (Royalty y Prina. 1987) modificado.....	26
Película residual en papel filtro (Welty et al; 1988) modificado..	27
Película residual en caja petri (Dennhey et al. 1987) modificado..	29
Película residual en tubo de ensayo.....	30
Análisis de resultados.....	32
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	33
Métodos de bioensayo por película residual.....	33

Película residual en hoja.....	33
Película residual en caja petri.....	36
Película residual en tubo.....	38
Película residual en papel filtro.....	40
Métodos de bioensayo por inmersión.....	41
Inmersión en hoja.....	41
Inmersión en porta objetos.....	44
Comparación de bioensayos a 24 h.....	46
Comparación de bioensayos a 48 h.....	47
Análisis de varianza de los bioensayos.....	48
Análisis de varianza para los bioensayos a las 24 h	48
Análisis de varianza para los bioensayos a las 48 horas.....	49
CONCLUSIONES	51
LITERATURA CITADA.....	52
APÉNDICE.....	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pagina
1	CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de dicofol por el método de película residual en hoja. UAAAN 2004.....	34
2	Coefficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en hoja a las diferentes horas de exposición.....	35
3	CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de dicofol por el método de película residual en caja petri. UAAAN 2004.....	36
4	Coefficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en caja petri a las diferentes horas de exposición.....	37
5	CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales del dicofol por el método de película residual en tubo. UAAAN 2004.....	38
6	Coefficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en tubo a las diferentes horas de exposición.....	38
7	CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de dicofol por el método de película residual en papel filtro. UAAAN 2004.....	40
8	Coefficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual	

	en papel filtro a las diferentes horas de exposición.....	40
9	CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de dicofol por el método de inmersión en hoja. UAAAN 2004.....	42
10	Coefficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de inmersión en hoja a las diferentes horas de exposición.....	43
11	CL ₅₀ , CL ₉₅ y límites fiduciales de dicofol por el método de inmersión en porta objetos. UAAAN 2004.....	44
12	Coefficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de inmersión en porta objetos, a las diferentes horas de exposición.....	45
13	Comparación de medias de los diferentes bioensayos por la prueba de Tukey.....	48
14	Cuadro 14. Comparación de medias de los diferentes bioensayos por la prueba de Tukey	49
15	Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en hoja, después de exponer individuos de <i>T. urticae</i> al dicofol en diferentes tiempos de exposición.....	59
16	Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en caja petri, después de exponer individuos de <i>T. urticae</i> al dicofol.....	59
17	Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en tubo, después de exponer individuos <i>T. urticae</i> al dicofol.....	60
18	Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en papel	

	filtro, después de exponer individuos T. urticae al dicofol.....	60
19	Mortalidad observada en el bioensayo de inmersión en hoja, después de exponer individuos T. urticae al dicofol.....	61
20	Mortalidad observada en el bioensayo de inmersión en porta objetos, después de exponer individuos de T. urticae al dicofol.....	61
21	Análisis de varianza para los bioensayos a las 24 h.....	62
22	Análisis de varianza para los bioensayos a las 48 h.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina
1	Plántulas de frijol utilizadas para reproducir colonias de <i>Tetranychus urticae</i>	21
2	Charola de tratamiento: (a) charola de plástico; (b) esponja saturada con agua; (c) hoja de frijol con ácaros; (d) etiqueta de identificación.....	23
3	porta objetos, listo para sumergirlo en la solución acaricida.....	25
4	Charola de tratamiento: (a) charola de plástico; (b) esponja saturada con agua; (c) circulas de hojas de frijol con ácaros; (d) etiqueta de identificación.....	27
5	Sándwich de conservación (a)circulo de acrílico; (b) circulo de papel filtro; (c) papel cascaron; (d) tela de chifon; (e) sándwich prensado con ligas.....	28
6	(1) Aplicación del producto a la caja petri; (2) Caja sellada con plastilina.....	30
7	Tubos de ensayo tratados con dicofol para el bioensayo de película residual respectivo.....	31
8	Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción de <i>Tetranychus urticae</i> Koch a Dicofol por el método de película residual en hoja. UAAAN 2004	35
9	Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción, de <i>Tetranychus urticae</i> Koch a Dicofol por el método de película residual en caja petri. UAAAN 2004	37

- 10 Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción, de *Tetranychus urticae* Koch a *Dicofol* por el método de película residual en tubo. UAAAN 2004 39
- 11 Líneas de respuesta concentración-mortalidad ecuaciones de predicción de *Tetranychus urticae* Koch a *Dicofol* por el método de película residual en papel filtro. UAAAN 2004 41
- 12 Líneas de respuesta concentración-mortalidad y Ecuaciones de predicción, de *Tetranychus urticae* Koch a *Dicofol* por el método de inmersión en hoja. UAAAN 2004 43
- 13 Ecuaciones de predicción, líneas de respuesta concentración-mortalidad de *Tetranychus urticae* Koch a *dicofol* por el método de inmersión en portaobjetos. 45
- 14 Líneas de respuesta concentración-mortalidad de todos los métodos de bioensayo contra *Tetranychus urticae* Koch a 24 h de exposición. UAAAN 2004. 46
- 15 Líneas de respuesta concentración-mortalidad de todos los métodos de bioensayo contra *Tetranychus urticae* Koch a 48 h de exposición. UAAAN 2004. 47

INTRODUCCIÓN

En México hay una gran variabilidad de cultivos como frutales, hortalizas, ornamentales, industriales, forrajeros entre otros, los cuales presentan problemas con plagas de insectos, nematodos, ácaros, dentro del complejo de ácaros plaga, por su agresividad y gran diversidad de cultivos hospederos atacados la araña de dos manchas (*Tetranychus urticae*) esta catalogada como una especie que mas problemas ocasionan a la agricultura. Su alto potencial reproductivo le permite incrementar su población rápidamente, de tal manera que en un corto tiempo puede rebasar el umbral económico si no se toman medidas de control adecuadas (Gould, 1987). Referente al control de esta plaga, se han utilizado una serie de métodos, de los cuales, el control químico se ha usado en forma irracional, con el fin de mantener las poblaciones por debajo de los umbrales económicos, debido a este uso indiscriminado de acaricidas se ha tenido en poco tiempo una alta presión de selección y con ello un incremento en las dosis comerciales que aunado a la constante aplicación de un solo producto, hace que el acaro desarrolle mecanismos de desintoxicación a la molécula acaricida expresando así la resistencia a los productos químicos.

Diversas investigaciones indican que esta especie es una de las que mas casos de resistencia ha presentado (Hussey y Parr, citados por Gould, 1987) siendo el dicofol uno de ellos.

En México, existe una propuesta original para el manejo de resistencia en los acaricidas, que consiste en una clasificación con base en los mecanismos de resistencia que

cada toxico promueve (Lagunes y Rodríguez, 1989). Este sistema propone seleccionar el plaguicida tomando en cuenta el efecto que su aplicación tenga sobre la población plaga, de acuerdo con la historia de uso del producto en la región, las características biológicas de la especie y el patrón de cultivos. A pesar de que esta estrategia tiene un buen sustento racional, su adopción como herramienta global de manejo se ha visto limitada debido a la falta de mayor difusión del bioensayo como un procedimiento para determinar, en cualidad o grado, el desarrollo de poblaciones resistentes a plaguicidas.

Por lo anterior expuesto se ha planteado esta investigación, que pretende dar herramientas que conlleven la implementación de bioensayos para productos acaricidas, de manera que el interesado pueda establecerlos con alguna de las metodologías descritas para el tetraniquido de interés. con el fin de implementar estrategias de manejo de toxicidad de estos productos, siendo mas confiables para los productores Coahuilenses. Es por ello que el objetivo de esta investigación es Determinar el método de bioensayo más confiable y versátil para determinar la susceptibilidad de *Tetranychus urticae*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Bioensayo

Finney (1971) se refiere a él como ensayo biológico, y lo define como la medición de la potencia de cualquier estímulo físico, químico, biológico, fisiológico o psicológico, por medio de las reacciones que este produce sobre la materia viva. Por su parte Hubert (1980) lo consigna como un conjunto de procedimientos en el que se determina la cantidad o fuerza de un agente o estímulo mediante la respuesta de un sujeto.

Lagunes y Villanueva (1994) dicen que el bioensayo, es cualquier método por medio del cual alguna propiedad de una sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce, se emplea para determinar la toxicidad de las sustancias químicas con supuestas propiedades tóxicas.

Bánki (1978), señala al bioensayo como un procedimiento experimental en el que se pretende determinar la efectividad biológica de un plaguicida. Por su parte, Busvine (1971) menciona que el término bioensayo, en el sentido amplio, cubre todos los experimentos en los que la potencia de un insecticida se mide con referencia a una colonia estandarizada de insectos, y agrega que el término también cubre a aquellos casos en los que el insecto se usa como una herramienta para medir pequeñas cantidades de insecticida, sobre un sustrato dado.

Eesa y Cutkomp (1984) lo definen como la determinación de los efectos de productos químicos en pruebas de organismos vivos y señalan que el termino también se utiliza para denotar un método para la determinación de residuos de insecticidas, empleando graficas dosis-mortalidad previamente establecidas para un cierto compuesto y un determinado organismo de prueba.

Objetivo del bioensayo

- Determinación de la eficiencia de varios tóxicos contra una población de insectos o ácaros.
- Determinación de la susceptibilidad de diferentes razas o especies de artrópodos a un toxico.
- Determinación de la cantidad de un toxico a un sustrato. Estimación del nivel de estimulo necesario para obtener respuesta en determinada proporción de individuos (Hubert, 1980).

La relación dosis-respuesta

Esta constituida por dos componentes: el estimulo y el sujeto. El estimulo se aplica al sujeto como una dosis (una intensidad especificada en unidades de concentración, peso, u otra unidad apropiada) administrada bajo condiciones ambientales tan controlables como

sea posible. Como resultado de ello, el sujeto manifiesta una respuesta (desarrollo, cambio de color, debilidad, etc.) que en caso de ser cualitativa, su ocurrencia o ausencia dependerá de la intensidad del estímulo (Finney, 1971).

Loomis (sin fecha) menciona que la base de la relación dosis-respuesta radica en la determinación experimental del intervalo de concentraciones de sustancia química en el que se da un efecto gradual entre el extremo en el que la dosis es tan pequeña que no produce efecto, hasta aquel en el que es tan alta, que produce la muerte de todos los organismos.

Los datos que resultan de un bioensayo cualitativo son: dosis empleada, número de individuos tratados y número de individuos que responden al tratamiento. Si se grafica la proporción de organismos que corresponden contra la dosis con que fueron tratados, se obtiene una curva que generalmente presenta una forma sigmoideal asimétrica. Tal asimetría ha sido explicada empíricamente desde 1879, cuando Galton (citado por Busvine, 1971) observó que la variación en los seres vivos frecuentemente muestra una distribución geométrica y no aritmética.

Del mismo modo, la ley de Weber-Fechner declara que el mínimo incremento en la estimulación en los órganos en los sentidos, es proporcional a la magnitud del estímulo; lo que indica que la sensibilidad es una función del logaritmo del estímulo (Busvine, 1971). Si ahora se grafica la proporción de organismos que corresponden contra el logaritmo de la dosis con que fueron tratados, obtenemos una curva sigmoideal simétrica. La cohesión de los valores de dosis a logaritmos, provoca una reducción progresiva del eje de las abscisas, de

tal manera que el punto de inflexión de la curva sigmoide resultante coincide con el valor de 50% en el eje de las ordenadas (Hewlett y Plackett, 1979).

Se puede entender mejor que la DL_{50} es un parámetro representativo, si construimos un histograma de frecuencias con los datos de un bioensayo, graficando la frecuencia de mortalidad (el número de individuos que responden a una dosis menos el número que responde a una dosis menor) contra la dosis (clases). Observamos que las respuestas cualitativas exhiben una distribución similar a la normal.

Tipos de bioensayo

Bioensayo directo.- consiste en la aplicación de una dosis única a un organismo, o en el incremento del estímulo en un periodo de tiempo. Involucra la medición de la cantidad exacta de tóxico que produce un determinado nivel de intoxicación en un individuo; en este tipo de pruebas la variable de interés es la dosis.

Bioensayo indirecto.- Consiste en la aplicación de una dosis a una muestra representativa de la población, de manera que los resultados son atribuidos a la población de donde se extrajo la muestra.

Métodos de bioensayo

Aplicación tópica.- consiste en la aplicación de una cantidad conocida del toxico sobre el cuerpo del organismo

Fumigación.- se refiere a la confinación del organismo en un contenedor cerrado donde se libera un toxico que ejerce acción toxica en su fase de vapor.

Exposición residual.- el organismo se expone a un ambiente contaminado con cierta concentración del toxico. Busvine (1971) menciona que este tipo de exposición puede realizarse mediante diversos experimentos: inmersión del organismo en soluciones del toxico, aspersión de insecticida sobre substratos o alimento o pintado de superficies con soluciones toxicas. Al respecto Champ y Dyte (1976) señalan que el empleo de pruebas con grano impregnados con polvo y la aspersión sobre insectos plante a dificultades con respecto a la repetibilidad de dosis de aplicación y a la captación uniforme de insecticida por los organismos de prueba, señalan además, que la aplicación tópica y la exposición a películas residuales son procedimientos con mejores características que las anteriores. Los citados investigadores añaden que, a pesar de lo laborioso del procedimiento, la aplicación tópica es el método mas empleado para detectar resistencia.

Factores que afectan los resultados del bioensayo

La respuesta de un organismo a un toxico es característicamente especifica, y puede variar entre razas, estados y sexos dentro de una misma especie, y ser afectada por el procedimiento experimental o el método empleado para medir la respuesta.

Factores inherentes al organismo de prueba

Champ y Dyte (1976) mencionan que algunas características inherentes a la biología del ácaro o al insecto como fase de desarrollo, edad, peso y sexo de los individuos de prueba influyen definitivamente sobre la respuesta de los organismos en el bioensayo.

Edad y estado de desarrollo.- En farmacología se acepta de manera general que entre mas peso tenga un organismo requerirá mayor dosis de un toxico para producir cierto efecto (Matthews, 1984). Las diferencias en susceptibilidad a insecticidas de los estados sucesivos del ciclo vital de los ácaros o insectos, se deben presumiblemente a los cambios en anatomía, fisiología y tamaño por los que pasan. Por esta razón, las diferencias en susceptibilidad se manifiestan mas en individuos con metamorfosi completa que los que presentan metamorfosis parcial.

Del mismo modo la susceptibilidad en cada etapa en la vida del ácaro o el insecto esta afectada por diferentes causas: desarrollo y cambios asociados a la muda en larvas y ninfas; reorganización anatómica y cambios en el metabolismo en huevecillos y pupas y, cambios en el habito alimenticio, madures sexual y edad del adulto (Busvine, 1971).

Champ y Dyte (1976) señalan que los estados de reposo metabólico, afectan la respuesta de los ácaros e insectos a los tóxicos. La selección en larva produce mayor resistencia que la selección en adulto debido a que, en general la larva tiene mayor capacidad metabólica (Lagunes y Villanueva, 1994)

Sexo.- De manera general en ácaros e insectos los machos son mas susceptibles a insecticidas que las hembras.

Factores inherentes al procedimiento experimental

El protocolo para cada bioensayo contiene una serie de especificaciones que indican el tratamiento que se dará al organismo durante el desarrollo del experimento y después de este. La combinación de tales factores repercuten directamente en los resultados del ensayo y caracterizan a cada procedimiento.

Factores ambientales y alimentación.- Matthews (1984) consigna que la mayoría de los insecticidas hay una correlación positiva entre la toxicidad y la temperatura, pero en casos como el DDT y algunos piretroides es inversa.

Busvine (1971) menciona que la iluminación puede modificar el comportamiento del ácaro o insecto, lo que puede influir en la sobre vivencia directamente al afectar la tasa metabólica, o bien influir indirectamente en los bioensayos en que el individuo incremente la dosificación recibida al desplazarse sobre una superficie tratada. Con respecto a la dieta el citado autor señala la cantidad y calidad de esta puede afectar el tamaño y la capacidad

de sobre vivencia del ácaro. Además de que puede existir una diferencia en la tolerancia entre individuos recién alimentados y aquellos que se han alimentado por un tiempo.

Método de exposición.- Champ y Dyte (1976) recomiendan seleccionar una fase apropiada del ciclo biológico del acaro a tratar y elegir un tipo apropiado de bioensayo para medir la respuesta. El bioensayo mas satisfactorio es aquel que ofrezca en los resultados la menor heterogeneidad, la pendiente mas pronunciada y el menor valor de DL_{50} .

Criterio de mortalidad.- la elección de la respuesta a medir en un bioensayo es discrecional, tiene la única condición de que este relacionada con la medición de la tolerancia al toxico. Entre los criterios empleados podemos encontrar: ausencia de movimiento, derribo (Knockdown) definido por Champ y Dyte (1976) como la incapacidad de desplazarse al menos una distancia equivalente a la longitud de su cuerpo (Magaro y Edelson, 1990), respuestas tan exóticas como el habito tejedor en arañas (Samu y Vollrath, 1992) o tan complejas como un sistema de clasificación asociado.

Tiempo de evaluación.- el tiempo que transcurre entre el inicio de la exposición o tratamiento, y la evaluación de la respuesta influye en el tipo y grado de esta ultima. La exposición al plaguicida puede ser continua o puede establecerse un periodo limitado de exposición seguido de un periodo de recuperación que tiene una duración suficiente para que se establezca la respuesta (Champ y Dyte, 1976). El tiempo de exposición depende del tipo de bioensayo y también de las características de la acción del plaguicida.

Solventes.- para establecer un vehículo mediante el cual se aplicara el toxico, o se impregnara una superficie, el plaguicida debe mezclarse con un solvente, este puede ser de naturaleza no volátil como el aceite de olivo o el aceite Risella; o bien, volátil como la acetona, el metil-etil-cetona o el xileno.

Busvine (1971) señala que a pesar de que la mayoría de las especies pueden sobrevivir a la asfixia por varias h, algunos líquidos pueden penetrar el sistema traqueal con consecuencias funestas. El mismo autor indica que los hidrocarburos insaturados, solventes clorinados y ácidos grasos libres, parecen poseer toxicidad farmacológica, cuya acción se acelera si penetran al sistema traqueal del insecto. Debido a su alta volatilidad, facilidad de adquisición y capacidad para disolver a la mayoría de los plaguicidas, la Sociedad Americana de Entomología (ESA, por sus siglas en ingles) recomienda el uso de acetona como solvente universal para las pruebas de detección de resistencia. Champ y Dyte (1976)mencionan que la utilidad del aceite Risella, como solvente en la impregnación del papel, reside en que resulta inocuo a la mayoría de los insectos, presenta buenas características de solubilidad con respecto a muchas insecticidas y es de fácil obtención.

Tamaño De Muestra.- Robertson *el al.* (1984) consideran que para obtener una estimación confiable en una regresión dosis-mortalidad se requiere de una muestra con un mínimo de 120 individuos, y señalan que una muestra de 240 organismos o mas, aumentaba considerablemente la precisión.

Uso de bioensayos en el orden acarina

Inmersión en portaobjetos (FAO, 1974).

Propuso este método estandarizado para la detección de resistencia en adultos de los ácaros *Tetranychus* spp. Y *Panonychus ulmi* (Tetranychidae). En este procedimiento, se

pega una tira de cinta adhesiva, sobre un portaobjetos y con la ayuda de un pincel, se colocan dorsalmente ácaros hembra adultos sobre la cinta, procurando hacerlo en 5 hileras de 10 individuos y evitando los 0.65 cm del extremo del portaobjetos. Posteriormente este debe introducirse en un recipiente con solución acaricida (producto técnico en acetona-agua, más humectante), de tal manera que los ácaros queden sumergidos en la solución; enseguida deberá agitarse suavemente por 5 s, para después retirarlo del recipiente y colocarlo de canto sobre un material absorbente.

Ya secos, los portaobjetos se trasladan a una cámara a 27°C y 95 % de humedad relativa (HR), donde son confinados por 24 h. Al examinar los ácaros bajo estereoscopio, se considera muertos a aquellos que sean incapaces de responder con movimientos de las patas, después de haber sido estimulados ligeramente con un pincel fino (Anónimo, 1974).

El método de inmersión en portaobjetos ha sido reproducido con varias especies, Riedl y Hoying (1983) lo emplearon con *Tetranychus urticae* (Tetranychidae), mientras que Iftner y Hall (1983), lo utilizaron con *T. urticae* y *P. ulmi*. Por otra parte, Knowles *et al.* (1988) hicieron lo propio con *Rhizoglyphus eechinopus* (Acaridae). En experimentos con este último ácaro, Osborne y Pettitt (1985) realizaron bioensayos con adultos y huevecillos, utilizando también el método de la FAO, para determinar susceptibilidad a soluciones de jabón formulado. En el caso de huevecillos, colocaron de 15 a 20 huevecillos por portaobjetos y evaluaron el porcentaje de eclosión en los tratamientos a 144 h después de la inmersión.

Inmersión en hoja (FAO, 1974).

Royalty y Perring (1987) determinaron la susceptibilidad de *Acolops lycopersici* (Eriophyidae) a varios acaricidas. El método consistió en confinar, con dispositivos de acrílico a grupos de 10 ácaros hembra sobre hojas de tomate tratadas por inmersión en una mezcla de solución acuosa de acaricida formulado y 0.25 ml de solución de humectante (Tritón al 50%). La evaluación de la respuesta la llevaron a cabo 48 h después del tratamiento, conservando vivos a aquellos ácaros que, al ser estimulados con un pincel, moviesen patas o abdomen.

Welty *et al* (1988) compararon dos bioensayos para detectar poblaciones resistentes de *P. ulmi* a cihexatin. Uno de los ensayos era una modificación del método previamente descrito para detectar resistencia a dicofol en *Tetranychus* spp (Dennhey *et al.*, 1987). La modificación consistía en agregar, a la caja ya tratada, una esponja de celulosa (10 mm de diámetro x 6 mm) y 4 gotas de agua. En el otro método emplearon una caja petri con una hoja de manzano tratada por inmersión, la cual descansaba sobre una almohadilla de algodón húmedo; una tira de algodón húmedo colocada a lo largo de cada lado de la hoja, confinada a los ácaros en este ensayo. La mortalidad se evaluó en el primer método a las 24 h y a las 72 h en el segundo.

Película residual en caja petri (FAO, 1974).

Dennhey *et al.* (1987) evaluaron la utilidad de un método rápido de bioensayo para detectar resistencia a dicofol en *Tetranychus spp.* Ese ensayo consistía en tratar una caja petri de plástico (50 mm de diámetro x 9 mm) con 1 ml de solución de dicofol formulado en etanol. Después de agregar el acaricida la caja se tapaba y se giraba en todas direcciones durante 5 s, para luego descartar el exceso de solución y dejar abierta la caja por 15 minutos para que secase. Posteriormente se colocaba en ella un grupo de 20 ácaros hembra con ayuda de un pincel. La evaluación de los tratamientos se llevaba a cabo a 24 h de confinamiento, considerando muertos a aquellos ácaros que fueran incapaces de desplazarse al menos una longitud similar a la de su cuerpo al ser ligeramente estimulados con la punta de un pincel. Los citados investigadores validaron esta técnica comprobando con otros métodos de bioensayo y llegaron a determinar una concentración discriminante de 56.2 ppm. Esta misma metodología fue evaluada por Grafton-Cardwell *et al.* (1989) para la detección de resistencia a Propargite en el mismo género, en este caso la concentración discriminante fue de 1000 ppm.

Película residual en hoja (FAO, 1974).

Reséndiz (1988) evaluó la respuesta de *T. urticae* a Stirrup-M® (Alquenol-Multimetil) solo y mezclado con acaricidas, confinando a los ácaros sobre hojas tratadas con soluciones acuosas en una cámara de observación.

Pree *et al.* (1989), trabajando también con *P. ulmi* realizaron una comparación similar a la anteriormente descrita; en este caso compararon el método de Denney *et al.* (1987), tal y como este lo describe, con un bioensayo con discos foliares tratados. En este procedimiento asperjaron hojas de durazno con 5 mm de solución de dicofol con una torre Potter, de las mismas se obtuvieron discos de 1.5 cm de diámetro, que colocaron con el envés hacia abajo, sobre algodón húmedo. Posteriormente, confinaron a 10 hebras del acaro en cada disco y revisaron mortalidad a las 48 h de exposición.

Hoy y Conley (1989) evaluaron la resistencia de *T. pacificus* a Propargite, confinando de 25 a 30 hembras en discos foliares de frijol (3cm de diámetro) que descansaban sobre algodón húmedo sobre en un recipiente de plástico. Ya con los ácaros en los dispositivos, los asperjaron por 5 s, con una solución acuosa de propargite formulado, empleando una maquina aspersora (Crown Spra-Tool) mantenida a 23 cm del sustrato; evaluaron la mortalidad a 48 h después de la aspersión.

Además del bioensayo con inmersión en portaobjetos, la FAO también recomienda un ensayo ovo-larvicida. En este se trata una hoja o un disco foliar (2 cm de diámetro) mediante inmersión en solución acaricida, posteriormente se coloca sobre una almohadilla de algodón húmedo, o bien, se añade un pequeño tubo con agua al pecíolo de la hoja. Luego se colocan de 5 a 10 ácaros hembras sobre el haz o el envés de la hoja (de acuerdo con la planta y la especie del acaro). También es posible trabajar con hojas sin desprender de la planta y ensayar el efecto de la inmersión de esa parte de la planta sobre huevecillos y neonatos. Para ello pueden adicionarse de 5 a 10 hembras a una hoja, las cuales se remueven a la hoja al día siguiente, realizando un conteo de huevecillos. Posteriormente la

hoja con huevecillos se introduce en la solución acaricida por 5 s, con ligeros movimientos de agitación. El material tratado se mantiene en una cámara hasta la eclosión del tratamiento testigo, realizando la evaluación cuando los ácaros jóvenes a alcanzado el desarrollo deutoninfal. La evaluación del efecto del acaricida involucra un conteo de: a) huevecillos no eclosionados, b) ácaros muertos (incluyendo larvas, fases en reposos arrugadas y ninfas), c) ácaros vivos (incluidas fases en reposos sanas). De ese modo, el efecto puede calcularse en porcentaje de la siguiente manera: % Mortalidad ovo-larval = $(a+b)/(a+b+c)^{-1}$ (Anónimo, 1974).

Película residual en papel filtro (FAO, 1974).

Blair (1989) evaluó el efecto de 53 plaguicidas sobre huevecillos y adultos de *T. evansi*. En el ensayo con huevecillos se permitió que 10 a 12 hembras ovipositaran por 24 h sobre tiras de hojas de tabaco (20 x 25 mm). Las tiras de hojas de tabaco habían sido colocadas sobre tiras de papel filtro, que a su vez descansaban sobre un dispositivo de acrílico con agua que suplía de humedad al papel por medio de tiras de algodón.

Las tiras con los huevecillos se encubaron por 24 h y se observaron bajo el microscopio para eliminar huevecillos infértiles y dejar 12 o 13 huevecillos por tira. Las tiras infestadas se sumergieron en una solución de acaricida por 5 s y se dejaron escurrir antes de ser colocadas nuevamente sobre las tiras de papel húmedo.

Los dispositivos se cubrieron con un pabellón de polietileno y se mantuvieron a $25 \pm 2^\circ \text{C}$ por 7 días registrando el número de huevecillos eclosionados al fin de ese periodo. Para la evaluación con adultos, se trataron por inmersión durante 5 s, 4 hojas de plantas de tabaco desarrolladas en maceta, las hojas se dejaron secar y luego se les untó vaselina al rededor del pecíolo. Posteriormente se colocó en cada hoja tratada 25 ácaros (no sexados). El registro de mortalidad se llevo a cabo a 48 h después, repitiendo cada 24 h durante 8 días.

Keena et al. (1991) Evaluaron la respuesta de huevecillos de *Tetranychus* spp. Al acaricida hexythianox, para ello confinaron 24 h a 5 hembras grávidas en discos foliares (diámetro 2.1 cm) que descansaban sobre algodón empapado con agua. Luego, contaron los huevecillos y desecharon los discos que tuviesen menos de 5. Posteriormente los discos se trataron por inmersión en soluciones acuosas de hexythianox formulado. De manera paralela realizaron otro procedimiento en el que los discos de trataron primero y posteriormente se infestaron de la manera descrita. La evaluación de la eclosión de los huevecillos se llevó acabo después de mantener los discos a $29 \pm 1^\circ \text{C}$ y foto periodo 14:10 durante 96 h.

Luna (1993), utilizo la técnica de inmersión, para determinar líneas de respuesta dosis-mortalidad del acaro *T. urticae* Koch a acaricidas en la zona fresera de Abasolo, Guanajuato.

En 1993 Rosas utilizo foliolos de fresa con 25 ácaros (*Tetranychus urticae*) cada una, transferidos con la ayuda de un pincel fino, estos fueron colocados en cajas petri sobre un circulo de papel Whattman (no. 4) humedecido, en las cuales realizo pruebas de patogenicidad, determinando la Conidiogénesis de siete cepas de *Hirsutella thompoaii* Fisher y una cepa de *H nodulosa* Petch en medios líquidos y sustratos sólidos y su agresividad frente a *Tetranychus urticae* Koch.

Couoh (2001), utilizo el método de película residual en hoja. Utilizando discos de hojas de frijol con lo que evaluó parámetros poblacionales de *T. urticae* Koch (Acari: tetranychidae), expuestas a dosis subletales de Flufenoxuron.

Medina (2003) utilizo la técnica desarrollada por Ahmadi en 1983, donde transfirió ácaros hacia porciones circulares de hoja de plántulas de frijol de 30 mm de diámetro hechos con un sacabocados, manteniéndolas sobre su envés en cajas petri provistas de algodón saturado de agua, el bioensayo le permitió determinar la CL₅₀ de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) al acaricida Etoxazole.

En el mismo año Ocampo utilizo el mismo método de bioensayo para determinar la CL₅₀ de un formulado a base de abamectina, piretro natural, azadiractina (Neem), contra *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae).

Productos Utilizados

Dicofol

Fue introducido como acaricida en 1952. En 1986, su uso fue cancelado temporalmente la EPA debido a las preocupaciones levantadas por los altos niveles de contaminación.

Sin embargo, fue reinstalado cuando demostraron que los procesos de fabricación modernos pueden producir dicofol técnico conteniendo menos de 0,1% de DDT.

En México es, solo puede utilizarse bajo supervisión de personal autorizado (CICOPLAFEST, 1991) es un acaricida de contacto e ingestión, que controla adultos (machos y hembras), larvas y ninfas de arañas en frutales, hortalizas, y ornamentales.

Su DL_{50} oral en ratas es 575 a 960 mg/kg, en conejos, y en ratones es 420 a 675 mg/kg. La DL_{50} cutánea en ratas es de 1000 a 5000 mg/kg, y en conejos está entre 2000 y 5000 mg/kg.

Es un acaricida específico, por lo que no tiene efecto sobre fauna benéfica como abejas y es compatible con la mayoría de los insecticidas y funguicidas excepto con los de fuerte reacción alcalina.

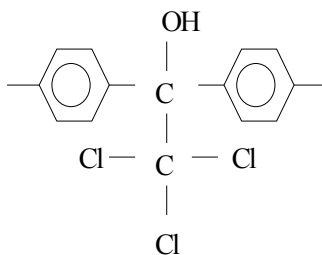
Nombres comerciales: Cekudifol, Decofol, Dicaron, Dicomite, Difol, Hilfol, Kelthane, y Mitigan.

Aspecto: El dicofol puro es un sólido cristalino blanco. El dicofol técnico es un rojo marrón o líquido viscoso ambarino.

Nombre químico: 1,1,1-tricloro 2,2, bis(p-clorofenil) etanol

Formula molecular: $C_{14}H_9Cl_5O$

Estructura química:



Modo de acción : Actúa sobre el sistema nervioso bloqueando la transmisión eléctrica del impulso nervioso al nivel de la membrana del axón interfiriendo en el balance sodio potasio.

Bionex

Es un producto comercial que actúa como coadyuvante.

Ingrediente activo: Alcohol tridecíclico polioxietileno. Nonil fenol polioxietileno.

Incompatible con todos los agroquímicos de acción neutra, sin embargo se recomienda hacer una pequeña prueba de compatibilidad antes de proceder a su mezcla con otros materiales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buena vista, Saltillo, Coahuila. Durante el periodo comprendido de Octubre del 2003 a Mayo de 2004. La especie utilizada para el estudio fue *Tetranychus urticae* Koch. Partiendo de una línea de laboratorio, se desarrolló la colonia sobre plantas de frijol variedad lima, con la finalidad de poder contar con suficiente material biológico. Manteniéndolas a una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 20-60 HR y en condiciones de 12:12 luz-oscuridad respectivamente.



Figura 1. – Plántulas de fríjol utilizadas para reproducir colonias de *Tetranychus urticae*.

Establecimiento de los Bioensayos

Para poder establecer las metodologías de bioensayo, se emplearon dosis altas de dicofol partiendo de 10000 hasta 500 ppm, ya que el objetivo de la presente investigación no es obtener la CL_{50} , si no ver la eficiencia de estos en el orden acarina.

Métodos de bioensayo por inmersión

Técnica de inmersión en hoja (FAO, 1974)

Para obtener las soluciones a diferentes concentraciones se partió de una solución madre de 10 000 ppm en 300 ml utilizando como solvente agua y el Bionex® como coadyuvante. Se diluyo el producto a 7000 ppm; tomando 70 ml de la solución madre y agregando 30 ml de agua; para la solución de 5000 se tomo 50 ml de solución madre y se agrego 50 ml de agua; para la de 3000 ppm se tomaron 30 ml de la solución madre y se agregaron 70 ml de agua, para la solución de 1000 ppm se tomaron 10 ml de solución

madre y se agregaron 90 ml de agua y finalmente para la solución de 500 ppm se tomaron 5 ml de solución madre y se agregaron 95 ml de agua.

Se escogieron 21 hojas con el mayor número de ácaros hembras adultos de *Tetranychus urticae* Koch de la colonia, se realizó un conteo bajo el microscopio, se sumergieron 3 hojas por 5 s. en cada tratamiento de la solución acaricida, mas el testigo, se colocaron en papel de estraza dejándolas secar, posteriormente se colocaron en las charolas sobre la esponja previamente inundada con agua.

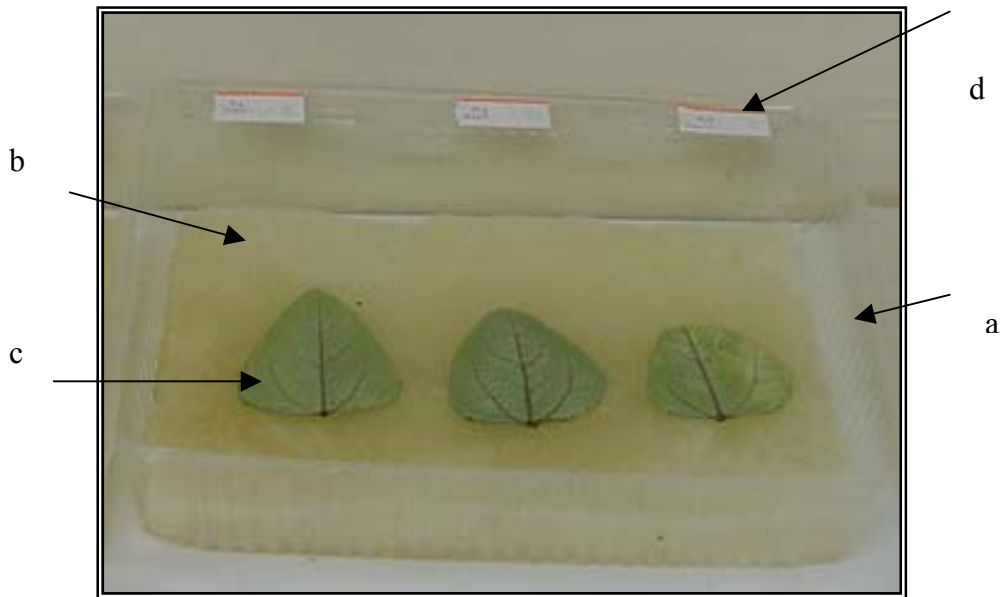


Figura 2. – Charola de tratamiento: (a) charola de plástico; (b) esponja saturada con agua; (c) hoja de frijol con ácaros; (d) etiqueta de identificación.

Los conteos se realizaron a las 24, 48 y 72 h con ayuda de un microscopio estereoscopio. Se considero como criterio de muerte a los ácaros que no presenten movimientos mas allá del tamaño de su cuerpo y aquellos que no presentaran movimiento al estimularlos con un pincel.

Los datos de mortalidad de las diferentes lecturas obtenidas del bioensayo se corrigieron mediante la formula de Henderson-Tilton (CIBA-GEIGY, 1981), que continuación se muestra:

$$\text{Formula : \% de eficacia} = \left(1 - \frac{Td * Ca}{Cd * Ta} \right) \times 100$$

Ta = infestación en parcela tratada antes del tratamiento.

Td = infestación en parcela tratada después del tratamiento.

Ca = infestación en parcela testigo antes del tratamiento.

Cd = infestación en parcela testigo después del tratamiento.

Técnica de inmersión en portaobjetos (FAO, 1974) modificado.

Se escogieron hojas con el mayor número de ácaros hembra adultos. Sobre un portaobjetos se colocó cinta adhesiva. La hoja se colocó por el envés sobre la cinta, se

presionó ligeramente y se retiró, permitiendo colocar los ácaros en forma dorsal, se realizó un conteo bajo el microscopio.

Las soluciones de las diferentes concentraciones se obtuvieron de la misma forma como se describe en la técnica de inmersión en hoja. Se sumergieron 3 portaobjetos por 5 s. en cada tratamiento de la solución acaricida, mas el testigo, después se colocaron en un papel absorbente dejándolos en decanto finalmente se colocaron en charolas.



Figura 3. – porta objetos, listo para sumergirlo en la solución acaricida.

El conteo se realizó a las 24, 48 y 72 h con ayuda de un microscopio estereoscópico. Se consideró como criterio de muerte a los ácaros que no movieran las patas al ser estimulados con un pincel.

Los datos de mortalidad de las diferentes lecturas obtenidas del bioensayo se corrigieron mediante la fórmula de Abbott (1925):

$$\% \text{ Mort. Corr.} = \frac{\% \text{ Mort. Trat.} - \% \text{ Mort. Testigo}}{100 - \% \text{ Mort. testigo}} \times 100$$

Métodos de bioensayo por película residual

Película residual en hojas (Royalty y Prina, 1987) modificado.

Se escogieron hojas vigorosas sin ácaros, de plántulas de frijol donde se trazaron y cortaron círculos de 2.5 cm de diámetro. Las soluciones de las diferentes concentraciones se obtuvieron de la misma forma como se describe en la técnica de inmersión en hoja. Los círculos se trataron por 5 s sumergiéndolos en la dosis correspondientes. Se dejaron secar sobre papel de estraza.

Ya secas se colocaron en charolas, sobre esponjas previamente inundadas. Con la ayuda de un cabello pegado a la punta de una aguja, las hembras fueron separadas de la colonia por el método sencillo de selección bajo el microscopio (Jeppson *et al.* 1975), y se colocaron 20 ácaros hembras adultas por cada círculo.

La toma de datos se realizó a las 24, 48, 72, 96, 120, y 144 h. Se consideró como criterio de muerte a los ácaros que no presenten movimientos más allá del tamaño de su cuerpo y aquellos que no presentaran movimiento al estimularlos con un pincel.

Los datos de mortalidad de las diferentes lecturas obtenidas del bioensayo se corrigieron mediante la fórmula de Abbott (1925) descrita en el método de inmersión en portaobjetos.

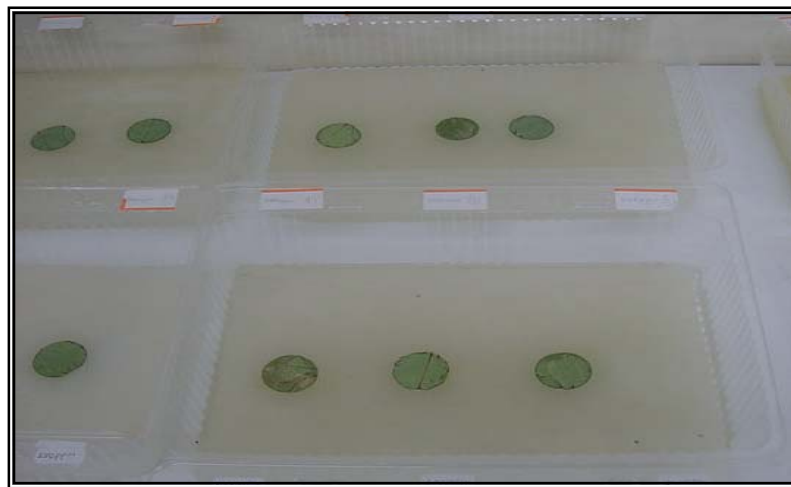


Figura 4. – Charola de tratamiento: (a) charola de plástico; (b) esponja saturada con agua; (c) circulas de hojas de frijol con ácaros; (d)

Película residual en papel filtro (Welty *et al*; 1988) modificado.

Este método es una modificación al descrito por Dennhey *et al*. 1987, la modificación consistió que en lugar de tratar la caja petri, se trataron círculos de papel filtro

de 2.5 cm de diámetro. Las soluciones de las diferentes concentraciones se obtuvieron de la misma forma como se describe en la técnica de inmersión en hoja. Los círculos se sumergieron por 5 s en la dosis correspondiente. Se dejaron secar sobre papel de estraza.

Para su conservación se utilizó un sándwich, utilizando papel cascaron y un círculo de acrílico cubierto con tela de chifon. Con la ayuda de un cabello pegado a la punta de una aguja, 20 hembras fueron separadas de la colonia por el método sencillo de selección bajo el microscopio (Jeppson *et al.* 1975), y colocadas sobre la tela del lado del círculo de acrílico, posteriormente se colocó el círculo de papel filtro tratado cubriendo al círculo y sobre él se colocó el papel cascaron, para sujetarlo se utilizaron ligas en los extremos del sándwich.

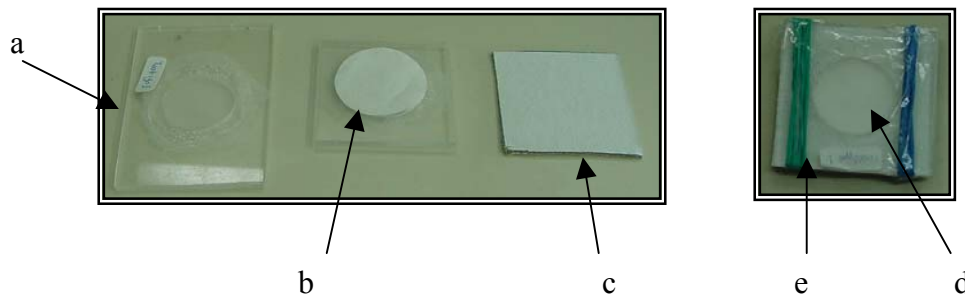


Figura 5. – Sándwich de conservación (a) círculo de acrílico; (b) círculo de papel filtro; (c) papel cascaron; (d) tela de chifon; (e) sándwich prensado con ligas.

La toma de datos se realizo a las 24 ,48 y 72 h. Se considero como criterio de muerte a los ácaros que no presenten movimientos mas allá del tamaño de su cuerpo y aquellos que no presentaran movimiento al estimularlos con un cabello.

Los datos de mortalidad de las diferentes lecturas obtenidas del bioensayo se corrigieron mediante la formula de Abbott (1925) descrita en el método de inmersión en portaobjetos.

Película residual en caja petri (Dennhey et al. 1987) modificado.

Para obtener las soluciones a diferentes concentraciones se partió de una solución madre de 10 000 ppm de 30 ml. Se diluyo el producto a 7000 ppm tomando 7 ml de la solución madre y agregando 3 ml de etanol; para la solución de 5000 se tomo 5 ml de solución madre y se agrego 5 ml de etanol; para la de 3000 ppm se tomaron 3 ml de la solución madre y se agregaron 7 ml de etanol; para la solución de 1000 ppm se tomaron 2 ml de solución madre y se agregaron 18 ml de etanol y, finalmente para la solución de 500 ppm se tomaron 5 ml de la solución de 1000 ppm y se agregaron 5 ml de etanol.

Este bioensayo consistió en tratar una caja petri de vidrio, con 1 ml de la dosis, después de agregar el producto este se disperso por toda la superficie, luego se dejo secar. A las cajas previamente se les coloco plastilina en la orilla.

Con la ayuda del cabello las hembras fueron separadas de la colonia por el método sencillo de selección bajo el microscopio (Jeppson *et al.* 1975), y se colocaron 20 ácaros hembras adultas por cada caja tratada serrándolas, así la plastilina cumplió con la función del sellado e impedir que los ácaros se escaparan de la caja.

El conteo se realizó a las 24, 48 y 72 h, con ayuda de un microscopio estereoscópico. Se considero como criterio de muerte a los ácaros que no presenten movimientos mas allá del tamaño de su cuerpo y aquellos que no presentaran movimiento al estimularlos con un pincel.

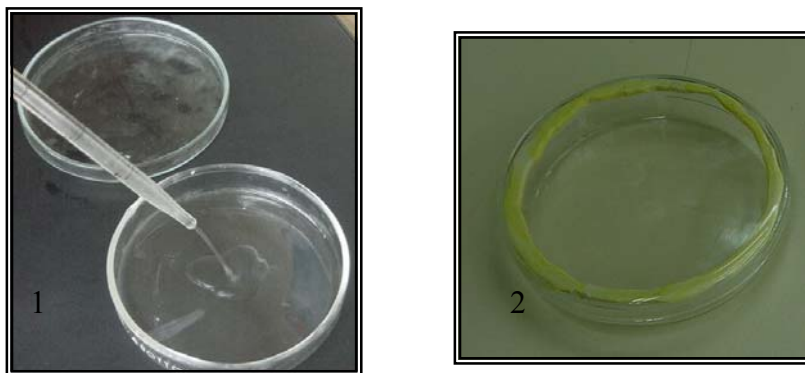


Figura 6. – (1) Aplicación del producto a la caja petri; (2) Caja sellada con plastilina.

Los datos de mortalidad de las diferentes lecturas obtenidas del bioensayo se corrigieron mediante la formula de Abbott (1925) descrita en el método de inmersión en portaobjetos.

Película residual en tubo de ensayo

Para este método las soluciones de las diferentes concentraciones se obtuvieron de la misma forma como se describe en la técnica de película residual en caja petri. Este ensayo consistió en tratar un tubo de ensayo, con 1 ml de la dosis, después de agregar el producto este se disperso por toda la superficie, luego se dejó secar. Como tapa se utilizó papel aluminio.

Con la ayuda de un cabello pegado a la punta de una aguja las hembras fueron separadas de la colonia por el método sencillo de selección bajo el microscopio (Jeppson *et al.* 1975), y se colocaron 20 ácaros hembras adultas por cada tubo.



Figura 7. – Tubos de ensayo tratados con dicofol para el bioensayo de película residual respectivo.

El conteo se realizó a las 24, 48 y 72 h, con ayuda de un microscopio estereoscópico. Se consideró como criterio de muerte a los ácaros que no presenten movimientos más allá

del tamaño de su cuerpo y aquellos que no presentaran movimiento al estimularlos con un pincel.

Los datos de mortalidad de las diferentes lecturas obtenidas del bioensayo se corrigieron mediante la fórmula de Abbott (1925) descrita en el método de inmersión en portaobjetos.

Análisis de resultados

Los datos corregidos se analizaron en el programa Probit computarizado, para obtener la CL₅₀ y CL₉₅, así como las líneas de respuesta concentración-mortalidad y límites fiduciales. Los resultados fueron graficados en papel logaritmo-Probit. Obteniendo también, la r^2 , X^2 mediante la fórmula:

$$X^2 = \frac{(\% \text{ Mort. Observada} - \% \text{ Mort. Esperada})^2}{(\% \text{ Mort. Esperada})(100 - \% \text{ Mort. Esperada})}$$

Además se realizó el Análisis de varianza (SAS Institute, 1982) mediante un diseño completamente al azar comparando los diferentes métodos de bioensayo.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

El efecto de una serie de concentraciones del acaricida dicofol, se cuantificó sobre el acaro dos manchas, (*Tetranychus urticae*), probando los diferentes bioensayos, que permitió construir las respectivas líneas de concentración-mortalidad. Con el propósito de obtener las diferentes líneas de respuesta del dicofol, para cada uno de los bioensayos, comprendió rangos de 500 a 10000 ppm.

Por lo que respecta a los valores de CL_{50} , CL_{95} , así como sus límites fiduciales, Coeficiente de correlación (r^2), chi-cuadrada (X^2), grados de libertad (G.L), y probabilidad de ocurrencia se muestran en los cuadros 1 al 12.

Métodos de bioensayo por película residual

Película residual en hoja.

Con respecto CL_{50} de ácaros expuestos a dicofol en el cuadro 1 podemos observar que a las 24 h la CL_{50} se ubico en 78778 ppm y a las 144 h de 2123 ppm. Sus limites fiduciales se ubicaron entre 25406 - 206886415 y 1872 - 2394 respectivamente; al comparar los resultados obtenidos con investigaciones realizadas con el producto dicofol para el control de *Tetranychus urticae* Koch, Dennehy *et al.* (1983), obtuvo una CL_{50} de 8590 ppm, este resultado es similar a nuestro resultado.

Cuadro 1. CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales de dicofol por el método de película residual en hoja. UAAAN 2004.

Fecha	CL_{50}	Límites fiduciales		CL_{95}
		LFI	LFS	
24 h	78777.82	25405.58	206886415	1153370.02
48 h	53329.30	24607.25	422400.79	1417786.01
72 h	17883.67	12561.92	31438.59	342495.05
96 h	6771.85	5819.72	8146.83	50631.72
120 h	2825.87	3471.81	3211.93	16970.57

144 h	2122.89	1872.31	2394.47	9146.31
-------	---------	---------	---------	---------

En la figura 8 se presentan las líneas de respuesta dosis-mortalidad, las ecuaciones de predicción para dicofol donde podemos observar, que la línea presenta un inclinamiento un tanto horizontal, lo que nos indica que existe heterogeneidad en la población de *T. urticae*.

Como se puede observar X^2 que se obtuvo fue de 0.000, 0.021, 0.006, 0.086, 0.0919 y 0.1072 para 24, 48, 72, 96, 120 y 144 h, lo que indica un buen ajuste entre los puntos de mortalidad observada y esperada. Mientras que el coeficiente de correlación, oscilo entre 0.9821 y 0.8621.

Cuadro 2. Coeficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en hoja a las diferentes horas de exposición.

Dicofol	r^2	X^2	G. L.	Probabilidad
24	0.9821	0.000	2	0.99
48	0.9162	0.021	3	0.99
72	0.9518	0.006	4	0.99
96	0.9818	0.086	3	0.99
120	0.9032	0.0919	4	0.99
144	0.8621	0.1072	3	0.99

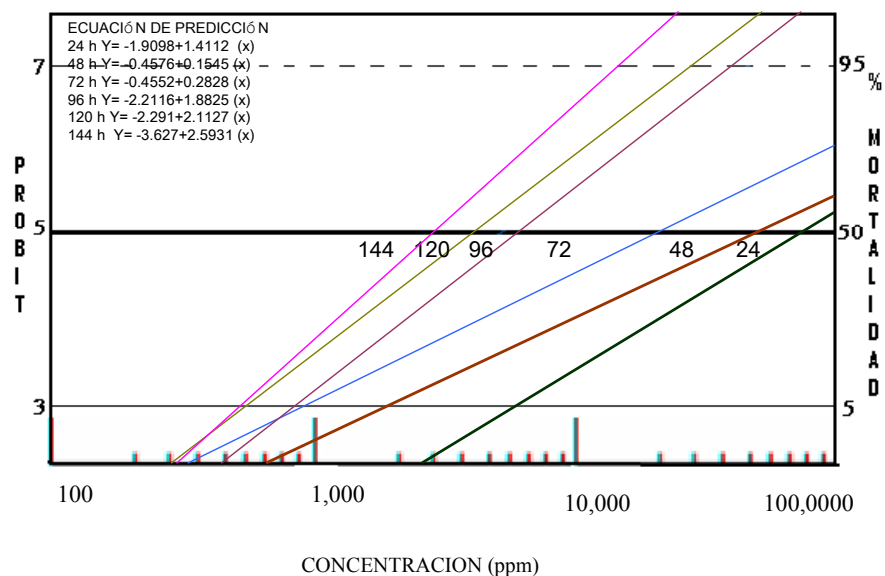


Figura 8., Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción de *Tetranychus urticae* Koch a Dicofol por el método de película residual en hoja. UAAAN 2004

Película residual en caja petri

En el cuadro 3 se muestran las CL_{50} obtenidas; siendo a las 24 h de 30394 ppm y a las 72 h de 2074 ppm respectivamente; sus límites fiduciales oscilaron entre 16788 -92978 a 24 h, y de 1784 - 2384 a 72 h; al comparar los resultados obtenidos con reportes de dicofol para el control de *Tetranychus urticae* Koch, Russell *et al.* (1981), por medio de este método obtuvo una CL_{50} de 339 en una colonia susceptible a dicofol, sus resultados son diferentes a los nuestros.

Cuadro 3. CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales de dicofol por el método de película residual en caja petri. UAAAN 2004.

Fecha	Límites fiduciales			
	CL ₅₀	LFI	LFS	CL ₉₅
24 h	30394.26	16788.02	92977.70	2691453.21
48 h	2771.35	2391.61	3192.73	21520.74
72 h	2073.75	1784.14	2383.68	14403.07

Las X^2 obtenidas fueron de 0.0105, 0.2005 y 0.1338 a las 24, 48 y 72 h respectivamente, lo que indica un buen ajuste entre los puntos de mortalidad observada y esperada. Mientras que el coeficiente de correlación, fue de 0.8603, 0.9477 y 0.9017 para 24, 48 y 72 h.

Cuadro 4. Coeficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en caja petri a las diferentes h de exposición.

Dicofol	r^2	X^2	G. L.	Probabilidad
24	0.8603	0.0105	4	0.99
48	0.9477	0.2005	4	0.99
72	0.9017	0.1338	4	0.99

En la figura 9 se observan las líneas de respuesta dosis-mortalidad, donde las líneas presentan una tendencia un tanto horizontal.

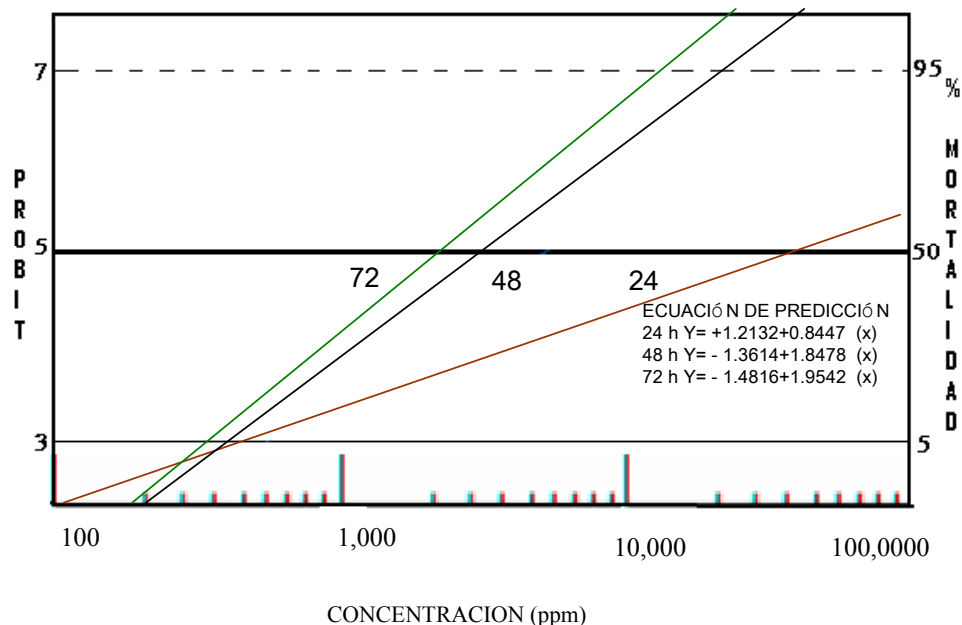


Figura 9. Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción, de *Tetranychus urticae* Koch a Dicofol por el método de película residual en caja petri. UAAAN 2004

Película residual en tubo

Con respecto a la CL_{50} del dicofol sobre ácaros expuestos a 24, 48 y 72 h en el cuadro 5 podemos observar que sus valores son de 41821, 12384 y 3204 respectivamente.

Cuadro 5. CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales del dicofol por el método de película residual en tubo. UAAAN 2004.

Fecha	CL_{50}	Límites fiduciales		
		LFI	LFS	CL_{95}
24 h	41821.25	1935.37	219484.26	11044457.19
48 h	12384.26	8041.14	25831.21	1827868.12

72 h	3204.30	2619.10	3932.20	69991.24
------	---------	---------	---------	----------

El coeficiente de correlación, fue de 0.8742, 0.7331, y 0.7969 para 24, 48 y 72 h respectivamente. Mientras que la X^2 obtenida fue de 0.030, 0.076 y 0.067 a las 24, 48 y 72 h, lo que indica un buen ajuste entre los puntos de mortalidad observada y esperada.

Cuadro 6. Coeficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en tubo a las diferentes h de exposición.

Dicofol	r^2	X^2	G. L.	Probabilidad
24	0.8742	0.030	4	0.99
48	0.7331	0.076	4	0.99
72	0.7969	0.067	4	0.99

En la figura 10, se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, las ecuaciones de predicción para dicofol por el método de película residual en tubo donde podemos observar la línea con tendencia horizontal lo que nos indica que existe heterogeneidad de la población de *T. urticae*.

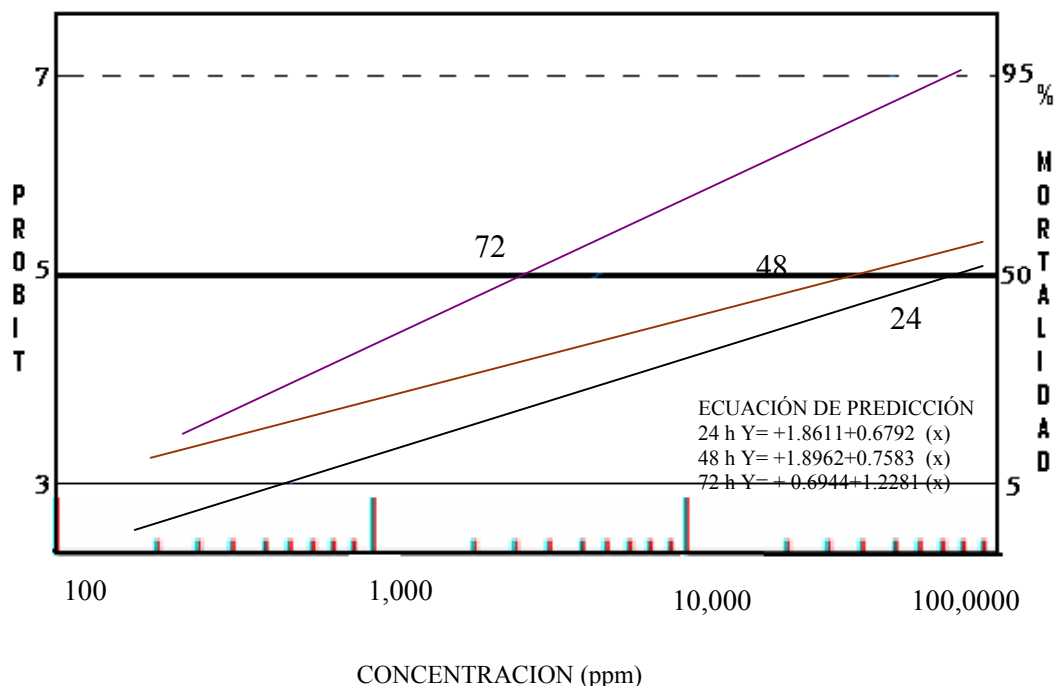


Figura 10. Líneas de respuesta concentración-mortalidad y ecuaciones de predicción, de *Tetranychus urticae* Koch a Dicofol por el método de película residual en tubo. UAAAN 2004

Película residual en papel filtro

En lo que respecta a las CL₅₀ fueron de 3789. ppm a las 24 h y 1529 ppm a las 48 h, con límites fiduciales entre 3250 - 4437 para 24 h y 1278.55-1792 en 48 h.

Cuadro 7. CL₅₀, CL₉₅ y límites fiduciales de dicofol por el método de película residual en papel filtro. UAAAN 2004.

Fecha	CL ₅₀	Límites fiduciales		CL ₉₅
		LFI	LFS	
24 h	3789.21	3250.40	4437.42	36389.78
48 h	1528.92	1278.55	1791.60	13100.87

Además presento una X^2 de 0.1425 con una r^2 de 0.9360 a 24 h; la X^2 a las 48 h fue de 0.0727 y su r^2 de 0.6806, lo que es considerado como bueno ya que esto indica un buen ajuste entre los puntos de mortalidad observada y esperada.

Cuadro 8. Coeficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de película residual en papel filtro a las diferentes h de exposición.

Dicofol	r^2	X^2	G. L.	Probabilidad
24	0.9360	0.1425	4	0.99
48	0.68062546	0.0727	4	0.99

En la figura 11 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, las ecuaciones de predicción para dicofol por el método de película residual en tubo donde podemos observar la línea es un tanto horizontal lo que nos indica que existe heterogeneidad en la población de *T. urticae*.

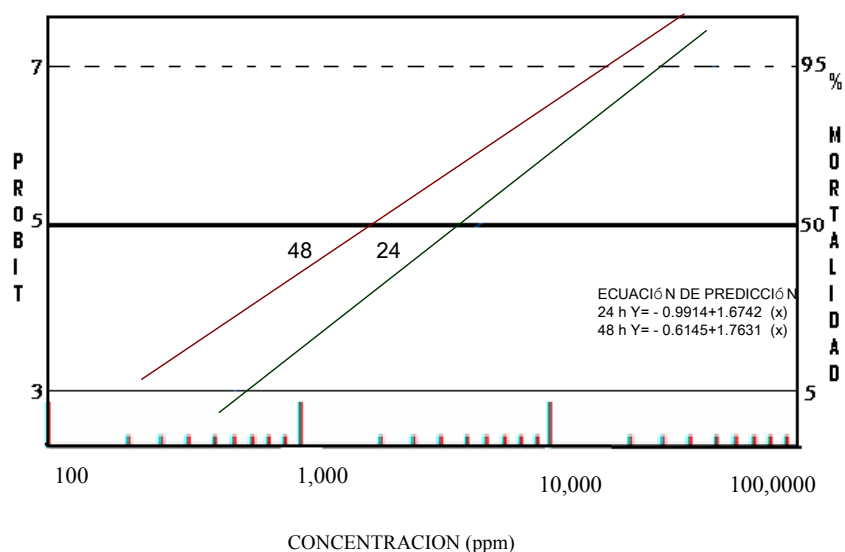


Figura 11. Líneas de respuesta concentración-mortalidad ecuaciones de predicción de *Tetranychus urticae* Koch a Dicofol por el método de película residual en papel filtro. UAAAN 2004.

Métodos de bioensayo por inmersión

Inmersión en hoja

En el cuadro 9 podemos observar que se obtuvo CL_{50} de 518 ppm a 72 h hasta 2322 a 24 h, sus imites fiduciales se ubicaron entre 339 - 672 y 2040 - 2622 respectivamente; al comparar los resultados obtenidos con reportes de dicofol para determinar la resistencia de *Tetranychus urticae* Koch a dicofol, encontramos que Timothy *et al.* 1983 Reportaron una CL_{50} de 4.9 ppm para cultivos susceptibles y una CL_{50} de 8590 ppm para el cultivos resistentes. Por otro lado Dennehy *et al.* (1988) obtuvieron una CL_{50} de 655 ppm y Martinson *et al.* en 1991 obtuvo una CL_{50} de 911 ppm;

Cuadro 9. CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales de dicofol por el método de inmersión en hoja.

UAAAN 2004.

Fecha	CL_{50}	Límites fiduciales		CL_{95}
		LFI	LFS	
24 h	2322.04	2039.73	2622.24	11614.62

48 h	776.69	635.82	917.73	4625.66
72 h	517.69	339.86	672.24	5889.09

En cuadro 10, presenta los coeficientes de determinación (r^2) para líneas de regresión dosis-mortalidad para 24, 48, y 72 h donde se puede observar que los valores estimados oscilan entre 0.4781 y 0.8351; estos resultados indican que se tubo una correlación alta. El valor de X^2 obtenida oscilo entre los valores de 0.105 y 0.259

Cuadro 10. Coeficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de inmersión en hoja a las diferentes h de exposición.

Dicofol	r^2	X^2	G. L.	Probabilidad
24	0.8351	0.105	4	0.99
48	0.5681	0.185	4	0.99
72	0.4781	0.259	4	0.99

En la figura 12 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, las ecuaciones de predicción para dicofol por el método de inmersión en hoja. En esta figura podemos observar que se obtuvieron CL_{50} de 2322, 776 y 518.

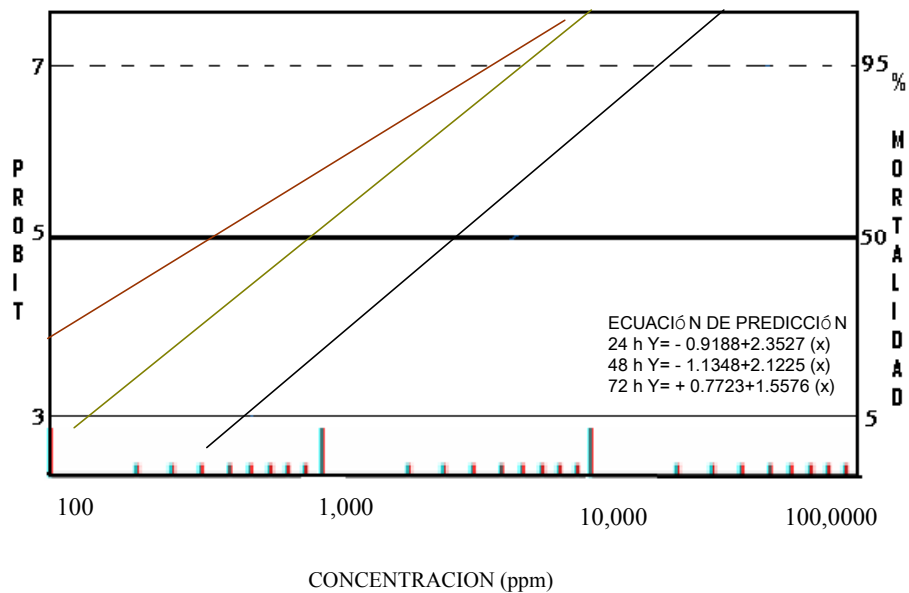


Figura 12. Líneas de respuesta concentración-mortalidad y Ecuaciones de predicción, de *Tetranychus urticae* Koch a *Dicofol* por el método de inmersión en hoja. UAAAN 2004.

Inmersión en porta objetos

En el cuadro 11 podemos observar que se obtuvo CL_{50} de 110 ppm a 72 h hasta 3291 a 24 h, sus límites fiduciales se ubicaron entre 2729 - 3982 y 16 - 247 respectivamente; al comparar resultados obtenidos con investigaciones realizadas con este método encontramos que en 1961 Dittrich reportó una CL_{50} de 0.055 ppm a las 24 h de exposición de *dicofol* en *T. telarius*.

Cuadro 11. CL_{50} , CL_{95} y límites fiduciales de *dicofol* por el método de inmersión en porta objetos. UAAAN 2004.

Fecha	CL ₅₀	Límites fiduciales		CL ₉₅
		LFI	LFS	
24 h	3291.42	2729.51	3981.60	56515.80
48 h	3830.82	225.12	552.78	8829.61
72 h	110.00	15.62	246.54	6201.98

En la figura 13 se exponen las líneas de respuesta dosis-mortalidad, las ecuaciones de predicción para dicofol por el método de inmersión en portaobjetos donde podemos observar la línea es un tanto horizontal lo que nos indica que existe heterogeneidad en la población de *T. urticae*.

Como se puede observar en el cuadro 12 la X^2 que se obtuvo fue de 0.276, 0.1088 y 0.1514 para 24, 48 y 72 h, lo que indica un buen ajuste entre los puntos de mortalidad observada y esperada. Mientras que el coeficiente de correlación, oscilo entre 0.9124831 y 0.2864685

Cuadro 12. Coeficiente de correlación, chi-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de ocurrencia del evento del bioensayo de inmersión en porta objetos, a las diferentes h de exposición.

Dicofol	r^2	X^2	G. L.	Probabilidad
24	0.9124831	0.276	4	0.99
48	0.46932	0.1088	4	0.99
72	0.2864685	0.1514	4	0.99

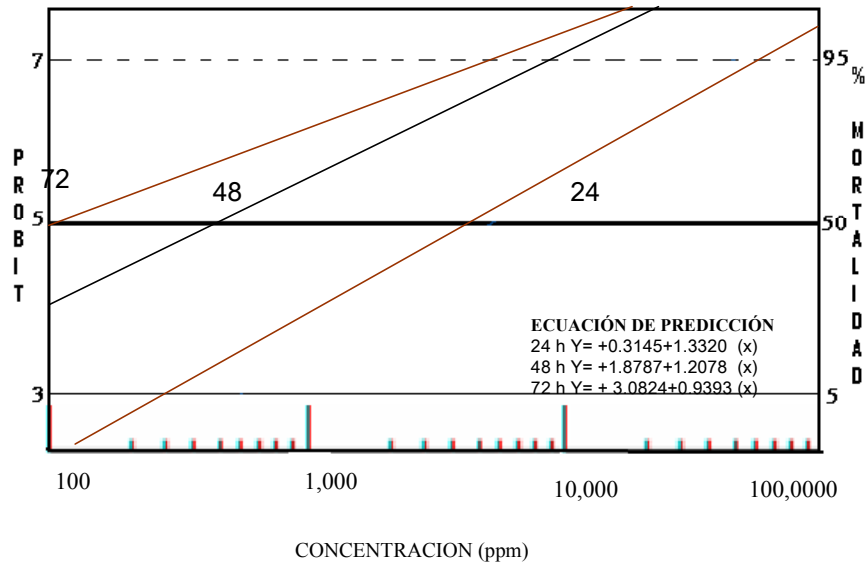


Figura 13. Ecuaciones de predicción, líneas de respuesta concentración-mortalidad de *Tetranychus urticae* Koch a dicofol por el método de inmersión en portaobjetos.

Comparación de bioensayos a 24 h

En la figura 14 podemos observar las líneas de respuesta concentración-mortalidad de todos los bioensayos a 24 h de exposición observándose la variabilidad de comportamiento en cada bioensayo; los bioensayos de inmersión presentan una CL_{50} mas bajas que los métodos de película residual debido a que estos fueron sumergidos directamente a la solución acaricida, y los bioensayos de película residual necesitan mas tiempo para tener una CL_{50} menores.

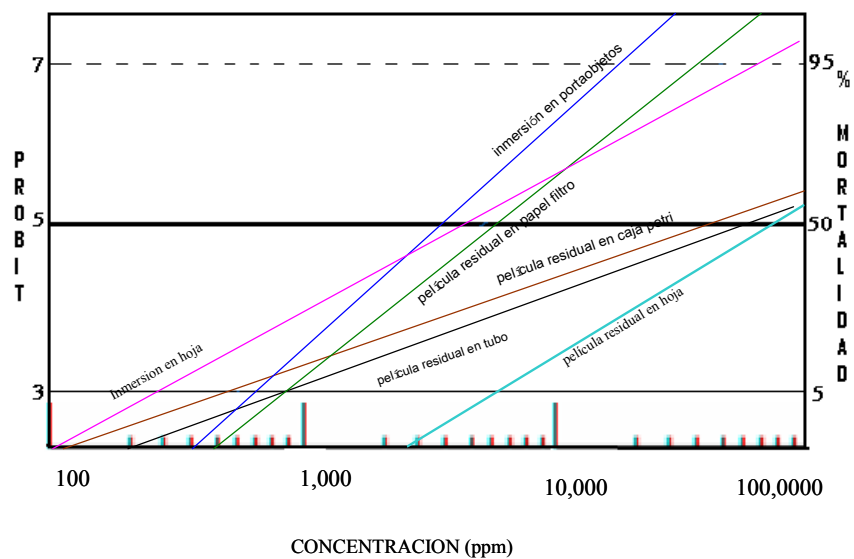


Figura 14. Líneas de respuesta concentración-mortalidad de todos los métodos de bioensayo contra *Tetranychus urticae* Koch a 24 h de exposición. UAAAN 2004.

Comparación de bioensayos a 48 h

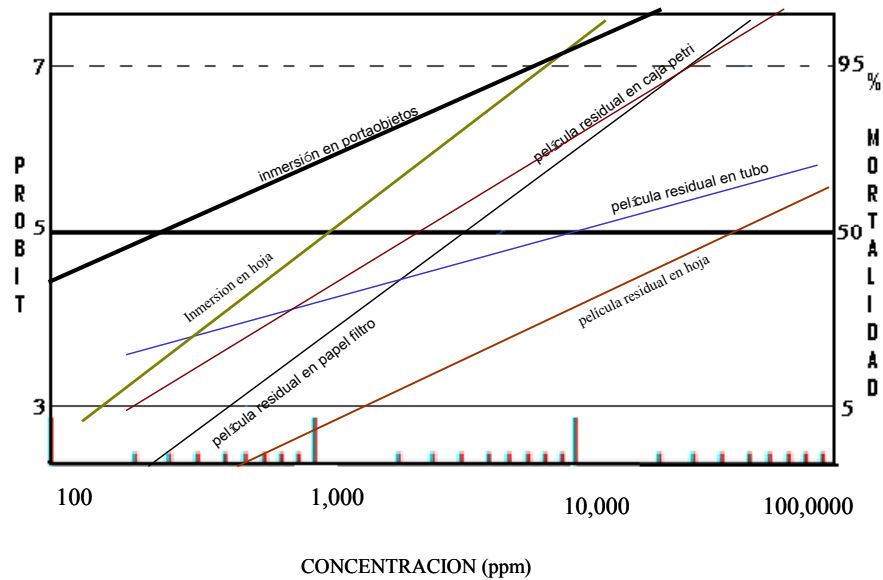


Figura 15. Líneas de respuesta concentración-mortalidad de todos los métodos de bioensayo contra *Tetranychus urticae* Koch a 48 h de exposición. UAAAN 2004.

Al igual que en la respuesta a las 24 h, el comportamiento de las líneas de concentración-mortalidad de *Tetranychus urticae* Koch a Dicofol; los métodos de inmersión son los que presentan CL_{50} más bajas a 48 h.

Análisis de varianza y comparación de medias de los bioensayos

Análisis de varianza para los bioensayos a las 24 h

El cuadro 21 del apéndice, el análisis de varianza muestra diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que al realizar una comparación de medias mediante la prueba de Tukey para 24 h, encontramos que el mejor método; fue de inmersión en portaobjetos. Seguido por el método de inmersión en hoja y después los de película residual.

Cuadro 13. Comparación de medias de los diferentes bioensayos por la prueba de Tukey

Tratamiento	Repetición	Media
Inmersión en portaobjetos	21	52.143 A
Inmersión en hoja.	21	39.286 B
Película residual en papel filtro.	21	37.619 B
Película residual en tubo.	21	19.286 C
Película residual en caja petri.	21	17.952 C
Película residual en hoja.	21	3.810 D

Tratamientos con la misma letra no muestran diferencia significativa con 99% de probabilidad.

Análisis de varianza para los bioensayos a las 48 h

Podemos observar en el cuadro 21 del apéndice del análisis de varianza presento diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 14. Comparación de medias de los diferentes bioensayos por la prueba de Tukey

Tratamiento	Repetición	Media
Inmersión en portaobjetos.	21	70.714 A
Inmersión en hoja.	21	69.762 A
Película residual en papel filtro.	21	56.333 B

Película residual en caja petri.	21	44.048	C
Película residual en tubo.	21	27.524	D
Película residual en hoja.	21	8.190	E

Tratamientos con la misma letra no muestran diferencia significativa con 99% de probabilidad.

Al igual que en la lectura a 24 h el comportamiento se debe al modo de acción del dicofol y la metodología del bioensayo. El cuadro 14 nos muestra que los bioensayos cambiaron de posición, a 24 h encontramos 4 grupos y en esta lectura tenemos 5, el mejor método sigue siendo el de inmersión en portaobjetos pero en el mismo lugar se ubica el de inmersión en hoja. Seguido por el de película residual en papel filtro. En esta lectura el método de película residual en caja petri se ubico un lugar antes que el método de película residual en tubo, y el método de película residual en hoja sigue siendo el menos efectivo.

Al comparar nuestros resultados con los estudios que realizo Dittrich (1962) encontramos que evaluó tres métodos determinado; que el método de inmersión en portaobjetos es el mejor, al igual que nuestros resultados como nos lo marca el análisis de varianza. Timothy *et. al* (1983) compararon tres bioensayos (método de inmersión en hoja, método de rociado y método de la cinta scoch) y determinaron que los métodos de inmersión son mas rápidos y de fácil manejo lo cual es similar a nuestros resultados.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones presentadas en esta investigación podemos concluir que:

- El método de bioensayo para determinar la susceptibilidad de *Tetranychus urticae* a 24 h de acuerdo a los análisis estadísticos fue el método de inmersión en portaobjetos.
- Los métodos de bioensayo para determinar la susceptibilidad de *Tetranychus urticae* a 48 h de acuerdo a los análisis estadísticos fueron el método de inmersión en portaobjetos y el método de inmersión en hoja.

- El método mas versátil para determinar la susceptibilidad de *Tetranychus urticae* es el método de inmersión en hoja.
- Los métodos de bioensayo por inmersión son los mas rápidos de acuerdo a los tiempos de respuesta.
- Por lo tanto, los métodos de película residual son los mas tardados de acuerdo a los tiempos de respuesta.
- El bioensayo que presento mayor dificultad en su realización fue el de película residual en papel filtro.

LITERATURA CITADA

Abbott, W. S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Anónimo. 1974. Métodos Provisionales Para la Detección y Medición de la Resistencia de Plagas Agrícolas a los Plaguicidas. Métodos Provisionales Para Arañitas Rojas, Adultos y Huevos, *tetranychus* spp. y *Panonychus ulmi* Boletín Fitosanitario FAO. Roma, Italia. 22 (5/6):127-137

- Bánki, L. 1978, *Bossay Of Pesticides In The Laboraty; Research And Quality Control*. Akadémiai Kiadó. Budapest, Hungary. 475 p.
- Blair, B. W. 1989. Laboratory Screening of Acaricides Against *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard. *Crop Protection*. 8:212-216.
- Busvine, J. R. 1971. *A Critical Review of The Techniques For Testing Insecticides*. 2nd. ed. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. 345 p.
- CICOPLAFEST. 1991. *Catalogo Oficial de Plaguicidas 1991*. Comisión Intersecretarial Para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Toxicas. SARH-SEDUE-SS-SECOFI. 469 p.
- Champ, B. R. and C. E. Dyte. 1976. *Informe de la Prospección Mundial de la FAO Sobre la Susceptibilidad a los Insecticidas de las Plagas de Granos Almacenados*. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal. No 5.
- Dennhey, T. J., E. E. Grafton- Cardwell, J. Garnett, and K. Barbour. 1987. Practitioner. Assessable Bioassay for Detection of Dicofol Resistanse in Spider Mites (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 80 (5): 998-1003.
- Dhingra, S. and P. Sarup. 1990. Development of Techniques for Detecting Resistance in Crop Pests to Insecticide. *J. ent. Res.* 14(2): 156-163.

Dittrich, V. 1962. A Comparative Study of Toxicological Test Methods on a Population of the Two-Spotted Spider Mite. (*Tetranychus telarius*). Department of Entomology, Cornell University, Ithaca, N. Y. 55 (5): 644-648.

Eesa, N. and L. K. Cutkomp. 1984. Glossary of Pesticide Toxicology and Related Terms. Thomson Publications. Fresno, Ca., U.S.A. 84 p.

Finney, D. J. 1971. Probit Analysis. 3rd. Edition. Cambridge Univ. Press. Great Britain. 333 p.

Forrester, N. W. 1990. Designing, Implementing and Servicing an insecticide Resistance Management Strategy. Pestic. Sci. 28: 169-179.

Grafton-Cardwell, E. E., J. Garnett, T. F. Leigh, and S. M. Normington. 1989. Development and Evaluation of a Rapid Bioassay for Monitoring Propargite Resistance in *Tetranychus* species (Acari: Tetranychidae) on Cotton. J. Econ. Entomol. 82(3): 706-715.

Hewlett, P. S. and R. L. Plackett. 1979. An Introduction to the Interpretation of Quantal Responses in Biology. University Park Press. U.S.A. 83 p.

Henderson, C. F. & Tilton, E. W. 1955. Tests With Acaricides Against the Brown wheat mite. J. Econ. Entomol. 48: 157-161

Horowitz, A. R., J. M. Seligman, G. Forer, D. Bar, and I. Ishaaya. 1993. Preventive Insecticides Resistance Strategy in *Helicoverpa (Heliothis) Armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Israeli Cotton. J. Econ. Entomol. 86(2): 205-212.

Hubert, J. J. 1980. Biossay. Kendall/Hunt pub. Co. U.S.A. 164 p.

Ifther, D. C. and F. R. Hall. 1983. Toxicities of Selected Syntetic Pyrethroids to two Species of Phytophagous Mites. J. Econ. Entomol. 79: 687-689.

Knowles, Ch. O., D.D Erranpalli, and G. N. El-Sayed. 1988. Comparative Toxicities of Selected Pesticides to Bulb Mite (Acari: Acaridae) and Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 81(6): 1586-1591.

Loomis, T. A. Sin año. Fundamentos de Toxicología. 3ª. Edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Luna, B. J. 1993. Determinación de Líneas de Respuesta Dosis-Mortalidad del Acaro *Tetranychus urticae* Koch a Acaricidas en la Zona Fresera de Abasolo Guanajuato. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 62 p.

Magaro, J. J. and J. V. Edelson. 1990. Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) in South Texas: A Technique for Resistanse Monitoring in the Field. J. Econ. Entomol. 83 (4):1201-1206.

- Matthews, G. A. 1984. Pest Management. Longman. New York, U.S.A. 231 p.
- Medina, A. J. 2003. Determinación de la CL₅₀ de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) al Acaricida Etoxazole. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 35 p.
- Ocampo, G. C. B. 2003. Determinación de la CL₅₀ de un Formulado a base de Abamectina, Prietro Natural, Azadiractina (Neem), Contra *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 33 p.
- Osborne, L. S. and F. L. Petitt. 1985. Insecticidal Soap and the Predatory Mite *Phytoseidulus permisilis* (Acari: Phytoseiidae), Used in Management of the Two-spotted Spider mite (Acari: Tetranychidae) on Greenhouse Grwn Foliage Plants. J. Econ. Entomol. 78: 687-691.
- Reséndiz G., B. 1988. Evaluación del poder de Agregación, Dispersión y Sinergismo de Stirrup-M^R (Alquenol-Multimetil) Solo y Mezclado con acaricidas de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Tesis M. C. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 59 p.
- Riedl, H. And S. A. Hoying. 1983. Toxicity and Residual Activity of Fenvalerate to *Typhlodromus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae) and its prey *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on Pear. Can Ent. 115: 807-813.

Robertson, J. L., K. C. Smith, N. E. Savin, and R. L. Lavigne. 1984. Effects of Dose Selection and Sample Size on the Precision of Lethal Dose Estimates in Dose-mortality Regression. *J. Econ. Entomol.* 77: 833-837.

Royalty, R. N. and T. M. Perring. 1987. Comparative Toxicity of Acaricides to *Aculops Lycopersici* and *Homeopronematus anconai* (Acari: Eriophyidae, Tydeidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 348-351.

Russell, R. M., N. E. Savin & J. L. Robertson. 1981. POLO: a User's Guide to Multiple Probit or Logit Analysis. U. S. Dep. Agric. For Serv. Gen. Tech. Rep. PSW-55.

Samu, F. and F. Vollrath. 1992. Spider Orb Web as Bioassay for Pesticide Side Effects. *Ent. Exp. Appl.* 62: 117-124.

Sawicki, R. M. and I. Denholm. 1987. Management of Resistance to Pesticides in Cotton. *Pests. Trop. Pest Management.* 33(4): 262-272.

Timothy, J. D., Jeffrey, G. and Thomas F. L. 1983. Relevance of Slide-Dip and Residual Bioassay Comparisons to Detection of Resistance in Spider Mites. *Journal of Economic Entomology.* 76(6): 1225-1230.

Welty, C., W. H. Reissig, T.J. Dennehy and R. W. Weires. 1988. Comparison of Residual Bioassay Methods and Criteria for Assessing Mortality of Cyhexathin-

Resistant European Red Mite (Acari: Tetranychidae). Entomological Society of America. 81(2): 442-448.

<http://www.afipa.cl/afipa/magan/Dicofol25WP.pdf>

APÉNDICE

Mortalidad de los Bioensayos

Cuadro 15. Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en hoja, después de exponer individuos de *T. urticae* al dicofol en diferentes tiempos de exposición.

Dosis (ppm)	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h
Testigo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

500	0.0	0.0	1.72	0.0	7.7	4.07
1000	0.0	1.7	5.08	8.5	15.3	23.9
3000	1.7	10.0	18.6	24.0	53.8	61.9
5000	5.0	10.0	21.6	28.7	58.3	78.2
7000	6.8	11.6	29.9	50.7	84.7	96.0
10000	10.1	23.2	36.6	71.1	90.5	100.0

Cuadro 16. Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en caja petri, después de exponer individuos de *T. urticae* al dicofol.

Concentración (ppm)	24 h	48 h	72 h
Testigo	0.0	0.0	0.0
500	5.0	9.2	12.2
1000	11.6	27.4	31.6
3000	21.6	43.7	53.2
5000	25.0	54.6	72.6
7000	28.3	79.9	84.3
10000	33.8	94.4	98.01

Cuadro 17. Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en tubo, después de exponer individuos *T. urticae* al dicofol.

Concentración (ppm)	24 h	48 h	72 h
Testigo	0.0	0.0	0.0
500	10.0	11.3	10.8

1000	16.3	25.3	34.7
3000	16.6	33.3	48.1
5000	23.3	37.1	56.4
7000	31.6	42.6	66.7
10000	36.6	46.3	73.0

Cuadro 18. Mortalidad observada en el bioensayo de película residual en papel filtro, después de exponer individuos *T. urticae* al dicofol.

Concentración (ppm)	24 h	48 h
Testigo	0.0	0.0
500	6.6	12.6
1000	23.0	43.67
3000	30.0	74.71
5000	55.0	81.6
7000	71.6	86.2
10000	80.0	89.65

Cuadro 19 Mortalidad observada en el bioensayo de inmersión en hoja, después de exponer individuos *T. urticae* al dicofol.

Concentración (ppm)	24 h	48 h	72 h
Testigo	0.0	0.0	0.0

500	9.72	29.4	41.2
1000	14.2	70.1	79.61
3000	52.9	81.4	83.56
5000	85.6	99.2	100.0
7000	87.8	100.0	100.0
10000	92.1	100.0	100.0

Cuadro 20 Mortalidad observada en el bioensayo de inmersión en porta objetos, después de exponer individuos de *T. urticae* al dicofol.

Concentración (ppm)	24 h	48 h	72 h
Testigo	0.0	0.0	0.0
500	16.18	54.1	67.13
1000	32.34	74.5	90.13
3000	34.36	81.64	91.23
5000	43.45	84.7	92.3
7000	72.73	96.94	100.0
10000	86.87	97.96	100.0

Cuadro 21. Análisis de varianza para los bioensayos a las 24 h

Factores de variación	g. l.	SC	CM	FC	Pr > F
Mortalidad	41	95029.301587	2317.787844	36.21	0.0001

Error	84	5377.333333	64.015873
Error total	125	100406.63492	

Cuadro 22. Análisis de varianza para los bioensayos a las 48 h.

Factores de variación	g. l.	SC	CM	FC	Pr > F
Mortalidad	41	165301.52381	4031.74448	61.97	0.0001
Error	84	5465.33333	65.06349		
Error total	125	170766.85714			