

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMIA



**“Resistencia de tres poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)
(Lepidoptera: Noctuidae) a los insecticidas Tebufenocide y
Metoxyfenocide.”**

Presentado por:

ÁNGELA KATHERINE MARTÍN VIVANCO

**Tesis para optar el título de:
INGENIERO AGRONOMO**

Lima – Perú

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMIA

**“Resistencia de tres poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)
(Lepidoptera: Noctuidae) a los insecticidas Tebufenocide y
Metoxyfenocide.”**

**Tesis para optar el título de:
INGENIERO AGRONOMO**

ÁNGELA KATHERINE MARTÍN VIVANCO

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. Mg. Sc. Guillermo Sánchez Velásquez
PRESIDENTE

Dr. Javier Vásquez Castro
PATROCINADOR

Ing. Ulises Osorio Ángeles
MIEMBRO

Ing. Mg. Sc. Germán Joyo Coronado
MIEMBRO

H10.
M319
T

INDICE

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
	2.1. Aspectos generales de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith)	3
	2.2. Ciclo de vida	4
	2.3. Aspectos generales de la ecdisis o muda	6
	2.4. Insecticidas empleados	7
	2.4.1. Tebufenocide	8
	2.4.2. Metoxyfenocide	9
	2.5. Resistencia	10
	2.5.1. Resistencia cruzada	11
	2.5.2. Resistencia múltiple	11
	2.6. Mecanismos de resistencia a insecticidas	11
	2.6.1. Resistencia a la penetración	12
	a. Penetración de los piretroides	12
	2.6.2. Sitio insensible o sitio blanco alterado	13
	a. Reducida sensibilidad de la acetilcolinesterasa	13
	b. Reducida sensibilidad en el sistema nervioso	13
	2.6.3. Resistencia metabólica	14
	a. Sistema de oxidación microsomal	15
	b. Glutathion s-transferasa	15

43745

c. Carboxilesterasas	16
d. Esterasas	16
2.7. Ensayos toxicológicos	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. Diseño de investigación	18
3.2. Población y muestra	18
3.3. Crianza	18
3.4. Crianza individual	20
3.5. Ensayos toxicológicos	20
a. Selección del material vegetal	20
b. Tratamiento	20
c. Testigo	22
d. Infestación en las placas	22
e. Método de evaluación	22
3.6. Procedimiento de análisis de datos	23
3.7. Razón de resistencia	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	24
V. CONCLUSIONES	32
VI. RECOMENDACIONES	33
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
VIII. ANEXOS	40

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith)	4
Cuadro 2: Características del producto comercial de Tebufenocide.	8
Cuadro 3: Características del producto comercial de Metoxifenocide	9
Cuadro 4: Reportes de resistencia de insecticidas en <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith)	10
Cuadro 5: Características del producto comercial del Adherente	22
Cuadro 6. Respuesta del ensayo preliminar en la población del valle de Virú al ingrediente activo Tebufenocide.	24
Cuadro 7. Respuesta del ensayo preliminar en la población de La Molina al ingrediente activo Tebufenocide.	25
Cuadro 8. Respuesta del ensayo preliminar en la población del valle de Ica al ingrediente activo Tebufenocide.	25
Cuadro 9. Respuesta del ensayo preliminar en la población del valle de Virú al ingrediente activo Metoxyfenocide.	26
Cuadro 10. Respuesta del ensayo preliminar en la población de La Molina al ingrediente activo Metoxyfenocide.	26
Cuadro 11. Respuesta del ensayo preliminar en la Población del valle de Ica al ingrediente activo Metoxyfenocide.	27
Cuadro 12. Caracterización de la susceptibilidad de las poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) a Tebufenocide (ecdisteroide).	27
Cuadro 13. Caracterización de la susceptibilidad de las poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) a Methoxyfenocide (ecdisteroide).	29

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estados de desarrollo de <i>S. frugiperda</i> : Posturas y larvas neonatas (foto a), larvas de segundo y tercer estadio (foto b), larva de último estadio (foto c), pupas (foto d) y adulto (foto e)	5
Figura 2. Frasco para crianza de adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	19
Figura 3. Instrumentos y soluciones para bioensayo.	20
Figura 4. Acondicionamiento de mesas para bioensayo.	21
Figura 5. Secado de la superficie de las hojas tratadas para bioensayo.	21
Figura 6. Larva muerta por ecdysteroide.	23

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Resultado del análisis estadístico probit para la población de Ica – Metoxyfenocide	40
ANEXO 2: Resultado del análisis estadístico probit para la población de La Molina – Metoxyfenocide	42
ANEXO 3: Resultado del análisis estadístico probit para la población de La Molina – Metoxyfenocide	44
ANEXO 4: Resultado del análisis estadístico probit para la población de Ica – Tebufenocide	46
ANEXO 5: Resultado del análisis estadístico probit para la población de La Molina- Tebufenocide	48
ANEXO 6: Resultado del análisis estadístico probit para la población de Trujillo - Tebufenocide	50

RESUMEN

Se evaluó la resistencia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) a los insecticidas Tebufenocide y Metoxifenocide, mediante la realización de bioensayos toxicológicos bajo condiciones de laboratorio. Se evaluaron tres poblaciones procedentes de campos de espárrago de los valles de Virú, Ica y Rimac, esta última procedente de campos orgánicos, siendo así, considerada como la raza susceptible de referencia. El tratamiento consistió en la inmersión de hojas de *Ricinus communis* en las soluciones de insecticidas, para luego ser acondicionadas en placas Petri junto a larvas de tercer estadio. Se utilizaron 7 concentraciones logarítmicas para cada insecticida. La CL_{50} estimada para el Tebufenocide fue de 0,51; 0,29; 0,19 (mL P.C. / L_{agua}) para las poblaciones del valle de Virú, Ica y Lima, respectivamente; mientras que para Metoxifenocide la CL_{50} estimada fue 0,09; 0,26; 0,18 (mL P.C. / L_{agua}) para las mismas poblaciones, respectivamente. Los resultados demuestran la ocurrencia de leve resistencia al Tebufenocide en las poblaciones de los valles de Virú e Ica, con razones de resistencia de 2,7 y 1,5, respectivamente. Por otro lado, la población de Ica fue 1,4 veces más resistente al Metoxyfenocide respecto a la población susceptible de referencia. Se recomienda la implementación de un programa de manejo de la resistencia para retardar la evolución de este fenómeno.

Palabras clave: Resistencia, control químico, espárrago, Probit, CL_{50} .

ABSTRACT

The resistance of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) to Tebufenozide and Metoxyfenocide insecticides was evaluated by performing toxicological bioassays under laboratory conditions. Three populations Valley Trujillo, Ica and La Molina were evaluated. The latter comes from organic fields, thus being considered as the susceptible reference strain. The execution method consisted of immersing leaves of *Ricinus communis* in each insecticidal solution and then conditioning them in petri dishes with third instar larvae. Seven logarithmic concentrations were used for each insecticide. The LC₅₀ for Tebufenocide was 0,51; 0,29; 0,19 (mL C.P. / L_{agua}) for Viru, Ica and Rimac, respectively, while Metoxyfenozide LC₅₀ found were 0,09; 0,26; 0,18 (mL C.P. / L_{agua}) over the same populations respectively. The results demonstrate the occurrence of a slight resistance to Tebufenocide in populations of Viru and Ica, with resistance factors of 2,7 and 1,5; respectively. On the other hand, the population of Ica was 1,4 times more resistant to metoxyfenocide than the susceptible reference population. The implementation of a programme of resistance management is recommended in order to delay the evolution of this phenomenon.

Key words: Resistance, Chemical control, Asparagus, Probit, LC₅₀

I. INTRODUCCIÓN

Para el cumplimiento de elevados estándares de calidad estética de los alimentos, los productores con frecuencia utilizan el método químico como primera estrategia de control, conllevando a una elevada presión de selección que favorece la evolución de la resistencia a insecticidas.

El costo generado por la resistencia de los organismos plaga, tanto para el productor agrícola como para las empresas fabricantes de los insecticidas debería evitarse, mediante un manejo integrado de plagas.

La larva de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) es considerada como una de las plagas más importantes del espárrago en la costa norte del Perú, especialmente en los diferentes campos de la irrigación Chavimochic. Para su control se emplean una variedad de plaguicidas, y debido al comportamiento alimentario, esto es, por ubicación debajo de las brácteas y raspado en el tercio inferior de los brotes o bien por su ubicación en el tercio de las plantas desarrolladas, el control de esta plaga a través de las aplicaciones de los insecticidas es complicado.

En algunos valles de la costa peruana se ha observado una disminución en la efectividad de Tebufenocide y Metoxyfenocide para el control de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en el cultivo de espárrago. Existen varios factores que pueden determinar la disminución de la eficacia de los insecticidas en campo, siendo la resistencia la de mayor relevancia.

OBJETIVOS

1. Evaluar la ocurrencia e intensidad de la resistencia en tres poblaciones de *Spodoptera frugiperda* al Tebufenocide.
2. Evaluar la ocurrencia e intensidad de la resistencia en tres poblaciones de *Spodoptera frugiperda* al Metoxyfenocide.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

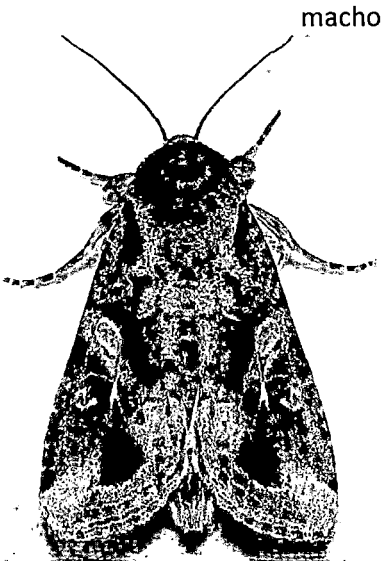
2.1. Aspectos generales de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)

Esta especie nativa del trópico pertenece a la familia Noctuidae del orden Lepidoptera (Cuadro 1); se le considera polífaga, tiene como hospederos 23 familias de plantas (Luginbill, 1928 citado por Salinas, 2010), y genera pérdidas en la mayoría de los cultivos anuales (Ashley *et al.* 1987 citado por Salinas, 2010). Esta plaga tiene amplia distribución geográfica en los trópicos de América, desde Argentina y Chile, hasta el sur de Estados Unidos. En Perú está presente en Costa, Sierra y Selva; desde el nivel del mar hasta los 3200m de altitud aproximadamente, por lo que se le considera un problema de importancia no solo por la severidad de los daños que ocasiona sino también por la continuidad con la que se presenta (Sánchez, 1981; Sarmiento *et al.* 1992 citados por Salinas, 2010). En la costa norte las infestaciones son económicamente importantes todo el año; en cambio en la costa central y sur las infestaciones disminuyen en el invierno, para luego elevarse a fines de la primavera alcanzando las más altas gradaciones en el verano (Sarmiento, 1981 citado por Vázquez, 2002).

S. frugiperda presenta 6 a 8 estadíos. La hembra oviposita en masas sobre el tallo o sobre el follaje, las posturas están cubiertas por pelos y escamas (Sánchez & Vergara 2003). La larva recién eclosionada se alimenta inmediatamente de tejidos tiernos, en el primer estadio usualmente roe la epidermis de la hoja, dejando manchas translúcidas, en estadíos más avanzados perfora irregularmente el follaje, y más adelante puede destruir plantas pequeñas y estropear las más grandes (Cruz, 1995 citado por Cruz *et al.* 1999). El insecto empupa en el suelo (Sánchez, *et al.* 2003). Por otro lado, tienen hábitos caníbales, razón por la cual, se encuentra una sola larva en una planta de espárrago (*Asparagus officinalis*). El mayor consumo, 80% de la ingesta, lo realizan en los dos últimos estadíos (Álvarez, 1991; Murillo, 1991 citados por Sosa, 2002).

La nutrición de la planta juega un nivel importante en la intensidad de la infestación, pues, plantaciones con exceso de fertilizantes nitrogenados serán más atacadas debido al efecto de atracción sobre la plaga producido por el follaje verde. Los tres primeros estadios requieren menos del 2% del follaje total consumido; sin embargo una larva puede llegar a consumir 140 cm² para completar su desarrollo.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Spodoptera frugiperda*.

Reino:	Animalia	
División:	Arthropoda	
Clase:	Insecta	
Orden:	Lepidoptera	
Suborden:	Glossata	
Infraorden:	Heteroneura	
(sin clasif.):	Ditrysia	
Familia:	Noctuidae	
Subfamilia:	Amphiryriinae	
Género:	<i>Spodoptera</i>	
Especie:	<i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith)	

© 2012 Carol Wolf

Fuente: Wikipedia (2014)

2.2. Ciclo de vida

Según Campos, 1968; citado por Sánchez *et al.*, 2004; los estados de desarrollo tienen las siguientes duraciones a 23±2°C de temperatura y 60-70% de humedad relativa: Período de incubación: de 2 a 4 días, período larval de 15 a 24, periodo pupal de 10 a 13 días; total de 27 a 41 días. La longevidad de los adultos es de 12 a 13 días y el número promedio de huevos por hembra es de 1740 (Fig. 1).

Existe una correlación estrecha entre la planta hospedera, sobre la cual se alimenta y el peso de la pupa, tamaño del adulto y duración del ciclo biológico. Cuando estas larvas se alimentan de los hospederos no favorables, tienden a incrementar su periodo larval y se presenta un mayor número de estadios (Sánchez *et al.*, 2004).

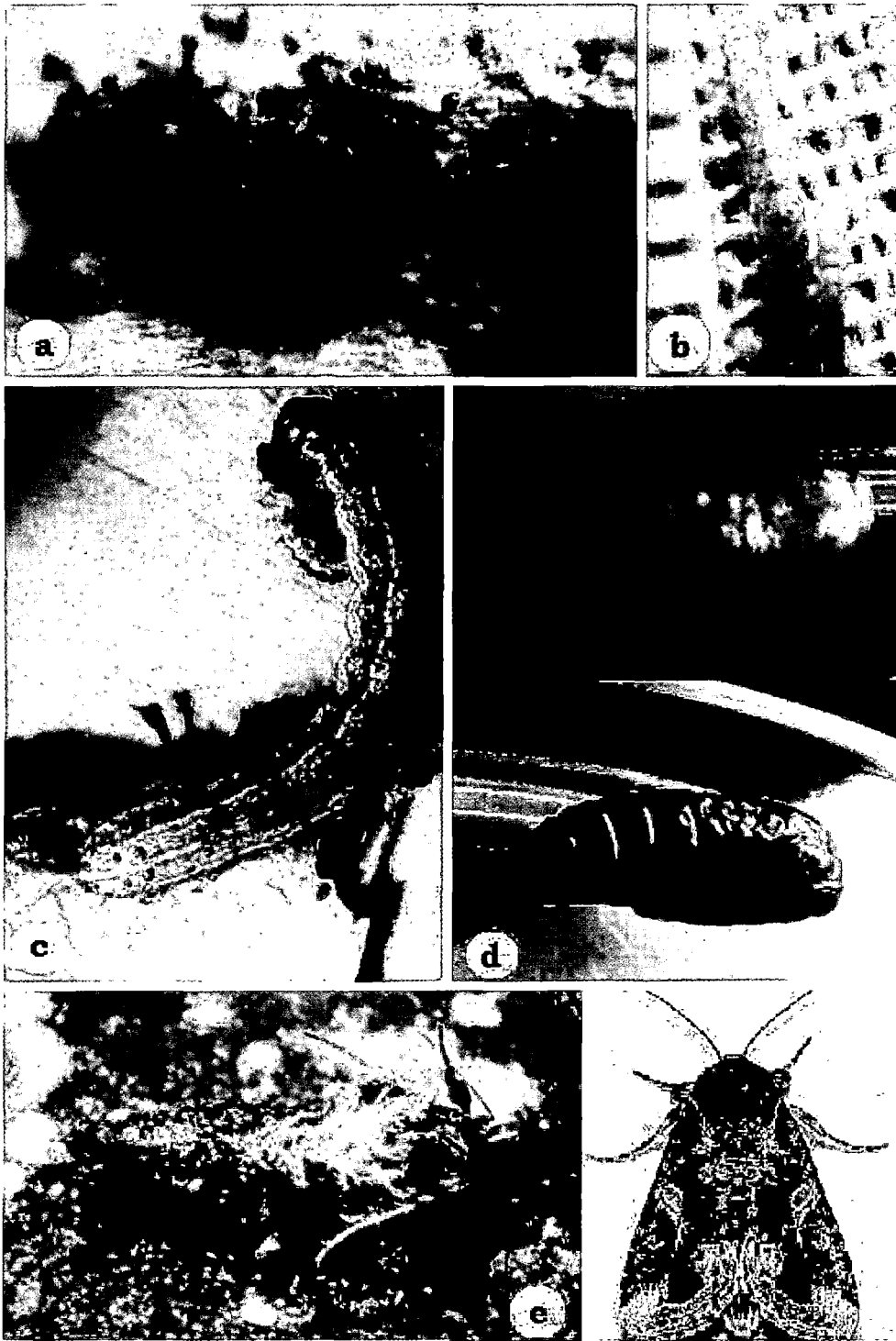


Figura 1. Estados de desarrollo de *S. frugiperda*: Posturas y larvas neonatas (foto a), larvas de segundo y tercer estadio (foto b), larva de último estadio (foto c), pupas (foto d) y adulto (foto e).

En el espárrago se han reportado de 6 a 7 estadíos larvales, siendo el periodo larval de 20 días aproximadamente. El período de incubación de los huevos es de 5,3 a 5,37 días y el período pupal es de 12,37 días, llegando a ser su ciclo de vida de 34 días (Sánchez *et al.*, 2004).

Los adultos son de actividad nocturna, con buena capacidad de dispersión; las hembras ovipositan masas de 150 huevos cubiertos de pelos y escamas (pudiendo llegar hasta 1200 a lo largo de su periodo de vida) prefiriendo los brotes y hojas tiernas del espárrago (Castillo, 2006 citado por Collantes, 2008). Es importante mencionar que en espárrago no se observa el canibalismo de larvas común en maíz, porque las larvas no compiten por espacio (Castillo, s.f. citado por Guardia, 2011).

2.3. Aspectos generales de la ecdisis o muda

El crecimiento y diferenciación de tejidos durante el desarrollo de los insectos es dirigida por esteroides polihidroxilados, ecdisona, y su interacción con la hormona juvenil, actuando a través de receptores nucleares de transcripción directa. Como resultado de esta interacción se tiene la producción de exoesqueleto cuticular. Después que una nueva cutícula se produce al final de cada estadío, la vieja cutícula debe ser desechada, este desprendimiento es denominado ecdisis (Kingan, *et al.* 2001).

La coordinación de la ecdisis está a cargo de dos grupos de células endocrinas: las células Inka periméricamente localizadas, las cuales liberan la hormona iniciadora de la ecdisis (HIE); y las neuronas centrales neurosecretoras (neuronas NCN), las cuales liberan la hormona de eclosión (HE). Estos dos grupos se estimulan entre sí: HE actúa sobre las células Inka para provocar la liberación de la HIE. La HIE, a su vez, actúa sobre las neuronas NCN para provocar la liberación de la HE. Como resultado de esta coordinación se da un aumento masivo de HE/HIE en la hemolinfa, así como un comunicado de HE en el sistema nervioso central (Ewer *et al.*, 1997). Se produce entonces la activación de las neuronas que contienen Péptido Crustáceo Cardioactivo (PCCA) (Davis *et al.* 1993; Dirckensen, 1994; citados por Ewer, 1996), lo que eleva su nivel de mono fosfato de guanosina (GMPc) cíclico celular (Fuse & Truman, 2002), justo antes del inicio de la ecdisis, lo cual aumenta la excitabilidad de estas células (Gammie & Truman, 1977 citados por Ewer *et al.* 1997); Además, estas neuronas (PCCA) son las que originan el

aire y cambios circulatorios que acompañan la ecdisis (Reynolds, 1979; citado por Ewer *et al.*, 1997).

Los procesos de ecdisis y eclosión están ligados al ritmo circadiano, y controlada por la EH la cual también influye en el comportamiento y movimientos del insecto. La última etapa de la muda es la esclerotización o endurecimiento de la cutícula (Nijhout, 1994).

2.4. Insecticidas en estudio

La acción de esteroides análogos a la hormona de la muda fueron descubiertos por Hora y colaboradores en 1966, al ver que se inhibía el endurecimiento de la cutícula de *Pyrrhocoris opterus*, tras mudar, denominándose a estos compuestos Ecdysonoides (Slama *et al.* 1974, citado por Viñuela *et al.*, 1991).

Este tipo de sustancias análogas a la ecdysona también se hallan presentes en ecosistemas naturales, ya que dos grupos de plantas relativamente primitivos como son los helechos y gimnospermas contienen ecdysonoides (Fitoecdisonas) que las hace bastante resistentes a los ataques de los insectos (Harborne, 1982, citado por Viñuela *et al.* 1991). *Chenopodium album* contiene niveles de ecdysonoides que pueden alcanzar valores de 175ppm (Blackford, M., et al., 1996).

Los insecticidas reguladores de crecimiento, conocidos como IGRs siglas de *Insect Growth Regulators*, son productos selectivos que actúan desequilibrando la concentración de hormonas naturales durante los procesos de crecimiento y desarrollo normal. Entre ellos se encuentran los simuladores de la ecdisona (Tebufenocide y Metoxyfenocide, perteneciente a la familia de las Diazilhidrazinas) (Quiñones, 2008 citado por Giuggia, *et al.* 2011), los cuales estimulan la ecdisis.

El comité de acción contra la resistencia a insecticidas (IRAC, 2009) clasifica los insecticidas en estudio en el grupo principal 18 correspondiente a los agonistas del receptor de la Ecdisona.

2.4.1. Tebufenocide

Tebufenocide induce una muda prematura y letal en larvas de Lepidóptera durante las 24 horas de tratamiento. La mayoría de las larvas mueren atrapadas en su vieja cutícula. Otros daños incluyen inhibición de la alimentación y pérdida de peso, extrusión del intestino grueso, pérdida de hemolinfa y una fase de pupa anormal y mortal (Smagghe & Degheele, 1994).

Moulton *et al.* (2002), realizaron bioensayos de susceptibilidad al Tebufenocide en poblaciones de *Spodoptera exigua* (Hübner) de EE.UU y Tailandia. En la población de Tailandia establecieron dos grupos a partir de la población recolectada en campo, uno de ellos fue sometido a selecciones intensas en tres generaciones no consecutivas, y el otro, permaneció como susceptible; en esta población detectaron una normalización de la resistencia, la cepa de laboratorio fue 150 a 1500 veces menos susceptible que la referencial. Ishaaya *et al.* (1995), reportaron que la efectividad del Tebufenocide en términos de CL_{50} fue de 7 a 14 veces más potente sobre una población de *Spodoptera littoralis* resistente a piretroides.

En el Perú, este insecticida se comercializa bajo el nombre de MIMIC® (Bayer Cropscience) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características del producto comercial de Tebufenocide

Nombre comercial	: MIMIC
Formulación	: 2F (Suspensión floable)
Concentración	: 240 g L ⁻¹
Modo de acción	: Mimetiza la acción de la hormona ecdisoma.
Toxicidad	: Aguda oral /dérmica para ratas. $CL_{50} > 5,000$ mg Kg ⁻¹ de Peso Vivo.
Recomendación de uso	: 0,16 % ó 384 mg L ⁻¹

Fuente: Dow AgroSciences

2.4.2. Metoxyfenocide

Metoxyfenocide en *S. littoralis* causa deformaciones en adultos tras la aplicación tópica en laboratorio sobre pupas jóvenes (Pineda *et al.* 2004), disminuye la reproducción de adultos tratados, independientemente del sexo, y la cantidad de huevos (Pineda *et al.* 2006) y esta se ve más afectada cuando las lavas de *S. littoralis* son tratadas por el método de ingestión, que por la aplicación tópica; además, se sugiere que este insecticida causa un cambio en la dinámica poblacional de esta plaga debido a la disuasión de la oviposición sobre la superficie de las hojas tratadas (Pineda *et al.* 2009).

En Brasil, Rossato *et al.* (2006) encontraron diferentes valores de susceptibilidad a Metoxyfenocide, entre dos biotipos de *S. frugiperda*, siendo el biotipo de arroz 32% más susceptible; Gonçalves *et al.* (2003) reportó 95% de eficacia en campo a la dosis de 500mL.ha⁻¹. Moulton *et al.* (2002) reportaron en los ensayos realizados en *S. exigua* el valor de CL₅₀ igual a 0,487 mg (I.A.) mL⁻¹ de solución.

En el Perú, este insecticida se comercializa bajo el nombre de INTREPID® (Bayer Cropscience) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Características del producto comercial de Metoxifenocide

Nombre comercial	: INTREPID
Formulación	: SC (Suspensión concentrada)
Concentración	: 240g L ⁻¹
Modo de acción	: Mimetiza la acción de la hormona ecdisoma.
Toxicidad	: Aguda oral /dérmica CL ₅₀ > 5,000 mg kg ⁻¹ de Peso Vivo
Recomendación de uso	: 0,06 % ó 144 mg L ⁻¹

Fuente: Dow AgroSciences

2.5. Resistencia

El comité de acción de resistencia a los insecticidas ó IRAC por sus siglas en inglés, define resistencia como un cambio heredable en la sensibilidad de la población de una plaga que se refleja en repetidos fallos de eficacia del producto al ser usado de acuerdo a las recomendaciones de la etiqueta para esa plaga.

La Organización mundial para la salud (Brown y Pal, 1971) citada por Badii & Garza (2007) la define como el desarrollo de la habilidad de una raza de insectos para tolerar dosis de tóxicos que han probado ser letales a la mayoría de individuos en una población normal de la misma especie.

S. frugiperda, ha demostrado resistencia a diferentes grupos de insecticidas (Cuadro 4). La base de datos de resistencia de artrópodos a insecticidas de la universidad del estado de Michigan tiene en su registro 21 ingredientes activos entre los cuales no figuran ninguno de los insecticidas en estudio.¹

Cuadro 4: Reportes de resistencia de insecticidas en *Spodoptera frugiperda*.

GRUPO DE INSECTICIDA	PAÍS	AUTOR
Carbaryl	Florida - EUA	Young & MacMillian (1979) McCord & Yu (1987)
DDT, ciclodienos, organofosforados, carbamatos y piretroides	EUA	Georghiou & Mellon (1983), Yu (1991)
Organofosforados	Mexico	Pacheco – Covarrubias (1993)
Lambda cihalotrin y methomil	Venezuela	Morillo et al. (2001)
Lufenuron	Perú	Vasquez-Castro & Noriega (2009)

Siendo el primer reporte de resistencia en Florida – Estados Unidos de América (EUA) en 1979 por Young & McMillian, con el insectida Carbaryl; este trabajo fue continuado por McCord & Yu en 1987. Los investigadores demostraron que el mecanismo de

¹ <http://www.pesticideresistance.com/display.php?page=species&arId=200>

resistencia de las poblaciones en cuestión era principalmente la detoxificación del carbaryl por medio de oxidasas microsomales las mismas que actúan hidrolizando las moléculas de carbaryl (Martinelli *et al.*, 2006).

2.5.1. Resistencia cruzada

Es el mecanismo por el cual un gen simple confiere resistencia a un número de químicos del mismo grupo (WHO, 1957). Esto se observa cuando una plaga ha sido controlada con insecticidas de la familia de organoclorados a los que emerge la resistencia y posteriormente se cambia a insecticidas piretroides, los cuales presentan un modo de acción similar a los organoclorados por lo que también se presenta resistencia a esta familia química de insecticidas.

2.5.2. Resistencia múltiple

Se presenta cuando una población adquiere resistencia a varios insecticidas, tanto a aquellos que han sido aplicados como a otros que no han sido aplicados. En este caso la población posee varios mecanismos de resistencia de forma simultánea, lo anterior indica que los genes de resistencia ya se encuentran de antemano en la población (Estancias *et al.*, 2011).

2.6. Mecanismos de resistencia a insecticidas

Existen cuatro categorías (Miller, 1988):

1. Resistencia por comportamiento: el insecto no entra en contacto con el depósito del insecticida.
2. Resistencia a la penetración: donde la composición del exoesqueleto llega a ser modificada inhibiendo la penetración del insecticida.
3. Sitio insensible: el sitio químico de acción para el insecticida se modifica reduciendo la sensibilidad a la forma activa del insecticida.
4. Resistencia metabólica: la vía metabólica del insecto llega a ser modificada detoxificándose el insecticida o negando el metabolismo del compuesto aplicado en su forma tóxica. La forma más importante de resistencia metabólica incluye la multifunción oxidasa, las glutatión s-transferasas y las esterasas.

En los insectos los mecanismos más importantes son el sitio insensible y la resistencia metabólica (Bisset, 2002).

2.6.1. Resistencia a la penetración

También se conoce como mecanismo físico de resistencia y contempla muchos casos de penetración reducida que causan resistencia en los insectos.

La velocidad de penetración depende de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del tegumento del insecto, las cuales varían considerablemente entre los estadios de vida y de una especie a otra. Una penetración reducida provee un mayor tiempo para la detoxificación de una dosis tomada (Brattsten *et al.* 1986, citado por Bisset, 2002).

Se ha encontrado que el gen responsable de la resistencia al DDT en moscas domésticas, influye en la penetración del insecticida e incrementa el contenido total de lípidos. Este aumento puede provocar que la liberación de los compuestos lípidos-solubles en el cuerpo del insecto sea lenta, lo que permite un mayor tiempo para que ocurra la detoxificación de los insecticidas (Sawicki y Farnham, 1968).

Aumentos en la excreción del insecticida también pueden reducir el efecto tóxico. Un número de insectos dañinos a la agricultura es capaz de alimentarse alimentos naturalmente tóxicos o tratados, debido al aumento de los movimientos intestinales. Se plantea que la excreción acelerada de material no metabolizable, no se conoce que sea un mecanismo de resistencia importante contra los insecticidas sintéticos (Brattsten *et al.* 1986, citado por Bisset, 2002).

a. Penetración de los piretroides

Luego de haber atravesado la barrera del tegumento del insecto, el insecticida puede penetrar, para ser llevado a todas las partes del organismo, en solución, enlazado con proteínas, o disuelto en partículas de lípidos (Zerva, 1988 citado por Bisset, 2002).

La penetración depende de:

- Propiedades físico-químicas del insecticida.
- Formulación del insecticida. – Polaridad del insecticida.
- Naturaleza del solvente.

Existen dos teorías acerca de cómo los insecticidas penetran la cutícula del insecto. La más común es que los no electrolitos penetran por la vía de los canales con poros que existen en la capa de cera o atravesando las membranas inter-segmentales y son translocados luego por la hemolinfa. La otra teoría afirma que un insecticida típicamente aplicado difunde lateralmente a través del tegumento hacia la tráquea y entonces entra al órgano blanco. Quizás, en la práctica, el modo de entrada es más complejo que su difusión lateral o el transporte simple en la hemolinfa. La penetración cuticular de los piretroides puede ocurrir por los canales anastomozados formados en la capa de cera dentro de la cutícula, o a través de regiones cuticulares no esclerotizadas como las áreas intersegmentales, o por la vía del revestimiento traqueal lipofílico, lo cual es más fácilmente accesible desde los espiráculos (Zerva, 1988 citado por Bisset, 2002).

2.6.2. Sitio insensible o sitio blanco alterado

La resistencia se atribuye también a un mecanismo en el cual los sitios de acción del insecticida se alteran y esto hace que disminuyan la sensibilidad al biocida. Un ejemplo de esto es el de la enzima AchE y la reducida sensibilidad en el sitio de acción.

a. Reducida sensibilidad de la acetilcolinesterasa

En general, una AchE modificada es menos eficiente al hidrolizar su sustrato que una enzima normal. La alteración en los sitios activos causa una disminución en la reactividad con el inhibidor. Los estudios de inhibición sugieren que el acceso a los centros catalíticos de la enzima modificada es restringido por un cambio en su conformación (Voss & Matsumura, 1965 citado por: Bisset, 2002)

El cambio de conformación se debe a la asociación de un residuo de aminoácido al centro catalítico de la enzima (Smitsaert *et al.* 1970 citado por Bisset, 2002).

b. Reducida sensibilidad en el sistema nervioso

Se presenta cuando los nervios son menos sensibles, por mutaciones puntuales asociadas con un cambio de aminoácido que trae como consecuencia una reducción en la unión al insecticida sin pérdida de la función primaria del sitio de acción, denominándose este tipo

de resistencia como resistencia al derribo o “knockdown” o kdr, la cual se evidencia debido a que los insectos no pierden la coordinación inmediatamente después de una exposición a piretroides y al DDT (Álvarez, L. *et al.*, 2014)

Según Shono (1985) la resistencia tipo kdr se debe a la presencia del gen kdr, el cual posee varias características:

- a) Causa baja sensibilidad hacia el DDT y hacia los piretroides.
- b) Confiere resistencia a todos los piretroides conocidos hasta ahora.
- c) Aun solo, puede proveer alta resistencia especialmente cuando el alelo super-kdr está involucrado.
- d) Este gen es recesivo. Un estudio preciso de este mecanismo de resistencia está obstaculizado por la carencia de un instrumento de diagnóstico para determinar kdr directamente (Miller, 1988).

2.6.3. Resistencia metabólica

Estudios recientes de detoxificación en insectos revelan que la versatilidad en la adaptación de los insectos a su medio es provista por el fenómeno de inducción. Este es un proceso en el cual un estímulo químico promueve la actividad del sistema de detoxificación mediante la producción de enzimas adicionales.

Un total de 12 especies de insectos responden a inductores mediante la producción de niveles incrementados de enzimas como las oxidasas microsomales, deshidroclorinasas, fosfo-transferasas, carboxilesterasas, epoxidohidratasa y sulfotransferasas.

Los 3 sistemas de detoxificación más importantes que constituyen la resistencia metabólica en insectos son: las oxidasas microsomales, la glutathion s-transferasa, de importancia en el metabolismo de insecticidas organofosforados, y las carboxilesterasas, las cuales degradan carbamatos, organofosforados y piretroides (Terriere, 1984 citado por Bisset, 2002).

El insecticida sufre dentro del organismo del insecto una serie de reacciones mediante las cuales adquiere grupos funcionales que le permiten en una segunda fase, conjugarse con sustancias endógenas y dar como resultado compuestos más polares de menor solubilidad en lípidos y como consecuencia más fácilmente excretables. No siempre es necesario que

el insecticida se transforme mediante reacciones de la primera fase, porque en su estructura puede poseer grupos funcionales que le permitan experimentar directamente las reacciones de la segunda fase (Sotolongo & Vidal, 1988 citados por Bisset, 2002).

a. Sistema de oxidación microsomal

Oxidasas de función múltiple: Las oxidasas de función múltiple del retículo endoplasmático liso se encuentran en la fracción microsomal de las células, son no específicas y catalizan la reacción siguiente:



Donde S = insecticida

Entre las reacciones de la primera fase aparecen como fundamentales las oxidaciones microsomales que requieren del oxígeno molecular y de la coenzima NADPH. Está comprobado que este sistema hidroxilante contiene, además del NADPH, una flavoproteína (NADPH-citocromo c reductasa), una ferroproteína y un citocromo especializado: el citocromo P-450 (Sotolongo & Vidal, 1988 citados por Bisset, 2002).

b. Glutation s-transferasa

Tienen gran importancia en la detoxificación metabólica, es una familia de enzimas que catalizan la conjugación del glutatión endógeno a una variedad de compuestos electrofílicos, protegiendo las macromoléculas biológicas como las proteínas y los ácidos nucleicos de las consecuencias tóxicas de una reacción covalente con el insecticida (Board, P. *et al.* (2000) citado por Díaz, C. *et al.* (2004)). Se clasifican de acuerdo con la reacción que catalizan como alquil, aril y epoxittransferasas.

Las transferasas del glutatión son importantes en la detoxificación de organofosforados y proveen la forma más importante de resistencia metabólica al DDT a través de la dehidroclorinación al DDE.

c. Carboxilesterasas

Estas esterasas poseen capacidad para metabolizar los insecticidas, las cuales por su nombre podría esperarse que hidrolizarán solo los ésteres carboxílicos, así como los piretroides sintéticos y naturales. Sin embargo, el grupo requiere una clasificación más amplia porque los ésteres fosfatos y carbamatos son también atacados.

Como la mayoría de los insecticidas de hoy día son ésteres, estas enzimas son extremadamente importantes como agentes defensivos. En el caso de los mosquitos (*Culex quinquefasciatus*) resistentes a organofosforados, la enzima en cuestión se clasifica como una carboxilesterasa.

d. Esterasas

Según Raymond *et al.* (1987) citados por Bisset (2002) las esterasas se clasifican en función de la habilidad para hidrolizar los sustratos en 2 tipos: A (hidrolizan preferentemente el 1-naftilacetato) y B (hidrolizan preferentemente el 2-naftilacetato). Ellas pueden estar presentes individualmente en los mosquitos como es el caso de *C. quinquefasciatus* de California o juntas como en *C. quinquefasciatus* del este de África.

Callaghan *et al.* (1991) citados por Bisset, 2002, mostraron la correlación existente entre la elevada actividad de esterasas A y B y la resistencia a insecticidas organofosforados.

4.7. Ensayos toxicológicos

El ensayo biológico es una herramienta de vigilancia de la resistencia, con el cual se puede determinar la pérdida de susceptibilidad o aumento del nivel de resistencia en una población plaga con respecto a valores de CL_{50} determinados. Aunque la determinación de efectividad y la detección de resistencia son procedimientos muy relacionados, sus objetivos y alcances son diferentes. La determinación de resistencia sólo tiene validez si es avalada por un ensayo, en un proceso conocido como documentación de resistencia (Georghiou y Lagunes, 1991 citados por Georghiou, 1994).

Banki (1978) citado por Lagunes-Tejeda *et al.* (2009) señala que la efectividad biológica de un producto químico que puede inferirse a partir de un bioensayo y Busvine (1971)

citado por Lagunes-Tejeda *et al.*, (2009) menciona que el ensayo cubre todos los experimentos donde la potencia de un insecticida se mide con referencia a una colonia estandarizada de insectos susceptibles.

El objetivo del ensayo toxicológico es estimar la dosis que genere respuesta en la población en estudio. Por razones estadísticas, el problema se reduce a determinar el estímulo necesario para obtener una respuesta de 50 % de los organismos de prueba (Busvine, 1971, citado por Lagunes-Tejeda *et al.* 2009). Este valor se denomina dosis letal mediana (CL_{50}), y es una expresión cuantitativa de la tolerancia de una especie (o raza) en particular a un insecticida, en condiciones experimentales. Además, este valor es una medida de la toxicidad del insecticida usado, donde a menor valor de CL_{50} , mayor toxicidad.

Halliday y Burnham (1990) citado por Marcon, P. *et al.* (2000) indican dos rutas en la detección de resistencia: el uso de técnicas bioquímicas y el uso de ensayos biológicos. Además, añaden que el uso de los ensayos presenta dos modalidades: 1) La determinación de líneas completas dosis–mortalidad, y 2) El empleo de dosis discriminantes. Blair *et al.* 2007, indican que los ensayos de concentraciones de diagnóstico convencionales con 4 o 5 dosis letales pueden ser una herramienta adecuada para la detección de alelos resistentes, sin embargo, para la los rasgos de resistencia asociada sería necesario para estimar la sensibilidad de ensayos de diagnóstico con mayor precisión.

La respuesta de un bioensayo en que se determina la línea dosis–mortalidad de una colonia de campo, se compara en CL_{50} con resultados de colonias susceptibles, calculando la proporción de resistencia al dividir la CL_{50} de la población de campo entre la CL_{50} de la población susceptible (Dhingra y Sarup, 1990).

Los resultados de un ensayo para detección de resistencia no se pueden utilizar para determinar la dosis a usar en campo, ya que una determinación de laboratorio no considera las pérdidas producidas por arrastre, fotodescomposición, termorregulación, escape del insecto, etc. En todo caso, la aplicación en el campo de los resultados de un bioensayo para detección de resistencia, permite seleccionar insecticidas para los que la población aún no desarrolla resistencia (Lagunes-Tejeda *et al.* 2009).

- 43775

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño de investigación

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Toxicología de La Universidad Nacional Agraria La Molina, la crianza se realizó bajo condiciones estables de temperatura 25°C (± 2) y humedad relativa 65% (± 3).

3.2. Población y muestra:

La especie en estudio fue coleccionada en campos de espárrago en los valles de Ica, Virú, y en campos de maíz de La Universidad Nacional Agraria La Molina. Fueron seleccionadas larvas de los últimos estadíos y trasladadas, en recipientes de polipropileno acondicionados, al laboratorio de toxicología de La Universidad Nacional Agraria La Molina.

Se asume que la población de la Molina es la población susceptible de referencia, debido a que los insecticidas en estudio nunca han sido utilizados en los cultivos del campus universitario de la La Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.3. Crianza:

La multiplicación y mantenimiento de la especie tuvo como objetivo contar permanentemente con larvas de tercer estadío para la realización de los bioensayos.

La técnica de crianza empleada se basó en la metodología propuesta por Armas *et al.* (1986) con algunas modificaciones (Vásquez, 2002).

Las larvas recién emergidas se colocaron en baldes de polipropileno de 5L de capacidad, con hojas tiernas de higuera, este recipiente estaba provisto de un agujero en la base para que atravesen los peciolo de la hoja y tengan contacto con el agua contenida en un envase de vidrio (Fig. 2). Al alcanzar el tercer estadío las larvas se trasladaron con la

punta de un pincel a contenedores plásticos rectangulares de 15L de capacidad con hojas de higuerilla en su interior y se les suministró alimento cada 5 días.

Las pre pupas fueron separadas en placas petri, y colocadas alrededor de un algodón humedecido; al pasar al estado de pupa se colocaron en un envase de vidrio de un galón de capacidad, hasta la emergencia de adultos (Fig. 2). Estos frascos contuvieron un algodón humedecido con agua, al emerger los adultos, se colocó papel toalla alrededor como sustrato de ovoposición, la boca del envase de vidrio se cubrió con un papel toalla y se sujetó con una banda de goma elástica. La alimentación de los adultos consistió en una solución de dos cucharadas de azúcar, una cucharada de polen y 15mL de agua.

La colecta del papel toalla con las posturas fue inter diaria. El papel que cubría el envase de vidrio debió ser retirada cuidadosamente para no dañar a los adultos que se posaron en la parte superior (Fig. 2). Una vez destapado el frasco se procedió a retirar cuidadosamente el papel toalla con la ayuda de un pincel para repeler a los adultos que estuvieron posados sobre ella (Vásquez, 2002)

Se recortó el pedazo de papel con la masa de huevos, la cual fue acondicionada en placa Petri y luego sellada con parafilm, hasta que eclosionen, luego las larvas se trasladaron a los baldes de polipropileno de 5L de capacidad acondicionados para repetir el procedimiento.



Figura 2. Envase de vidrio para crianza de adultos de *Spodoptera frugiperda*.

3.4. Crianza individual:

Se separaron 10 larvas y se criaron individualmente en placas Petri que contenían un disco de higuera y luego fueron selladas con parafilm, con la finalidad de monitorear el cambio de estadio, el mismo que se reconoció por las exuvias y la capsula cefálica. Esto permitió homologar la crianza masal y la individual, con el propósito de tener la seguridad de efectuar las pruebas de susceptibilidad con el estadio larval deseado y realizar el bioensayo en el momento oportuno.

3.5. Ensayos toxicológicos:

a. Selección del material vegetal

Se seleccionaron y coleccionaron hojas de *Ricinus communis* "higuera" de los campos de La Universidad Nacional Agraria La Molina. Estas hojas se cortaron en circunferencias de 5cm de diámetro, las cuales fueron acondicionadas en las placas Petri del mismo diámetro.

b. Tratamiento

Las preparaciones de los insecticidas se realizaron en matraces o vasos de precipitado de 1 litro de capacidad (Fig. 3) identificados por tratamientos; 5 concentraciones para ensayos preliminares y 7 concentraciones para ensayos definitivos, y se adicionó 1mL de adherente por litro de caldo.



Figura 3. Instrumentos y soluciones para bioensayo.

La forma de aplicación de los insecticidas fue por el método de inmersión de hojas por un tiempo aproximado de diez segundos por hoja, sostenidas por pinzas y controlado por un cronómetro (Fig. 4), recomendado por el Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) con algunas modificaciones (Vásquez – Castro & Noriega, 2009)



Figura 4. Acondicionamiento de mesas para bioensayo.

Luego de la inmersión se colocaron las hojas sobre papel toalla bajo sombra a temperatura ambiente (Fig. 5) hasta que la superficie de las hojas esté libre de humedad y se colocaron en placas Petri etiquetadas, junto con un papel filtro “Whatman” número 1, humedecidos con 0,7mL de agua destilada, quedando listas para su infestación con dos larvas. Luego fueron selladas con parafilm.



Figura 5. Secado de la superficie de las hojas tratadas para bioensayo.

c. Testigo

Se vertió un litro de agua destilada en un vaso de precipitado de igual capacidad, y se agregó 1mL de adherente (Cuadro 5). Luego se procedió a realizar el mismo procedimiento operado en los tratamientos.

Cuadro 5. Características del producto comercial del Adherente

Nombre comercial : ADERAL

Formulación : Concentrado soluble

Composición química : 450g de Oxido nonyl fenol etileno L⁻¹ y 550g de inertes L⁻¹.

Modo de acción : Disminuye la tensión superficial de los líquidos pulverizados.

Dosis : 0,5 – 1mL L⁻¹ de agua.

Recomendación de uso : 0,06 % ó 144mg L⁻¹

Fuente: TQC

d. Infestación en las placas

Se colocaron 2 larvas de 3er estadio en cada placa Petri, se utilizaron 20 placas por tratamiento y testigo, haciendo un total de 40 larvas por tratamiento.

e. Método de evaluación

Las evaluaciones se realizaron a las 72 horas de colocar las hojas infestadas en las placas.

El criterio que de evaluación de mortalidad de las larvas consistió en detectar la reacción de la misma al tacto con el pincel, las larvas que no se desplazaron se les consideró muertas (Fig. 7).

El análisis Probit (LeOra Software 1987) fue realizado para el cálculo de la CL₅₀.

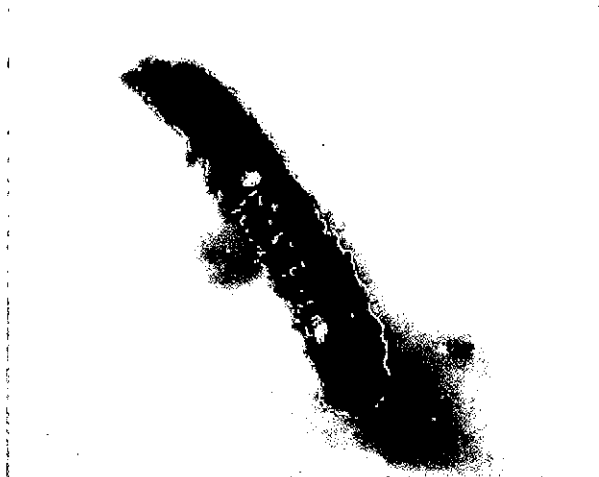


Figura 7. Larva muerta por ecdysonoide.

3.6. Procedimiento de análisis de datos

Una vez realizados los ensayos preliminares se obtuvo una serie de concentraciones para realizar el ensayo definitivo. Estadísticamente, el análisis probit requiere como mínimo 5 dosis con respuestas diferentes y aleatoriamente distribuidas (no todas cercanas al 50% de mortandad) es por eso que en los ensayos definitivos se requiere trabajar con siete dosis (Díaz, *et al.* 2004).

3.7. Razón de resistencia

Para cuantificar la resistencia se dividió la CL_{50} de la población en estudio entre la CL_{50} de la población susceptible de referencia.

$$RR = \frac{CL_{50r}}{CL_{50s}}$$

RR: Razón de resistencia.

CL₅₀r: Dosis letal media de la población resistente.

CL₅₀s: Dosis letal media de la población de referencia.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se evaluó la ocurrencia de resistencia a dos ecdysonoides mediante la ejecución de ensayos preliminares compuestos por 5 dosis que posteriormente servirían de base para establecer las dosis adecuadas para cada insecticida.

Cuadro 6. Respuesta del ensayo preliminar en la población del valle de Virú al ingrediente activo Tebufenocide.

Dosis (mg.L ⁻¹)	Individuos muertos	Individuos evaluados	% de mortandad
0	3	22	13,6
0,016	2	20	10,0
0,05	0	17	0,0
0,16	1	18	5,6
0,5	5	20	25,0
1,8	16	18	88,9

En el Cuadro 6 se obtuvieron las siguientes dosis para el ensayo definitivo: 2,3; 1,6; 1,3; 0,9; 0,5; 0,4; 0,3; y el testigo.

Cuadro 7. Respuesta del ensayo preliminar en la población de La Molina al ingrediente activo Tebufenocide.

Dosis (mg.L⁻¹)	Individuos muertos	Individuos evaluados	% de mortandad
0	0	20	0
0,016	2	20	10,0
0,05	5	19	26,3
0,16	8	20	40,0
0,5	12	20	60,0
1,8	20	20	100,0

En el Cuadro 7 se obtuvieron las siguientes dosis para el ensayo definitivo: 1,6; 1,2; 0,8; 0,5; 0,05; 0,05; 0,016; 0,008 y testigo.

Cuadro 8. Respuesta del ensayo preliminar en la población del valle de Ica al ingrediente activo Tebufenocide.

Dosis (mg.L⁻¹)	Individuos muertos	Individuos evaluados	% de mortandad
0	1	19	5,3
0,016	1	20	5,0
0,05	0	17	0,0
0,16	4	18	22,2
0,5	10	19	52,6
1,8	18	19	94,7

En el Cuadro 8 se obtuvieron las siguientes dosis para el ensayo definitivo: 1,6; 1,2; 0,8; 0,5; 0,4; 0,3; 0,16 y testigo.

Cuadro 9. Respuesta del ensayo preliminar en la población del valle de Virú al ingrediente activo Metoxyfenocide.

Dosis (mg.L⁻¹)	Individuos muertos	Individuos evaluados	% de mortandad
0	0	20	0
0,3	9	18	50,0
0,6	19	20	95,0
1	14	19	73,7
1,4	17	18	94,4
1,8	19	20	95,0

En el Cuadro 9 se obtuvieron las siguientes dosis para el ensayo definitivo: 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1; 0,05 y testigo.

Cuadro 10. Respuesta del ensayo preliminar en la población de La Molina al ingrediente activo Metoxyfenocide.

Dosis (mg.L⁻¹)	Individuos muertos	Individuos evaluados	% de mortandad
0	1	20	5,0
0,3	10	19	52,6
0,6	16	20	80,0
1	18	20	90,0
1,4	19	19	100,0
1,8	20	20	100,0

En el Cuadro 10 se obtuvieron las siguientes dosis para el ensayo definitivo: 0,6; 0,5; 0,35; 0,2; 0,1; 0,05; 0,01 y testigo.

Cuadro 11. Respuesta del ensayo preliminar en la Población del valle de Ica al ingrediente activo Metoxyfenocide.

Dosis (mg.L ⁻¹)	Individuos muertos	Individuos evaluados	% de mortandad
0	0	20	0,0
0,3	2	20	10,0
0,6	2	17	11,8
1	3	19	15,8
1,4	14	18	77,8
1,8	19	20	95,0

En el Cuadro 11 se obtuvieron las siguientes dosis para el ensayo definitivo: 0,6; 0,4; 0,2; 0,1; 0,08; 0,06; 0,02 y testigo.

En la ejecución de los ensayos preliminares con las dosis establecidas se halló resistencia al ingrediente activo de tebufenocide y susceptibilidad a metoxyfenocide en la población del valle de Virú. Sin embargo la población de Ica mostró una ligera resistencia a ambos insecticidas.

Cuadro 12. Caracterización de la susceptibilidad de las poblaciones de *Spodoptera frugiperda* a Tebufenocide (ecdisteroide).

Población	CL ₅₀	IC 95%	Pendiente			Heterogeneidad	RR
			±EE	X ²	gl		
Ica	0,288	0,22-0,35	2,46±0,39	1,217	4	0,3	1,5
La Molina	0,198	0,09-0,39	0,97±0,11	8,126	5	1,62	-
Virú	0,514	0,35-0,67	1,66±0,29	1,496	5	0,3	2,6

CL₅₀: Concentración letal media (mL P.C. / Laguna); IC: Intervalo de confianza al 95%; EE: Error estándar de la media; X² Chi cuadrado; gl: grados de libertad; RR: Razón de resistencia.

Para el ingrediente activo Tebufenocide se estimó una dosis letal media de 0,29mL P.C. / L_{agua} para la población de Ica (Cuadro 12), este valor se encuentra en un intervalo de confianza de 0,22 a 0,35 al 95%, la pendiente de la recta estimada es de 2,46 y la desviación estándar es de $\pm 0,39$, el valor de Chi cuadrado es igual a 1,22 lo cual indica una baja heterogeneidad calculada en 0,3. Este valor de Chi cuadrado comparado al tabulado de 9,5 (con 4 grados de libertad), es una representación satisfactoria de los datos del experimento.

La respuesta a Tebufenocide en la población de La Molina coleccionada en los campos orgánicos de la Universidad Nacional Agraria La Molina se detectó una CL₅₀ de 0,19 (Cuadro 12). Los intervalos de confianza al 95% muestran que el verdadero valor se encuentra entre 0,09 y 0,39; el valor de la pendiente es cercano a 1 con un error estándar de $\pm 0,11$. El valor de Chi cuadrado es menor a 11,07 (valor tabular) con 5 grados de libertad lo cual valida los datos obtenidos aún con valores de 1,62 de heterogeneidad.

La concentración letal media de la población del valle de Virú para Tebufenocide fue de 0,51 en un intervalo de confianza de 0,35 a 0,67 al 95%, la pendiente es igual a 1,66 con un error de $\pm 0,29$. El valor de Chi cuadrado igual a 1,496 (5 grados de libertad) indica el ajuste satisfactorio de los datos.

Para el insecticida de Tebufenocide se observa (Cuadro 12) que la población del valle de Ica presentó una razón de resistencia de 1,5; mientras que la razón de resistencia de la población del valle de Virú fue de 2,6 veces más resistente que la población referente.

Cuadro 13. Caracterización de la susceptibilidad de las poblaciones de *Spodoptera frugiperda* a Methoxyfenocide (ecdisteroide).

Población	CL ₅₀	IC 95%	Pendiente			Heterogeneidad	RR
			±EE	X ²	gl		
Ica	0,255	0,17-0,36	1,87±0,41	1,787	4	0,45	1,4
La Molina	0,182	0,13-0,23	2,93±0,47	3,160	4	0,79	-
Virú	0,089	0,07-0,11	2,32±0,34	2,693	3	0,90	0,5

CL₅₀: Concentración letal media (mL P.C. / Laguna); IC: Intervalo de confianza al 95%; EE: Error estándar de la media; X² Chi cuadrado; gl: grados de libertad; RR: Razón de resistencia.

En el bioensayo realizado en la población de Ica con el ingrediente activo Metoxifenocide se estimó una dosis letal media de 0,26 mL P.C. / Laguna (Cuadro 13), con un intervalo de confianza (95%) de 0,17 a 0,36, una pendiente igual a 1,87 y desviación estándar de ±0,41, el valor de Chi cuadrado es igual a 1,79 reflejada en una respuesta homogénea.

Así mismo para la población La Molina se detectó una CL₅₀ de 0,18 (Cuadro 13), con un intervalo de confianza de 0,1, con una pendiente de 2,93±0,47, el valor de Chi cuadrado es 3,16 que es menor a 9,488 (valor tabular) con 4 grados de libertad lo cual refuerza los datos obtenidos.

La concentración letal media de la población del valle de Virú para Tebufenocide fue de 0,089 en un intervalo de confianza de 0,07 a 0,11 al 95%, la pendiente es igual a 2,32 con un error de ±0,34. El valor de Chi cuadrado igual a 2,695 (3 grados de libertad) indica el ajuste satisfactorio de los datos.

Para Metoxifenocide, la población del valle de Virú fue más susceptible que la propia población susceptible de referencia, la población del valle de Ica fue 1,4 veces más resistente que la población de Lima.

La población del valle de Ica mostró valores similares de resistencia a ambos insecticidas, a diferencia de la población del valle de Virú.

Para comparar la ocurrencia de resistencia en las poblaciones de *Spodoptera frugiperda* evaluadas se deben considerar factores agroclimáticos y manejo del cultivo, para conocer las diferentes condiciones en la dinámica poblacional de la especie.

El clima es un factor determinante en el número de generaciones de *Spodoptera frugiperda* así a mayor número de generaciones por año, más rápida será la evolución de la resistencia. La franja costera del valle de Virú se caracteriza por tener un clima subtropical, con temperaturas que oscilan entre 14 y 30 °C (Guardia, L. 2011), alta humedad relativa (77,9%) y menor radiación solar que el valle de Ica. Estas condiciones permiten que la plaga mantenga altas poblaciones durante todo el año.

Un agroecosistema aislado asegura una adecuada fuente de alimentación para las plagas durante todo el año. Es sabido que la incidencia de plagas es mucho mayor en Chavimochic, la cual, como zona agrícola es reciente en comparación al valle de Ica y desde sus inicios ha tenido grandes extensiones de monocultivos como caña de azúcar, maíz, espárrago (el de mayor área sembrada) y otros.

Los umbrales de acción para el control de lepidópteros, depende del plan de manejo de plagas de cada productor, el número de larvas hasta tercer estadio por metro lineal influyen directamente en la eficiencia de control, presión de selección, número de aplicaciones y costos de los programas de manejo. Una alta presión de plagas conlleva a umbrales de acción elevados, en disminución del número de aplicaciones, se espera una mayor población en diferentes estadios, lo cual disminuye la eficiencia del insecticida y favorece la proporción de inmigración de genes resistentes. En el valle de Virú se manejan umbrales altos de acción en comparación con el valle de Ica, lo que puede alterar de manera dramática la respuesta a la selección que conduce a la resistencia, debido a la tolerancia que las larvas de último estadio ofrecen al insecticida aplicado será mucho mayor.

Estudios previos demuestran que Tebufenocide tiene una mayor tasa en el desarrollo de resistencia, Jia et al. (2009) en *S. exigua* (Hübner) seleccionaron 61 generaciones consecutivas y encontraron 92 veces más resistencia. A diferencia de los datos de Methoxyfenocide hallados por Mosallanejad & Smagghe (2009) tras la selección de 13 generaciones la resistencia se incrementó sólo 5 veces.

Un agroecosistema como el del valle de Ica, que tiene más de 500 años de historia de agricultores con pequeñas y medianas extensiones que recientemente incluyeron el uso de insecticidas como protección adicional en el manejo integrado de plagas, este valle tendría una mayor biodiversidad de cultivos, plagas y las especies acompañantes como predadores, parásitoides, polinizadores, competidores y descomponedores que resulta en una complejidad ecosistémica. La especie en estudio no es la especie defoliadora más importante en el cultivo de espárrago en este valle. Andow, (1991) citado por Altieri & Nicholls (1994), menciona que en sistemas perennes las especies polífagas mantienen bajas poblaciones. La biodiversidad del agroecosistema aliviaría la presión del fitófago en el cultivo.

Andow (1991) citado por Altieri & Nicholls (1994), también sostiene que en los cultivos estratificados, los insectos pueden tener dificultad para localizar y permanecer en pequeños lugares favorables si las condiciones climáticas son fuertemente alteradas. El valle de Ica se caracteriza por tener un clima árido, con temperaturas extremas, baja humedad relativa inferior a (76%), con temperaturas extremas de 8 a 36°C, durante los meses de invierno las temperaturas mínimas son menores a los 10°C, disminuye también las horas de sol y la humedad relativa. Temperaturas mínimas por debajo del umbral de *Spodoptera frugiperda* interrumpen el ciclo biológico, disminuye el número de huevos por postura e impide el desarrollo normal de los insectos. Valdez-Torres, *et al.* (2012) citado por Pérez, E. (s.f.) hallaron como umbral mínimo de temperatura 8.7°C para *Spodoptera frugiperda*, otros citan hasta 10,3°C. En el valle de Ica la presión de la plaga es menor. En el valle de Ica se tiene entonces una autoregulación de la población que permite mantener bajos umbrales de acción por lo cual el uso de insecticidas es más eficiente y se reduce el número de aplicaciones, lo que disminuye las condiciones de desarrollo de resistencia.

Las diferencias en las tasas de desarrollo de resistencia en los diferentes trabajos mencionados y lo obtenido en la presente investigación indican que la susceptibilidad varía entre especies de insectos, las clases de insecticidas y el tiempo de exposición a los compuestos químicos. Sin embargo, demuestran la existencia del gran potencial de desarrollo de resistencia innato en cada especie cuando son sometidas a presión de selección.

V. CONCLUSIONES

1. La población de *Spodoptera frugiperda* procedente del valle de Virú es moderadamente resistente al Tebufenocide.
2. La población de *Spodoptera frugiperda* procedente del valle de Virú es muy susceptible al Methoxifenocide.
3. La disminución de sensibilidad a Tebufenocide hallada en la población *Spodoptera frugiperda* procedente del valle de Virú puede ser manejada con el remplazo de este producto con Methoxyfenocide
4. La población de *Spodoptera frugiperda* procedente de Ica es ligeramente resistente al Tebufenocide.
5. La población de *Spodoptera frugiperda* procedente de Ica es ligeramente resistente al Metoxifenocide.

VI. RECOMENDACIONES

1. En general el campo de los insecticidas es del interés de fabricantes, comerciantes, agricultores, técnicos agrícolas, trabajadores y ciudadanos, como múltiples disciplinas científicas y sociales. Es necesario entonces seguir mejorando las estrategias de aplicación de estas sustancias para que los riesgos puedan ser minimizados. Se debería recuperar la eficiencia de Tebufenocide, por ser un insecticida específico que está en la lista de productos autorizados para espárrago de exportación.
2. Los estudios de sensibilidad y resistencia se encuentran entre las tácticas más efectivas dentro del control de plagas, como parte del programa de monitoreo para retrasar el desarrollo de resistencia en los artrópodos. Es importante investigar y promover el conocimiento de la genética y potenciales mecanismos de resistencia para poder seleccionar las tácticas de manejo más adecuadas, a fin de no perder una herramienta importante en el control de plagas de nuestro país.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altieri, M. & Nicholls, C. 1994. Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas. Icaria editorial. España. 249p.

Badii, H. & Garza, V. 2007. Resistencia en Insectos, Plantas y Microorganismos. Cultura científica y tecnológica – Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México. 18:9.

Bisset, J. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Revista Cubana de Medicina Tropical. Cuba. 54:3. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300005&lng=es&nrm=iso. Consultado: 03-02-13.

Blackford, M.; Clarke, B.; Dinan, L. 1996. Tolerance of the Egyptian cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) to ingested phytoecdysteroids. Journal of Insect Physiology. 42 (10) 931-936

Blair, T.; Andre, N.; Graham, E.; 2007. Ten years of BT resistance monitoring in the European Corn Borer: what we know, What we don't know and what we can do better. Consultado 02/04/14. Disponible: <http://50.56.175.137/PDF/Pubs/Periodicals/AE/AE-2007/Winter/Siegfried.pdf>. Consultado: 03-02-13.

Cruz, I; Figueiredo, M; Oliveira, A; Vasconcelos, C. 1999. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. International Journal of Pest Management. 45 (4): 293-296.

Collantes, J. 2008. Manejo integrado de Lepidópteros en cultivos de espárrago en la irrigación Chavimochic. Monografía Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú. 104 p.

Díaz, C.; Rodríguez, M.; Fresneda, M.; Bisset, A. 2004. Determinación de la actividad glutatión-S-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 56(2). Disponible en línea: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602004000200005 . Consultado: 03-02-13.

Díaz, M.; Bustos, M; Espinosa, A. 2004. Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos. Universidad Nacional de Colombia. 1 ed. Bogotá, Colombia. 118p.

Dhingra, S., & P. Sarup. 1990. Development of Techniques for Detecting Resistance in Crop Pests to Insecticides. *Journal of Entomological Research*. 14: 156–163.

Ewer, J; Gammie, S; Truman, J. 1997. Control of insect ecdysis by a positive-feedback endocrine system: roles of eclosion hormone and ecdysis Triggering Hormone. *Journal of Experimental Biology*. 200: 869-881.

Estancias VH. 2011. Origen y desarrollo de la resistencia a los insecticidas. Disponible en línea: www.estanciasvh.com. Consultado: Junio, 2012. Bolivia

Fuse, M; Truman, W. 2002. Modulation of ecdysis in the moth *Manduca sexta*. The roles of the suboesophageal and thoracic ganglia. *Journal of Experimental Biology*. 205: 1047-1058.

Georghiou, G., 1994. Principles of insecticide resistance management. *Phytoprotection*. 75(4):51-59. DOI: 10.7202/706071ar.

Giuggia, J; Boito, G; Giovanini, D; Crenna, A; Gerardo, U. 2011. Eficiencia de control de “orugas defoliadoras” en soja (*Glycine max* L.), con insecticidas neurotóxicos y reguladores del crecimiento de los insectos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*. 43(1): 143-153.

Gonçalves, R; Cordeiro, K; Shigeo, F; Czapak, C; Marçal, P; Randomille, G. 2005. Eficiência de insecticidas no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 35(3): 179-182.

Guardia, L. 2011. Modo de acción de los insecticidas y manejo de la resistencia. Monografía Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú. 75 p.

Hoy, M. 1995. Multitactic resistance management: an approach that is long overdue?. Florida Entomologist. 78(3): 443-451

IRAC(The insecticide resistance action committee website).2011. Disponible en línea www.iraconline.org .

Ishaaya, I;Yablonski, S; Horowitz, A. 1995. Comparative toxicity of two ecdysteroid agonists, RH-2485 and RH-5992, on susceptible and pyrethroid-resistant strains of the Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. Phytoparasitica. 39(4):315-324.

Jia,B., Liu, Y., Cheng Zhu, Y., Liu, X., Gao, C., Shen, J. 2009. La herencia, la aptitud de costos y el mecanismo de resistencia a la tebufenozida de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Management Science. 65(9):996-1002

Kingar, T; Cardullo, R; Adams, M. 2001. Signal transduction in eclosion hormone – induced secretion of ecdysis-triggering hormone. The Journal of biological chemistry. 276(27): 25136-25142.

Lagunes-Tejeda, A., Rodriguez- Maciel, J., Concepción y de Lorea-Barocio, J., 2009. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México. Agrociencia [online]. 43(2) 173-196. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000200009&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1405-3195.

LeOra SOFTWARE. 1987. POLO-PC: a user's guide to probit or logit analysis. Berkeley, California. Diskette.

Marcon, P., Siegfried, B., Spencer, T.,Hutchison, W. 2000. Development of Diagnostic Concentrations for Monitoring *Bacillus thuringiensis* Resistance in European Corn Borer (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Economic Entomology. 93 (3): 925-930

Martinelli, S. 2006. Resistência de lepidópteros-praga a insecticidas na cultura do algodão no Brasil. Revista Brasileira de Oliginosas e fibrosas, Campina Grande, 10(3): 1167-1182.

Miller T. 1988. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. *Parasitology Today*. 4:8-12.

Mosallanejad, H. & Smagghe, T. 2009. Los mecanismos bioquímicos de resistencia metoxifenoza en el algodón leafworm *Spodoptera littoralis*. *Pest Management Science*. 65(7):732-736.

Moulton, J; Pepper, D; Jansson, R. Dennehy, T. 2002. Pro-active management of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to Tebufenozide: Baseline Monitoring, Risk Assessment, and isolation of resistance. *Journal of Economic Entomology*. 95 (2): 414-424.

Morillo, F. & Notz, A. 2001. Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. *Entomotropica*. 16 (2): 79-87.

Nijhout, F. 1994. *Insect Hormones*. 3 ed. USA. Princenton University. p. 245-248.

Pérez, E. (s.f.). Control Biológico de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en maíz. Departamento de Manejo de Plagas, INISAV. Cuba.

Pineda, S; Budia, F; Schneider, I; Gobbi, A; Viñuela, E; Valle, J; Del-Estal, P. 2004. Effects of to biorational Insecticides, Spinosad and Methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology*. 97(6): 1906-1911.

Pineda, S; Smagghe, G; Del-Estal, F; Viñuela, E; Martinez, A; Budia, F. 2006. Toxicity and pharmacokinetics of spinosad and methoxyfenozide to *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*. 35: 856-864.

Pineda, P; Martínez, A; Figueroa, J; Schneider, M; Del-Estal, P; Viñuela, E; Gómez, B; Smagghe, G; Budia, B. 2009. Influence of Azadirachtin and Methoxyfenozide on Life Parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Phytoparasitica*. 23(2): 139-145.

Repetto, M & Repetto, G. 2009. *Toxicología Fundamental*. 4 ed. Díaz Santos. p.39-41.

Rossato, G; Dionei, A; Silvierira, M; Zotti, M; Nornberg, S; Rodriguez, T; De Bandeira, J. 2006. Susceptibility of caterpillars of the biotypes corn and rice of *Spodoptera*

frugiperda (J.E. Smith, 1797) (lepidoptera: Noctuidae) to insecticides with different action manners. *Ciencia Rural*, Santa Maria. 36(1): 15-20.

Salinas, H. 2010. Identificación de haplotipos de *Spodoptera frugiperda* en algunas poblaciones de Colombia para el estudio del comportamiento migratorio de la especie. Medellín, Colombia. Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 93p.

Sánchez, G; Vergara, C. 2003. Plagas de Hortalizas. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú. 170p.

Sánchez, G; Sarmiento, J; Herrera, J. 2004, Plagas de la Caña de Azúcar, Maíz y Arroz. La Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú 98p.

Sawicki R. & Farnham A. 1968. Genetics of resistance to insecticides in the Ska strain of *Musca domestica*. Location and isolation of the factors of resistance to dieldrin. *Entomologica Experientia Applicata*. 11:133-42.

Smagghe, G. & Degheele, D. 1994. Action of a novel nonsteroidal ecdysteroid mimic, tebufenozide (RH-5992), on insects of different order. *Journal of Pest Science*. 42:85-92.

Sosa, M. 2002. Estimación de daño de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lep.: Noctuidae) en maíz con infestación natural en tres fechas de siembra en el noreste santafesino. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA, Centro Regional Santa Fe, Estación experimental Agropecuaria Reconquista, Información para extensión 70. 39-45

Valdez-Torres, J.; Soto-Landeros, B.; Osuna-Enciso, F.; Baez-Sanudo, T.; Alonso, M.; 2012. Modelos de predicción fenológica para maíz blanco (*Zea mays* L.) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith). *Agrociencia* [online]. 46, (4): 399-410. ISSN 1405-3195.

Vásquez-Castro, J. 2002. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) a *Beauveria bassiana* (Bals) y *Metarhizium anisopliae* (Mettch). Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. 145p.

Vásquez-Castro, J. 2009^a. Toxicología y manejo de Plaguicidas, manejo de la resistencia de insectos a insecticidas. En curso de actualización de la Universidad nacional Agraria La Molina. Perú. Informe 12p.

Vásquez-Castro, J; Noriega, A. 2009b. Resistencia a Lufenuron en poblaciones peruanas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). LI Convención Nacional de Entomología. Resúmenes. Perú. p.98.

Viñuela, E; Budía, F; Del Estal, P. 1991. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas. 17: 391-400.

WHO. 1957. Seventh report Expert Committee on insecticides WHO Tech Report Ser. 125:37.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Resultado del análisis estadístico probit para la población de Ica – Metoxyfenocide

POLO-PC (C) Copyright LeOra Software 1987

```
input: *spodoptera
input: 0.00 40 04
input: 0.02 40 05
input: 0.06 40 11
input: 0.10 39 10
input: 0.20 40 18
input: 0.40 39 28
input: 0.60 36 28
```

preparation resp/subj	dose	log-dose	subjects	responses
spodopte .100	.00000	.000000	40.	4.
.125	.02000	-1.698970	40.	5.
.275	.06000	-1.221849	40.	11.
.256	.10000	-1.000000	39.	10.
.450	.20000	-.698970	40.	18.
.718	.40000	-.397940	39.	28.
.778	.60000	-.221849	36.	28.

```
Number of preparations: 1
Number of dose groups: 6
Do you want probits [Y] ? y
Is Natural Response a parameter [Y] ? y
Do you want the likelihood function to be maximized [Y] ? y
LD's to calculate [10 50 90] > 50
Do you want to specify starting values of the parameters [N] ? n
The probit transformation is to be used
Natural Response is a parameter
The parameters are to be estimated by maximizing the likelihood
function
```

Maximum log-likelihood -144.47893

	parameter	standard error	t ratio
spodopte	1.1072044	.24713087	4.4802351
NATURAL	.10875760	.43139412E-01	2.5210729
SLOPE	1.8678875	.41426326	4.5089383

Variance-Covariance matrix

	spodopte	NATURAL	SLOPE
spodopte	.6107367E-01	.2452846E-02	.8531160E-01
NATURAL	.2452846E-02	.1861009E-02	.1023340E-01
SLOPE	.8531160E-01	.1023340E-01	.1716140

Chi-squared goodness of fit test

preparation	subjects	responses	expected	deviation	
probability					
spodopte	40.	5.	5.042	-.042	.126049
	40.	11.	8.628	2.372	.215692
	39.	10.	12.007	-2.007	.307882
	40.	18.	19.372	-1.372	.484299
	39.	28.	26.558	1.442	.680964
	36.	28.	28.165	-.165	.782347
NATURAL	40.	4.	4.350	-.350	.108758

chi-square 1.7870 degrees of freedom 4 heterogeneity
.45

Index of significance for potency estimation:

g(.90)=.13308 g(.95)=.18895 g(.99)=.32635

Effective Doses

	dose	limits	0.90	0.95
0.99				
LD50 spodopte	.25541	lower	.18081	.16509
.13106		upper	.33720	.35660
.40212				

spodopte subjects 234 controls 40
log(L)=-144.5 slope=1.868+- .414 nat.resp.=.109+- .043
heterogeneity=.45 g=.189
LD50=.255 limits: .165 to .357

Stop - Program terminated.a

ANEXO 2: Resultado del análisis estadístico probit para la población de La Molina-Metoxyfenocide

POLO-PC (C) Copyright LeOra Software 1987

input: 0.00 37 03
input: 0.01 39 06
input: 0.10 40 12
input: 0.20 38 25
input: 0.35 38 29
input: 0.50 39 35
input: 0.60 38 37

preparation	dose	log-dose	subjects	responses
resp/subj				
spodopte	.00000	.000000	37.	3.
.081				
	.01000	-2.000000	39.	6.
.154				
	.10000	-1.000000	40.	12.
.300				
	.20000	-.698970	38.	25.
.658				
	.35000	-.455932	38.	29.
.763				
	.50000	-.301030	39.	35.
.897				
	.60000	-.221849	38.	37.
.974				

Number of preparations: 1
Number of dose groups: 6
Do you want probits [Y] ? y
Is Natural Response a parameter [Y] ? y
Do you want the likelihood function to be maximized [Y] ? y
LD's to calculate [10 50 90] > 50
Do you want to specify starting values of the parameters [N] ? n
The probit transformation is to be used
Natural Response is a parameter
The parameters are to be estimated by maximizing the likelihood function

Maximum log-likelihood -115.96191

	parameter	standard error	t ratio
spodopte	2.1677976	.28913895	7.4974252
NATURAL	.11784303	.36807964E-01	3.2015634
SLOPE	2.9302085	.47203134	6.2076567

Variance-Covariance matrix

	spodopte	NATURAL	SLOPE
spodopte	.8360133E-01	.5521003E-03	.1221195
NATURAL	.5521003E-03	.1354826E-02	.4019876E-02
SLOPE	.1221195	.4019876E-02	.2228136

Chi-squared goodness of fit test

preparation	subjects	responses	expected	deviation	
spodopte	39.	6.	4.600	1.400	.117941
	40.	12.	12.579	-.579	.314482
	38.	25.	22.836	2.164	.600937
	38.	29.	31.203	-2.203	.821138
	39.	35.	35.585	-.585	.912427
	38.	37.	35.836	1.164	.943065
NATURAL	37.	3.	4.360	-1.360	.117843

chi-square 3.1603 degrees of freedom 4 heterogeneity
.79

Index of significance for potency estimation:
g(.90)=.07021 g(.95)=.09969 g(.99)=.17218

Effective Doses

	dose	limits	0.90	0.95
0.99				
LD50 spodopte	.18205	lower	.14216	.13360
.11557		upper	.21809	.22497
.23866				

spodopte subjects 232 controls 37
log(L)=-116.0 slope=2.930+- .472 nat.resp.=.118+- .037
heterogeneity=.79 g=.100
LD50=.182 limits: .134 to .225

Stop - Program terminated.

**ANEXO 3: Resultado del análisis estadístico probit para la población del valle de Virú -
Metoxyfenocide**

POLO-PC (C) Copyright LeOra Software 1987

input: 0.00 40 00
input: 0.05 36 08
input: 0.10 40 24
input: 0.20 40 34
input: 0.30 40 34
input: 0.50 36 34

preparation resp/subj	dose	log-dose	subjects	responses
spodopte .000	.00000	.000000	40.	0.
.222	.05000	-1.301030	36.	8.
.600	.10000	-1.000000	40.	24.
.850	.20000	-.698970	40.	34.
.850	.30000	-.522879	40.	34.
.944	.50000	-.301030	36.	34.

Number of preparations: 1
Number of dose groups: 5
Do you want probits [Y] ? y
Is Natural Response a parameter [Y] ? y
Do you want the likelihood function to be maximized [Y] ? y
LD's to calculate [10 50 90] > 50
Do you want to specify starting values of the parameters [N] ? n
The probit transformation is to be used
The parameters are to be estimated by maximizing the likelihood
function

Maximum log-likelihood -88.889943

	parameter	standard error	t ratio
spodopte	2.4370893	.30701724	7.9379558
SLOPE	2.3239689	.33537910	6.9293789

Variance-Covariance matrix

	spodopte	SLOPE
spodopte	.9425958E-01	.9647225E-01
SLOPE	.9647225E-01	.1124791

Chi-squared goodness of fit test

preparation probability	subjects	responses	expected	deviation	
spodopte	36.	8.	10.036	-2.036	.278782
	40.	24.	21.801	2.199	.545032
	40.	34.	31.672	2.328	.791806
	40.	34.	35.565	-1.565	.889134
	36.	34.	34.519	-.519	.958851

chi-square 2.6927 degrees of freedom 3 heterogeneity
.90

Index of significance for potency estimation:
g(.90)=.05635 g(.95)=.08000 g(.99)=.13818

Effective Doses

	dose	limits	0.90	0.95
0.99				
LD50 spodopte	.08940	lower	.07049	.06662
.05867		upper	.10757	.11114
.11831				

spodopte subjects 192 controls 40
log(L)=-88.89 slope=2.324+- .335 nat.resp.=.000+- .000
heterogeneity=.90 g=.080
LD50=.089 limits: .067 to .111

Stop - Program terminated.

ANEXO 4: Resultado del análisis estadístico probit para la población de Ica - Tebufenocide

POLO-PC(C) Copyright LeOra Software 1987

input: 0.00 40 02
input: 0.16 40 11
input: 0.30 37 22
input: 0.40 39 24
input: 0.50 40 30
input: 0.80 36 32
input: 1.20 38 35

preparation resp/subj	dose	log-dose	subjects	responses
spodopte .050	.00000	.000000	40.	2.
.275	.16000	-.795880	40.	11.
.595	.30000	-.522879	37.	22.
.615	.40000	-.397940	39.	24.
.750	.50000	-.301030	40.	30.
.889	.80000	-.096910	36.	32.
.921	1.20000	.079181	38.	35.

Number of preparations: 1
Number of dose groups: 6
Do you want probits [Y] ? y
Is Natural Response a parameter [Y] ? y
Do you want the likelihood function to be maximized [Y] ? y
LD's to calculate [10 50 90] > 50
Do you want to specify starting values of the parameters [N] ? n
The probit transformation is to be used
Natural Response is a parameter
The parameters are to be estimated by maximizing the likelihood function

Maximum log-likelihood -128.58201

	parameter	standard error	t ratio
spodopte	1.3296678	.17793681	7.4726968
NATURAL	.48699976E-01	.33441118E-01	1.4562903
SLOPE	2.4628031	.38587868	6.3823249

Variance-Covariance matrix

	spodopte	NATURAL	SLOPE
spodopte	.3166151E-01	-.4475017E-03	.5559318E-01
NATURAL	-.4475017E-03	.1118308E-02	.2198156E-02
SLOPE	.5559318E-01	.2198156E-02	.1489024

Chi-squared goodness of fit test

preparation probability	subjects	responses	expected	deviation	
spodopte	40.	11.	12.002	-1.002	.300040
	37.	22.	19.989	2.011	.540255
	39.	24.	25.521	-1.521	.654381
	40.	30.	29.415	.585	.735378
	36.	32.	31.286	.714	.869066
	38.	35.	35.698	-.698	.939431
NATURAL	40.	2.	1.948	.052	.048700

chi-square 1.2168 degrees of freedom 4 heterogeneity
.30

Index of significance for potency estimation:

g(.90)=.06642 g(.95)=.09431 g(.99)=.16288

Effective Doses

	dose	limits	0.90	0.95
0.99				
LD50 spodopte	.28847	lower	.23050	.21815
.19223		upper	.34185	.35217
.37287				

spodopte subjects 230 controls 40

log(L)=-128.6 slope=2.463+- .386 nat.resp.=.049+- .033

heterogeneity=.30 g=.094

LD50=.288 limits: .218 to .352

Stop - Program terminated.

43775

Universidad Nacional Agraria
 Biblioteca Agrícola Nacional

ANEXO 5: Resultado del análisis estadístico probit para la población de La Molina-Tebufenocide

POLO-PC (C) Copyright LeOra Software 1987

input: 0.000 36 00
input: 0.008 40 03
input: 0.016 40 05
input: 0.050 39 15
input: 0.500 40 23
input: 0.800 41 26
input: 1.200 38 29
input: 1.600 39 36

preparation resp/subj	dose	log-dose	subjects	responses
spodopte .000	.00000	.000000	36.	0.
.075	.00800	-2.096910	40.	3.
.125	.01600	-1.795880	40.	5.
.385	.05000	-1.301030	39.	15.
.575	.50000	-.301030	40.	23.
.634	.80000	-.096910	41.	26.
.763	1.20000	.079181	38.	29.
.923	1.60000	.204120	39.	36.

Number of preparations: 1
Number of dose groups: 7
Do you want probits [Y] ? y
Is Natural Response a parameter [Y] ? y
Do you want the likelihood function to be maximized [Y] ? y
LD's to calculate [10 50 90] > 50
Do you want to specify starting values of the parameters [N] ? n
The probit transformation is to be used
The parameters are to be estimated by maximizing the likelihood function

Maximum log-likelihood -141.61045

	parameter	standard error	t ratio
spodopte	.68104528	.10988055	6.1980512
SLOPE	.96680671	.10504244	9.2039626

Variance-Covariance matrix

	spodopte	SLOPE
spodopte	.1207374E-01	.7263607E-02
SLOPE	.7263607E-02	.1103391E-01

Chi-squared goodness of fit test

preparation	subjects	responses	expected	deviation	
spodopte	40.	3.	3.564	-.564	.089109
	40.	5.	5.826	-.826	.145662
	39.	15.	10.999	4.001	.282038
	40.	23.	26.069	-3.069	.651734
	41.	26.	29.582	-3.582	.721516
	38.	29.	29.475	-.475	.775654
	39.	36.	31.595	4.405	.810134

chi-square 8.1256 degrees of freedom 5 heterogeneity
1.6251

Index of significance for potency estimation:

g(.90)=.07789 g(.95)=.12676 g(.99)=.31190

Effective Doses

	dose	limits	0.90	0.95
LD50 spodopte	.19750	lower	.11350	.09518
		upper	.33757	.39736
				.66567

spodopte subjects 277 controls 36
 log(L)=-141.6 slope=.967+- .105 nat.resp.=.000+- .000
 heterogeneity=1.63 g=.127
 LD50=.198 limits: .095 to .397

**ANEXO 6: Resultado del análisis estadístico probit para la población del valle de Virú
– Tebufenocide**

POLO-PC(C) Copyright LeOra Software 1987

input: 0.0 38 02
input: 0.3 35 12
input: 0.4 39 20
input: 0.5 37 20
input: 0.9 39 24
input: 1.3 37 28
input: 1.6 39 32
input: 2.3 40 35

preparation resp/subj	dose	log-dose	subjects	responses
spodopte .053	.00000	.000000	38.	2.
.343	.30000	-.522879	35.	12.
.513	.40000	-.397940	39.	20.
.541	.50000	-.301030	37.	20.
.615	.90000	-.045757	39.	24.
.757	1.30000	.113943	37.	28.
.821	1.60000	.204120	39.	32.
.875	2.30000	.361728	40.	35.

Number of preparations: 1
Number of dose groups: 7
Do you want probits [Y] ? y
Is Natural Response a parameter [Y] ? y
Do you want the likelihood function to be maximized [Y] ? y
LD's to calculate [10 50 90] > 50
Do you want to specify starting values of the parameters [N] ? n
The probit transformation is to be used
Natural Response is a parameter
The parameters are to be estimated by maximizing the likelihood function

Maximum log-likelihood -163.55973

	parameter	standard error	t ratio
spodopte	.47971223	.98584503E-01	4.8660003
NATURAL	.52661135E-01	.36226683E-01	1.4536560
SLOPE	1.6615880	.29428745	5.6461396

Variance-Covariance matrix

	spodopte	NATURAL	SLOPE
spodopte	.9718904E-02	-.1341456E-02	.7083346E-02
NATURAL	-.1341456E-02	.1312373E-02	.1736803E-02
SLOPE	.7083346E-02	.1736803E-02	.8660510E-01

Chi-squared goodness of fit test

preparation probability	subjects	responses	expected	deviation	
spodopte	35.	12.	13.402	-1.402	.382906
	39.	20.	17.866	2.134	.458110
	37.	20.	19.188	.812	.518593
	39.	24.	26.319	-2.319	.674851
	37.	28.	28.176	-.176	.761521
	39.	32.	31.373	.627	.804442
	40.	35.	34.699	.301	.867464
NATURAL	38.	2.	2.001	-.001	.052661

chi-square 1.4961 degrees of freedom 5 heterogeneity .30

Index of significance for potency estimation:

g(.90)=.08487 g(.95)=.12050 g(.99)=.20813

Effective Doses

	dose	limits	0.90	0.95
0.99				
LD50 spodopte	.51439	lower	.37433	.34481
.28320		upper	.64708	.67344
.72731				

spodopte subjects 266 controls 38
 log(L)=-163.6 slope=1.662+- .294 nat.resp.=.053+- .036
 heterogeneity=.30 g=.121
 LD50=.514 limits: .345 to .673

Stop - Program terminated.