



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION DE RESISTENCIA A
INSECTICIDAS (MALATION) EN INSECTOS DE
ALMACEN (GORGOJO CASTAÑO DE LAS
HARINAS, Tribolium castaneum (HERBST))

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

SERGIO JIMENEZ AMBRIZ

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1. Historia de la resistencia	5
2.2. Naturaleza de la resistencia	8
2.3. Tipos de resistencia	11
2.4. Métodos para la determinación de la resistencia	14
3. MATERIALES Y METODOS	17
3.1. Insectos utilizados en los experimentos ...	17
3.2. Insecticida empleado	18
3.3. Cría de <u>T. castaneum</u>	18
3.4. Método utilizado para la detección y me- dición de resistencia	19
3.4.1. Diluciones del insecticida por ensayar	21
3.4.2. Aplicación del insecticida al papel filtro	21
3.5. Exposición de los insectos a los papeles filtro tratados y registro de la respuesta en la raza susceptible	22
3.6. Prueba para detectar resistencia	24
3.7. Valoración de la resistencia	25
4. PROCESAMIENTO ESTADISTICO DE LA INFOR- MACION	26
5. RESULTADOS Y DISCUSION	27
6. CONCLUSIONES	41
7. BIBLIOGRAFIA	44

1. INTRODUCCION

Los sistemas y técnicas actuales de almacenamiento de granos y semillas, exigen en gran parte el uso de insecticidas y fumigantes con el propósito de proteger y mantener la abundancia y calidad de estos productos contra el ataque de diversas plagas de insectos. Sin embargo, la efectividad relativa de estos compuestos químicos está influenciada por las diferencias intrínsecas de los insectos, así como también por factores ambientales que producen cambios en el metabolismo y comportamiento de los insectos, además de modificar la toxicidad de los plaguicidas (Brown, 1951; Busvine, 1957; Shepard, 1958; Champ y Dyte, 1976). De esta manera las aplicaciones de dosis adicionales de estos compuestos químicos, son realizadas cuando están presentes condiciones de este tipo, resultando en severas presiones de selección, las cuales contribuyen al desarrollo de razas de insectos resistentes, además del uso excesivo y en algunos casos innecesario de los plaguicidas.

La presencia de insectos resistentes a insecticidas presenta un impacto no únicamente en términos de grandes costos debido al incremento de las dosis y número de aplicaciones, sino también en el desequilibrio socioeconómico de las comunidades agrícolas.

Con la detección temprana de la resistencia pueden preverse serios problemas, además facilita la evaluación oportuna de productos químicos alternativos y de otros procedimientos de combate antes de que realmente se necesiten.

Ramírez Genel (1974) menciona que en México hay aproximadamente unas 15 especies de insectos primarios y secundarios pertenecientes a los órdenes Coleoptera y Lepidoptera que ocasionan daños de consideración a los granos y productos almacenados. Entre estas especies, el "gorgojo castaño de la harina" Tribolium castaneum (Herbst)* está considerado como una de las plagas de mayor importancia económica, debido al daño que produce a una gran diversidad de productos almacenados y por su distribución cosmopolita. No obstante de estar clasifi-

*/ Coleoptera, Tenebrionidae

cado como plaga secundaria, en varias ocasiones produce pérdidas de consideración, como es el caso de los molinos y bodegas harineras, donde es una de las plagas principales.

De esta manera, el uso de Malatión es sin duda uno de los productos químicos que por proporcionar amplios límites de seguridad, su aplicación ha sido la práctica más común para prevenir las pérdidas o daños que suelen ocasionar las plagas de insectos de almacén en varios países del mundo (incluyendo el nuestro) cuando no se adoptan medidas adecuadas de protección.

La falta de información relacionada al conocimiento de los niveles de susceptibilidad de las principales plagas de insectos que atacan granos y productos almacenados a los insecticidas más usados para su control, así como la menor efectividad del Malatión sobre el gorgojo castaño de la harina, T. castaneum observada en algunas localidades de la República Mexicana, han motivado la realización del presente trabajo, el cual consiste en utilizar el método propuesto por F.A.O. (1974) con el objeto de detectar y valorar la resistencia al Malatión de 3 razas de T. castaneum, procedente de 3 localidades del país.

Esta es la primera vez que en México se intenta un trabajo de tal naturaleza y el tomar como ejemplo a Tribolium castaneum tiene la finalidad de dar a conocer la metodología de este tipo de pruebas, las cuales deben ser manejadas por centros de investigación agrícolas o universitarios y cuyos resultados puedan ser tomados en cuenta como indicadores del problema básico de resistencia ocasionado por el uso inadecuado de los plaguicidas y sugerir alternativas de combate para dicho insecto.

2. ANTECEDENTES

2.1. Historia de la resistencia

Al hablar en la actualidad de resistencia de insectos a compuestos químicos, no se está tratando un tema nuevo ya que desde 1908 y 1910 este fenómeno fue observado con cierta claridad por Melander (1914) en la escama de San José, Quadraspidiotus perniciosus (Comst.) al ser menos susceptible al sulfuro de calcio. Posteriormente, Quayle (1916) detectó una mayor tolerancia en la escama roja de California, Aonidiella aurantii (Mask.) y a la escama negra, Saissetia oleae (Oliver) al ácido cianhídrico.

Cuando la Organización Mundial de la Salud (W.H.O.) llevó a cabo el Primer Simposio Internacional sobre el Control de Insectos Vectores de Enfermedades, convocado en Roma en 1953, fue evidente que el control había sido realizado fundamentalmente por los insecticidas clorados, pero finalmente llegó a

ser la principal preocupación en esta reunión la resistencia que desarrollaron ciertas poblaciones de insectos a los tratamientos que en un principio habían sido efectivos (Brown, 1960).

La resistencia en insectos de importancia médica fue citada primero por Welsman en 1946 con el descubrimiento de la resistencia al DDT de la mosca doméstica, Musca domestica L. y en los 12 años siguientes la resistencia se detectó en muchos de los insectos vectores de enfermedades humanas (Metcalf, 1960). El mismo patrón general de desarrollo de resistencia a insecticidas clorados fue seguido por los insectos fitófagos en la década de los cincuentas (Chapman, 1960).

Los casos más comunes de resistencia registrados a fines de 1975 entre las diferentes especies de insectos y ácaros a varios tipos de compuestos químicos, suman un total de 364 especies, correspondiendo 139 a aquellas de importancia médico-veterinaria y 225 a las de importancia agrícola, incluyendo plagas forestales y plagas de productos almacenados (Georghiou and Taylor, 1976).

Los primeros registros de resistencia de insectos de productos almacenados a insecticidas fueron hechos en una raza de Sitophilus granarius (L.) seleccionada en el laboratorio por Mathiein en 1952 (Parkin, 1965). Un año después Blackith mencionó que la misma especie era resistente a piretrinas, con un factor de resistencia de 3.5 (Parkin, 1965).

Sin embargo, no fue sino hasta 1959 cuando el Pest Infestation Laboratory en Slough, Inglaterra, colectó muestras de insectos procedentes de varios países donde la resistencia había sido sospechada. La gran mayoría de las especies estudiadas mostró de ligera a considerable resistencia a los insecticidas usados en tratamientos de campo. De estas especies predominaron Sitophilus sp. y Orizaephilus surinamensis resistentes al Lindano y Tribolium castaneum resistente al Malatión (Parkin, 1965).

La resistencia de T. castaneum al Malatión ha sido manifestada en Nigeria (Parkin, 1965), en Estados Unidos (Speirs et al. 1967), Egipto (Toppozada et al. 1969) y en Australia (Champ and Campbell-Brown, 1970). En 1972-73 la F.A.O. realizó una prospección mundial sobre las principales

plagas de insectos de almacén y encontró que el gorgojo castaño de la harina, T. castaneum fue la especie que se presentó con mayor frecuencia y la que también tuvo mayor respuesta de resistencia (Champ y Dyte, 1976).

2.2. Naturaleza de la resistencia

Un individuo no representa genéticamente a toda la población de la cual forma parte, sino solamente tiene una constitución genética diferente a otro individuo de la misma población. El proceso de segregación y recombinación genéticas producen nuevos genotipos en cada generación sucesiva. Si un componente del medio ambiente, ya sea natural o producido artificialmente, favorece a cierto grupo de genes, este grupo se incrementa y tiende a reemplazar a los no favorecidos (Lagunes, 1974).

La resistencia a los insecticidas es un ejemplo de cambio evolutivo, donde el insecticida actúa como un fuerte agente de selección, concentrando a cierto grupo de genes que estuvieron presentes en bajas frecuencias en las poblaciones originales (Crow, 1957).

El fenómeno de la resistencia se define como la habilidad adicional que presentan ciertos individuos en sobrevivir a un tóxico el cual es suficiente para eliminar a toda una población (Brown, 1960).

Crow (1957) menciona que hay dos explicaciones diferentes del papel que juega el tóxico en el desarrollo de la resistencia:

1. Postadaptación. - Se refiere a que el cambio a la resistencia del insecto hacia el tóxico es fisiológico y no depende de la constitución genética del insecto, o que si el cambio es genético éste es inducido directamente por el tóxico.
2. Preadaptación. - Se refiere a que las diferencias genéticas que se relacionan a la resistencia ya están presentes en la población del insecto y que el tóxico actúa solamente como un agente selectivo que favorece los genotipos resistentes.

Hay fuertes evidencias que apoyan la teoría de la preadaptación en el desarrollo de la resistencia. Crow (1957) menciona que varios autores no encontraron incrementos de resistencia cuando trataron varias especies de insectos con dosis subletales de insecticidas. Por otro lado, Bennett (citado por Crow, 1960) probó parte de la progenie de cada una de varias series de pares de machos y hembras cruzados, luego seleccionó, para propagación y prueba, los hermanos de aquellos individuos que mostraron alta resistencia, de esta manera se desarrolló una línea de Drosophila resistente, sin que ninguno de los individuos o ancestros hubiese sido expuesto al insecticida.

Por estas razones la hipótesis de la preadaptación tiene mayor validez y se puede asumir que el solo efecto del insecticida es un agente selectivo.

Varios autores citados por Lagunes (1974) y Alava (1976) coinciden en que la resistencia tiene bases genéticas, un solo par de genes (Monofactorial) o varios pares de genes (Polifactorial) pueden estar involucrados en la herencia de la resistencia. Estos genes pueden ser dominantes, recesivos, ligados al sexo o somáticos.

2.3. Tipos de resistencia

La resistencia es clasificada por Georghiou (1965) en tres categorías:

- Por comportamiento
- Morfológica
- Fisiológica

Resistencia por comportamiento.- Se refiere a los patrones de comportamiento de los insectos, que les proporcionan la capacidad de evitar el contacto con el insecticida. En muchos casos la conducta no incrementa el potencial intrínseco de resistencia de la plaga. De esta manera se puede decir que entre más grande sea la proporción de los sobrevivientes casuales respecto a los sobrevivientes expuestos, retardará más la resistencia.

Brown (1960) menciona que poblaciones de Anopheles, han desarrollado una capacidad basada en respuestas de hiperirritabilidad que les hace evitar ponerse en contacto con superficies tratadas con insecticidas. Otro caso de resistencia por comportamiento es el mostrado por Musca domestica L. en la

que algunos individuos "prefieren" ponerse en el techo de los establos y por lo tanto escapan a la acción de los insecticidas aplicados en las paredes (Lagunes, 1974).

Resistencia morfológica. - Esta se presenta cuando alguna característica morfológica provee la resistencia. Metcalf (1955) menciona que Weismann describió una línea de moscas en Suecia 100 veces resistentes al DDT en aplicaciones tóxicas en el tarso, las cuales pueden ser distinguidas de las moscas susceptibles por una pigmentación oscura de las extremidades y segmentos tarsales anchos. Perry (1956) midió el diámetro de los pulvillos de moscas normales y resistentes y encontró que el diámetro promedio de las moscas resistentes fue menor que en las moscas susceptibles.

Resistencia fisiológica. - MacNally, citado por Alava (1976), menciona que este tipo de resistencia es el más importante y Perry (1956) enlista los principales factores fisiológicos de la resistencia:

- Desintoxicación enzimática.
- Actividad de la citocromo-oxidasa.

- Protección contra la inhibición de la fosforilización.
- Reducción de la permeabilidad de la cutícula.
- Diferencia en la penetración y movimiento de las toxinas a partir del punto de contacto con el organismo.
- Almacenamiento de las toxinas en tejidos no sensitivos.

Para obtener resistencia a un producto tóxico no necesariamente actúan todos los factores anteriores, pues dependerá de la especie de insecto y del tóxico (Perry, 1956).

El metabolismo de los insecticidas organofosforados ha sido estudiado por Dyte y Rowlands (1968), quienes indican que la hidrólisis de los insecticidas organofosforados resulta casi siempre en su desintoxicación. Tales reacciones hidrolíticas son catalizadas por esterasas bajo condiciones fisiológicas; de esta manera, las fosfatasas catalizan las uniones fosfato o tioalato. Sin embargo, los insecticidas tales como Malatión, Acetión, Dimetoato o Permetión tienen un sitio de hidrólisis alternativo en los enlaces carboxiester o carboxiamida. Las

esterasas catalizan atacando en este sitio alternativo en el Matión, siendo llamadas "Carboxiesterasas".

2.4. Métodos para la determinación de la resistencia

Con la amplia variedad de técnicas empleadas en la evaluación de la efectividad de los insecticidas, fue inevitable que haya ocurrido también un gran desarrollo de técnicas para detectar y evaluar la resistencia. Esta gran diversidad de métodos se debe principalmente a que cada uno de ellos presenta ventajas para determinadas especies de insectos y/o estados biológicos (Quarterman, 1960, y Reynolds, 1960). En seguida se mencionan los métodos más usados:

Aplicación tópica. - En este método una microgota de tóxico en un solvente es aplicada a la superficie dorsal del tórax (usualmente en el segmento metatorácico). Este método es por lo general usado en insectos relativamente grandes como es el caso de la mosca doméstica y picudo del algodónero (Reynolds, 1960).

Insecticidas en agua. - En este caso las pruebas son hechas en un volumen específico de agua en recipientes apropiados a una temperatura de 25°C, usando de 20-25 larvas de mosquito de tercero o cuarto estadio por recipiente. Las larvas son expuestas por 24 horas, y al finalizar el período de exposición son contadas el número de larvas muertas, vivas y moribundas este método ha sido ampliamente usado por W.H.O. para la detección de resistencia en mosquitos (Quarterman, 1960).

Superficies interiores tratadas con diversas concentraciones de insecticidas en aceite. - En esta técnica el insecticida es aplicado junto con un solvente volátil, en el interior de pequeños frascos. Después de unos minutos el solvente se evapora, quedando el insecticida en la pared interior de los frascos. Esta técnica es usada para detectar resistencia en larvas de lepidópteros (Reynolds, 1960).

Papeles filtro impregnados con insecticidas. - Consiste en tratar papeles filtro con concentraciones conocidas de insecticidas donde son colocados los insectos por un tiempo de exposición variado, el cual dependerá del tipo de insecticida aplicado y la especie de insecto. La Organización Mundial de la Salud --

(W.H.O.) y la Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación (F.A.O.) han aplicado esta técnica para detectar y valorar resistencia a plagas de importancia médica y agrícola, respectivamente.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Insectos utilizados en los experimentos

La raza susceptible de Tribolium castaneum, es originaria del Pest Infestation Laboratory de Slough, Inglaterra, donde se ha mantenido aislada de insecticidas durante varios años con el propósito de ser utilizada como una raza de referencia en estudios toxicológicos y principalmente en estudios de resistencia. Debido a que pocos lugares en el mundo han mantenido insectos susceptibles a productos químicos, fue necesario solicitar esta raza susceptible al laboratorio antes mencionado.

En el caso de las razas de la misma especie, en las que se realizaron los bioensayos para detectar y valorar la resistencia al Malatión, fueron obtenidas de las bodegas de Almacenes Nacionales de Depósito, S.A. (A.N.D.S.A.) procedentes de los estados de Tamaulipas, Coahuila y Chiapas en 1979. Respecto a la identificación de la especie, ésta se hizo tomando como

base las características descritas por diferentes autores (F.A.O. 1974; Jaieson y Jobber, 1974; U.S.D.A. 1979).

3.2. Insecticida empleado

El insecticida que se utilizó en los bioensayos fue Malatión técnico designado químicamente como S-(1,2-Dicarbetoietilo)-0,0-dimetil fosforoditioato (Cyanamid Internacional), con una pureza no menor a 95%.

3.3. Cría de *T. castaneum*

De las muestras obtenidas de las bodegas de A.N.D.S.A. se separaron los adultos de *T. castaneum* de cada una de las 3 localidades y se colocaron en un medio de cría (95% de trigo quebrado, más 5% de levadura en polvo), a una temperatura de 25°C y a una humedad relativa de 70%. De esta manera se establecieron los pies de cría. A partir de estos pies de cría, se obtuvieron los insectos de prueba, colocando 100 individuos adultos de cada una de las 3 localidades (incluyendo la raza susceptible) en frascos de medio litro de capacidad de boca ancha, conteniendo 200 gr de medio de cría, donde se dejaron por 5 días para la oviposición. Trans-

currido este período, los adultos fueron retirados y en un promedio de 30 días emergieron nuevas generaciones de adultos, los cuales fueron destinados a los bioensayos.

3.4. Metódo utilizado para la detección y medición de resistencia

En el presente estudio se utilizó el método recomendado por la F.A.O. (1974) para la detección y medición de la resistencia en plagas de insectos de granos almacenados. Este método consiste en dos pasos, siendo el primero la exposición de insectos adultos de una raza susceptible a papeles filtro impregnados con diferentes concentraciones del insecticida a probar, por un tiempo de exposición determinado, con el propósito de obtener los valores de abatimiento (mortalidad) KD_{50} y KD_{99} . Es decir, las dosis necesarias para que el 50 y 99% de los insectos sometidos al insecticida mueran. De esta manera tenemos que la KD_{50} se usa como la dosis de referencia para calcular los factores de resistencia, mientras que la KD_{99} corresponde a la dosis que se utiliza para la detección de resistencia. Estos valores son calculados por un método estadístico apropiado.

El segundo paso se utiliza para la detección de resistencia en poblaciones "silvestres" de gorgojos de las harinas, donde se aplica la dosis KD_{99} calculada en el primer paso y que corresponde a la dosis mínima que supuestamente abate a todos los insectos de la raza susceptible. Un mínimo de 80 individuos en 2 lotes se exponen durante un período apropiado a la dosis discriminativa obtenida. Si todos los individuos están inertes al término de la exposición, la muestra puede clasificarse como no resistente. Si por el contrario, se observan individuos no dañados al finalizar la exposición, puede considerarse como una primera fase de resistencia.

Para valorar la resistencia, un procedimiento similar al primer paso, pero con una población resistente, permite la determinación de otros valores de la KD_{50} y KD_{99} que al ser divididos entre los valores correspondientes a los de la colonia susceptible lleva a la obtención del factor de resistencia de la raza resistente.

3.4.1. Diluciones del insecticida por ensayar

La preparación de las soluciones del insecticida se hicieron disolviendo el Malatión en el aceite Ricella 17, empleando un factor de 0.5 entre cada una de las soluciones (para ésto se utilizó una micropipeta). La selección de las diluciones de prueba para la raza susceptible se hizo con base a las sugeridas por F.A.O. (1974): en tanto que las diluciones de prueba para las razas de las 3 localidades en México se hicieron con base a los porcentajes de mortalidad que se iban obteniendo.

3.4.2. Aplicación del insecticida a los papeles filtro

La aplicación de las soluciones a los papeles filtro se realizó de la siguiente manera:

- a). Se tomaron 3 ml (para 3 repeticiones) de cada una de las concentraciones iniciales de insecticida y se diluyeron en 12 ml (4 veces su volumen) de una mezcla de disolventes volátiles formada por éter de petróleo y acetona a una proporción de 3:1. En el caso del testigo consistió de aceite de Ricella 17, más la mezcla de disol-

ventes. Antes de la aplicación, estas diluciones se mantuvieron en una charola con hielo para evitar la evaporación de los disolventes.

- b). De estas soluciones se tomó 0.5 ml y se aplicó con una pipeta (graduada en décimas de mililitro) con movimiento en espiral, progresivamente decreciente, sobre cada papel filtro (Watman No. 1 de 7 cm de diámetro) suspendido sobre 3 alfileres, los cuales evitaban la pérdida del insecticida por el contacto con el sustrato durante la aplicación.
- c). Después de la aplicación, los papeles filtro se dejaron secar aproximadamente durante un minuto y luego se trasladaron a un vidrio plano, sobre el cual se dejaron en reposo durante la noche.

3.5. Exposición de los insectos a los papeles filtro tratados y registro de la respuesta en la raza susceptible

Para el experimento se utilizaron gorgojos adultos de 5 semanas de emergidos, así como 3 repeticiones de cada una -

de las 4 concentraciones consideradas, más 3 repeticiones del testigo. Los insectos adultos se sacaron del medio de cultivo en número de 10 y se colocaron en frascos pequeños. Esta operación se repitió 3 veces hasta que cada uno de los frascos tuvo la cantidad de insectos requerida (30). Lo anterior se hizo con el propósito de reducir la variación de los lotes. Los insectos en estas condiciones se dejaron una hora sin alimento a 25°C y 70% de humedad relativa. Los lotes se distribuyeron después de un modo aleatorio en los papeles filtro tratados, sobre los cuales se habían colocado previamente anillos de cobre de 5 cm de diámetro y 2.5 cm de altura, con una película de Fluon* en la pared interior que impedía que los insectos subieran por dicha pared y así asegurar el contacto de los insectos con el insecticida del papel filtro.

Después de 5 horas de exposición a 25°C de temperatura y 70% de humedad relativa, se hicieron las observaciones necesarias, registrando el estado de los insectos para cada concentración. Con estos datos, utilizando un método estadístico apropiado, se calculó la KD_{50} y la dosis discriminativa KD_{99} .

*/ Politetrafluoretileno.

El criterio que se consideró para clasificar los insectos dañados fue la caída de éstos (KNOCKDOWN), definida como la incapacidad para sostenerse y caminar. Generalmente bastó un ligero empujón hacia adelante con las pinzas para determinar en qué categoría habría que clasificarlo. Cuando se observaron en el testigo algunos insectos afectados fue necesario corregir la lectura por medio de la fórmula de Abbott, del porcentaje de mortalidad en todas las concentraciones del ensayo. Los resultados son descartados si el porcentaje de insectos afectados en los testigos es mayor de 10%.

3.6. Prueba para detectar resistencia

El valor de la dosis discriminativa KD_{99} de la raza susceptible o de referencia fue el que se tomó como indicador para la detección de resistencia. Dicha dosis se probó en 90 insectos divididos en 3 repeticiones más un control de 30 insectos en cada una de las razas de las 3 localidades muestreadas y susceptible. Tanto la edad de los insectos como las condiciones de prueba fueron las mismas que en el ensayo de la raza susceptible.

3.7. Valoración de la resistencia

La presencia de insectos sobrevivientes a la dosis discriminativa KD_{99} , después de 5 horas de exposición al insecticida, sugirió la realización de la cuantificación de resistencia. Para este propósito se determinaron los valores de las KD_{50} y KD_{99} de las razas resistentes con el mismo método utilizado en la raza susceptible. De esta manera, los factores de resistencia se calcularon dividiendo los valores de las dosis KD_{50} ó 99 de cada una de las razas resistentes, entre el valor de la KD_{50} ó 99 de la raza susceptible.

4. PROCESAMIENTO ESTADISTICO DE LA INFORMACION

En 1935 Bliss (citado por Shepard, 1951) sugirió que cuando el mismo agente tóxico es usado contra poblaciones de insectos provenientes de diferentes localidades, la variación en la pendiente de la línea de regresión probit, es debida a la variación de la susceptibilidad del material biológico estudiado.

En 1958, Metcalf (citado por Alava, 1976) señaló que los datos sobre la acción letal en bioensayos se deben analizar por medio de la gráfica dosis/respuesta, y que en experimentos toxicológicos, donde haya una mortalidad apreciable debido a causas diferentes a la acción del tóxico aplicado, lo que corresponde a la mortalidad del testigo, se debe corregir esa mortalidad por medio de la fórmula de Abbott.

$$MC = \frac{X - Y}{100 - Y}$$

donde:

MC = Mortalidad corregida.

X = Porcentaje de mortalidad observada en un tratamiento.

Y = Porcentaje de mortalidad del testigo.

Los valores de mortalidad se manejaron con el criterio de Shepard (1951), quien explicó que los valores "probit" son unidades de probabilidad arreglados en una escala del 1 al 10, de modo que el número 5 representa el 50% de respuesta al estímulo analizado.

En el presente trabajo se realizaron 4 análisis de regresión para obtener los valores de las KD_{50} y KD_{99} de las 4 razas de insectos estudiadas, además, junto con esta información se obtuvieron también los valores A y B de la ecuación de regresión $Y = A + B X$, donde:

Y = Porcentaje probit.

A = Ordenada al origen.

B = Pendiente de la línea de regresión.

X = Logaritmo de la dosis.

Para obtener la dosis necesaria para producir una mortalidad del 50% de la población tratada, se sustituye Y por 5 y se despeja X . Para obtener el 99% de mortalidad de la población tratada se sustituye Y por 7.33 y se despeja X . Seguidamente se calcula el antilogaritmo del valor obtenido, lográndose así la dosis letal cincuenta o noventa y nueve, según el caso (Hoskins, 1960).

Las dosis KD_{50} y KD_{99} se representan en por ciento de Malatión (en aceite de Ricella 17) usado para impregnar un papel filtro de 7 cm de diámetro, y también en microgramos de Malatión por cm^2 .

El valor de la pendiente de la línea de regresión (B) es el recíproco de la desviación estándar o lo que es lo mismo, es igual al recíproco de la raíz cuadrada de la varianza. Por lo tanto, mientras mayor sea el valor de la pendiente, menor será la varianza. Esta información nos indica que tan homogénea es la respuesta de una población respecto a otra (Hoskins, 1960).

Los datos (número de insectos afectados y sus correspondientes concentraciones) obtenidos en los bioensayos, se analizaron electrónicamente utilizando el procesamiento Probit del Sistema SAS 76 (Barr et al. 1976) en el Centro de Estadística y Cálculo del Colegio de Postgraduados en Chapingo, México.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores de la KD_{50} y KD_{99} obtenidos mediante el análisis probit en la raza de T. castaneum susceptible, fueron de 0.15% ($3.99 \mu\text{gr}/\text{cm}^2$) y 0.47% ($11.99 \mu\text{gr}/\text{cm}^2$) respectivamente. La dosis que se utilizó para la detección de resistencia en las razas procedentes de Chiapas, Tamaulipas y Coahuila fue de 0.5% ($12.96 \mu\text{gr}/\text{cm}^2$) la cual coincidió con la sugerida por F.A.O. (1974).

Las respuestas de las 4 razas de T. castaneum a la dosis discriminativa (KD_{99}) se muestra en el Cuadro 1.

Como puede notarse, los datos muestran un total abatimiento de la raza susceptible a la dosis discriminativa, mientras que en las otras 3 razas hubo sobrevivientes a dicha dosis, lo que nos sugiere la presencia de individuos resistentes al insecticida probado.

Los valores de KD_{50} y KD_{99} , así como sus respectivos límites de confianza, ordenada al origen, pendiente y varianza

CUADRO 1. Mortalidad de las 4 razas de T. castaneum a la dosis discriminativa (0.5%) de Malatión.

<u>Raza de T. castaneum</u>	Tratados	Muertos	Mortalidad
Susceptible (Slough)	90	90	100
Chiapas	90	18	20
Tamaulipas	90	16	17.7
Coahuila	90	0	0

calculados a partir de la línea de regresión del análisis probit en las 4 razas de T. castaneum se muestra en el Cuadro 2.

Con base a los datos tabulados en el cuadro anterior, se observa que la raza susceptible presentó los valores de KD_{50} y KD_{99} más pequeños y fueron seguidos por los valores de la raza de Chiapas, Tamaulipas y por último Coahuila que presentó los valores mayores.

De acuerdo a los valores de las pendientes obtenidas de las líneas de regresión en las 3 razas y que son mostradas en dicho cuadro, indican que la raza susceptible y la de Coahuila tuvieron una respuesta al Malatión más homogénea que la respuesta mostrada por las razas de Chiapas y Tamaulipas. Lo anterior se aprecia más claramente en la Gráfica 1.

El Cuadro 3 muestra los resultados del análisis de las pendientes con la prueba de t de Student.

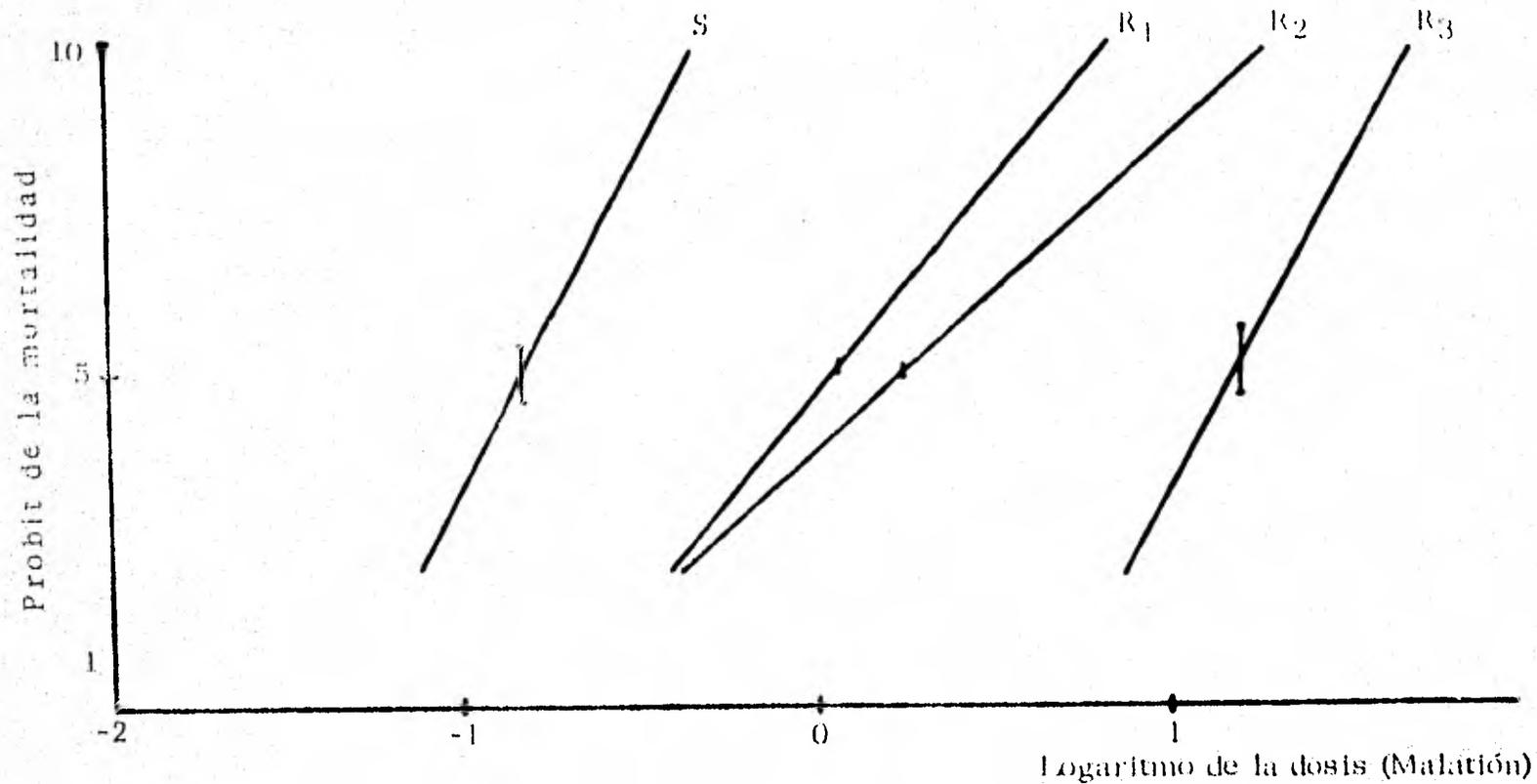
Factores de resistencia

Los factores de resistencia a nivel de la KD_{50} se calcularon dividiendo los valores de la KD_{50} de cada una de las ra-

CUADRO 2. Valores de KD_{50} y KD_{99} , límites de confianza, ordenada al origen, pendiente y varianza.

Razas de <u>T. castaneum</u>	%	KD_{50} ($\mu\text{gr}/\text{cm}^2$)	Límites de confianza (95%)		%	KD_{99} ($\mu\text{gr}/\text{cm}^2$)	Límites de confianza (95%)		Ordenada al origen	Pendiente	Varianza
			Inf.	Sup.			Inf.	Sup.			
Susceptible	0.15	3.9	0.126	0.182	0.47	11.9	0.353	0.795	9.0	4.87	0.418
Chiapas	1.16	30.2	1.054	1.274	7.07	183.5	5.818	9.083	4.8	2.96	0.038
Tamaulipas	1.81	46.9	0.856	2.846	21.15	548.3	9.310	267.506	4.4	2.17	0.230
Coahuila	16.00	414.7	11.073	19.195	45.61	1182.1	32.373	146.028	1.2	5.11	1.285

GRAFICA 1. Ecuaciones de las líneas de regresión, y error estándar Syx de las 4 razas de Tribolium castaneum estudiadas.



Raza de <u>T. castaneum</u>	Ecuación de la recta de regresión	Syx (error estándar de la recta)
S (Susceptible)	$Y = 9 + 4.88 X$	0.461
R ₁ (Chiapas)	$Y = 4.80 + 2.97 X$	0.012
R ₂ (Tamaulipas)	$Y = 4.43 + 2.17 X$	0.035
R ₃ (Coahuila)	$Y = -1.16 + 5.11 X$	0.533

CUADRO 3. Comparación de pendientes a través de una prueba t de Student.

	Susceptible	Chiapas	Tamaulipas	Coahuila
Susceptible		*	*	NS
Chiapas	*		NS	NS
Tamaulipas	*	NS		*
Coahuila	NS	NS	*	

* Significativas al 5% de probabilidad.

$$t_{0.05(12 \text{ gl})} = 1.78$$

NS Diferencia no significativa

zas resistentes entre el valor de la KD_{50} de la raza susceptible (factor de resistencia = KD_{50} resistentes / KD_{50} susceptible). Los factores de resistencia a nivel de la KD_{99} se calcularon, considerando los valores de las KD_{99} . Estos factores son mostrados en el Cuadro 4.

Los factores de resistencia del cuadro 4 indican que a nivel de la KD_{50} la raza procedente de Chiapas fue 7.7 veces más resistente que la raza susceptible, mientras que la raza de Tamaulipas fue 12 veces más resistente y finalmente la raza de Coahuila fue 106 veces más resistente. En el caso de la KD_{99} , los factores de resistencia de las 3 razas resistentes, mostraron la misma tendencia.

Los valores KD_{50} de las 4 razas estudiadas, se compararon mediante una prueba de t de Student, con el propósito de determinar diferencias significativas. Los resultados de esta prueba se muestran en el Cuadro 5.

Con base en los valores de las pendientes y a los factores de resistencia, mostrados en los cuadros 1 y 4 respectivamente, sugieren que las razas de T. castaneum procedentes de Chiapas, Tamaulipas y Coahuila, han estado sometidas a presio-

CUADRO 4. Factores de resistencia a nivel de la KD₅₀ y KD₉₉ en las 4 razas de T. castaneum.

Raza de <u>T. castaneum</u>	KD ₅₀	Fac. Resist.	KD ₉₉	Fac. Resist.
Susceptible	0.15		0.47	
Chiapas	1.16	7.7	7.07	15.0
Tamaulipas	1.81	12.1	21.15	45.0
Coahuila	16.00	106.7	45.61	97.0

CUADRO 5. Prueba de t de Student de los valores KD_{50} de las 4 razas de T. castaneum.

	Susceptible	Chiapas	Tamaulipas	Coahuila
Susceptible		**	**	**
Chiapas	**		NS	**
Tamaulipas	**	NS		**
Coahuila	**	**	**	

** Altamente significativa.

$$t_{0.01(12 \text{ gl})} = 2.68$$

NS No significativa.

nes de selección, ejercidas por Malatión y otros insecticidas, y que estas presiones de selección han actuado de manera diferente sobre las razas estudiadas, debido a la presencia de varios factores. Así tenemos que la ocurrencia de las infestaciones de T. castaneum son diferentes para cada localidad, de igual manera, la frecuencia de las aplicaciones con Malatión y la técnica empleada para hacerlo no son las mismas, lo cual repercutirá en el desarrollo de valores diferentes de resistencia para cada raza. Considerando al clima como otro factor de gran importancia en el establecimiento y evolución de la resistencia de las diferentes razas, se puede pensar que en el caso de la raza procedente de Coahuila, que presentó el nivel de resistencia más alto (106.6), se puede explicar por el hecho de que en esta localidad el clima seco y semicálido (García, E., 1973) ocasiona una más lenta descomposición del Malatión que en las otras 2 localidades. De este modo la mayor persistencia del Malatión va a ejercer una presión de selección más prolongada en dicha localidad.

En el caso de los niveles de resistencia de las razas procedentes de Chiapas y Tamaulipas cuyos valores fueron de 7.7 y 12 respectivamente, el clima con mayor humedad tiene un

efecto directo sobre el Malatión, disminuyendo su toxicidad y su persistencia como agente selectivo, retardando de esta manera la aparición y evolución de la resistencia. Además del papel que presenta el clima sobre la persistencia del Malatión, es importante considerar que éste, principalmente en Chiapas representa condiciones favorables para el desarrollo de un mayor número de generaciones de T. castaneum al año, resultando esto en el retardo de la resistencia, o bien, en pequeños incrementos de ésta, debido a una mayor dilución del material genético.

Los altos niveles de resistencia presentados por T. castaneum al Malatión, pudieron también haberse originado o haber sido reforzados por insectos resistentes procedentes de otras áreas o pudieron haber sido un resultado de resistencia cruzada por el uso de otros insecticidas.

6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir lo siguiente:

El método de exposición al tóxico (Malatión) aquí utilizado, presentó resultados satisfactorios, ya que el incremento en la mortalidad estuvo de acuerdo al aumento de las dosis del tóxico en los bioensayos realizados.

La dosis discriminativa obtenida a partir del bioensayo en la raza susceptible o de referencia (Slough) que se utilizó para detectar resistencia en las razas de T. castanaeum procedentes de Chiapas, Tamaulipas y Coahuila fue de 0.5% (12.96 $\mu\text{gr}/\text{cm}^2$).

La raza susceptible presentó los valores de la KD_{50} y KD_{99} más pequeños, correspondiendo a 0.15% (3.9 $\mu\text{gr}/\text{cm}^2$) y 0.47% (11.9 $\mu\text{gr}/\text{cm}^2$) respectivamente. En el caso de la raza procedente de Chiapas, los valores fueron de 1.16% (30.2 $\mu\text{gr}/$

cm²) y 7.07% (183.5 µgr/cm²), seguido por los de la raza de Tamaulipas que fueron de 1.81% (46.9 µgr/cm²) y 21.15% (548.3 µgr/cm²) y finalmente la raza de Coahuila presentó los valores mayores que correspondieron a 16% (414.7 µgr/cm²) y 45.61% (1182.1 µgr/cm²).

Respecto a los factores de resistencia a nivel de la KD₅₀, la raza de Chiapas presentó un factor de resistencia de 7.7, seguida por la de Tamaulipas cuyo valor fue de 12.1 y la de Coahuila con un valor de 106.7. Los factores de resistencia a nivel de KD₉₉ presentaron la misma tendencia en cada una de las razas que en el caso anterior y los valores fueron de 15 para la raza de Chiapas, 45 para la raza de Tamaulipas y 97 para la de Coahuila.

De acuerdo a los valores de las pendientes, la raza susceptible y la de Coahuila presentaron una respuesta al Malatión más homogénea que la respuesta mostrada por las razas de Chiapas y Tamaulipas.

De lo anterior se deduce que las tres razas mexicanas mostraron definitivamente resistencia al Malatión, en menor grado la de Chiapas seguida de la de Tamaulipas y aquella

de Coahuila fue la más resistente.

Esta información nos hace suponer que este fenómeno quizás está ocurriendo en un buen número de bodegas, almacenes o silos en México que tienen por costumbre la aplicación continua y rutinaria del insecticida considerado en esta tesis, lo cual plantea situaciones de tipo económico, que quizás ya son detectadas por los encargados de tales tratamientos, viéndose en la necesidad de aumentar las concentraciones, las dosis o el tiempo de exposición del tóxico, incrementando por tanto los costos de los tratamientos.

7. BIBLIOGRAFIA

- Alava, V.D.A. 1976. Resistencia cruzada a varios tipos de insecticidas después de producir resistencia a paratión metílico en *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera, Noctuidae). Tesis de Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados. E.N.A. Chapingo, México. 96 pp.
- Barr, A.J., Goodnight, J.H., Sall, J.P., and Helwing, J.T. 1976. A user's guide SAS (Statistical Analysis System). Sparvs Press of Raleigh, North Caroline.
- Brown, A.W.A. 1957. Insect control by chemicals. New York. John Wiley and Sons, Inc.
- Brown, A.W.A. 1960. The resistance problem, vector control and W.H.O. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. 2: 59-67.
- Brown, A.W.A. 1960. Mechanisms of resistance against insecticides. Ann. Rev. Entomol. 5: 301-326.
- Busvine, J.R. 1957. Techniques for testing insecticides. Commonwealth Agricultural Bureaux. England.
- Champ, B.R., and Campbell-Brown, M.J. 1970. Insecticide resistance in Australian *Tribolium castaneum* (Herbst). I. A Test Method for Detecting Insecticide Resistance. J. Stored Prod. Res. 6: 53-70.
- Champ, B.R. and Campbell-Brown, M.J. 1970. Insecticide resistance in Australian *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). II. Malathion resistance in Eastern Australia. J. Stored Prod. Res. 6: 111-131.

- Champ, B.R. y Dyte, C.E. 1976. Informe de la Prospección Mundial de la FAO sobre Susceptibilidad a los Insecticidas de las Plagas de Granos Almacenados. Roma. Pág. 64-84.
- Champ, B.R. 1978. Pesticide resistance and its current significance in control of pests of stored products. Proc. of the second Int. Working Conference on Stored-Product Entomol. Ibadan, Nigeria. pág. 159-170.
- Chapman, R.K. 1960. Status of insecticide resistance in insects attacking vegetable crops. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. 2: 27-37.
- Crow, J.F. 1957. Genetics of insect resistance to chemicals. Ann. Rev. Ent. 2: 227-246.
- Crow, J.F. 1960. Genetics of insecticide resistance: General considerations. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. 2: 69-74.
- Cyanamid International (sin fecha). Manual de instrucción para elaboradores de insecticidas a base de Malatión.
- Dyte, C.E. and Rowlands, D.G. 1968. The metabolism and synergism of malation in resistant and susceptible strains of Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae). J. Stored Prod. Res. Vol. 4, pág. 157-173.
- Dyte, C.E. 1970. Insecticide resistance in stored product insects with special reference to Tribolium castaneum. Trop Stored Prod. Int. (20): 13-18.
- Dyte, C.E. and Blackman, D.G. 1970. The spread of Insecticide Resistance in Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae). J. Stored Prod. Res. 6: 255-261.

- Dyte, C.E., Green, A., and Pinniger, D.B. 1974. Some consequences of the development of insecticide resistance in stored-product insects. Proc. of the first Int. Working Conference of Stored-Product Entomol. Savannah, Georgia, U.S.A. pág. 261-271.
- F.A.O. 1974. Métodos recomendados para la detección y medición de la resistencia de plagas agrícolas a los plaguicidas. Métodos provisional para gorgojos adultos importantes en cereales almacenados con malatión o lindano. Método No. 15 de FAO. Boletín Fitosanitario, 24(5/6): 127-137.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. U.N.A.M.
- Georghiou, G.P. 1965. Genetics studies on insecticide resistance. Adv. Pest.Control Res. 6: 171-230.
- Georghiou, G.P. and Taylor, C.E. 1976. Pesticide resistance as a evolutionary phenomenon. Proceedings of XV International Congress of Entomol. Washington, D.C. 759-785.
- Hoskins, W.M. 1960. Use of the dosage - mortality curve in quantitative estimation of insecticide resistance. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. 2: 85-91.
- Jaimieson, M. y Jobber, P. 1974. Manejo de los alimentos: Ecología del almacenamiento. Ed. Pax-México.
- Lagunes, T.A. 1974. Resistencia diferencial a insecticidas entre poblaciones de Heliothis spp. (Lepidoptera: Noctuidae) que atacan al algodonero, tomate y maíz en México. Tesis de Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados. E.N.A. Chapingo, México. 101 pp.
- Lindblad, C. y Druben, L. 1976. Almacenamiento del grano. Ed. Concepto, S.A. pág. 130-160.

- Melander, A.L. 1914. Can insects become resistant to sprays? J. Econ. Entomol. 7: 167-172.
- Metcalf, R.L. 1955. Physiological basis for insect's resistance to insecticides. Physiological Review. 35: 197-232.
- Metcalf, R.L. 1960. Symposium on research Progress in Insecticide Resistance. Introduction to Symposium. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. Vol. II, Núm. 1: 3-4.
- Parkin, E.A. 1965. The onset of insecticide resistance among field populations of stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 1: 3-8.
- Perry, A.S. 1956. Factors associated with DDT resistance in the house fly, Musca domestica L. X International Congress of Entomol. 157-172.
- Quayle, H.J. 1916. Are scales becoming resistant to fumigations. Univ. Calif. J. Agric. 3: 333-334, 358.
- Quayle, H.J. 1938. The development of resistance to hydrocyanic acid in certain scale insects. Hilgardia 11(5): 183-210.
- Quartermar, D.K. 1960. Test methods establishing levels of susceptibility and detection the development of resistance in insects of public health importance. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. 2: 95-102.
- Ramírez, G.M. 1974. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. 2a. impresión. Ed. C.E.C.S.A. México.
- Reynolds, H.T. 1960. Establishing levels of insecticide resistance with standardized laboratory detection methods in agricultural arthropod pests. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer. 2: 103-111.

- Shepard, H.H. 1951. The chemistry and action of insecticides. McGraw Hill Book Co. New York: 413-438.
- Shepard, H.H. 1958. Methods of testing chemicals on insects. Burgess Publ. Co. 1: 83-91.
- Speirs, R.D., L.M. Redlinger and H.P. Boles. 1967. Malathion resistance in red flour beetle. J. Econ. Entomol. 60: 1373-4.
- Topozada, A., F.I. Ismail, and M.E. Eldefrawi. 1969. Susceptibility of local strains of Sitophilus oryzae (L.) and Tribolium castaneum (Herbst) to insecticides. J. Stored Prod. Res. 5: 393-397.
- U.S.D.A. 1979. Stored-grain insects. 1979. Agriculture Handbook 500.
- Zettler, J.L. 1974. Malathion resistance in Tribolium castaneum collected from stored peanuts. J. Econ. Entomol. 67: 339-340.
- Zettler, J.L. 1975. Malathion resistance in strains of Tribolium castaneum collected from rice in the USA. J. Stored Prod. Res. 11: 115-117.