

SUSCEPTIBILIDAD DE *Anthonomus eugenii* Como
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A MEZCLAS
DE DOS SINERGISTAS CON NUEVE INSECTICIDAS
DE DIFERENTE GRUPO TOXICOLOGICO.

JOSE RICARDO PEREZ ZUBIRI

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN PARASITOLOGIA AGRICOLA

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



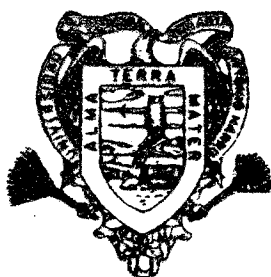
BIBLIOTECA

Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenvista, Saltillo, Coah.

SEPTIEMBRE DEL 2000



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

Susceptibilidad de *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera:
Curculionidae) a mezclas de dos sinergistas con nueve
insecticidas de diferente grupo toxicológico.

TESIS
POR
JOSÉ RICARDO PÉREZ ZUBIRI

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGIA AGRICOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:



Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

Asesor:



M. en C. Jorge Corrales Reynaga

Asesor:



M. en C. Félix de Jesús Sánchez Pérez



Dr. Ramiro López Trujillo
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Septiembre del 2000.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT, por el otorgamiento de la beca y las facilidades que me permitieron llevar a la conclusión mis estudios de postgrado.

A la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", por haberme brindado la oportunidad de estudiar la maestría en su programa de Parasitología Agrícola, y la facilidad para disponer de todo lo necesario para realizar mi proyecto de investigación.

Al todo el personal del Departamento de Parasitología Agrícola, pero muy especialmente a todos mis Maestros, por los conocimientos compartidos dentro de las aulas y la amistad brindada afuera del Arco.

A la Dirección General de Sanidad Vegetal, muy en especial al Dr. Luis Alberto Aguirre Uribe y al Dr. Gustavo Frías Treviño, por haberme brindado la invaluable oportunidad para crecer como profesionista y contribuir con un granito de arena al desarrollo de la agricultura mexicana.

Al Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez, por la fé que tuvo en mí para desarrollar la presente investigación, y por su excelente y oportuna asesoría; además, por la amistad y confianza que me brindó desde que comenzamos a trabajar juntos. Gracias, Dr. Guerrero.

Al Ing. M. C. Jorge Corrales Reynaga, por sus atinadas observaciones y oportunas recomendaciones para la realización de los experimentos; así como por su decidida disposición para la revisión del presente escrito.

Al Ing. M. C. Félix de Jesús Sánchez Pérez, por su valiosa ayuda en la revisión de este trabajo, en especial, de todo lo concerniente al análisis estadístico de los datos obtenidos.

DEDICATORIAS

A Claudia, mi esposa:

Para tí, que me impulsaste a seguirme preparando, y me diste tu amor, tu apoyo y tu comprensión; todo lo que necesité para enfrentar lo que hasta el momento ha sido para mí el reto más grande. Te amo.

A Mariana, mi hija:

Has sido el regalo más grande que me ha dado la vida, y fuiste para mí la Fuerza que me motivó a dar lo mejor de mí en todo momento durante mis estudios.

A mis Padres:

Ana María y José Pascual, por su amor, su apoyo y su ejemplo, que permanecen como huella imborrable en mi espíritu. Le doy gracias a la vida por tenerlos conmigo.

A mi Hermana, Abuelos y Tíos:

Por continuar manteniendo viva esa energía que nos da una identidad y nos sigue integrando como parte de ese todo que es la Familia.

A mis Compañeros de la Maestría:

Por todas las vivencias, que nos quedaron para recordar, de los momentos dentro y fuera de las aulas. Y por todos los convivios.

A mi Alma Terra Mater:

Mi bendita Narro, por darme las armas para ejercer esta bella profesión, y enseñarme a usarlas.

COMPENDIO

Susceptibilidad de *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) a mezclas de dos sinergistas con nueve insecticidas de diferente grupo toxicológico.

Por:

JOSÉ RICARDO PÉREZ ZUBIRI

MAESTRIA EN
PARASITOLOGÍA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. Septiembre 2000.

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez. Asesor.

2

Palabras clave: Picudo del chile, Resistencia a insecticidas, Sinergismo.

Se determinó la susceptibilidad de las poblaciones del picudo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano) existentes en el municipio de Ramos Arizpe, Coah., a nueve insecticidas de diferente grupo toxicológico, así como el sinergismo de

éstos tóxicos mediante el uso de un inhibidor de oxidasas microsómicas, butóxido de pioperonilo (BP), y un inhibidor de glutathion S-transferasas, dietil maleato (DEM). El estudio se realizó durante la segunda mitad de 1997. Para ésto, se colectaron frutos verdes de chile conteniendo en su interior larvas y pupas de picudo del chile, y se esperó hasta la emergencia de los adultos. Se implementó la técnica de película residual, en la que se deposita en tubos de ensayo una cantidad conocida de un insecticida y/o sinergista más un solvente; una vez evaporado el solvente, se obtiene una película de tóxico en las paredes internas del tubo. Después, se introdujo un promedio de 20 adultos de picudo por dosis, obteniéndose el porcentaje de mortalidad 24 horas después. Los porcentajes de mortalidad para un producto o mezcla eran introducidos para su análisis en un programa de análisis próbit para lograr obtener una línea de respuesta en cada caso.

Al probar cada uno de los insecticidas se observó que los más eficientes para el control del picudo fueron metomilo, malation y paration metílico (CL_{50} = 0.41, 4.03 y 5.46 ppm, respectivamente). En cuanto a las mezclas, las que mostraron una razón sinérgica (RS) más alta fueron carbarilo + BP (RS= 26.27 X), deltametrina + BP (RS= 7.53 X), metamidofos + DEM (RS= 5.49 X) y permetrina + BP (RS= 4.73 X). Sólo en dos mezclas se registró una interacción antagónica: carbarilo + DEM (RS= 0.01 X), y permetrina + DEM (RS= 0.67 X). Las RS de las mezclas con BP variaron desde 1.25 X hasta 26.27 X, en tanto que las RS de las mezclas con DEM fluctuaron entre 0.01 X hasta 5.49 X. El BP mostró una interacción sinérgica con todos los grupos de insecticidas, sugiriendo con ésto que las oxidasas microsómicas de función mixta (OFM) son

de gran importancia en la detoxificación *in vivo* de insecticidas de todos los grupos en el picudo del chile, mientras que las glutatión S-transferasas sólo tienen una intervención detectable baja o nula en el metabolismo de insecticidas fosforados. Las mezclas de insecticidas con sinergistas proporcionaron un aumento en la eficiencia de los primeros en la mayoría de los casos, lo cuál indica que los mecanismos de índole metabólica conforman una parte importante de la estrategia de resistencia del picudo del chile a los insecticidas químicos.

ABSTRACT

Susceptibility of *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) to mixtures of two synergists with nine insecticides from different toxicological group.

By:

JOSÉ RICARDO PÉREZ ZUBIRI

MASTER OF SCIENCE

PLANT PROTECTION

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. September 2000.

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez. Advisor.

Key words: Pepper weevil, Resistance to insecticides, Synergism.

Susceptibility of pepper weevil (*Anthonomus eugenii* Cano) populations existent in Ramos Arizpe, Coah., to nine insecticides of different toxicological group was determined, as well as these toxicants' synergism through the use of

a mixed function oxidase inhibitor, piperonyl butoxide (PBO), and a glutathion S-transferase inhibitor, diethyl maleate (DEM). This study was conducted during second half of 1997.

Peppers containing weevil larvae or pupae were field collected, and they were kept into chambers until adults emerged. For evaluating insecticides, a slightly modified residual film technique was used. This technique is carried out by depositing a known dose of an insecticide and/or a mixture plus a solvent; once all of the solvent is evaporated, a toxic film in the test tube's internal wall is obtained. After that, it was introduced a mean of 20 adult weevils per dose, and the mortality percentages were obtained 24 hours later. These mortality percentages were entered a probit analysis computer program in order to obtain a response line in every case.

After testing each one of the insecticides alone it was observed that the most efficient control was provided by methomyl, malathion and methyl parathion (LC_{50} = 0.41, 4.03, and 5.46 ppm, respectively). The mixtures that showed the greatest values of synergistic ratio (SR) were carbaryl + PBO (SR= 26.27 X), deltamethrin + PBO (SR= 7.53 X) metamidophos + DEM (SR= 5.49 X) and permethrin + PBO (SR= 4.73 X). Just in two mixtures an antagonistic interaction was registered: carbaryl + DEM (SR= 0.01 X), and permethrin + DEM (SR= 0.67). The SR of the insecticides + PBO mixtures varied from 1.25 X to 26.27 X, while those of mixtures with DEM fluctuated from 0.01 X to 5.49 X. PBO showed synergistic interactions with all of the insecticide groups; this data suggests that microsomal mixed function oxidases (MMFO) are very important on *in vivo* detoxication of insecticides from all the groups into the pepper weevil,

while glutathion S-transferases just have a little or none detectable role on the metabolism of phosphate insecticides. Insecticide-synergist mixtures provided an increase in the efficiency of the toxicants, in the most of the cases; this suggest that enzyme mediated mechanisms have an important role in pepper weevil resistance to chemical insecticides.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS	xiv
INDICE DE FIGURAS	xv
I.- INTRODUCCION	1
II.- REVISION DE LITERATURA	4
Resistencia a Plaguicidas.....	4
Sinergismo de Insecticidas con Butóxido de Piperonilo (BP).....	6
Forma de acción.....	6
Efecto en organofosforados.....	8
Efecto en carbámicos.....	9
Efecto en piretroides.....	10
Uso en campo.....	13
Sinergismo de Insecticidas con Dietil Maleato (DEM).....	13
Efecto en organofosforados.....	14
Papel de las Esterasas en el Metabolismo Detoxificativo.....	15
III.- MATERIALES Y METODOS	16
Colecta de Material Biológico.....	16
Bioensayo por Técnica de Película Residual.....	17
Productos Evaluados.....	18
Evaluación de la Susceptibilidad de los Insecticidas.....	20
Evaluación de la Susceptibilidad a las Mezclas.....	20
Análisis Estadístico de los Resultados.....	23
IV.- RESULTADOS	24
Efecto de Insecticidas.....	24
Efecto de Mezclas de Insecticidas y Sinergistas.....	28
Insecticidas + Butóxido de Piperonilo (BP).....	28
Insecticidas + Dietil Maleato (DEM).....	35
Comparación Global.....	41
V.- DISCUSION	44
Insecticidas.....	44
Insecticidas + Butóxido de Piperonilo (BP).....	45
Organofosforados.....	46
Carbámicos.....	47
Piretroides.....	48
Clorados.....	50
Insecticidas + Dietil Maleato (DEM).....	50
Fosforados.....	50
Carbámicos.....	51
Piretroides.....	52

VI.- CONCLUSIONES.....	53
VII.- RESUMEN.....	54
VIII.- LITERATURA CITADA.....	57
IX.- APENDICE.....	62

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
3.1	Insecticidas utilizados y sus presentaciones.....	19
3.2	Sinergistas utilizados y mecanismo fisiológico que afectan...	19
4.1	Concentraciones letales y límites fiduciales de insecticidas sobre adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	25
4.2	Ecuaciones de predicción obtenidas de bioensayos de insecticidas y con mezclas de los sinergistas butóxido de piperonilo (BP y dietil maleato (DEM) en adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	26
4.3	Coeficiente de determinación (r^2), chi cuadrada (χ^2) y estimación de probabilidad (P) de cada uno de los insecticidas y mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM) evaluados en adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	30
4.4	Concentraciones letales y límites fiduciales de insecticidas en mezcla con butóxido de piperonilo (BP) sobre adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	31
4.5	Razón sinérgica de las mezclas de insecticidas con butóxido de piperonilo (BP) sobre adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	31
4.6	Concentraciones letales y límites fiduciales de insecticidas en mezcla con dietil maleato (DEM) sobre adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	37
4.7	Razón sinérgica de las mezclas de insecticidas con dietil maleato (DEM) sobre adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	41

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
4.1 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a insecticidas de diferente grupo toxicológico.....	27
4.2 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a paration metílico y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).....	32
4.3 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a metamidofos y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).....	32
4.4 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a carbarilo y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).....	34
4.5 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a deltametrina y su mezcla con butóxido de piperonilo (BP).....	34
4.6 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a permetrina y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).....	36
4.7 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a endosulfan y su mezcla con butóxido de piperonilo (BP).....	36
4.8 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a mezclas de insecticidas con butóxido de piperonilo (BP).....	38
4.9 Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano a mezclas de insecticidas con dietil maleato (DEM).....	38
4.10 CL ₅₀ y límites fiduciales de todos los insecticidas y mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM), en adultos de <i>Anthonomus eugenii</i> Cano.....	39

I.- INTRODUCCION

El barrenillo o picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano es una plaga, aparentemente de origen mexicano que ataca los botones florales y frutillos de todas las variedades de chile, en los cuales oviposita y provoca su caída prematura. Por lo anterior, si esta plaga no se combate oportunamente puede ocasionar pérdidas de más del 50 por ciento del rendimiento total en el ciclo. Hasta ahora el único método apropiado para controlar las poblaciones de picudo es el combate químico, el cual conlleva ciertas desventajas, como son; el encarecimiento del cultivo, la generación de resistencia en las poblaciones plaga y los riesgos ambientales potenciales.

Un método alternativo de combate químico es la adición de compuestos sinergistas a los insecticidas. Un sinergista es un compuesto que no es tóxico, pero que al agregarlo a un insecticida provoca que la toxicidad de la mezcla resulte mayor. Las ventajas potenciales de usar sinergistas incluyen; bajar los costos, disminuir la contaminación ambiental al reducir la cantidad de ingrediente activo por hectárea y además se da oportunidad para presentar un mejor manejo de poblaciones resistentes. Recientemente se han estado llevando a cabo estudios sobre el uso de mezclas insecticida-sinergista para su aplicación en plagas agrícolas, obteniéndose resultados favorables en diversos

insectos como el gusano defoliador del olivo, el falso medidor de la soya, y el pulgón verde del sorgo y el trigo. Estos resultados han estimulado a otros investigadores para experimentar con esta técnica en otras plagas en campo abierto.

Los sinergistas además ayudan a detectar la presencia de resistencia a productos tóxicos indicando cuál o cuáles son los mecanismos fisiológicos que influyen en este sentido, por lo que a su vez se pueden generar estrategias de manejo de los insecticidas de acuerdo a los grupos toxicológicos de uso común a raíz de la información que se genere.

El butóxido de piperonilo y el dietil maleato han mostrado resultados positivos en mezclas con diversos insecticidas de diferentes grupos toxicológicos, por lo que se espera que presenten una interacción sinérgica con insecticidas de uso común en el picudo en la región de Ramos Arizpe, Coah., por lo tanto los objetivos de esta investigación son:

- Determinar la susceptibilidad de *A. eugenii* a diferentes mezclas insecticida-sinergista.

- Con las líneas de respuesta dosis-mortalidad de las mezclas de insecticida-sinergista para establecer los niveles de razón sinérgica.

- Establecer mecanismos de resistencia fisiológica a los insecticidas de uso común para el control del picudo del chile.

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

El combate del picudo del chile, a la fecha sólo es efectivo con el uso de insecticidas debido a su comportamiento, ya que el huevecillo, larva y pupa se desarrollan en el interior del fruto y sólo es el adulto el que permanece en el exterior y es, por tanto, la fase susceptible de control.

Por lo tanto, para controlar las poblaciones de *A. eugenii* se han usado a través del tiempo insecticidas de diferentes grupos toxicológicos; por ejemplo, en Louisiana, en Estados Unidos se probaron varios insecticidas, resultando como el más efectivo el carbarilo (Rolston, 1977). En tanto que en Texas, los insecticidas registrados como adecuados para control de la plaga son permetrina, oxamil y esfenvalerato (Riley, s/f). En México, los insecticidas recomendados en diversas publicaciones incluyen; azinfos metílico, carbarilo, clorpirifos, endosulfan, malation, oxamil, paration metílico (Lagunes y Rodríguez, 1988).

Resistencia a Plaguicidas

El mal uso de los insecticidas ha traído como consecuencia la selección de resistencia en diversas plagas, tanto agrícolas como urbanas, como es el

caso de la resistencia a azinfos metílico en el psílido de la pera, *Psylla pyricola* (Van de Baan y Croft, 1991), y la resistencia a piretroides en la cucaracha alemana, *Blattella germanica* (Atkinson *et al.*, 1991).

Los insectos tienen tres mecanismos de resistencia básicos; penetración cuticular reducida, detoxificación metabólica incrementada e insensibilidad en el sitio de acción. La detoxificación metabólica es, en muchos casos, el medio de defensa más preponderante en diversas especies de insectos fitófagos. Se ha notado que los insectos que se alimentan de los tejidos vasculares de las plantas (xilema y floema), que están menos defendidos químicamente que otros tejidos, presentan por ende actividad enzimática detoxificativa que las especies masticadoras que se alimentan de los contenidos celulares; y podría esperarse que estén significativamente menos preadaptadas para generar resistencia a los plaguicidas. Esta diferencia es presuntamente causada por la mayor exposición de los fitófagos masticadores a los compuestos secundarios de las plantas, debido a que el principal sitio de almacenamiento de los compuestos químicos defensivos son las vacuolas intracitoplasmáticas, que a menudo se encuentran en las células epidérmicas o del parénquima, y están ausentes del xilema y del floema. Además, las partes bucales de los insectos que se alimentan de tejido vascular, por lo general, no producen suficiente daño mecánico en los tejidos de la planta para liberar las enzimas que activan los compuestos químicos defensivos, al liberarlos de los complejos químicos (Hung *et al.*, 1990; Rosenheim *et al.*, 1996).

Una valiosa razón para estudiar los mecanismos de resistencia de los insectos a los insecticidas es que, si entendemos el mecanismo, podremos ser capaces de proyectar estrategias para contrarrestarlos. Uno de los mejores ejemplos de esto es el uso de sinergistas (Scott, 1990). Los sinergistas incrementan la eficiencia de los insecticidas al inhibir o distraer las enzimas detoxificadoras; esto permite a los sinergistas ser usados como una herramienta para elucidar los mecanismos de resistencia, así como los mecanismos metabólicos detoxificadores dominantes (Martin, *et al.*, 1997).

En cuanto a las poblaciones del picudo del chile en Coahuila, México se han evaluado diversos insecticidas, encontrándose que la plaga ha generado un alto grado de resistencia a permetrina, deltametrina y carbarilo, mientras que otros productos como paration metílico, metomilo, metamidofos y azinfos metílico, dieron un buen control (Rangel, 1997). Por otro lado, en un estudio desarrollado por Flores (1999) se encontró, de manera general, que los insecticidas más efectivos contra las poblaciones de picudo del chile existentes en la zona chilera de Ramos Arizpe, a nivel de grupo toxicológico, son los organofosforados, seguidos de los carbámicos (Flores, 1999).

Sinergismo de Insecticidas con Butóxido de Piperonilo (BP)

Forma de acción

Las oxidasas de función mixta (OFM) son quizá el grupo más numeroso de enzimas que actúan detoxificando sustancias tóxicas dentro del cuerpo de los insectos. Las OFM son monooxigenasas dependientes del citocromo P450, y preferentemente metabolizan sustratos lipofílicos y los convierten en productos con una mayor solubilidad en agua (hidrofílicos) o con grupos funcionales que permiten reacciones de conjugación, facilitando así su excreción. Además, se ha comprobado que la exposición crónica de los organismos a ciertos compuestos lipofílicos puede causar la inducción de altos niveles de citocromo P450, ya sea a través de su proliferación en el retículo endoplásmico de la célula, en la ubicación subcelular del sistema de OFM, o una producción incrementada de una forma específica de citocromo P450 (Soderlund y Bloomquist, 1990).

El sinergista BP es un producto que bloquea la actividad de esta familia de enzimas, propiciando de esta manera que el tóxico puede llegar a su sitio de acción; debido a lo anterior, el BP es el sinergista antioxidasas más utilizado en investigación. Sin embargo, no todas las formas de OFM son igualmente susceptibles de ser inhibidas por BP u otro inhibidor de este tipo, de manera tal que la ausencia de sinergismo de una mezcla de un insecticida con BP en un bioensayo no implica necesariamente a una carencia de metabolismo oxidativo (Soderlund y Bloomquist, 1990). Aún más, se ha indicado que incluso un sinergista como el DEF, que se considera inhibidor de esterasas, no es completamente específico a estas enzimas, y puede llegar a bloquear la actividad de OFM a concentraciones elevadas (Scott, 1990).

Efecto en organofosforados

También se han estudiado los efectos de la adición de BP a insecticidas organofosforados; por ejemplo, con el metabolismo del paration metílico en *Helicoverpa armigera*, los datos indicaron que las OFM pueden ser detoxificadores activos en el metabolismo del citado producto (Gunning *et al.*, 1994). Por otro lado, en otros organofosforados en los que es común el metabolismo oxidativo, la resistencia puede provenir de una baja tasa de activación metabólica (Scott, 1990). Al respecto, el paration metílico es un insecticida de tipo tiofosfato, cuyos compuestos precisan primero ser transformados *in vivo* para volverse tóxicos (activación); el paration se transforma mediante un proceso inicial de oxidación mediado por OFM en paraoxon, un compuesto mucho más polar, el cuál es el verdadero agente anticolinérgico y tiene el conocido efecto insecticida (Matsumura, 1985). Muchos insecticidas organofosforados son extensamente metabolizados por las OFM, si bien en este caso los resultados son complejos y difíciles de predecir a causa de la diversidad de reacciones que, como ya se anotó, pueden llevar a un incremento o disminución de la toxicidad, dependiendo del insecticida en cuestión, entre otros factores. Además, la evaluación del rol de la oxidación en el metabolismo de organofosforados es complicado, por el hecho de que en muchos casos los productos generados por la acción de las OFM son los mismos que los resultantes de la acción de otros tipos de enzimas como esterases y glutatión S-transferasas (Wilkinson, 1983).

Por otro lado, en bioensayos realizados en poblaciones del mosquito *Culex pipiens* resistentes a tres insecticidas organofosforados y al carbámico propoxur, la tasa de resistencia de estas poblaciones fue siempre más baja en presencia de BP que en su ausencia en el caso de los organofosforados, indicando que las OFM explican parte de la resistencia a este grupo de insecticidas en estas poblaciones; por lo que se sugirió que este efecto era causado por una acetilcolinesterasa (AChE) insensible y un incremento en el metabolismo oxidativo, si bien éste último tenía sólo un efecto marginal. Para el caso del propoxur, las tasas se incrementaron en presencia del BP, indicando que las OFM no tienen un efecto detectable en la resistencia a dicho insecticida en las poblaciones mencionadas (Bourguet *et al.*, 1996).

Efecto en carbámicos

Con respecto a los insecticidas carbámicos, también hay evidencias contrastantes. En un estudio para evaluar el sinergismo de BP sobre estos químicos en el gusano del tabaco *Heliothis virescens*, se encontró que el papel de las OFM en la resistencia a metomilo y tiodicarb era notable. Sin embargo, en el caso del tiodicarb, fue contrario debido a que se cree que requiere una activación catalizada por OFM, y es posible que el BP haya inhibido a las enzimas necesarias para la expresión de la máxima toxicidad (Martin *et al.*, 1997). Por otra parte, la diversidad estructural de los insecticidas carbámicos provee un número grande de sitios en los cuáles puede ocurrir la reacción, y

estos compuestos parecen ser metabolizados *in vivo* casi exclusivamente por OFM. Ésto puede ocurrir a través de la desalkilación de los miotitos metilcarbamoil o dimetilcarbamoil, pero la mayoría de las vías metabólicas principales son iniciadas por la oxidación en otros sitios de la molécula (Wilkinson, 1983, Scharf *et al.*, 1999).

Efecto en piretroides

En el caso de este grupo de tóxicos, la cantidad de experimentos usando el BP, arrojando datos con resultados variables que dependen del tipo de insecticida, de la especie, e incluso de la población de que se trate, es grande. Así, en la cucaracha alemana, *B. germanica*, los tratamientos con BP redujeron los niveles de resistencia a los carbámicos propoxur y bendiocarb, pero no la resistencia a los piretroides cipermetrina y permetrina. Sin embargo, el BP no eliminó completamente la resistencia en ninguno de los casos. Estos resultados sugieren que el principal mecanismo responsable de la resistencia a carbámicos en dichos insectos es el metabolismo oxidativo, con la detoxificación hidrolítica y probablemente la conjugación jugando papeles secundarios; mientras que la tolerancia a piretroides en la población resistente parece ser el resultado de mecanismos múltiples, entre los cuales la detoxificación enzimática aparentemente juega un papel mínimo, aunque importante (Valles y Yu, 1996). Por otro lado, otros estudios muestran que la resistencia a la cipermetrina en *B. germanica* fue completamente anulada por la

adición de BP, lo cuál apunta hacia un papel preponderante de las OFM en la resistencia al insecticida (Cochran, 1997).

En un estudio realizado con poblaciones de gusano del tabaco *H. virescens*, la adición de BP synergizó al piretroide cipermetrina, indicando que las OFM son un componente importante de la resistencia a este grupo de insecticidas. Sin embargo, el synergista no abatió por completo la resistencia al insecticida, por lo que se asume que la sensibilidad neuronal reducida también aportó una parte medible de la resistencia en estas poblaciones (Martin *et al.*, 1997).

En pruebas de synergismo con insecticidas piretroides en moscas de los cuernos *Haemathobia irritans*, se encontró que el BP incrementó la toxicidad de la permetrina en diferente grado dependiendo de la población, pero no alteraron significativamente el nivel de resistencia existente. Por tanto, esto indica que la permetrina parece estar sujeta a la detoxificación por OFM, pero la incapacidad del BP para reducir completamente la tasa de resistencia sugiere que este metabolismo puede no ser el principal mecanismo de degradación de permetrina para dicha población de moscas de los cuernos (Sparks y Byford, 1988).

En otra investigación sobre los mecanismos de detoxificación de insecticidas en una población resistente y una susceptible de *H. armigera*, los datos señalaban hacia un papel vital de las OFM en la detoxificación de

piretroides (Ahmad y McCaffery, 1991). Por otro lado, el insecticida carbámico carbarilo fue sinergizado considerablemente por la adición de BP en la raza susceptible pero sólo ligeramente en la resistente, sugiriendo que el mecanismo enzimático oxidativo puede no estar involucrado en la resistencia a carbarilo en la población resistente (Ahmad y McCaffery, 1991).

Por otro lado, se ha observado que el BP aumentó entre 3 y 5 veces la toxicidad de la permetrina a una población del picudo de la zanahoria *Listronotus oregonensis* (Pree *et al.*, 1996).

Así, los experimentos de distintos investigadores utilizando mezclas de permetrina y BP en diversas especies han dado resultados que pudieran parecer contradictorios; ya que se ha observado desde un buen nivel de sinergismo en *Pseudoplusia includens* (Thomas y Boethel, 1994) hasta una interacción nula en *Hemileuca oliviae* (Hagler *et al.*, 1988). Algunos autores sugieren, para explicar las discrepancias de datos como éstos, que la respuesta variable puede deberse, por un lado, a la diversa gama de sitios de acción donde actúan los piretroides (Soderlund y Bloomquist, 1990), o a que puede estar involucrado un mecanismo de resistencia no metabólico (Cochran, 1994). Además de lo anterior, en el metabolismo de los insecticidas piretroides existe la peculiaridad de que no hay mecanismos detoxificadores, propiamente dichos, sino sólo activadores, los cuáles están dados mayormente en función de las OFM (Cremllyn, 1995).

Uso en campo de BP

Otros investigadores han hecho evaluaciones del desempeño de las mezclas de insecticidas con BP en poblaciones de plagas en campo; sin embargo, los resultados hasta ahora no han sido concluyentes. Así, en una población de campo del pulgón verde *Schizaphis graminum*, la mezcla de clorpirifos y BP manifestó más de un 70 por ciento de control por una semana después de su aplicación, pero al año siguiente esta misma mezcla sólo presentó un control por abajo del 50 por ciento (Archer *et al.*, 1999). Por otro lado, se sugiere que en la tasa de penetración del BP con respecto a los insecticidas, así como su rápida descomposición en el ambiente por efecto de la luz, puede limitar su utilidad como sinergista de insecticidas bajo condiciones de campo (Martin *et al.*, 1997).

Sinergismo de Insecticidas con Dietil Maleato (DEM)

Para el caso de la desactivación metabólica de la resistencia mediada por glutatión s-transferasas (GST), existen menos datos. Se sabe que la reacción completa involucra la conjugación del compuesto extraño con un glutatión reducido, seguida por una transferencia del grupo glutamato, una pérdida de glicina, y finalmente una acetilación. Un número importante de enzimas cataliza los diversos pasos en la biosíntesis del ácido mercaptúrico, y en contraste con otros procesos de conjugación más importantes, tales como la

glucosidación, la formación de sulfatos, etc., la conjugación del glutatión no requiere una elevada energía intermedia que involucre ATP (Dauterman, 1983).

Efecto en organofosforados

El primer reporte del involucramiento de GST en el metabolismo de insecticidas organofosforados fue la desalkilación del paration metílico por una enzima soluble que requería GST y exhibía preferencia por los grupos metil (Dauterman, 1983). Uno de los sinergistas más usados para detectar actividad de GST es el DEM. En un estudio sobre sinergismo de insecticidas en la palomilla de la manzana *Platynota idaeusalis* no se observó aumento en la toxicidad de azinfos metílico con DEM durante los bioensayos. Sin embargo, se señala que el DEM es relativamente inefectivo para detectar la actividad de GST; por lo tanto, la poca actividad sinergista con el DEM en la población de campo no excluye el papel de las GST en la resistencia de esta palomilla al insecticida (Biddinger *et al.*, 1996). En otra investigación sobre sinergismo de insecticidas en el gusano del tabaco *H. virescens*, no se observó sinergismo de piretroides ni de organofosforados con DEM, por lo que el investigador sugiere que las GST no juegan un papel detectable como mecanismos de resistencia a tales productos en las poblaciones evaluadas (Martin *et al.*, 1997). Sin embargo, en bioensayos de piretroides con sinergistas sobre *B. germanica*, se sugiere que mecanismos, tales como insensibilidad del sistema nervioso o detoxificación a través de GST, están involucrados en la resistencia a piretroides de la población resistente (Valles y Yu, 1996).

Papel de las Esterasas en el Metabolismo Detoxificativo

El grupo de enzimas denominado genéricamente como esterasas hidrolíticas (EH), también juegan un rol importante en la detoxificación metabólica de insecticidas. Las EH capaces de romper enlaces carboxiléster y fosforotriéster son de importancia primordial en el metabolismo de insecticidas organofosforados y piretroides (Soderlund y Bloomquist, 1990), y han demostrado ser causa importante de la resistencia de diversos insectos plaga a estos tóxicos (Prabhakaran y Kamble, 1993; Biddinger *et al.*, 1996; Kotze y Wallbank, 1996; Rider Jr. *et al.*, 1998; Jinfu y Shaohong, 1999).

No obstante, en algunas situaciones se sabe que alguna especie ha generado resistencia a un insecticida, pero al hacer pruebas con sinergistas se tiene poco o nulo efecto en la mortalidad. Lo anterior indica que, si bien los sinergistas pueden colaborar para indicar qué sistemas enzimáticos participan en la resistencia a insecticidas convencionales como organofosforados, carbámicos y piretroides, también se debe recordar que la resistencia en los insectos no se debe a un sólo factor, sino que comúnmente están involucrados varios factores metabólicos, o metabólicos con factores de penetración reducida o insensibilidad en el sitio de acción (Martin *et al.*, 1997; Valles y Yu, 1996).

III.- MATERIALES Y METODOS

Colecta de Material Biológico

Este estudio se realizó durante la segunda mitad del año 1997. Previo al decidir en cuál huerta coleccionar material biológico, se procedió a hacer un recorrido general en los huertos chileros del ejido "La Leona", en el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila. Los huertos seleccionados estaban iniciando su etapa reproductiva, es decir, presentaban racimos de flores, botones o frutillos pequeños, lugares en los que la hembra del picudo prefiere ovipositar, además presentaban signos de fuerte infestación por picudo, como son; presencia de adultos en los racimos florales, frutillos caídos, o frutos con horadaciones de picudo en la epidermis.

Una vez elegidos los huertos, se efectuaron visitas para colecta semanal o quincenalmente. Sólo se colectaron los frutos verdes que hubieran caído al suelo y que en los muestreos indicaran que en su interior se tenía la presencia de larvas o pupas del picudo. Los frutos fueron colectados en arpillas y llevados al Departamento de Parasitología Agrícola de esta Universidad, donde fueron vaciados en jaulas entomológicas de 90 x 140 x 35 cm, las que fueron colocadas en una cámara bioclimática a una temperatura promedio de 24 ± 1

°C para esperar la emergencia de adultos, lo cuál ocurría aproximadamente cinco días después.

Bioensayo por Técnica de Película Residual

Por ser el adulto la fase expuesta a los tóxicos y considerando su tamaño pequeño se optó por utilizar esta técnica para contaminar a los adultos, ésto se logra depositando una determinada cantidad de ingrediente activo en la superficie interna de un tubo de ensaye en el que posteriormente se introducen los individuos de prueba, como se describe enseguida.

Los recipientes que se escogieron para formar la película residual fueron tubos de ensaye de cristal de 15 x 2.5 cm. Para guardar las distintas diluciones de productos insecticidas y sinergistas, se usaron frascos goteros de vidrio ámbar de 30 ml de capacidad. Las diluciones fueron preparadas con la ayuda de pipetas de vidrio con diferentes capacidades (0.1, 1.0, 5.0 y 10 ml) y de un pipeteador automático.

Para lo anterior, se preparaba, para cada uno de los productos insecticidas y sinergistas, una solución a 10,000 ppm, a la cual se le denominó solución madre, de la que se derivaban sucesivamente las diluciones más bajas. Una vez preparada la solución a la concentración deseada, se obtenía con pipeta 1 ml de solución y se depositaba en el interior de un tubo de ensayo. Después, se comenzaba a rodar el tubo con la palma de la mano sobre una

superficie lisa y horizontal hasta lograr que se evaporara el solvente. De esta manera, se formaba una fina película de tóxico sobre las paredes internas del tubo de ensayo. Se preparaban dos tubos por dosis, y se corrieron de 6 a 8 dosis por producto; se colocó un promedio de 10 adultos por tubo, dando por lo general un promedio de 20 individuos por dosis. Cabe mencionar que para cada producto se efectuaba previamente una prueba de espectro biológico para determinar las dosis que manifestaran porcentajes de mortalidad que fluctuaran entre 10 y 90 por ciento, con esta información se procedía a definir series de diluciones finales. Se contó además con un testigo por cada producto, el cual consistió en añadir un ml del solvente solamente. El porcentaje de mortalidad se contabilizaba a las 24 horas, y se tomaban como muertos a los individuos que permaneciesen postrados o no pudiesen caminar al ser estimulados con una aguja de disección.

Productos Evaluados

Se evaluaron en total nueve insecticidas, pertenecientes a cuatro grupos toxicológicos. A continuación se señalan los nombres comunes de los productos insecticidas utilizados y sus presentaciones (Cuadro 3.1):

Cuadro 3.1.- Insecticidas utilizados y sus presentaciones.

Nombre Común	Grupo Toxicológico	Concentración de Ingrediente Activo (%)	Formulación
azinfos metílico	fosforado	94.0	PH
paratión metílico	fosforado	80.0	CE
malatión	fosforado	97.0	CE
metamidofos	fosforado	76.8	CE
carbarilo	carbámico	80.0	PH
metomilo	carbámico	90.0	PH
permetrina	piretroide	95.5	CE
deltametrina	piretroide	2.5	CE
endosulfan	clorado	94.5	PH

Asimismo, se evaluaron dos sinergistas con antecedentes como inhibidores efectivos de mecanismos importantes de resistencia fisiológica en insectos, los que son señalados en el Cuadro 3.2.

Cuadro 3.2.- Sinergistas utilizados y mecanismo fisiológico que afectan.

Sinergista	Pureza	Mecanismo que inhiben
butóxido de piperonilo (BP)	99 %	oxidasas de función mixta (OFM)
dietil maleato (DEM)	99 %	glutathion S-transferasas (GST)

El solvente usado para todos los productos fue acetona, ya que ésta mostraba una buena disolvencia de los productos y sus mezclas, además de que volatilizaba con facilidad.

Evaluación de la Susceptibilidad de los Insecticidas

Antes de realizar los estudios con mezclas se requirió primeramente correr bioensayos con los insecticidas sólo para establecer la susceptibilidad de los picudos a los diferentes insecticidas por separado. Después de obtener los porcentajes de mortalidad para las diferentes dosis de cada producto insecticida, se alimentaba con estos datos un programa de Análisis Próbit por computadora elaborado por Camacho (1995)* para obtener el CL₅₀ para tomarlo de base para preparar las mezclas con los sinergistas y medir la respuesta a cada una.

Evaluación de la Susceptibilidad a las Mezclas

En virtud de las limitaciones de poblaciones se decidió que las mezclas con sinergistas fueran evaluadas con uno o dos insecticidas por cada grupo toxicológico; de preferencia aquellos que hubieran mostrado una CL₅₀ más alta, tomado como indicador de que la población de picudos pudiera haber desarrollado mayor resistencia o tolerancia a dichos productos y que la interacción sinérgica, de presentarse, sería más notoria. El procedimiento se llevó a cabo para cada grupo toxicológico con excepción del fosforado azinfos metílico; el problema con dicha mezcla consistió en que el ingrediente activo con el sinergista no se disolvía en su totalidad con la acetona, dejando película en el tubo de ensaye que provocaba que el adulto quedara pegado al mismo y

* Camacho Castillo, O. 1995. Programa de Análisis Próbit por Computadora. Colegio de Postgraduados.

con los insecticidas fosforados con CL_{50} más altas después del azinfos metílico.

Las distintas mezclas insecticida-sinergista se preparaban de tal manera que la concentración base de cada insecticida en dicha mezcla fuera igual a su CL_{50} en ppm y la concentración de sinergista fue de 250 ppm, excepto en las mezclas con paration metílico donde, a causa de su CL_{50} muy baja, la máxima concentración de sinergista usada fue de 110 ppm. No se corrieron mezclas insecticida-sinergista en proporción de 1:20 con respecto a las CL_{50} de los insecticidas debido a que las concentraciones respectivas de sinergista resultaban excesivas, ocasionando que quedaran pequeñas gotitas del sinergista en las paredes del tubo de ensayo donde el insecto quedaba adherido a la pared causando a veces su muerte, lo cuál ocasionaba sesgo en los datos de mortalidad. Por lo anterior se efectuaron pruebas para cada uno de los sinergistas por separado para estimar las dosis en que no se tuvieran problemas, y como ya se señaló, se decidió trabajar con un máximo de 250 ppm. de sinergista en las mezclas, concentración que resultaba inocua por sí misma para los insectos. Como consecuencia de todo lo anterior, las mezclas insecticida-sinergista variaron de 1: 5.5 a 1:20. En el caso de las mezclas además se agregó un testigo de la mezcla del solvente + sinergista usando siempre la dosis mayor del sinergista según correspondiera.

Para ello se partió del siguiente método; a partir de 10 ml de una solución base de la mezcla, por ejemplo metamidofos + PBO, conteniendo 25 ppm de

insecticida y 250 ppm de sinergista (relación 1:10); de esta solución se toman con una pipeta 5 ml y se mezclan con 5 ml de cada producto usando acetona como solvente; así, la solución resultante contiene la mitad de la concentración original de la mezcla, es decir, 12.5 ppm. de insecticida y 125 ppm. de sinergista; sin embargo, la relación insecticida-sinergista continúa siendo 1:10. A partir de esta mezcla se derivaron dosis a la mitad de la concentración base ya que a cada dosis subsecuente se le agregó una cantidad igual de acetona.

En caso de tener mortalidad en el testigo, los datos de mortalidad fueron corregidos por medio de la fórmula de Abbott, tanto para la evaluación de los insecticidas solos como para las mezclas con sinergistas:

$$MC = \frac{\left[X - Y \right]}{Y - 100} \times 100$$

Donde:

MC = % Mortalidad corregida

X = % Mortalidad en el tratamiento

Y = % Mortalidad en el testigo

Análisis Estadístico de los Resultados

Para cada uno de los bioensayos se obtuvieron los siguientes datos, utilizando para ello el programa computarizado desarrollado por Camacho: Líneas de respuesta dosis-mortalidad; Límites fiduciales, CL₅₀ y CL₉₅; además se estimaron los coeficientes de determinación (r^2), y se realizó una prueba estadística de hipótesis a través de la X^2 para probar si se cumplen los supuestos del modelo.

A su vez, para cada una de las mezclas insecticida-sinergista, se calculó la Razón Sinérgica, índice que sirve para definir el grado de interacción existente en la mezcla entre un compuesto tóxico y el sinergista. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$RS = \frac{CL_{50} \text{ Insecticida}}{CL_{50} \text{ Mezcla}}$$

Donde:

RS = Razón Sinérgica

CL₅₀ Mezcla = CL₅₀ Mezcla insecticida + sinergista

CL₅₀ Insecticida = CL₅₀ Insecticida sólo

IV.- RESULTADOS

Efecto de Insecticidas

Se obtuvieron las líneas de respuesta dosis-mortalidad para cada uno de los productos insecticidas por separado para conocer la concentración que mata al cincuenta por ciento de la población (CL_{50}). El producto con CL_{50} más baja para controlar los adultos fue metomilo con 0.41 ppm, seguido de malation con 4.03 ppm y paration metílico con 5.46 ppm, y fueron por tanto los productos con mejor efectividad en el control. Por otro lado, los menos efectivos, y los que presentan una CL_{50} más alta, fueron azinfos metílico con 229.72 ppm, permetrina que requiere 45.96 ppm y carbarilo que demanda 40.72 ppm. Los productos metamidofos, deltametrina y endosulfan fueron ubicados con una efectividad intermedia. En este punto cabe hacer notar que se elaboró una encuesta informal entre los agricultores de esta zona productora para cuestionarles acerca de los insecticidas más usados por ellos para el control del picudo del chile. Se encontró que los productos usados con mayor frecuencia son carbarilo, azinfos metílico y permetrina, en este mismo orden, que son precisamente aquellos que resultaron con CL_{50} más altas, por lo que los resultados de dicha encuesta concuerdan con los obtenidos en los bioensayos en el sentido de que las poblaciones de picudo del chile de Ramos Arizpe han

generado resistencia a aquellos tóxicos que se han usado con mayor frecuencia (Cuadro 4.1).

En cuanto a las líneas de respuesta dosis-mortalidad, al analizar los valores de la pendiente estimada se observó en el Cuadro 4.2 que las líneas de los productos paration metílico ($b = 6.6732$), metamidofos ($b = 6.1870$), malation ($b = 4.8159$) y azinfos metílico ($b = 2.3292$) poseen los valores más altos y, por lo tanto, tienden más a la vertical. Esto último sugiere que las poblaciones de picudo en esta zona no han sido sometidas, al menos últimamente, al uso de dichos productos, ya que el rango entre la población susceptible y la resistente no es muy amplio. Las líneas de los cinco productos restantes tienden

Cuadro 4.1. Concentraciones letales y límites fiduciales de insecticidas sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

PRODUCTO	ppm			
	CL ₅₀	LIMITES FIDUCIALES 95 %		CL ₉₅
		INFERIOR	SUPERIOR	
azinfos metílico	229.72	(179.22	- 337.22)	1,167.84
paration metílico	5.46	(4.98	- 5.92)	9.63
malation	4.03	(3.38	- 4.53)	8.86
metamidofos	24.32	(21.33	- 26.65)	44.86
metomilo	0.41	(0.31	- 0.56)	3.02
carbarilo	40.72	(18.11	- 141.86)	3,365.46
deltametrina	27.40	(16.50	- 48.46)	753.25
permetrina	45.96	(21.61	- 69.81)	85.40
endosulfan	38.97	(11.79	- 145.15)	44,913.27

más a la horizontal, especialmente las de endosulfan ($b = 0.5372$) y carbarilo ($b = 0.8579$), lo cuál indica que existe una alta variabilidad en la resistencia a estos tóxicos en las poblaciones de Ramos Arizpe (Figura 4.1). Asimismo, debido a que las líneas de ambos productos tienden más a la horizontal, los valores de CL_{95} resultan ser los más grandes de todos, dando 44,913 ppm para endosulfan y 3,365 ppm para carbarilo (Cuadro 4.1), claramente influenciado por la posición de la línea de respuesta que ocupa varios ciclos. Cabe señalar que en el resto de los tóxicos existe una respuesta similar en la manifestación de los resultados, ya que al comparar el CL_{50} y el CL_{95} su diferencia ordinariamente se enmarca dentro del mismo ciclo logarítmico.

Cuadro 4.2. Ecuaciones de predicción obtenidas de bioensayos de insecticidas y de mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM) en adultos de *Anthonomus eugenii*.

Insecticida	Ecuaciones de Predicción		
	Sólo	Mezcla con BP	Mezcla con DEM
azinfos metílico	$\hat{y} = -0.4997 + 2.3292 x$		
paration metílico	$\hat{y} = 0.0819 + 6.6732 x$	$\hat{y} = 4.2364 + 1.1954 x$	$\hat{y} = 4.1209 + 2.8518 x$
malation	$\hat{y} = 2.0830 + 4.8159 x$		
metamidofos	$\hat{y} = -3.5750 + 6.1870 x$	$\hat{y} = 1.7052 + 4.5412 x$	$\hat{y} = 3.4550 + 2.3915 x$
metomilo	$\hat{y} = 5.7194 + 1.8747 x$		
carbarilo	$\hat{y} = 3.6188 + 0.8579 x$	$\hat{y} = 4.6551 + 1.8234 x$	$\hat{y} = 3.7782 + 0.3424 x$
deltametrina	$\hat{y} = 3.3569 + 1.1429 x$	$\hat{y} = 4.3553 + 1.1481 x$	
permetrina	$\hat{y} = 2.8559 + 1.2897 x$	$\hat{y} = 3.9856 + 1.0275 x$	$\hat{y} = 4.0719 + 0.5061 x$
endosulfan	$\hat{y} = 4.1453 + 0.5372 x$	$\hat{y} = 3.3197 + 1.6539 x$	

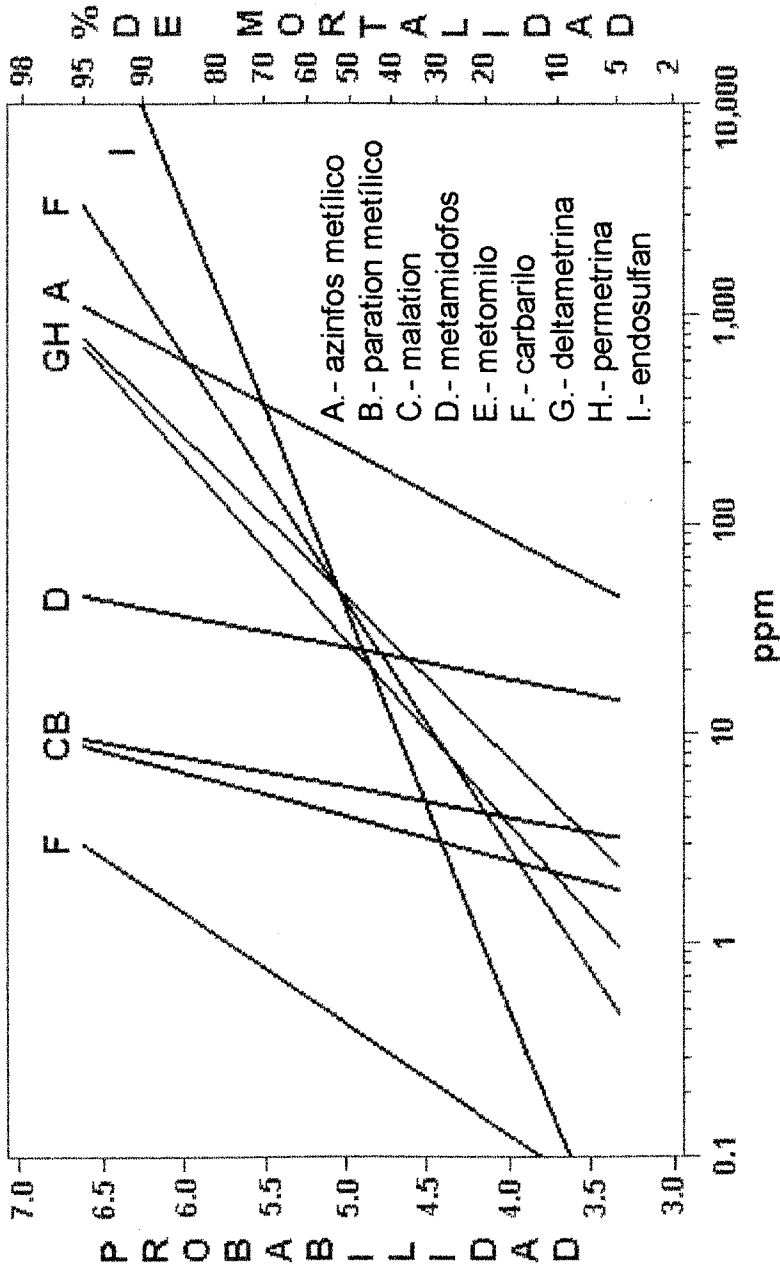


Figura 4.1. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a insecticidas de diferente grupo toxicológico.

Con respecto al análisis estadístico, se obtuvieron los valores del coeficiente de determinación (r^2) quedando de la siguiente manera: las líneas de respuesta de los productos azinfos metílico, metomilo, carbarilo y permetrina dan un excelente ajuste; en tanto que las de paration metílico, malation y deltametrina presentan un ajuste regular, y las de metamidofos y endosulfan dan un ajuste irregular. Por lo que respecta a la chi cuadrada estadística (X^2), en términos generales se puede enfatizar que las diferencias entre los puntos observados y los estimados son no significativas, a excepción del metamidofos cuyo valor es muy alto, lo que indica que los puntos reales están muy distanciados de la línea estimada; ésto concuerda con el valor de r^2 y como se verá en cuanto a probabilidad. Para los valores de probabilidad (P), en todas las líneas se obtuvo un valor de P = 99 por ciento, a excepción de la correspondiente al producto metamidofos, que dió un valor de P = 95 por ciento, lo cual en general es aceptable (Cuadro 4.3).

Efecto de Mezclas de Insecticidas y Sinergistas

Insecticidas + Butóxido de Piperonilo (BP)

En las mezclas de insecticidas con BP, la CL_{50} se contabiliza de igual manera en base a la concentración en partes por millón del producto insecticida. De este modo, se tiene que la mezcla con menor CL_{50} fue carbarilo + BP a razón de 1.55 ppm, seguida por la mezcla deltametrina + BP con 3.64 ppm, aunque en función a sus límites fiduciales se puede decir que no hay diferencia significativa entre ambos tratamientos. Las mezclas con mayor CL_{50}

fueron permetrina + BP que requiere 9.71 ppm y endosulfan + BP que demanda 10.37 ppm (Cuadro 4.4). Para mayor claridad se procederá a hacer un análisis de las interacciones insecticida + BP por grupo toxicológico.

En el caso de los organofosforados, se evaluaron dos mezclas: paration metílico + BP y metamidofos + BP; se debe recordar que el paration metílico es un producto que es bastante eficiente al aplicarlo sólo, por lo que al mezclarlo con el sinergista aumenta muy poco su efectividad, y al comparar sus límites fiduciales se comprueba que no hay diferencia significativa entre ambos tratamientos (Cuadro 4.4). Esto se puede ejemplificar con la razón sinérgica (RS) de la mezcla, la cuál indica que esta mezcla aumenta a 1.25 X (veces) la efectividad mortal con respecto al insecticida sólo, por lo que se puede decir que no hay un efecto notable del sinergista sobre el insecticida (Cuadro 4.5). Por otro lado, la mezcla de metamidofos + BP aumentó a 4.58 X la efectividad del insecticida, y se puede decir que existe una interacción de sinérgismo en la mezcla. La graficación de la respuesta del picudo del chile a dichos productos y mezclas se presentan en las Figuras 4.2 y 4.3, donde se aprecia el movimiento de las líneas de respuesta de las mezclas con respecto al tóxico sólo. Lo anterior indica que las OFM son causa importante de resistencia solo en el caso de metamidofos.

Cuadro 4.3. Coeficiente de determinación (r^2), chi cuadrada (X^2) y estimación de probabilidad (P) de cada uno de los insecticidas y mezclas con los sinérgicos butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM) evaluados en adultos de *Anthonomus eugeni* Cano.

PRODUCTO O					
MEZCLA		r^2	X^2	g.l.	P
azinfos metílico		0.8573	0.1990	4	99
paration metílico		0.7707	0.1588	5	99
paration metílico	+ BP	0.5799	0.0992	3	99
paration metílico	+ DEM	0.9588	0.0814	3	99
malation		0.8012	0.2260	4	99
metamidofos		0.5576	0.7165	4	95
metamidofos	+ BP	0.8484	0.1185	2	94
metamidofos	+ DEM	0.9130	0.1741	2	92
metomilo		0.9193	0.0641	5	99
carbarilo		0.8887	0.0536	4	99
carbarilo	+ BP	0.4679	0.1221	4	99
carbarilo	+ DEM	0.1931	0.0570	2	97
deltametrina		0.8424	0.0323	4	99
deltametrina	+ BP	0.9547	0.0323	2	98
permetrina		0.9279	0.0658	4	99
permetrina	+ BP	0.7836	0.0132	3	99
permetrina	+ DEM	0.4229	0.0415	3	99
endosulfan		0.6381	0.0651	4	99
endosulfan	+ BP	0.8970	0.0637	3	99

Cuadro 4.4. Concentraciones letales y límites fiduciales de insecticidas en mezcla con butóxido de piperonilo (BP) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

PRODUCTO + BP	ppm			
	CL ₅₀	LÍMITES FIDUCIALES 95 %		CL ₉₅
		INFERIOR	SUPERIOR	
paration metílico	4.35	(2.48	- 38.71)	103.46
metamidofos	5.31	(4.48	- 6.31)	12.24
carbarilo	1.55	(1.30	- 1.81)	12.34
deltametrina	3.64	(0.93	- 6.59)	98.67
permetrina	9.71	(7.38	- 12.57)	387.36
endosulfan	10.37	(6.92	- 15.58)	102.44

Cuadro 4.5. Razón sinérgica de las mezclas de insecticidas con butóxido de piperonilo (BP) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

MEZCLA	CL ₅₀ (PPM)	RAZON SINERGISTICA	INTERACCION
paration metílico + BP	4.35	1.25 X	Sin efecto
metamidofos + BP	5.31	4.58 X	Sinergismo
carbarilo + BP	1.55	26.27 X	Sinergismo
deltametrina + BP	3.64	7.53 X	Sinergismo
permetrina + BP	9.71	4.73 X	Sinergismo
endosulfan + BP	10.37	3.76 X	Sinergismo

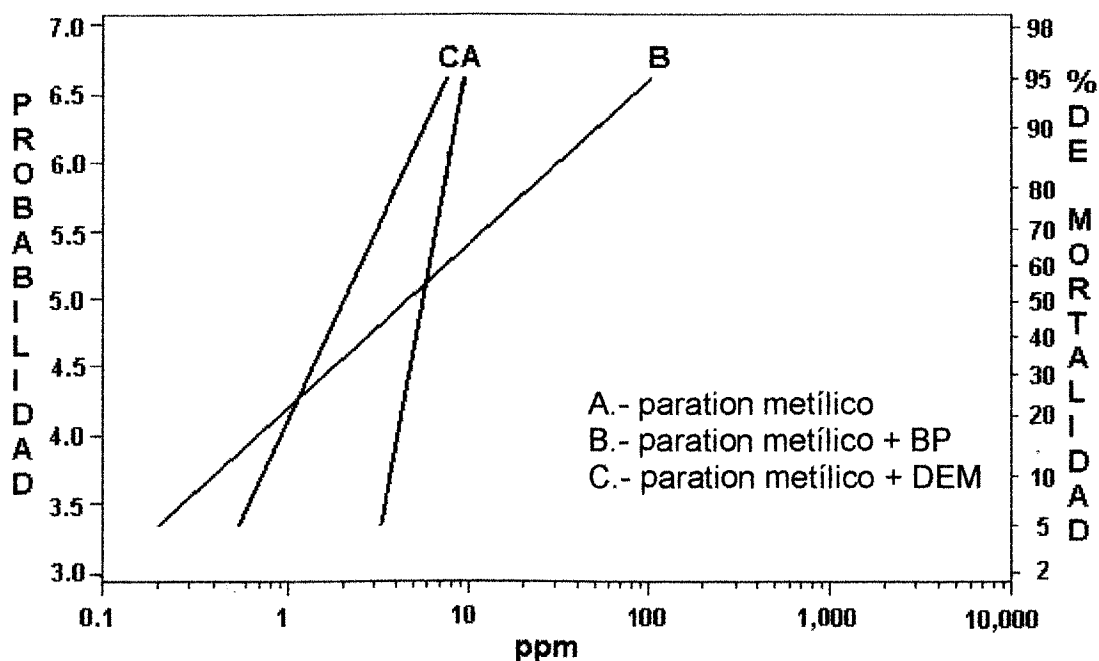


Figura 4.2. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a paration metílico y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).

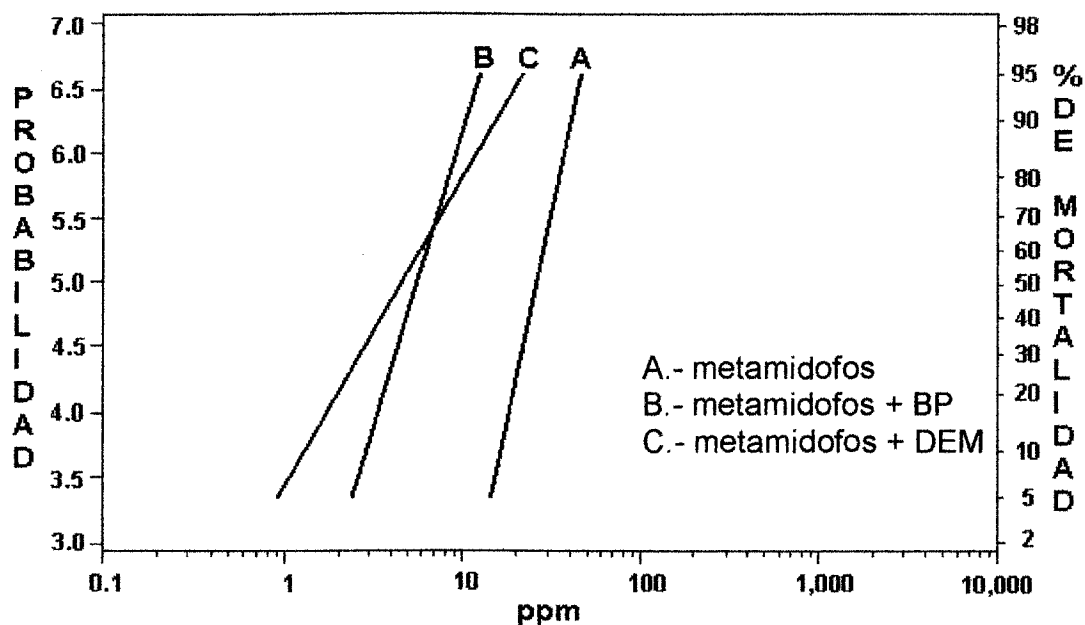


Figura 4.3. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a metamidofos y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).

De los dos carbámicos evaluados, ya se señaló que se seleccionó al carbarilo para ser mezclado con BP, esta mezcla resultó ser de las más efectivas debido a su CL_{50} bajo (Cuadro 4.4). Además, de todas las mezclas evaluadas, fue la que dió una mayor razón sinérgica (RS) con 26.27 X, lo que indica un sinérgismo bastante fuerte (Cuadro 4.5); lo que también puede ser apreciado en la Figura 4.4, en la que se observa una notable separación de la línea de la mezcla con BP respecto del tóxico. Al obtener una elevada RS para la mezcla carbarilo + BP, se puede inferir que el mecanismo enzimático que domina la resistencia a éste carbámico al menos, en los adultos de *A. eugenii* de la zona de Ramos Arizpe es el de OFM. Así, al ser inhibidas las enzimas de este sistema metabólico, la mortalidad causada por el tóxico se incrementa más de 26 veces. Sin embargo, de acuerdo a otros autores, resultaría riesgoso hacer una generalización para el resto de los carbámicos.

En cuanto a los piretroides, se evaluaron los dos productos de este grupo incluidos en la investigación: deltametrina y permetrina. El objetivo fue observar si existía alguna correlación en la presencia o ausencia del grupo ciano en estos tóxicos y la acción de las OFM sobre estos insecticidas. En este caso en particular, la deltametrina presenta el grupo ciano en su estructura, en tanto que la permetrina carece de él. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que los dos piretroides tuvieron un comportamiento similar al aplicarse solos (Cuadro 4.1) y que ambos fueron sinérgicos aceptablemente al mezclarse con BP (Figuras 4.5 y 4.6), si bien la mezcla de deltametrina, que contiene el grupo ciano, con BP tiene una RS de 7.53 X, y muestra un

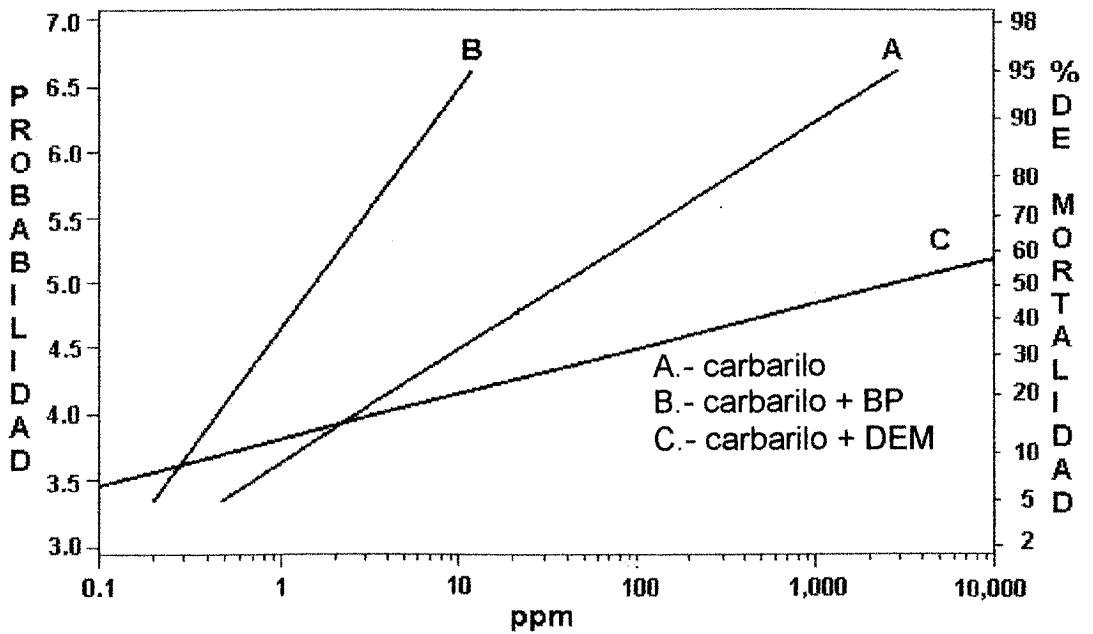


Figura 4.4. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a carbarilo y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).

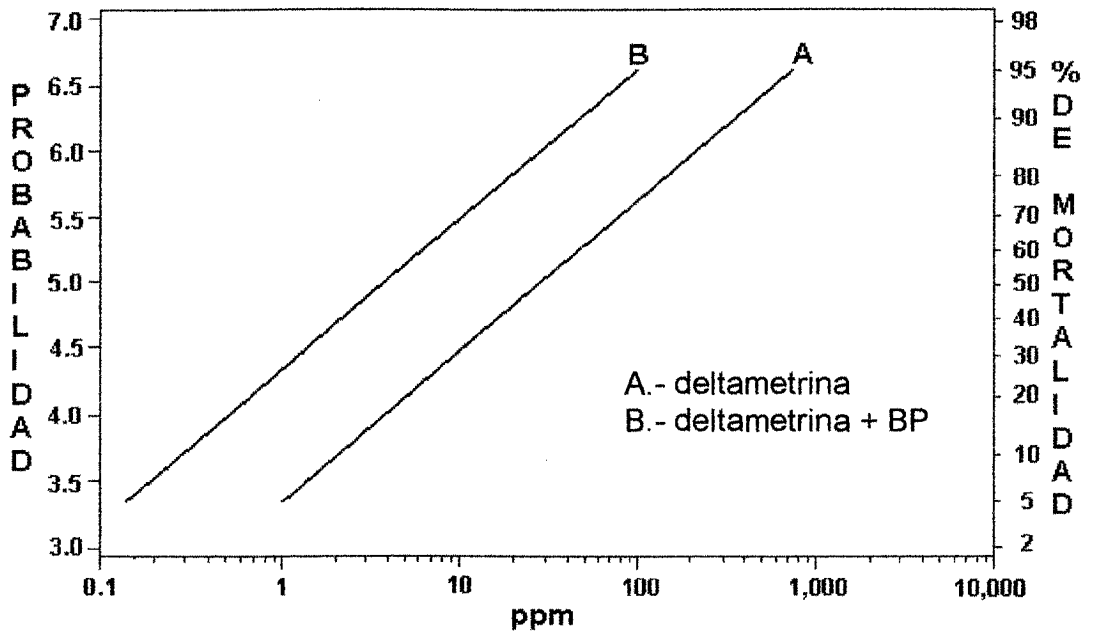


Figura 4.5. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a deltametrina y su mezcla con butóxido de piperonilo (BP).

sinergismo más pronunciado que la mezcla de permetrina + BP cuya RS fue de 4.73 X (Cuadro 4.5). Esto indica que las OFM influyen fuertemente la expresión de la resistencia en los adultos del picudo del chile.

El endosulfan, que es el único insecticida organoclorado evaluado en este estudio, fue sinergizado al mezclarse con BP, como se puede apreciar en la Figura 4.7. Sin embargo, al compararlo con las demás mezclas de insecticidas + BP (Figura 4.8) presenta la mayor CL_{50} de todas con un valor 10.37 ppm (Cuadro 4.4). Asimismo, la interacción sinérgica fue ligera ya que fue de 3.76 X (Cuadro 4.5); de estos resultados se infiere que a su vez hay actividad de OFM en la expresión de la resistencia a endosulfan en *A. eugenii*.

Insecticidas + Dietil Maleato (DEM)

Para el caso de las mezclas de fosforados con DEM, la mezcla que dió un menor CL_{50} fue paration metílico + DEM con 2.03 ppm, seguida por la mezcla metamidofos + DEM que requirió 4.43 ppm. En cambio, la mezcla que mostró una mayor CL_{50} fue la de carbarilo + DEM con 3,700.25 ppm (Cuadro 4.6). Cabe hacer mención que en el caso de las mezclas carbarilo + DEM y permetrina + DEM, la interacción existente fue de un antagonismo muy marcado, a tal grado que no fue posible obtener CL_{95} , debido a que las mezclas no alcanzaron a ocasionar mortalidades altas por mucho que se aumentaran las dosis. La comparación de las líneas de respuesta puede observarse en la Figura 4.9.

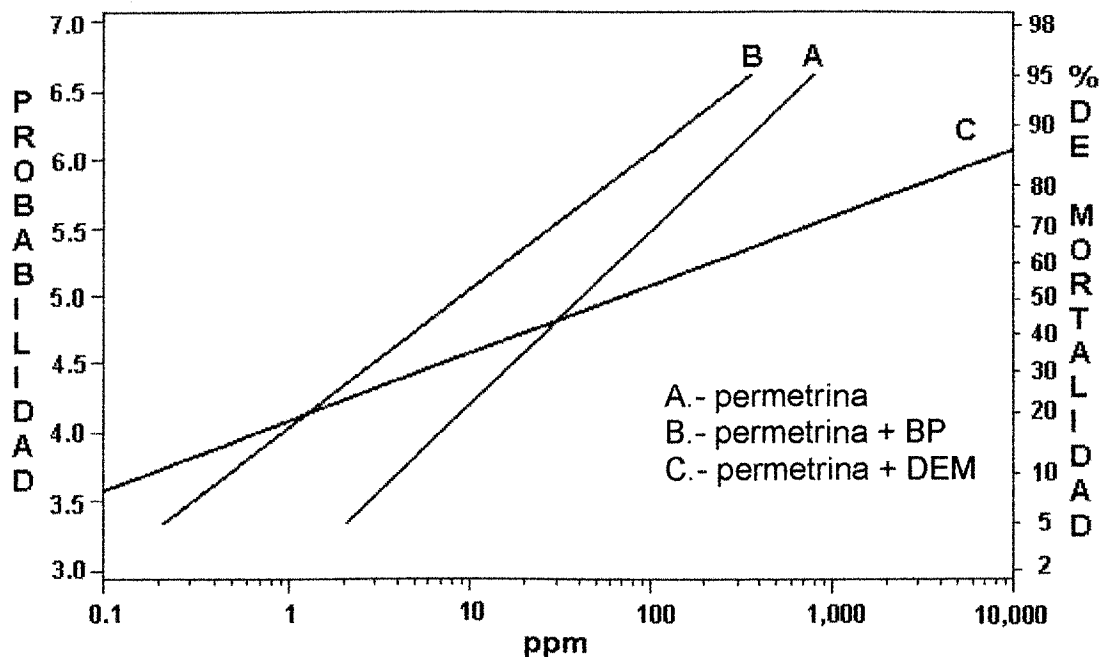


Figura 4.6. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a permethrina y sus mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).

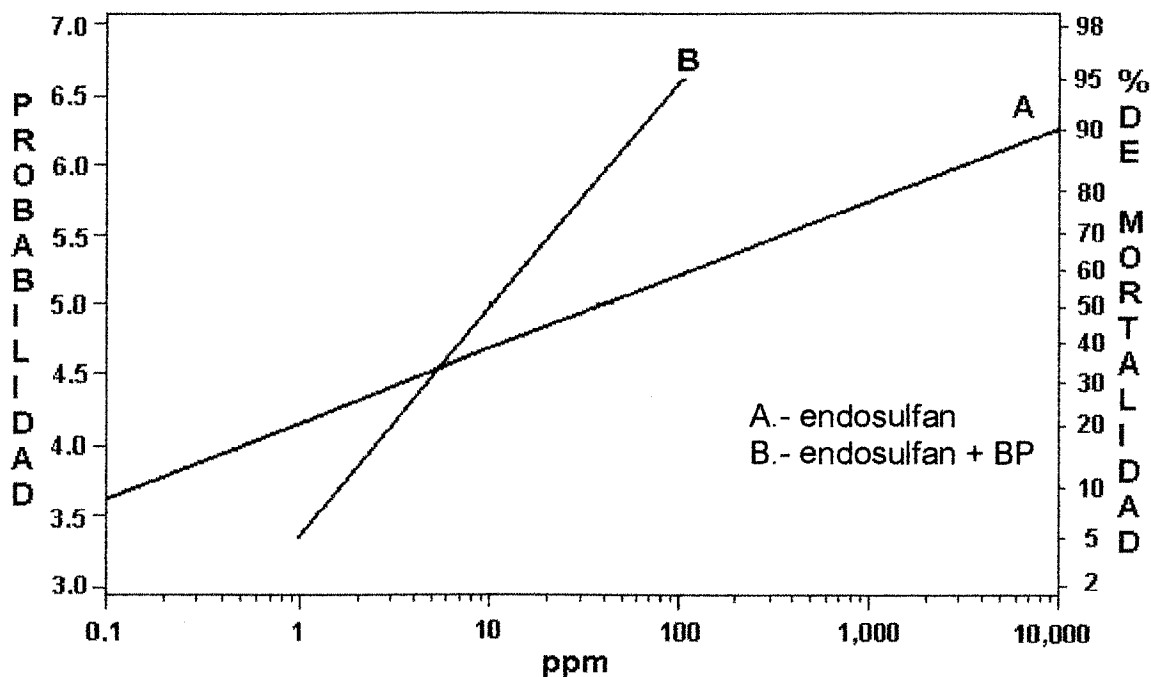


Figura 4.7. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a endosulfan y su mezcla con butóxido de piperonilo (BP).

Cuadro 4.6. Concentraciones letales y límites fiduciales de insecticidas en mezcla con dietil maleato (DEM) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

PRODUCTO + DEM	ppm			
	CL ₅₀	LÍMITES FIDUCIALES 95 %		CL ₉₅
		INFERIOR	SUPERIOR	
paration metílico	2.03	(1.58	- 2.68)	7.67
metamidofos	4.43	(3.24	- 6.12)	21.57
carbarilo	3,700.25 *	(2,726.59	- 5,021.61)	**
permetrina	68.19 *	(60.33	- 77.07)	**

* Estimado por el método de la WHO.

** No fue posible obtener CL₉₅ debido al fuerte antagonismo mostrado por la mezcla.

Acorde a lo anterior, los insecticidas organofosforados fueron los que manifestaron efecto de sinergismo al mezclarse con DEM. Sin embargo, la mezcla paration metílico + DEM aún cuando dió una RS de 2.69 X, que puede considerarse como una interacción sinergista (Cuadro 4.7), no fue estadísticamente diferente del tratamiento con paration sólo al compararse los límites fiduciales (Figura 4.10). La mezcla metamidofos + DEM, aunque dió un valor de CL₅₀ ligeramente más alto que la mezcla de paration metílico + DEM, mostró un sinergismo más pronunciado cuya RS fue de 5.49 X. Al comparar las respuestas de las mezclas entre las BP y las de DEM, se puede observar que el sinergismo es mayor en las combinaciones con metamidofos; esto obviamente se debe a que estos productos inhiben las enzimas GST que actúan sobre los radicales metílicos que se unen al fósforo central. Lo anterior indica que al

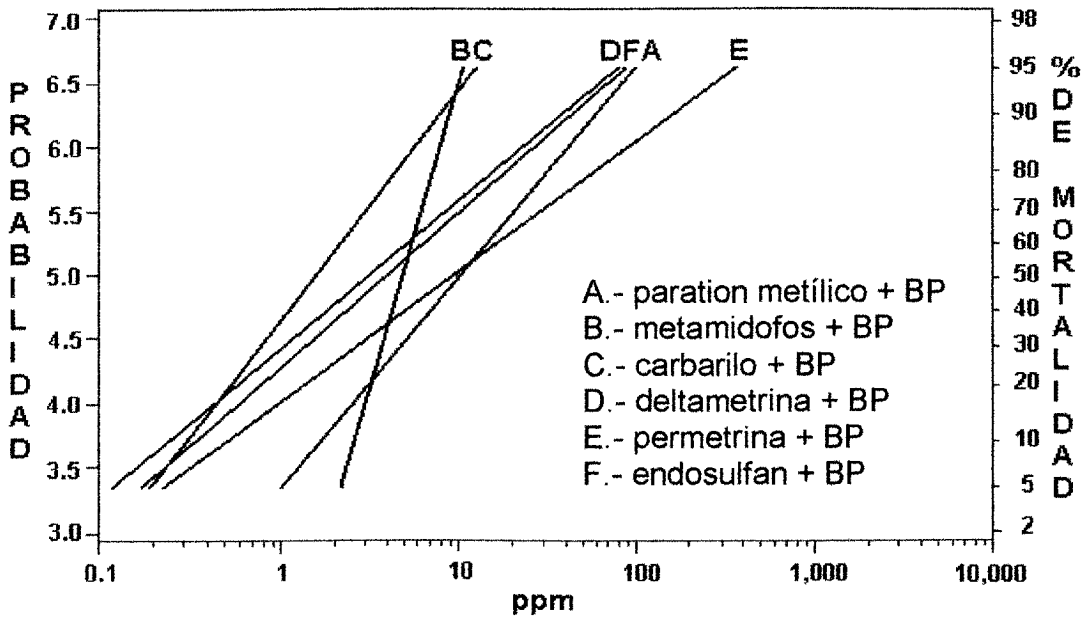


Figura 4.8. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a mezclas de insecticidas on butóxido de piperonilo (BP).

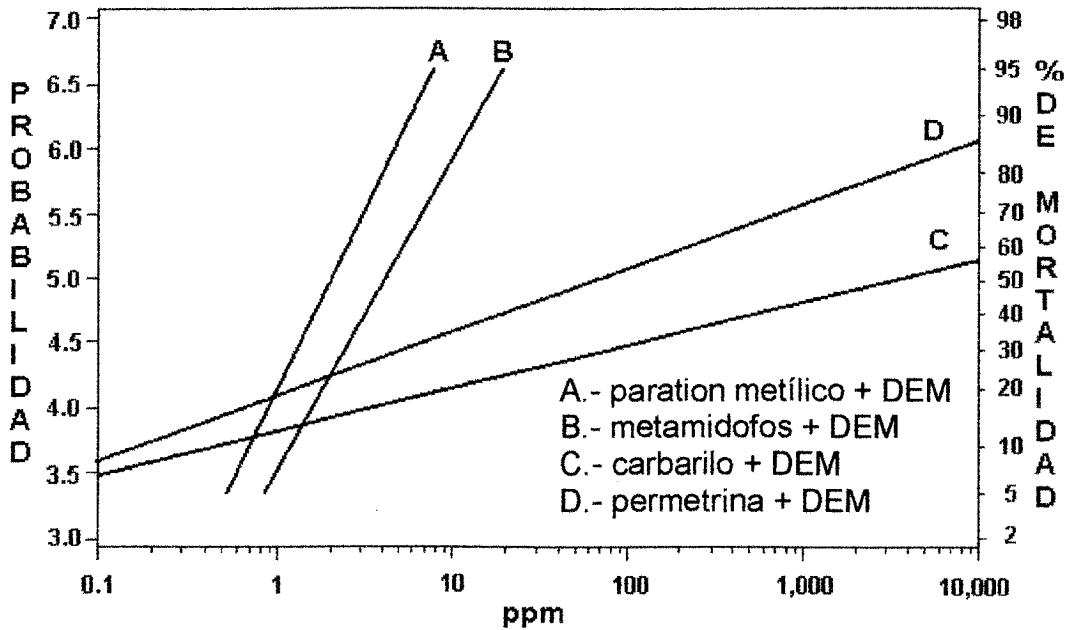


Figura 4.9. Líneas de respuesta dosis-mortalidad de adultos de *Anthonomus eugenii* Cano a mezclas de insecticidas con dietil maleato (DEM).

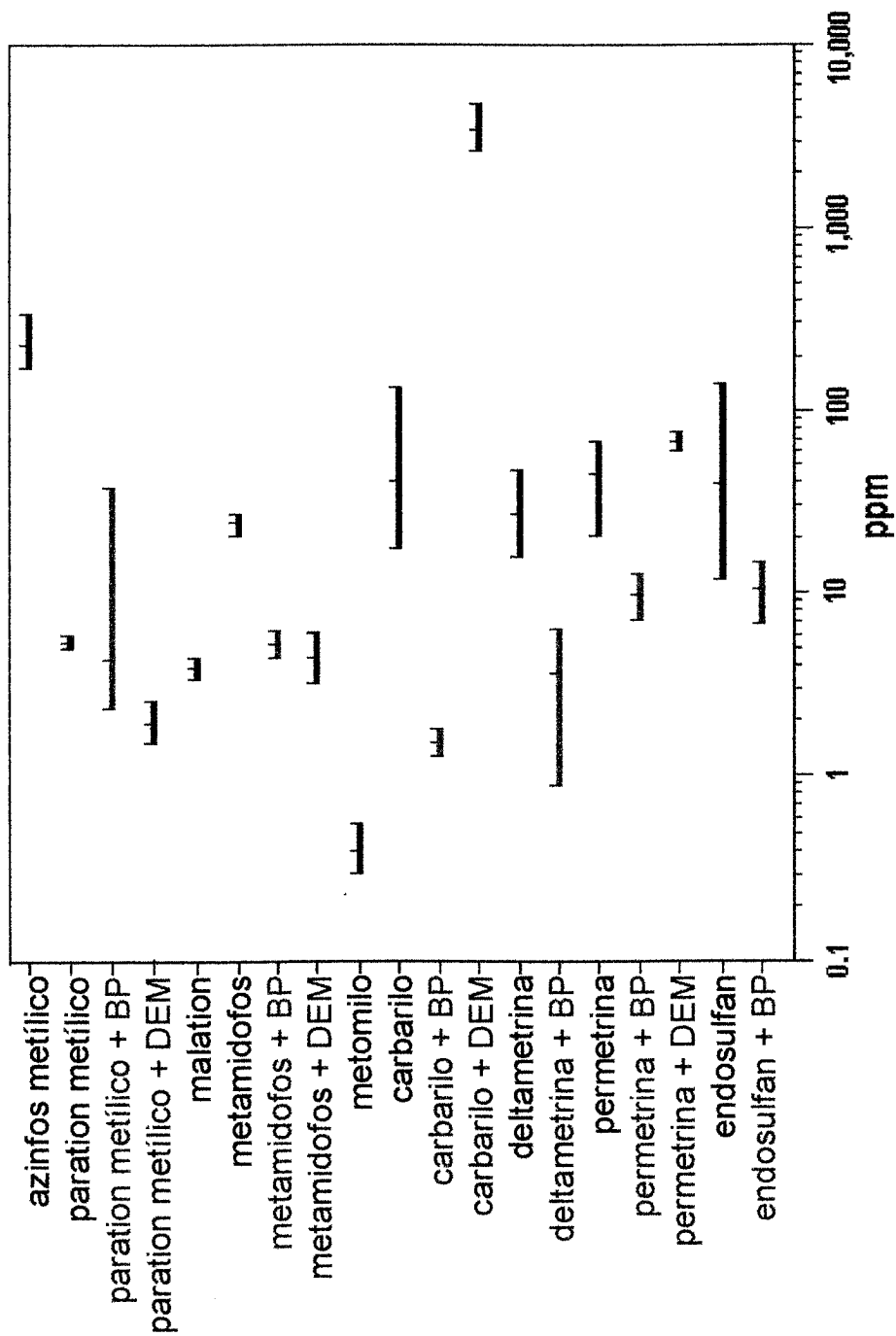


Figura 4.10. CL₅₀ y límites fiduciales de todos los productos y mezclas con los sinergistas butóxido de piperonilo (BP) y dietil maleato (DEM).

menos en metamidofos está claro que la causa de resistencia involucra a sistemas metabólicos donde participan oxidasas y desalkilasas.

La mezcla del insecticida carbámico carbarilo con el sinergista DEM fue la que mostró el antagonismo más fuerte, ya que el CL_{50} del producto sólo fue de 40.72 ppm y el de la mezcla de 3,700.25 ppm, y su RS la más baja ($RS = 0.01 X$), lo cual está catalogado como interacción antagonista, es decir, se reduce el poder insecticida de éste producto (Cuadros 4.1, 4.6 y 4.7). Así, la combinación carbarilo + DEM resultó ser el peor tratamiento de todos (Figura 4.10). El hecho de que no exista sinergismo en la mezcla apoya otras investigaciones que señalan hacia un metabolismo de carbámicos primordialmente regido por OFM. Asimismo, los datos presentes inducen a pensar que no sólo no hay acción detoxificadora de GST sobre carbarilo en *A. eugenii*, sino que es probable que dichas enzimas participen en cierta escala en algún proceso activador de la molécula del insecticida; ésto explicaría en parte la interacción negativa de la mezcla.

La mezcla de permetrina + DEM mostró el segundo CL_{50} más alto con 68.19 ppm; ligeramente mayor que el CL_{50} del insecticida solo que fue de 45.96 ppm, por lo que la RS de la combinación fue de 0.67 X; todo en conjunto indica una interacción antagonista (Cuadros 4.6 y 4.7). La evidencia sugiere una nula actividad del sistema de glutatión S-transferasas en el metabolismo de permetrina en *A. eugenii*.

Cuadro 4.7. Razón sinérgica de las mezclas de insecticidas con dietil maleato (DEM) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

MEZCLA	CL ₅₀ (ppm)	RAZON SINERGISTICA	INTERACCION
paration metílico + DEM	2.03	2.69 X	Sinergismo
metamidofos + DEM	4.43	5.49 X	Sinergismo
carbarilo + DEM	3,700.25 *	0.01 X	Antagonismo
permetrina + DEM	68.19 *	0.67 X	Antagonismo

* Estimado por el método de la W.H.O.

Comparación Global

Para el caso de las mezclas con los insecticidas organofosforados, se observó en forma general una interacción positiva de los productos con ambos sinérgicos, aunque en el caso de la mezcla paration metílico + BP, la RS fue muy ligera. A su vez estos insecticidas fueron efectivamente sinérgicos en las mezclas con DEM (Figura 4.10).

En el apartado de los carbámicos, la respuesta del carbarilo a los sinérgicos fue completamente distinta. En tanto que en la mezcla con BP expresa fuerte sinérgico, en la combinación con DEM se obtiene antagonismo (Cuadros 4.5 y 4.6). Los resultados revelan una muy elevada actividad de las OFM sobre el metabolismo del carbarilo en los adultos de picudo del Chile.

La respuesta de los piretroides en mezclas con sinergistas muestran una tendencia similar al caso de los carbámicos, aunque no tan enfática. Los valores de RS indican sinergismo en las mezclas permetrina + BP con 4.73 X y deltametrina + BP que señala 7.53 X; en tanto que en la mezcla permetrina + DEM muestra un comportamiento antagonista con 0.67 X (Cuadros 4.5 y 4.6). Aquí nuevamente se observa una marcada actividad del sistema de OFM en las poblaciones de picudo de la zona de Ramos Arizpe.

Por último, en el caso del insecticida organoclorado endosulfan se evidencia una discreta actividad de las OFM en el metabolismo del producto en *A. eugenii*.

La tendencia de los grupos de insecticidas evaluados respecto de los sinergistas se puede esquematizar de la siguiente manera:

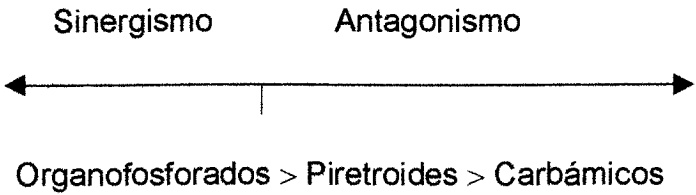
a) Actividad de oxidasas microsómicas sobre metabolismo de grupos de insecticidas:

Sinergismo



Carbámicos > Piretroides > Organoclorado > Organofosforados

b) Actividad de glutathion S-transferasas sobre metabolismo de grupos de insecticidas:



V.- DISCUSIÓN

Insecticidas

Los datos obtenidos al evaluar los insecticidas solos señalaron como los productos menos efectivos a azinfos metílico, permetrina y carbarilo. Cabe mencionar que dos de estos productos (permetrina y carbarilo) son recomendados por investigadores en U.S.A. como los más adecuados para el control del picudo del chile (Rolston, 1977; Riley, s/f). Estos datos y otros obtenidos en estudios realizados en México indican que cada población de insectos, aún siendo de la misma especie, manifiesta resistencia a distintos insecticidas y en diferente magnitud (Flores, 1999). Sin embargo, las tendencias son similares cuando las poblaciones evaluadas son de la misma región y no pasa mucho tiempo entre una evaluación y otra; tal es el caso de los resultados de Rangel (1997), obtenidos al evaluar poblaciones de la misma región de Coahuila, donde las tendencias coinciden con el presente estudio para dos de los insecticidas que resultaron más efectivos (metomilo y paration metílico) y dos de los que fueron menos efectivos (permetrina y carbarilo).

Estos resultados son congruentes también con los obtenidos en la encuesta informal que se realizó entre los agricultores de la zona, ya que se

comprobó que las poblaciones de *A. eugenii* de Ramos Arizpe han ido generando resistencia a aquellos insecticidas a los cuáles se ven sometidos con mayor frecuencia, necesitándose, por consiguiente, dosis cada vez mayores de los productos para alcanzar el mismo porcentaje de control. En cambio, algunos de los productos que no han sido aplicados con regularidad o recientemente son más efectivos; tal es el caso de metomilo, malation y paration metílico.

Al analizar los valores de la pendiente (b) de las líneas de respuesta dosis-mortalidad esta interpretación también se ve reforzada; ya que se observa que los productos paration metílico, metamidofos y malation dan una línea de respuesta tendiente a la vertical, lo cuál sugiere que las poblaciones de *A. eugenii* de la región no han sido expuestas, al menos últimamente, al uso de los insecticidas mencionados, ya que el rango de resistencia al tóxico entre la población resistente y la susceptible no es muy amplio. Caso contrario al de las líneas de endosulfan y carbarilo, que tienden más a la horizontal, lo cuál indica una alta variabilidad en los niveles de resistencia.

Insecticidas + Butóxido de Piperonilo

Al analizar las tendencias de las respuestas de la población de prueba a las mezclas de los insecticidas con el sinergista butóxido de piperonilo resulta más ilustrativo hacerlo por grupo toxicológico.

Organofosforados

Para el caso de los organofosforados, se pueden observar dos tendencias distintas, ya que se seleccionaron dos insecticidas para las mezclas: paration metílico y metamidofos. La razón sinérgica de la mezcla paration metílico + BP fue de 1.25 X, mientras que la de metamidofos + BP fue de 4.58 X; en el primer caso, la interacción puede ser catalogada como nula o muy ligera, en tanto que en el segundo caso la interacción obtenida fue de sinérgico efectivo.

Una vez más, se puede inferir que las poblaciones de picudo del Chile existentes en la región no han sido expuestas al paration metílico, debido a que la RS nos indica que los niveles de resistencia enzimática del insecto al producto son muy bajas. Por otro lado, la diferencia entre estas mezclas puede involucrar además la naturaleza química del insecticida organofosforado, ya que aunque ambos pueden ser metabolizados, los efectos pueden ser contrastantes, es decir, puede darse un incremento o una disminución de la toxicidad al adicionar BP (Wilkinson, 1983). Mientras que el paration es un tiofosfato, el metamidofos es un fosforoamidato. Se sabe al respecto que todos los tiofosfatos deben ser primero activados para ser tóxicos, y que esta reacción se efectúa *in vivo* a través de las enzimas OFM (Matsumura, 1985). Es posible que al mezclar el paration metílico con un inhibidor de las OFM como es el BP, la activación se dificulte o no se presente, ocasionando así que no se dé el esperado aumento en la mortalidad; en tal caso, la resistencia a este insecticida

podría provenir de una baja tasa de actividad metabólica (Scott, 1990). Además de lo anteriormente señalado, no se descarta que haya otros mecanismos no metabólicos, tales como AChE insensible (Bourguet *et al.*, 1996); o incluso puede darse el caso de un efecto adverso no metabólico del BP sobre el tiempo de penetración del insecticida (Martin *et al.*, 1997).

Carbámicos

Pasando a los carbámicos, la mezcla de carbarilo + BP fue la que expresó la mejor respuesta; ya que la CL_{50} fue la más baja y la mayor RS; sin embargo, en otros estudios se reporta que los datos resultantes son a veces contrastantes como en el caso de los organofosforados, lo cual se puede constatar con los ejemplos referidos en el capítulo de Revisión de Literatura (Ahmad y McCaffery 1991; Valles y Yu, 1996; Bourguet *et al.*, 1996; Martin *et al.*, 1997). Sin embargo, la aparente inconsistencia de los efectos de las mezclas de BP con carbámicos puede explicarse en parte por el hecho de que este grupo de insecticidas tiene una estructura química muy variada, con sitios activos diversos, que pueden hacerlos afines a unas enzimas OFM y no afines a otras (Wilkinson, 1983). Por su parte, otros investigadores mencionan que hay dos tipos de rutas principales para metabolizar los insecticidas carbámicos: oxidaciones mediadas por OFM e hidrólisis por esterasas, pero que los resultados varían en especie y en tiempo (Matsumura, 1985).

En este caso, al obtener una elevada RS para la mezcla carbarilo + BP, se puede inferir que el mecanismo enzimático que domina prácticamente el metabolismo, de éste carbámico al menos, en los adultos de *A. eugenii* de la zona de Ramos Arizpe es el de las oxidaciones por OFM. Ya que al ser inhibidas las enzimas de este sistema, la mortalidad causada por el tóxico se incrementa más de 26 veces. Sin embargo, no es conveniente hacer una generalización para el resto de los carbámicos; debido a esto, se puede hacer la sugerencia de que en un futuro se realicen bioensayos agregando BP a carbámicos que se usen en el combate de este insecto, lo cual arrojaría más luz sobre la naturaleza de las vías metabólicas utilizadas por el insecto para degradar a los insecticidas de éste grupo.

Piretroides

En cuanto a las mezclas de piretroides + BP, los resultados en este punto sugieren que la presencia o ausencia del grupo ciano- en la estructura química del insecticida incrementa de manera leve la acción detoxificadora de las OFM sobre el producto, ya que dicho grupo de enzimas parece tener cierta afinidad por el compuesto que contiene al radical mencionado; sin embargo, no se tienen reportes al respecto, por lo que es recomendable realizar más estudios.

En el caso de ambos piretroides se tiene actividad de OFM sobre los insecticidas; esto concuerda con lo reportado por Cremlyn (1995) en el sentido

de que el metabolismo de los piretroides en muchos casos está dado mayormente en función de las OFM. En los dos insecticidas se observó un efecto de sinergismo al aplicar el BP, si bien en diferente magnitud. Los resultados reportados en otras investigaciones acerca de la mezcla de BP con este grupo de insecticidas son variables; por ejemplo, mientras algunos mencionan que hay un buen efecto sinergista al mezclarse permetrina + BP (Thomas y Boethel, 1994) otros reportan poco o nulo efecto para la misma mezcla pero en diferente especie (Hagler, 1988). La variabilidad en los datos en los diversos estudios puede deberse a que los piretroides en general atacan por diversas vías el sistema nervioso del insecto (Soderlund y Bloomquist, 1990), ésto obliga al organismo a echar mano a la vez de varios sistemas metabólicos y no metabólicos para resistir a dichos tóxicos (Cochran, 1994), como por ejemplo una sensibilidad neuronal reducida (Martin *et al.*, 1997), lo cual deja al metabolismo por OFM no como el único mecanismo, pero sí como uno de los más importantes usados por el insecto en contra de los piretroides (Sparks y Byford, 1988; Ahmad y McCaffery, 1991; Valles y Yu, 1996; Pree *et al.*, 1996; Cochran, 1997). Por otro lado, puede también darse el caso de que las OFM estén catalizando en algunos piretroides reacciones que serían catalogadas como de activación, y al ser adicionado un inhibidor de este tipo de enzimas, el efecto resultante sería una inhibición de la activación (Cremllyn, 1995).

Clorados

La mezcla de BP con el insecticida endosulfan mostró una interacción que puede ser catalogada como sinérgica, aunque leve. Esto puede ser debido a que el metabolismo de este organoclorado consta en su mayor parte de oxidaciones llevadas a cabo por OFM, para activar la molécula y hacerla más polar y así poder expulsarla del sistema (Matsumura, 1985).

Insecticidas + Dietil Maleato

Fosforados

Comparando de manera general las líneas de respuesta originadas por las mezclas de organofosforados + DEM con las de organofosforados + BP, se puede apreciar un sinérgico ligeramente más marcado en las mezclas de ambos insecticidas con el DEM. Por otro lado, el metamidofos es el insecticida organofosforado mejor sinérgico al ser mezclado con BP y DEM. Estos resultados sugieren nuevamente que el metamidofos está siendo actualmente muy usado para controlar las poblaciones de *A. eugenii* en la región, ya que aunque en las mezclas con paration metílico se observa una menor CL_{50} , las razones sinérgicas son mayores en las mezclas con metamidofos, sugiriendo que las defensas enzimáticas del insecto actúan en mayor proporción en contra de este último insecticida. Sin embargo, aunque los organofosforados son frecuentemente metabolizados por OFM, algunos autores mencionan que los

resultados son difíciles de predecir, y que los bioensayos de este grupo de insecticidas con BP pueden llevar tanto a un aumento, como a una disminución en la toxicidad (Wilkinson, 1983).

El bajo sinergismo de paration metílico con el DEM sugiere un bajo nivel de acción de GST sobre el insecticida debido probablemente a la ausencia de presión de selección para este producto. Al respecto, en estudios anteriores se ha reportado que las GST actúan específicamente en paration metílico eliminando los grupos metil (Dauterman, 1983). Sin embargo, se debe recordar que hay reportes de que el DEM es poco efectivo para detectar actividad de GST, por lo que un bajo nivel de sinergismo no implica que este grupo de enzimas no estén activamente efectuando reacciones de conjugación para expulsar al tóxico del sistema del organismo (Biddinger *et al.*, 1996).

Carbámicos

La mezcla del DEM con el insecticida carbámico carbarilo fue la menos efectiva; y la interacción fue de antagonismo, reduciendo el sinergista la mortalidad ocasionada por los tóxicos. Al respecto, ya anteriormente otros investigadores han hecho pensar que el metabolismo de los carbámicos es mediado, casi en su totalidad, por enzimas OFM (Wilkinson, 1983); sin embargo, se menciona que no está exenta de presentarse actividad de detoxificación por hidrólisis (mediada principalmente por EH) y por conjugación (catalizada mayormente por GST) (Valles y Yu, 1996). Asimismo, los datos

obtenidos muestran no sólo que no hay acción detoxificadora detectable por el sinergista, sino que además sugieren que de alguna manera el sinergista aumenta el poder mortal del insecticida. Esta reacción antagónica puede ser ocasionada por la posible participación de enzimas GST en algún proceso activador de la molécula de insecticida que contribuya a volverla más tóxica al insecto, o por algún efecto del sinergista en la penetración del insecticida; ambas reacciones se proponen como posibles, mas no como probables, ya que no hay evidencia científica consistente de ninguna por el momento. Sería conveniente realizar más estudios para aclarar la cuestión acerca de la naturaleza del efecto de DEM + carbámicos sobre *A. eugenii*.

Piretroides

En este caso, los resultados indican una actividad antagonista de glutathion S-transferasas en el metabolismo de los piretroides en *A. eugenii*; sin embargo, esta interacción negativa no es tan fuerte como en el caso de carbámicos, ya que el valor de la Razón Sinérgica tiende más a 1. Empero, en otros trabajos se ha encontrado evidencia que señala que las GST están involucradas en el metabolismo de piretroides (Valles y Yu, 1996), pero el efecto antagonista del DEM puede ser debido a que las GST estén actuando en *A. eugenii* como parte de un mecanismo activador (Cremllyn, 1995), acción que no llegan a realizar al ser neutralizadas por el sinergista.

VI.- CONCLUSIONES

- 1.- Las mezclas de los insecticidas + sinergistas aumentaron la eficiencia de los primeros en proporciones variables; excepto en las mezclas carbarilo + DEM y permetrina + DEM.
- 2.- El BP mostró efecto sinergista en todos los grupos de insecticidas, especialmente en la mezcla con carbarilo.
- 3.- El DEM mostró efecto sinergista sólo en paration metílico y metamidofos, ambos del grupo de los organofosforados.

VII.- RESUMEN

El barrenillo o picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano es una plaga, que ataca los botones florales y frutillos de todas las variedades de chile, en los que al ovipositar provoca su caída prematura y pérdidas de más del 50 por ciento del rendimiento total en el ciclo, si no es combatido. El combate químico para controlar dicha plaga conlleva desventajas, como el encarecimiento del cultivo y la generación de resistencia en dichas poblaciones. Un método alternativo de combate químico es la adición de compuestos sinergistas a los insecticidas. Por lo anteriormente expuesto, los objetivos de este estudio son: Determinar la susceptibilidad de *A. eugenii* a diferentes mezclas insecticida-sinergista, así como inferir mecanismos de resistencia fisiológica a los insecticidas de uso común para el control del picudo del chile.

Así, se determinó la susceptibilidad de las poblaciones del picudo del chile existentes en el municipio de Ramos Arizpe, Coah., a nueve insecticidas de diferente grupo toxicológico, así como el sinergismo de estos tóxicos mediante el uso de un inhibidor de oxidasas de función mixta, el butóxido de piperonilo (BP), y un inhibidor de glutatión S-transferasas, el dietil maleato (DEM). El estudio se realizó durante la segunda mitad de 1997. Para esto, se colectaron frutos verdes de chile conteniendo en su interior larvas y pupas de

picudo, y se esperó hasta la emergencia de los adultos. Se implementó la técnica de película residual, en la que se deposita en tubos de ensayo una cantidad conocida de un insecticida y/o sinergista más un solvente; una vez evaporado el solvente se obtiene una película de tóxico en las paredes internas del tubo. Después, se introdujo un promedio de 20 adultos de picudo por dosis, obteniéndose el porcentaje de mortalidad 24 horas después. Los porcentajes de mortalidad para un producto o mezcla eran introducidos en un programa de análisis próbit para lograr obtener una línea de respuesta en cada caso.

Al probar cada uno de los insecticidas se observó que los más eficientes para el control del picudo fueron metomilo, malation y paration metílico ($CL_{50} = 0.41, 4.03$ y 5.46 ppm, respectivamente). En cuanto a las mezclas, las que mostraron una razón sinérgica (RS) más alta fueron carbarilo + BP (RS= 26.27 X), deltametrina + BP (RS= 7.53 X), metamidofos + DEM (RS= 5.49 X) y permetrina + BP (RS= 4.73 X). Sólo en dos mezclas se registró una interacción antagónica: carbarilo + DEM (RS= 0.01 X) y permetrina + DEM (RS= 0.67 X). Las RS de las mezclas con BP variaron desde 1.25 X hasta 26.27 X, en tanto que las RS de las mezclas con DEM fluctuaron entre 0.01 X hasta 5.49 x. El BP mostró una interacción sinérgica con todos los grupos de insecticidas, sugiriendo con esto que las oxidasas de función mixta son de gran importancia en la detoxificación *in vivo* de insecticidas de todos los grupos en el picudo del Chile, mientras que las glutatión S-transferasas solo tienen una intervención detectable baja o nula en el metabolismo de insecticidas organofosforados. Las mezclas de insecticidas con sinérgicos proporcionaron un aumento en la

eficiencia de los primeros en la mayoría de los casos, lo cual indica que los mecanismos de índole metabólica conforman una parte importante de la estrategia de resistencia del picudo del chile a los insecticidas químicos.

VIII.- LITERATURA CITADA

- Ahmad, M. and A. R. McCaffery. 1991. "Elucidation of detoxication mechanisms involved in resistance to insecticides in the third instar larvae of a field selected strain of *Helicoverpa armigera* with the use of synergists". Pestic. Biochem. Physiol. 41 (1): 41 - 52
- Archer, T. L., E. D. Bynum Jr., and F. W. Plapp. 1994. "Chlorpyrifos resistance in greenbugs (Homoptera: Aphididae): Cross resistance and synergism". J. Econ. Entomol. 87 (6): 1437 - 1440.
- Archer, T. L., E. Segarra, and E. D. Bynum Jr. 1999. "Greenbug resistance management on sorghum with insecticide mixtures: a biological and economic analysis". J. Econ. Entomol. 92 (4): 794 - 803.
- Atkinson, T. H., R. W. Wadleigh, P. G. Koehler, and R. S. Patterson. 1991. "Pyrethroid resistance and synergism in a field strain of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae)". J. Econ. Entomol. 84 (4): 1247 - 1250.
- Biddinger, D. J., L. A. Hull, and B. A. McPheron. 1996. "Cross-resistance and synergism in azinphosmethyl resistant and susceptible strains of tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae) to various insect growth regulators and abamectin". J. Econ. Entomol. 89 (2): 274 - 287.
- Bourguet, D., R. Capela, and M. Raymond. 1996. "An insensitive acetylcholinesterase in *Culex pipiens* de Portugal". J. Econ. Entomol. 89 (5): 1060 - 1066.
- Brogdon, W. G., J. C. McAllister, A. M. Corwin and C. Cordon-Rosales. 1999. "Independent Selection of Multiple Mechanisms for Pyrethroid Resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae)". J. Econ. Entomol. 92 (2): 298 - 302.

- Cochran, D. G. 1994. "Effects of three synergists on pyrethroid resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae)". *J. Econ. Entomol.* 87 (4): 879 - 884.
- Cochran, D. G. 1997. "Misuse of the tarsal-contact method for detecting insecticide resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae)". *J. Econ. Entomol.* 90 (6): 1441 - 1444.
- Cremllyn, R. 1995. *Plaguicidas modernos y su acción bioquímica*. Ed. Limusa. México, D. F. 355 pp.
- Dauterman, W. C. 1983. Role of hydrolases and glutathione s-transferases, pp. 229 - 247. *En* G. P. Georghiou and T. Saito (eds.), *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum, New York.
- Flores V., R. 1999. Determinación de los niveles de susceptibilidad del picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) a nueve insecticidas de cuatro grupos toxicológicos de poblaciones de San Luis de la Paz, Romita, Guanajuato; Saporiz, Durango; Ramos Arizpe, Coahuila y Los Mochis, Sinaloa. Tesis de Maestría. U.A.A.N. Saltillo, Coahuila, México.
- Gunning, R. V., I. G. Ferris, and C. S. Easton. 1994. "Toxicity, penetration, tissue distribution, and metabolism of methyl parathion in *Helicoverpa armigera* and *H. punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae)". *J. Econ. Entomol.* 87 (5): 1180 - 1184.
- Hagler, J. R., J. C. Owens, D. W. Smith, and B. E. Lewis. 1988. "Mortality of range caterpillar (Lepidoptera: Saturniidae) exposed to various combinations of insecticides and pyperonil butoxide". *J. Econ. Entomol.* 81 (5): 1304 - 1306.
- Hemmingway, J., G. J. Small, and A. G. Monro. 1993. "Possible mechanisms of organophosphate and carbamate insecticide resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from different geographical areas". *J. Econ. Entomol.* 86 (6): 1623 - 1630.
- Hung, C. F., C. H. Kao, C. C. Liu, J. G. Lin, and C. N. Sun. 1990. "Detoxifying enzymes of selected insect species with chewing and sucking habits". *J. Econ. Entomol.* 83 (2): 361 - 365.

- Jinfu, W. and Shaohong, L. 1999. "Esterase Activity and Organophosphate Resistance in *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) Populations in Zhejiang". J. Econ. Entomol. 92 (1): 176 - 179.
- Kotze, A. C. and B. E. Wallbank. 1996. "Esterase and Monooxygenase Activities in Organophosphate-Resistant Strains of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae)". J. Econ. Entomol. 89 (3): 571 - 576.
- Lagunes T., A. y J. C. R. Maciel. 1988. Combate Químico de Plagas Agrícolas de México. C. P., Montecillo, México.
- Martin, S. H., J. A. Ottea, B. R. Leonard, J. B. Graves, E. Burris, S. Micinski, and G. E. Church. 1997. "Effects of selected synergists on insecticide toxicity in tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory and field studies". J. Econ. Entomol. 90 (3): 723 - 731.
- Matsumura, F. 1985. Toxicology of insecticides. 2nd. ed. Plenum, New York.
- O'Brien, R. D. 1967. Insecticides: action and metabolism. Academic Press; New York. 229 pp.
- Prabhakaran, S. K. and S. T. Kamble. 1993. "Activity and electrophoretic characterization of esterase in insecticide-resistant and susceptible strains of German cockroach (Dictyoptera: Blatellidae)". J. Econ. Entomol. 86 (5): 1009 - 1013.
- Pree, D. J., A. B. Stevenson, and E. S. Barszcz. 1996. "Toxicity of pyrethroid insecticides to carrot weevils: Enhancement by synergists and oils". J. Econ. Entomol. 89 (5): 1254 - 1261.
- Rangel M., A. 1997. "Susceptibilidad del picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) a diferentes insecticidas de cuatro grupos toxicológicos de poblaciones de los estados de Coahuila y San Luis Potosí". Tesis de Licenciatura U.A.A.A.N. Saltillo, Coahuila, México.

- Rider Jr., S. D., S. M. Dobesh and G. E. Wilde. 1998. "Insecticide resistance in a novel laboratory-produced greenbug (Homoptera: Aphididae) clone". *J. Econ. Entomol.* 91 (1): 30 - 33.
- Riley, D. G. Sin fecha. *The Pepper Weevil and its Management*. Texas Agricultural Extension Service. Texas A & M University. College Station, Texas.
- Rolston, L. H. 1977. "Insecticide tests in laboratory and field against the pepper weevil, *Anthonomus eugeni* Cano". *Journal of the Georgia Entomological Society*. 12 (2): 117 - 120. L. S. U. Louisiana, U.S.A.
- Rosenheim, J. A., M. W. Johnson, R. F. L. Mau, S. C. Welter, and B. E. Tabashnik. 1996. "Biochemical preadaptations, founder events, and the evolution of resistance in arthropods". *J. Econ. Entomol.* 89 (2): 263 - 273.
- Scharf, M. E., L. J. Meinke, B. D. Siegfried, R. J. Wright and L. D. Chandler. 1999. "Carbaryl Susceptibility, Diagnostic Concentration Determination, and Synergism for U.S. Populations of Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae)". *J. Econ. Entomol.* 92 (1): 33 - 39.
- Scott, J. G. 1990. Investigating mechanisms of insecticide resistance: methods, strategies and pitfalls, pp. 39 - 57. *En* R. T. Roush and B. E. Tabashnik (eds.), *Pesticide Resistance in Arthropods*. Chapman & Hall, New York.
- Soderlund, D. M. and J. R. Bloomquist. 1990. Molecular mechanisms of insecticide resistance, pp. 58 - 96. *En* R. T. Roush and B. E. Tabashnik (eds.), *Pesticide Resistance in Arthropods*. Chapman & Hall, New York.
- Sparks, T. C. and R. L. Byford. 1988. "Pyrethroid synergists mixtures: Toxicity, resistance, and field efficacy toward pyrethroid-resistant horn flies (Diptera: Muscidae)". *J. Econ. Entomol.* 81 (6): 1567 - 1574.

- Thomas, J. D. and D. J. Boethel. 1994. "Synergism of insecticides in tests with resistant soybean looper larvae (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory and field". *J. Econ. Entomol.* 87 (6): 1416 - 1422.
- Valles, S. M. and S. J. Yu. 1996. "Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae)". *J. Econ. Entomol.* 89 (1): 21 - 26.
- Van de Baan, H. E. and B. A. Croft. 1991. "Resistance to insecticides in winter and summer forms of pear psylla, *Psylla pyricola*". *Pestic. Sci.* 32 (2): 225 - 233.
- Wilkinson, C. F. 1983. Role of mixed-function oxidases in insecticide resistance, pp. 175 - 205. *En G. P. Georghiou and T. Saito (eds.), Pest Resistance to Pesticides.* Plenum, New York.

APENDICE

APENDICE

CUADRO A.1. Resultados del bioensayo con insecticida azinfos metílico sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			%
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	24 h
0	20	20	0	0
30	20	19	1	5
80	20	18	2	10
150	20	16	4	20
200	20	8	12	60
250	21	11	10	47.6
300	20	7	13	65

CUADRO A.2. Resultados del bioensayo con insecticida paration metílico sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			%
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	24 h
0.0	20	20	0	0
4.0	20	17	3	15
4.5	20	16	4	20
5.0	20	12	8	40
6.0	20	5	15	75
6.5	22	5	17	77.3
8.0	20	3	17	85
10.0	20	2	18	90

CUADRO A.3. Resultados del bioensayo con insecticida malation sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			% 24 h
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0.0	21	21	0	0
3.0	20	13	7	35
4.0	20	12	8	40
4.5	20	11	9	45
5.0	22	6	16	72.7
6.0	20	2	18	90
8.0	21	2	19	90.5

CUADRO A.4. Resultados del bioensayo con insecticida metamidofos sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			% 24 h
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	19	19	0	0
20	20	19	1	5
23	20	5	15	75
25	20	9	11	55
30	20	6	14	70
35	20	3	17	85
40	20	3	17	85

CUADRO A.5. Resultados del bioensayo con insecticida metomilo sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			%
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0.0	20	20	0	0
0.1	20	17	3	15
0.2	22	17	5	22.7
0.3	20	12	8	40
0.4	20	9	11	55
0.6	20	9	11	55
0.8	20	6	14	70
1.0	20	4	16	80

CUADRO A.6. Resultados del bioensayo con insecticida carbarilo sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			%
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	19	19	0	0
10	20	14	6	30
20	20	11	9	45
30	21	12	9	42.9
40	20	11	9	45
80	20	9	11	55
100	20	6	14	70

CUADRO A.7. Resultados del bioensayo con insecticida deltametrina sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			% 24 h
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	18	18	0	0
6	20	16	4	20
10	22	15	7	31.8
20	20	10	10	50
30	20	10	10	50
60	20	8	12	60
100	21	5	16	76.2

CUADRO A.8. Resultados del bioensayo con insecticida permetrina sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			% 24 h
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	20	20	0	0
20	20	13	7	35
40	21	11	10	47.6
60	21	9	12	57.1
80	19	9	10	52.6
100	20	7	13	65
200	20	3	17	85

CUADRO A.9. Resultados del bioensayo con insecticida endosulfan sobre adultos de *Anthonomus eugeni* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			% 24 h
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	21	21	0	0
3	20	16	4	20
10	23	13	10	43.5
30	20	10	10	50
60	20	9	11	55
80	20	10	10	50
100	21	8	13	61.9

CUADRO A.10. Resultados del bioensayo de butóxido de piperonilo en mezcla con metanol sobre adultos de *Anthonomus eugeni* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			% 24 h
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	15	3	12	80
125	15	2	13	86.7
250	15	0	15	100
500	16	3	13	81.3
1,000	15	0	15	100

CUADRO A.11. Resultados del bioensayo de butóxido de piperonilo en mezcla con acetona sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			%
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	15	15	0	0
125	15	14	1	6.7
250	15	15	0	0
500	15	8	7	46.7
1,000	15	3	12	80

CUADRO A.12. Resultados del bioensayo de dietil maleato en mezcla con acetona sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS			%
	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
0	20	20	0	0
100	20	18	2	10
250	20	20	0	0
500	20	16	4	20
1,000	20	16	4	20

CUADRO A.13. Resultados del bioensayo de la mezcla de paration metílico + butóxido de piperonilo (relación 1 : 20) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS		OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	% 24 h
	paration metílico	butóxido de piperonilo				
5.50	+	0.0	20	7	13	65
0.00	+	110.0	20	20	0	0
0.34	+	6.9	20	20	0	0
0.69	+	13.7	20	18	2	
1.37	+	27.5	20	13	7	35
2.75	+	55.0	21	11	10	47.6
5.50	+	110.0	21	11	10	47.6

CUADRO A.14. Resultados del bioensayo de la mezcla de metamidofos + butóxido de piperonilo (relación 1 : 10) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)	INDIVIDUOS		OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	% 24 h
	metamido- fos	butóxido de piperonilo				
25.00	+	0.0	24	2	22	91.7
0.00	+	250.0	21	21	0	0
1.56	+	15.6	20	20	0	0
3.12	+	31.2	20	17	3	15
4.50	+	45.0	20	14	6	30
6.25	+	62.5	20	5	15	75
9.00	+	90.0	20	4	16	80
12.50	+	125.0	20	0	20	100
25.00	+	250.0	20	0	20	100

CUADRO A.15. Resultados de bioensayos con mezcla de carbarilo + butóxido de piperonilo (relación 1 : 6.25) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS		%	24 h
		OBSERVADOS	MUERTOS		
carba- rilo	butóxido de piperonilo	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
40.00	+ 0.0	24	16	8	33.3
0.00	+ 250.0	20	18	2	0 *
0.50	+ 3.1	20	17	3	5.6 *
1.25	+ 7.8	20	7	13	61.1 *
2.50	+ 15.6	19	6	13	64.9 *
5.00	+ 31.2	20	3	17	83.3 *
10.00	+ 62.5	20	1	19	94.4 *
20.00	+ 125.0	20	1	19	94.4 *
40.00	+ 250.0	20	0	20	100

*.- Mortalidad corregida por fórmula de Abbott debido a mortalidad en el testigo.

CUADRO A.16. Resultados de bioensayos con mezcla de permetrina + butóxido de piperonilo (relación 1 : 5.55) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS		%	24 h
		OBSERVADOS	MUERTOS		
perme- trina	butóxido de piperonilo	OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS	
45.00	+ 0.0	19	10	9	47.4
0.00	+ 250.0	21	20	1	0 *
2.81	+ 15.6	20	14	6	26.5 *
5.65	+ 31.3	20	11	9	42.2 *
11.25	+ 62.5	22	9	13	57.0 *
22.50	+ 125.0	21	7	14	65.0 *
33.75	+ 187.5	20	6	14	68.5 *
45.00	+ 250.0	20	0	20	100

*.- Mortalidad corregida por fórmula de Abbott debido a mortalidad en el testigo.

CUADRO A.17. Resultados de bioensayos con mezcla de deltametrina + butóxido de piperonilo (relación 1 : 12) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS		%	24 h
		OBSERVADOS	VIVOS		
deltame- trina	butóxido de piperonilo				
30.00 + 0.0		22	12	10	45.5
0.00 + 250.0		18	18	0	0
1.87 + 15.6		21	13	8	38.1
3.75 + 31.3		21	10	11	52.4
7.50 + 62.5		21	9	12	57.1
15.00 + 125.0		20	4	16	80
30.00 + 250.0		20	0	20	100

CUADRO A.18. Resultados de bioensayos con mezcla de endosulfan + butóxido de piperonilo (relación 1 : 6.25) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS		%	24 h
		OBSERVADOS	VIVOS		
endo- sulfan	butóxido de piperonilo				
40.00 + 0.0		20	12	8	40
0.00 + 250.0		20	20	0	0
2.50 + 15.6		19	15	4	21.1
5.00 + 31.2		20	15	5	25
10.00 + 62.5		21	12	9	42.8
20.00 + 125.0		21	6	15	71.4
40.00 + 250.0		20	3	17	85

CUADRO A.19. Resultados de bioensayos con mezcla de paration metílico + dietil maleato (relación 1 : 20) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS			%	24 h
		OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS		
paration metílico	dietil maleato					
5.50 +	0.0	20	7	13	65	
0.00 +	110.0	20	20	0	0	
0.34 +	6.9	20	19	1	5	
0.69 +	13.8	20	18	2	10	
1.37 +	27.5	21	17	4	19	
2.75 +	55.0	22	8	14	63.6	
5.50 +	110.0	20	1	19	95	

CUADRO A.20. Resultados de bioensayos con mezcla de metamidofos + dietil maleato (relación 1 : 10) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS			%	24 h
		OBSERVADOS	VIVOS	MUERTOS		
metami- dofos	dietil maleato					
25.00 +	0.0	20	8	12	60	
0.00 +	250.0	20	20	0	0	
1.56 +	15.6	23	18	5	21.7	
3.12 +	31.2	20	16	4	20	
6.25 +	62.5	20	7	13	65	
12.50 +	125.0	20	2	18	90	
25.00 +	250.0	20	0	20	100	

CUADRO A.21. Resultados de bioensayos con mezcla de carbarilo + dietil maleato (relación 1 : 6.25) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS		%	24 h
		OBSERVADOS	VIVOS		
carba- rilo	dietil maleato				
40.00 + 0.0		20	13	7	35
0.00 + 250.0		20	20	0	0
2.50 + 15.6		20	18	2	10
5.00 + 31.2		21	16	5	23.8
10.00 + 62.5		20	17	3	15
40.00 + 250.0		20	15	5	25

CUADRO A.22. Resultados de bioensayos con mezcla de pemetrina + dietil maleato (relación 1 : 5.55) sobre adultos de *Anthonomus eugenii* Cano.

DOSIS MORTALIDAD (ppm)		INDIVIDUOS		%	24 h
		OBSERVADOS	VIVOS		
perme- trina	dietil maleato				
45.00 + 0.0		20	11	9	45
0.00 + 250.0		20	20	0	0
2.81 + 15.6		20	16	4	20
5.65 + 31.2		20	14	6	30
11.25 + 62.5		23	14	9	39.1
22.50 + 125.0		20	11	9	45
45.00 + 250.0		20	12	8	40