

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA**



**“IBUPROFENO COMO AGENTE MODIFICADOR DEL
EFECTO LARVICIDA DEL SPINETORAM EN
Spodoptera ochrea”**

Presentada por:

RICHAR JOEL MORALES RODRÍGUEZ

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN ENTOMOLOGÍA**

Lima - Perú

2023

Document Information

Analyzed document	Tesis_Ento_RICHAR MORALES.docx (D164384781)
Submitted	2023-04-19 01:37:00
Submitted by	GERMAN ELIAS JOYO CORONADO
Submitter email	gjjoyo@lamolina.edu.pe
Similarity	1%
Analysis address	gjjoyo.unalm@analysis.arkund.com

Sources included in the report

SA	Universidad Nacional Agraria La Molina / Artículo_EcolApl.docx Document Artículo_EcolApl.docx (D126590017) Submitted by: rmorales@lamolina.edu.pe Receiver: rmorales.unalm@analysis.arkund.com	 9
W	URL: https://doi.org/10.1093/jee/tou060 Fetched: 2023-04-19 01:37:00	 3
W	URL: https://doi.org/10.1007/s10295-015-1710-x Fetched: 2023-04-19 01:37:00	 1
W	URL: https://doi.org/10.1093/aesa/73.6.722 Fetched: 2023-04-19 01:37:00	 1
SA	Revisión documental sobre los daños de Spodoptera frugiperda, J.E. Smith y efecto del control biológico en el rendimiento de Zea mays L..docx Document Revisión documental sobre los daños de Spodoptera frugiperda, J.E. Smith y efecto del control biológico en el rendimiento de Zea mays L..docx (D142663535)	 1
SA	Alvarado Informe Final 11-05-2022.docx Document Alvarado Informe Final 11-05-2022.docx (D136241351)	 1

Entire Document

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
ESCUELA DE POSGRADO MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA
"IBUPROFENO COMO AGENTE MODIFICADOR DEL EFECTO LARVICIDA DEL SPINETORAM EN Spodoptera ochrea"
Presentada por: RICHAR JOEL MORALES RODRÍGUEZ
TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO MAGISTER SCIENTIAE EN ENTOMOLOGÍA
Lima - Perú 2023 UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
ESCUELA DE POSGRADO MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA
"IBUPROFENO COMO AGENTE MODIFICADOR DEL EFECTO LARVICIDA DEL SPINETORAM EN Spodoptera ochrea"
TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO MAGISTER SCIENTIAE
Presentada por: RICHAR JOEL MORALES RODRÍGUEZ
Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:
Dr. Jorge Escobedo Álvarez M.Sc. Germán Joyo Coronado PRESIDENTE ASESOR

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA**

**“IBUPROFENO COMO AGENTE MODIFICADOR DEL
EFECTO LARVICIDA DEL SPINETORAM EN
Spodoptera ochrea”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

RICHAR JOEL MORALES RODRÍGUEZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Jorge Escobedo Álvarez
PRESIDENTE

Mg.Sc. Germán Joyo Coronado
ASESOR

Dr. Alexander Rodríguez Berrío
MIEMBRO

Ph.D. Jorge Castillo Valiente
MIEMBRO

DEDICATORIA:

Esta tesis está dedicada a mi madre,
quien es y será mi principal
fuente de apoyo.

AGRADECIMIENTO

- Al M.Sc. Germán Arellano Cruz por permitir el uso del Laboratorio de Ecología de Artrópodos (LEA), lugar donde se realizaron los bioensayos.
- A los amigos de la Maestría de Entomología con los cuales compartimos grandes momentos durante este largo recorrido de aprendizaje, en especial a Fernando y Rosmery por los momentos de colectas y montaje.
- A los estudiantes de biología de la UNALM que me apoyaron durante la ejecución de los bioensayos, en especial a Alejandro López, Leonardo Paredes, Fernando Carhuallanqui y Gloria Huamán por acompañarme en las largas horas de ejecución.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN	4
1.2. OBJETIVO GENERAL	5
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. CONTAMINACIÓN	6
2.2. CONTAMINACIÓN DEL AGUA.....	6
2.3. CONTAMINANTES EMERGENTES	7
2.4. LOS CONTAMINANTES EMERGENTES EN LOS CUERPOS DE AGUA....	8
2.5. AINES E IBUPROFENO.....	9
2.6. DAÑOS DEL IBUPROFENO EN LOS ORGANISMOS	9
2.7. <i>Spodoptera ochrea</i>	10
2.8. CONTROL DE <i>Spodoptera</i>	11
2.9. SPINETORAM.....	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1. MATERIALES.....	13
3.1.1. Material biológico	13
3.1.2. Insecticida & Fármaco.....	13
3.2. METODOLOGÍA.....	13
3.2.1. Colecta y crianza de especímenes de poblaciones naturales	13
3.2.2. Selección del material vegetal	14
3.2.3. Preparación de las soluciones de Ibuprofeno y del insecticida Spinetoram	14
3.2.4. Bioensayos.....	15
a. Larvas IV evaluadas con las diferentes concentraciones de Ibuprofeno	15
b. Larvas IV evaluadas con la mezcla Ibuprofeno + Spinetoram, sin tratamiento previo con Ibuprofeno.....	15
c. Larvas IV evaluadas con la mezcla Ibuprofeno 85000 mg/L + Spinetoram, sin tratamiento previo con Ibuprofeno	16
d. Larvas IV evaluadas con Spinetoram, en especímenes con tratamiento previo de Ibuprofeno	16

e. Larvas IV evaluadas con la mezcla Ibuprofeno + Spinetoram, en especímenes con tratamiento previo de Ibuprofeno.....	17
f. Comparación de la mortalidad obtenida de la mezcla Ibuprofeno + Spinetoram, en especímenes sin y con tratamiento previo de Ibuprofeno...	17
3.2.5. Análisis de datos.....	18
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
4.1. EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IBUPROFENO (1.37, 137 Y 85000 mg/L) EN LA SUPERVIVENCIA DE LARVAS IV DE <i>Spodoptera ochrea</i>	19
4.2. EFECTO DE LA MEZCLA DE IBUPROFENO (1.37, 137 Y 85000 mg/L) Y SPINETORAM (60 mg/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE <i>Spodoptera ochrea</i> , SIN TRATAMIENTO PREVIO CON IBUPROFENO.....	20
4.3. EFECTO DE LA MEZCLA DE IBUPROFENO (85000 mg/L) Y SPINETORAM (60, 45 y 30 mg/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE <i>Spodoptera ochrea</i> , SIN TRATAMIENTO PREVIO CON IBUPROFENO	22
4.4. EFECTO DEL SPINETORAM (60 mg/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE <i>Spodoptera ochrea</i> , CON TRATAMIENTO PREVIO DE IBUPROFENO (1.37, 137 y 85000 mg/L)	23
4.5. Efecto de la mezcla de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L) y Spinetoram (60 mg/L) en la mortalidad de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> , con tratamiento previo de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L, respectivamente)	24
4.6. Comparación de la mortalidad de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> tratadas con la mezcla Ibuprofeno y Spinetoram, en especímenes con y sin tratamiento previo con Ibuprofeno, así como la aplicación de solo Spinetoram (60 mg/L) ..	25
V. CONCLUSIONES.....	34
VI. RECOMENDACIONES	35
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
VIII. ANEXOS	54

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Porcentaje de supervivencia de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> a la exposición de diferentes concentraciones de IBU	27
Figura 2. Porcentaje de mortalidad de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU + SPI. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora de evaluación	28
Figura 3. Porcentaje de mortalidad de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU 85000 mg/L + SPI. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora de evaluación..	29
Figura 4. Porcentaje de mortalidad obtenida por SPI 60 mg/L en larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> tratadas previamente con diferentes concentraciones de IBU. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora evaluada.....	30
Figura 5. Porcentaje de mortalidad obtenida por la mezcla IBU + SPI en larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> tratadas previamente con IBU. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora evaluada.....	31
Figura 6. Comparación del porcentaje de mortalidad obtenida por la exposición a la mezcla IBU + SPI en larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> con y sin tratamiento previo con IBU y T ₃ . A. Curvas de mortalidad. B. Box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora evaluada	33

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Registro de mortalidad de los diferentes grupos, a las 24, 48 y 72 h de evaluación	54
Anexo 2. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU + SPI.....	66
Anexo 3. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad de larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU 85000 mg/L + SPI.....	69
Anexo 4. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad obtenida por SPI 60 mg/L en larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> tratadas previamente con diferentes concentraciones de IBU.....	72
Anexo 5. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad obtenida por la mezcla IBU + SPI en larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> tratadas previamente con IBU	75
Anexo 6. Estadística comparativa de la mortalidad obtenida por la exposición a la mezcla IBU + SPI en larvas IV de <i>Spodoptera ochrea</i> con y sin tratamiento previo con IBU y T ₃	78

RESUMEN

La contaminación de los ecosistemas por compuestos xenobióticos está en aumento. Estos materiales pueden generar múltiples efectos en los organismos dependiendo de la dosis aplicada, desde daño celular hasta intergeneracional. El ibuprofeno es un fármaco de amplio uso y que frecuentemente se ha reportado en diferentes ambientes. Sin embargo, aún no se ha establecido su efecto en plagas de importancia agrícola. El uso conjunto de ibuprofeno e insecticida podría ejercer un problema para el control de plagas. Por ello, es necesario evaluar al Ibuprofeno como modificador del efecto larvicida del Spinetoram en larvas IV de *Spodoptera ochrea*, sin y con tratamiento previo con ibuprofeno. Los especímenes utilizados en los bioensayos fueron obtenidos a partir de individuos colectados del campus de la UNALM; se establecieron diferentes tratamientos para evaluar el efecto del Ibuprofeno, Spinetoram o mezcla (Ibuprofeno + Spinetoram) en poblaciones de larvas con y sin tratamiento previo de Ibuprofeno; y, la mortalidad se reportó a las 24, 48 y 72 h. Se encontró que ibuprofeno en las dosis ensayadas no generaron mortalidad de larvas; la mezcla Ibuprofeno 85000 mg/L + Spinetoram 60 mg/L aumenta la mortalidad en poblaciones con y sin tratamiento previo; asimismo, las mezclas de Ibuprofeno 85000 mg/L con las diferentes concentraciones de Spinetoram 60, 45 y 30 mg/L generan mortalidades similares. Se concluye que el Ibuprofeno 85000 mg/L aumenta la mortalidad del Spinetoram 60 mg/L en larvas IV de *Spodoptera ochrea* en comparación a las otras concentraciones ensayadas, resaltando la importancia de usar y desechar adecuadamente los medicamentos como el ibuprofeno para minimizar el impacto negativo de los contaminantes emergentes en el ambiente.

Palabras Claves: Ibuprofeno, *Spodoptera ochrea*, Spinetoram, xenobióticos, mortalidad, insectos.

ABSTRACT

The contamination of ecosystems by xenobiotic compounds is increasing. These materials can generate multiple effects on organisms depending on the applied dose, from cell damage to intergenerational. Ibuprofen is a widely used drug that has frequently been reported in different settings. However, its effect on pests of agricultural importance has not yet been established. The joint use of ibuprofen and insecticide could cause a problem for pest control. Therefore, it is necessary to evaluate ibuprofen as a modifier of the larvicidal effect of Spinetoram in IV larvae of *Spodoptera ochrea*, without and with previous treatment with ibuprofen. The specimens used in the bioassays were obtained from individuals collected from the UNALM campus. Different treatments were established to evaluate the effect of Ibuprofen, Spinetoram or a mixture (Ibuprofen + Spinetoram) in populations of larvae with and without prior treatment with Ibuprofen; and mortality was reported at 24, 48 and 72 h. It was found that ibuprofen in the tested doses did not generate larval mortality; the mixture Ibuprofen 85,000 mg/L + Spinetoram 60 mg/L increases mortality in populations with and without prior treatment. Likewise, the mixtures of Ibuprofen 85,000 mg/L with the different concentrations of Spinetoram 60, 45, and 30 mg/L generate similar mortalities. It is concluded that Ibuprofen 85,000 mg/L increases the mortality of Spinetoram 60 mg/L in IV larvae of *Spodoptera ochrea* compared to the other concentrations tested, highlighting the importance of using and properly disposing of drugs such as ibuprofen to minimize the negative impact of emerging pollutants in the environment.

Keywords: Ibuprofen, *Spodoptera ochrea*, Spinetoram, xenobiotics, mortality, insects.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el impacto de las actividades humanas sobre los ecosistemas se han vuelto más evidente (Cardoso *et al.* 2020). Esto ha llevado a detectar múltiples compuestos xenobióticos en diferentes ambientes: agua superficial, agua potable, agua subterránea, agua de piscina y suelo (Schriks *et al.* 2010; Gogoi *et al.* 2018; Riva *et al.* 2018; Montagner *et al.* 2019; Reichert *et al.* 2019; Su *et al.* 2020; Vashisht *et al.* 2020; Zhou *et al.* 2020; Im *et al.* 2021; Ouda *et al.* 2021). Sin embargo, las aguas residuales sin tratar son la principal fuente de liberación de contaminantes emergentes en ecosistemas acuáticos (Luo *et al.* 2019; Ana y Espino 2020; Parida *et al.* 2021).

A nivel mundial, las aguas residuales son una alternativa para el riego en lugares donde el agua superficial es escasa (Picó *et al.* 2019), además, puede proveer de una gran cantidad de nutrientes a los cultivos (Hassena *et al.* 2018; Ahmali *et al.* 2020; Hashmat *et al.* 2021; Mendes Reis *et al.* 2021). Sin embargo, la carga adicional que contiene es un peligro porque puede acumularse en el suelo durante el riego (Martínez-Piernas *et al.* 2018a; Martínez-Piernas *et al.* 2018b; Chaoua *et al.* 2019) y trasladarse a la planta (Singh *et al.* 2020); estos contaminantes se han reportado en hojas y en otras partes de vegetales de consumo humano, como: col, cebada, judías verdes, berenjenas, ají, tomate y calabacín, entre otros (Kodešová *et al.* 2019; Picó *et al.* 2019; Klement *et al.* 2020; Picó *et al.* 2021).

El ibuprofeno es el fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) más utilizado para el tratamiento de la inflamación, el dolor leve a moderado y la fiebre (de Martino *et al.* 2017; Atkinson y Fudin 2020) y es el tercer medicamento de venta libre más popular, altamente recetado y más vendible del mundo (Marchlewicz *et al.* 2015). El hígado transforma una gran parte el ibuprofeno ingerido; los metabolitos y una pequeña parte inalterada son excretados en la orina (Waraksa *et al.* 2018; Yilmaz y Erdem 2019). Por lo que este medicamento, se ha detectado en aguas residuales y otros cuerpos de agua (Matongo *et al.* 2015; Madikizela y Chimuka 2016; Madikizela y Chimuka 2017; Edwards *et al.* 2019; Chopra y Kumar 2020; Falahi *et al.* 2021; Jurado *et al.* 2021; Khan *et al.* 2021; Montesdeoca-Esponda *et al.* 2021).

El ibuprofeno puede afectar diferentes niveles del desarrollo de organismos acuáticos (Miller *et al.* 2018; Prud'Homme *et al.* 2018). Diversos autores han evaluado los efectos del ibuprofeno en vertebrados e invertebrados; sin embargo, aún no se termina de conocer el modo de acción de este contaminante. El ibuprofeno es capaz de producir trastornos del desarrollo embrionario y efectos teratogénicos además de retraso en la eclosión, hipopigmentación, edema pericárdico, deformación de la yema y retraso en el desarrollo de *Cyprinus carpio*, e incrementa la cantidad de los biomarcadores de oxidación celular y antioxidantes respecto al control (Gutiérrez-Noya *et al.* 2020). Puede aumentar la actividad de las branquias, y disminuir el recuento de glóbulos rojos y la actividad de la parte posterior del riñón en el pez de agua dulce *Rhamdia quelen* (Mathias *et al.* 2018). Asimismo, interrumpe la función cardíaca y la hemodinámica del pez cebra *Danio rerio* (Zhang *et al.* 2020).

El ibuprofeno puede afectar a diferentes invertebrados. En *Daphnia magna* disminuye la cantidad total de huevos producidos por hembra, el número total de crías por hembra y la longitud corporal, además, altera los parámetros bioquímicos y expresión génica asociada con el metabolismo de detoxificación (Wang *et al.* 2016), e incluso causar deformidades morfológicas letales en embriones (Grzesiuk *et al.* 2020). En los mejillones *Dreissena polymorpha* se observó pérdida de peso y mayores signos de oxidación (André y Gagné 2017), e incluso disminuye la actividad enzimática de la almeja *Ruditapes philippinarum* (Milan *et al.* 2013). En *Chironomus riparius* provocó un impacto severo sobre la supervivencia del mosquito, alteró las proteínas del shock térmico (HSP) y genera daño oxidativo (Muñiz-González 2021).

El género *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) contiene a 31 especies altamente polífagas de distribución mundial, algunas son más importantes por el gran mayor daño que ocasionan al alimentarse de sus plantas hospedadoras (Todd y Poole 1980; Cheng *et al.* 2017; Kergoat *et al.* 2021). En la costa del Perú, *Spodoptera ochrea* Hampson es el principal defoliador del cultivo de tomate (Sánchez y Vergara 1997). Las larvas de *S. ochrea* consumen vorazmente el follaje, flores y frutos en desarrollo, e incluso provocan su pudrición con la consiguiente pérdida del valor comercial de la baya del tomate, su incidencia se da todo el año pero principalmente en primavera y verano (Sánchez y Vergara 1997; Cruces *et al.* 2016).

Los insecticidas, herbicidas y acaricidas son herramientas de gran utilidad para el manejo de plagas (Topping *et al.* 2020). Sin embargo, la aplicación exclusiva y excesiva de insecticidas

causa daños al ambiente e incluso puede inducir el surgimiento de resistencia (Baker *et al.* 2020), problemas que se han reportado para controlar Spodoptera (Sparks *et al.* 2020). Por ello, se puede usar como alternativas los bioinsecticidas como las espinosinas. El insecticida spinetoram es una mezcla de dos metabolitos modificados sintéticamente (spinosina J y spinosina L) de la bacteria *Saccharopolyspora spinosa* (Saglam *et al.* 2013). El ingrediente activo tiene un modo de acción neurotóxico sobre el receptor nicotínico de la acetilcolina y el receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA) (Fu *et al.* 2018). Este insecticida a reportada eficacia en: *Spodoptera* spp. (Seal *et al.* 2007), *Tribolium confusum* (Saglam *et al.* 2013), *Prostephanus truncatus*, *Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius* (Vassilakos *et al.* 2012), *Thrips hawaiiensis* (Fu *et al.* 2018), *Rhagoletis indifferens* (Yee y Alston 2012), *Plutella xylostella* (Tamilselvan *et al.* 2021), *Frankliniella occidentalis*, *F. intonsa* (Fan *et al.* 2021), entre otros insectos plaga.

1.1. JUSTIFICACIÓN

La presencia de contaminantes emergentes, como los productos farmacéuticos, es un tema poco explorado en términos de sus posibles efectos en el ambiente y en los organismos que lo habitan. Estos contaminantes tienen el potencial de ingresar al ambiente y causar efectos ecológicos adversos (Snow *et al.* 2017), tanto en organismos que proveen servicios ecosistémicos como en plagas como *Spodoptera ochrea*. Por lo que, es necesario evaluar la posible interacción de estos contaminantes con productos químicos utilizados para el control de plagas, como el Spinetoram.

Por otro lado, el Spinetoram se ha convertido en una herramienta valiosa para el control de plagas debido a su amplio espectro de acción, su alta actividad insecticida y bajo impacto ambiental. Además, tiene una baja toxicidad para especies no objetivo (Zhang *et al.* 2018), lo que lo convierte en una opción atractiva para el control de plagas. Sin embargo, se sabe poco sobre cómo los contaminantes emergentes, como el Ibuprofeno, pueden interactuar con este insecticida y afectar su eficacia.

Por lo tanto, el presente estudio tiene como finalidad determinar el efecto del Ibuprofeno como modificador de la actividad larvicida del Spinetoram en larvas IV de *Spodoptera ochrea*, sin y con tratamiento previo con ibuprofeno.

De esta manera, se busca obtener información valiosa sobre cómo los contaminantes emergentes pueden interactuar con los insecticidas y afectar su eficacia en el control de plagas, pues es necesario considerar los efectos negativos de los contaminantes emergentes. Este conocimiento puede ayudar a mejorar la gestión de los contaminantes emergentes en el ambiente.

1.2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar al Ibuprofeno como modificador del efecto larvicida del Spinetoram en larvas IV de *Spodoptera ochrea*, sin y con tratamiento previo con ibuprofeno.

1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de diferentes concentraciones de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L) en la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea*.
2. Determinar el efecto de la mezcla de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L) y Spinetoram (60 mg/L) en la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea*, sin tratamiento previo con Ibuprofeno.
3. Determinar el efecto de la mezcla de Ibuprofeno (85000 mg/L) y Spinetoram (60, 45 y 30 mg/L) en la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea*, sin tratamiento previo con Ibuprofeno.
4. Determinar el efecto del Spinetoram (60 mg/L) en la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea*, con tratamiento previo de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L).
5. Determinar el efecto de la mezcla de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L) y Spinetoram (60 mg/L) en la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea*, con tratamiento previo de Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L, respectivamente).
6. Comparar la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea* tratadas con la mezcla Ibuprofeno y Spinetoram en especímenes con y sin tratamiento previo con Ibuprofeno, así como la aplicación de solo Spinetoram (60 mg/L).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CONTAMINACIÓN

La interacción entre los organismos y su entorno físico es estudiada ampliamente (Oliveira y Scheffers 2019). Sin embargo, las interacciones se pueden ver afectadas por la presencia de contaminantes (Li *et al.* 2020; Wang *et al.* 2020). La contaminación se define como la introducción de sustancias nocivas para los seres humanos y otros organismos vivos; asimismo, los contaminantes pueden ser sólidos, líquidos o gases dañinos que se encuentran en concentraciones superiores a las habituales y por ende pueden reducir la calidad del ambiente (Manisalidis *et al.* 2020).

La contaminación ambiental es un tema de constante interés para la salud pública mundial, pues se ha identificado como la principal causa ambiental de morbilidad y mortalidad (Ghorani-Azam *et al.* 2016; Combes y Franchineau 2019; Khaniabadi *et al.* 2019). La urbanización, la industrialización, la minería y la exploración son fuente de contaminación ambiental global (Ukaogo *et al.* 2020). La liberación de grandes cantidades de contaminantes puede generar un impacto inmediato medido por la mortalidad, pero los efectos de niveles más bajos -dosis subletales- pueden ocurrir mucho después que los contaminantes hayan pasado por el medio (Austin 1998).

2.2. CONTAMINACIÓN DEL AGUA

El agua es un elemento clave para sostener la biodiversidad y juega un papel importante en la prestación de servicios ecosistémicos (Biggs *et al.* 2017). Sin embargo, la mayoría de los cuerpos de agua se han contaminado debido al crecimiento industrial, urbanización y problemas provocados por el aumento de la población humana (Pandey 2006). Asimismo, la creciente utilización y extracción de agua para la agricultura, el riego y la industria (Biggs

et al. 2017), junto a la degradación de la vegetación y el deterioro de los ecosistemas agravarían la escasez de los recursos hídricos (Chen *et al.* 2020).

2.3. CONTAMINANTES EMERGENTES

Los contaminantes emergentes (CE) se definen como productos químicos sintéticos o naturales que generalmente no son monitoreados en el ambiente, pero toman relevancia mundial por el impacto ecológico negativo y los efectos adversos sobre la salud humana, que son independientes de la concentración del contaminante (Geissen *et al.* 2015). El daño que producen en los organismos no implica una exposición permanente pues la distribución y abundancia de los CE y sus metabolitos varían espaciotemporalmente.

Las principales fuentes de contaminación del agua son las aguas residuales y otros desechos domésticos, los efluentes industriales y hospitalarios, los vertidos de las actividades agrícolas y ganaderas, los desechos de las industrias químicas, las plantas de combustibles fósiles y las plantas de energía nuclear (Pandey 2006). Los CE comprenden una amplia gama de compuestos químicos, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, agentes tensoactivos, plastificantes y aditivos industriales (García-Fernández *et al.* 2021).

Más de 700 contaminantes emergentes, sus metabolitos y productos de transformación se han reportado en medio acuáticos (Dulio *et al.* 2018), su incremento probablemente se deba a nuevos métodos de detección, síntesis de nuevos productos, cambios en su uso, entre otros. Sin embargo, dentro de las políticas de la potabilización del agua los contaminantes emergentes no están incluidos dentro de los programas de vigilancia de rutina (inter)nacional, su destino, comportamiento y sus efectos ecotoxicológicos no son comprendidos bien (Geissen *et al.* 2015).

Entre los productos farmacéuticos contaminantes encontrados se pueden mencionar antiepilépticos (carbamazepina, gabapentin), antiinflamatorios no esteroideos “AINES” (paracetamol, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno), ácido salicílico, diurético (furosemida), antidepresivos (venlafaxina, dosulepin, amitriptilina, nortriptilina), analgésicos (oxymorфона, tramadol, morfina, dihidrocodeina, metadona, fentanil, propoxifen), hipnótico (temazepam, diazepam, oxazepam), anestésico (cetamina), antibacterianos (amoxicilina, eritromicina, metronidazol, ofloxacina, cloranfenicol,

sulfametoxazol, sulfapiridina, trimetoprim, oxitetraciclina), anticancerígeno (tamoxifen), drogas ilícitas y estimulantes legales (cocaína, metanfetamina, trifluorometilfenilpiperazina, norcocaína), entre otros (Petrie *et al.* 2015).

2.4. LOS CONTAMINANTES EMERGENTES EN LOS CUERPOS DE AGUA

Las aguas residuales pueden incrementar la fertilidad de los suelos agrícolas debido al ingreso de materia orgánica y nutrientes (Hassena *et al.* 2018; Ahmali *et al.* 2020; Hashmat *et al.* 2021; Mendes Reis *et al.* 2021). Sin embargo, son la principal fuente contaminación de los cuerpos de agua (Pandey 2006). El uso de aguas contaminadas provee de una carga adicional que puede acumularse en suelos agrícolas (Martínez-Piernas *et al.* 2018a; Chaoua *et al.* 2019) y que puede interactuar con la fauna asociada a estos agroecosistemas.

Matamoros *et al.* informaron la ocurrencia de 17 contaminantes emergentes en un humedal restaurado y dos ríos en el noreste de Dinamarca, entre los contaminantes se pueden mencionar: diclofenaco, naproxeno, carbamazepina, cafeína, ibuprofeno, entre otros (Matamoros *et al.* 2012). Se reportaron productos antiandrogénicos para el cuidado personal (triclosán, clorofeno, diclorofeno, oxibenzona, 1-naftol y 2-naftol), herbicida (atrazina) y fármacos (carbamazepina, ibuprofeno, naproxeno y venlafaxina) en la cuenca del río Grand en el sur de Ontario - Canadá (Arlos *et al.* 2015). Además, en el estuario de Sydney (Australia) se detectaron compuestos farmacéuticos (diclofenaco, eritromicina, ibuprofeno, entre otros), plaguicidas y productos de cuidado personal (Birch *et al.* 2015).

En el tramo bajo del río Llobregat (España) se identificaron 131 xenobióticos distribuidos en productos farmacéuticos, drogas ilícitas, pesticidas polares, estrógenos y alquilfenoles etoxilados, siendo los primeros los de mayor ocurrencia (Köck-Schulmeyer *et al.* 2011). Asimismo, Ginebreda *et al.* encontraron 29 productos farmacéuticos, entre ellos los AINES, reguladores de lípidos, medicamentos psiquiátricos, antihistamínicos, agentes antiulcerosos, antibióticos y β -bloqueadores; asimismo, reportaron 1.37 $\mu\text{g/L}$ de ibuprofeno (Ginebreda *et al.* 2010). En aguas residuales se encontraron $1.04 \pm 0.225 \mu\text{g/L}$ de ibuprofeno en aguas residuales municipales, 0.213 $\mu\text{g/L}$ en agua residuales hospitalarias y $0.040 \pm 0.011 \mu\text{g/L}$ en ríos de Korea (Sim *et al.* 2010).

2.5. AINES E IBUPROFENO

Los productos farmacéuticos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) son un grupo de medicamentos de diversa composición química y diferentes potenciales terapéuticos que tienen propiedades farmacológicas básicas, mecanismo de acción y efectos adversos similares (Gouda *et al.* 2013); principalmente, se utilizan por sus efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios (Liggett *et al.* 2014). Se clasifican de acuerdo a su estructura química en derivados del ácido salicílico, derivados de la anilina y *p*-aminofenol, derivados de pirazolona, oxicams, derivados de ácidos arilalcanoicos, derivados del ácido 2-arilpropiónicos “profenos”, ácido *N*-arilantranílico “ácido fenámico”; derivados del ácido enólico y coxibs, derivados de naftilbutanona; sulfonamidas y derivados de la benzoxazocina (Gouda *et al.* 2013).

El ibuprofeno es una agente antiinflamatorio no esteroideo de mayor consumo en todo el mundo (Gómez *et al.* 2022). Este NSAID es un fármaco de derivado del ácido 2-arilpropiónicos (Gouda *et al.* 2013), que presenta un anillo aromático doblemente sustituido con un grupo metilpropilo y ácido propiónico (Gómez *et al.* 2022). Esta droga ejerce su acción farmacológica mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas proinflamatorias mediante el bloqueo no selectivo de las enzimas ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1 y COX-2) o por bloqueo selectivo de la COX-2 (Qandil 2012).

2.6. DAÑOS DEL IBUPROFENO EN LOS ORGANISMOS

El ibuprofeno es capaz de producir trastornos del desarrollo embrionario y efectos teratogénicos como retraso en la eclosión, hipopigmentación, edema pericárdico, deformación de la yema y retraso en el desarrollo de *Cyprinus carpio*, e incrementa la cantidad de los biomarcadores de oxidación celular y antioxidantes respecto al control (Gutiérrez-Noya *et al.* 2020). Puede aumentar la actividad de las branquias, y disminuir el recuento de glóbulos rojos y la actividad de la parte posterior del riñón en el pez de agua dulce *Rhamdia quelen* (Mathias *et al.* 2018). Asimismo, interrumpe la función cardíaca y la hemodinámica del pez cebra *Danio rerio* (Zhang *et al.* 2020).

El ibuprofeno reduce la tasa de crecimiento, la reproducción (Heckmann *et al.* 2007), los parámetros fertilidad, bioquímicos y la expresión génica asociada con el metabolismo de

detoxificación del crustáceo *Daphnia magna* (Wang *et al.* 2016); incluso causa deformidades letales en sus embriones (Grzesiuk *et al.* 2020). En las almejas *Ruditapes philippinarum* interfiere con genes involucrados en el metabolismo de xenobióticos (Milan *et al.* 2013). Asimismo, puede estimular la actividad de la glutatión-S-transferasa en el cangrejo de mar *Carcinus maenas* (Aguirre-Martínez *et al.* 2013) y alterar la concentración de la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa en *Hyaella azteca* (Gómez-Oliván *et al.* 2014). En los mejillones *Dreissena polymorpha* se observó pérdida de peso y signos de oxidación (André y Gagné 2017). En el mosquito *Chironomus riparius* se afectó la supervivencia, las proteínas del shock térmico y daño oxidativo (Muñiz-González 2021). Asimismo, poblaciones de *Aedes aegypti* pueden tener una mayor susceptibilidad a insecticidas ante la exposición de ibuprofeno (Morales-Rodríguez *et al.* 2022).

2.7. *Spodoptera ochrea*

Noctuoidea es una superfamilia que agrupa seis familias y representan la cuarta parte de la diversidad de lepidópteros (Kergoat *et al.* 2021). Noctuidae es la familia más grande en los trópicos, representa 8516 especies y es económicamente importante debido a que sus estados inmaduros afectan plantas ornamentales y cultivables, causando una disminución en el rendimiento y a veces pérdidas totales (Favetti *et al.* 2015). El género *Spodoptera* presenta 31 especies distribuidas en dos clados ecológicamente diversos que son altamente polívoros (Todd y Poole 1980; Cheng *et al.* 2017; Kergoat *et al.* 2021). Entre las especies plagas destacadas se incluyen al gusano cogollero del maíz *S. frugiperda*, el gusano cogollero del sur *S. eridania*, el gusano cogollero africano *S. excepta*, el gusano cogollero de la remolacha *S. exigua*, el gusano africano de la hoja de algodón *S. littoralis*, el gusano cortador del tabaco *S. litura* y el gusano cogollero del césped *S. mauritia* (Kergoat *et al.* 2021).

Spodoptera ochrea (Hampson, 1909) es una especie plaga que se encuentra distribuida en el hemisferio occidental (Kergoat *et al.* 2021). Sánchez & Vergara consideran a las larvas como el principal defoliador del cultivo de tomate en las costas peruanas (Sánchez y Vergara 1997). La pérdida del valor comercial de la baya del tomate se debe al apetito voraz de los estadios larvarios de *S. ochrea* que consumen el follaje, flores y frutos en desarrollo, e incluso su ingreso pueden provocar la pudrición en las bayas; aunque se reporta su incidencia

todo el año, la plaga afectaría los cultivos principalmente en primavera y verano (Sánchez y Vergara 1997; Cruces *et al.* 2016).

Los huevos de *S. ochrea* son puestos en masa y cubiertos por escamas, después de 4-5 días eclosionan pequeñas larvas eruciformes transparentes que pasan por seis estadios hasta alcanzar el estadio de pupa. Las larvas I y II se alimentan raspando la epidermis de las hojas; y, a partir de las larvas III se vuelven perforadoras. Desde el cuarto instar se observa un crecimiento de la voracidad que disminuye hasta alcanzar una etapa de pre-pupa. Las larvas VI presentan manchas triangulares y puntos blancos en todo el dorso. Los especímenes pre-pupa inician la transformación a su forma adulta, dejando de alimentarse y movilizarse para esconderse en el suelo; posteriormente, adopta una forma rechoncha, bastante arrugada, con una cabeza poco perceptible, el tamaño se acorta debido a la contracción de cada segmento corporal. Los especímenes del Género Spodoptera presentan pupa del tipo obtecta. Las formas adultas presentan antenas filiformes y ausencia de dimorfismo sexual. El ciclo biológico de *S. ochrea* se completa entre 61 y 69 días (Santisteban 2014).

El uso de productos químicos fitosanitarios brinda una solución rápida, fácil y económica para proteger a los cultivos de ataques de insectos plagas que pueden disminuir la productividad (Mulé *et al.* 2017; Topping *et al.* 2020). Aunque *S. ochrea* es una importante plaga para el tomate y otros cultivos, no se encuentran reportes científicos donde se manifieste la susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas. Sin embargo, se encontró resistencia a cipermetrina, fenvalerato, quinalfos y metomil en diferentes poblaciones de *S. litura* de diferentes localidades de Andhra Pradesh, India (Armes *et al.* 1997). También, se reportó resistencia clorfenapir, metomil y benzoato de emamectina en poblaciones de *S. exigua* de Indonesia (Aldini *et al.* 2021). La resistencia a permetrina, cipermetrina, cyalettrina, fenvalerato, tralometrina, bifentrina, tetrametrina y fluvalinato en una población de *S. frugiperda* colecta de Florida (Yu 1991); similares resultados de resistencia se reportan con clorpirifos, spinosad, lambdaialotrina, malatión, fenvalerato, deltametrina y benzoato de emamectina entre otros insecticidas en poblaciones del sur de China (Zhang *et al.* 2021).

2.8. CONTROL DE *Spodoptera*

El surgimiento de los insecticidas marcó el comienzo de un nuevo paradigma en la protección de cultivos y el manejo de las plagas. El manejo químico de plagas generaba el aumento en el rendimiento de los productos, esto enmascaraba los impactos nocivos en la

salud humana y en el ambiente (Isman 2019). La aplicación exclusiva, excesiva y sin criterio técnico de insecticidas puede inducir el surgimiento de resistencia (Baker *et al.* 2020), problema que se han reportado en el control de *Spodoptera* (Sparks *et al.* 2020). Poblaciones de *Spodoptera* son tratadas con insecticidas de varias clases (Kumar *et al.* 2022), los principios activos pueden ser tiodicarb, metomil, clorpirifos, permetrina, deltametrina, zeta-cipermetrina, flubendiamida, clorantranilprole, spinetoram, spinosad, abamectina, triflumuron, emamectin benzoato (Gutiérrez-Moreno *et al.* 2019) y fenpropatrina (Liburd *et al.* 2000).

2.9. SPINETORAM

Las espinosinas, incluyendo el spinetoram, se clasifican en el Grupo 5 de la Clasificación Modo de Acción (MoA, siglas en inglés) del Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas (IRAC, siglas en inglés). El insecticida **Spinetoram** es una mezcla de dos metabolitos modificados sintéticamente (spinosina J y spinosina L) del fermento del actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* (Saglam *et al.* 2013) y que potencia la acción contra una amplia gama de lepidópteros (Galm y Sparks 2016). El ingrediente activo tiene un modo de acción neurotóxico sobre el receptor nicotínico de la acetilcolina y el receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA) existentes en las membranas postsinápticas del sistema nervioso de los insectos, provocando una transmisión nerviosa anormal (Shimokawatoko *et al.* 2012; Fu *et al.* 2018).

El bioinsecticida spinetoram ha generado diferentes efectos sobre *Spodoptera* spp. (Seal *et al.* 2007), *Spodoptera exigua* (Kkadan *et al.* 2020), *Tribolium confusum* (Saglam *et al.* 2013), *Prostephanus truncatus*, *Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius* (Vassilakos *et al.* 2012), *Thrips hawaiiensis* (Fu *et al.* 2018), *Rhagoletis indifferens* (Yee y Alston 2012), *Plutella xylostella* (Li *et al.* 2015; Tamilselvan *et al.* 2021), *Frankliniella occidentalis*, *F. intonsa* (Fan *et al.* 2021; Gao *et al.* 2021a), *Helicoverpa punctigera* (Wei *et al.* 2018; Betz y Andrew 2020), *Bombus terrestris* (Besard *et al.* 2011), entre otros insectos plaga.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Material biológico

Para el estudio se emplearon larvas en estadio IV de la primera generación filial de la especie *Spodoptera ochrea* (Lepidoptera: Noctuidae) que procede de especímenes parenterales colectados del campo de tomate de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) durante el 2019; estos especímenes fueron tratados con las diferentes concentraciones de ibuprofeno y del insecticida Spinetoram.

3.1.2. Insecticida & Fármaco

En los ensayos se utilizó el insecticida en suspensión concentrada Spinetoram 60 g/L (Absolute® 60 SC) elaborado por Bayer con Número de Registro PQUA N° 206 – SENASA. Asimismo, se usó ibuprofeno producto que representa al lote 1020832, con el nombre comercial “Fredol® 400 mg Ibuprofeno” fabricado por Laboratorios Naturales y Genéricos S.A.C. cuyo Registro Sanitario es R.S.: N-24387.

3.2. METODOLOGÍA

3.2.1. Colecta y crianza de especímenes de poblaciones naturales

Los especímenes de *S. ochrea* se colectaron manualmente de plantas de tomate infestadas. Los organismos fueron identificados taxonómicamente utilizando la clave ilustrada de polillas noctuidos del Género *Spodoptera* (Todd y Poole 1980) en el Laboratorio de Ecología de Artrópodos – LEA; posteriormente con ellos se

estableció la zona de crianza parenteral para obtener la primera generación filial de descendientes.

La crianza de los especímenes parenterales inmaduros se realizó en recipientes de 500 mL, con tapa perforada y forrada con tul para permitir la aireación. Las larvas se alimentaron interdiariamente con hojas de *Ricinus communis* “higuerilla” limpias, hasta alcanzar el estadio de pupa. Las pupas fueron trasladadas a frascos hasta la emergencia de los adultos, estos serán considerados como progenitores.

Los adultos progenitores de *S. ochrea* fueron dispuestos en recipientes de vidrio de 10 L cuyas paredes contenían papel de filtro, papel toalla y hojas de higuerilla para la oviposición, además de una tapa de tul que conectaba con el medio externo. La alimentación de los especímenes fue con una solución de miel 10 por ciento (fuente carbonatada) y agua estéril. Los paquetes de huevos obtenidos fueron utilizados para los diferentes tratamientos.

Los especímenes fueron mantenidos bajo condiciones controladas a 25.0 ± 5.0 °C, humedad relativa de 65.0 ± 5.0 por ciento y fotoperiodo de luz (12 h): oscuridad (12 h).

3.2.2. Selección del material vegetal

Se colectaron y seleccionaron hojas jóvenes de *R. communis* “higuerilla” de los campos de la UNALM. Las hojas fueron desempolvadas, lavadas y secadas. Estas se cortaron en círculos (diámetro de 8 cm) hasta ser embebidas por el método de inmersión por 15 segundos en cada tratamiento. Las hojas se colocaron sobre papel toalla hasta estar libres de humedad. Posteriormente, fueron dispuestas en placas Petri hasta la instalación de larvas IV de *S. ochrea*.

3.2.3. Preparación de las soluciones de ibuprofeno y del insecticida Spinetoram

La aplicación del ibuprofeno (IBU) se realizó en tres concentraciones: 1.37, 137 y 85000 mg/L. Para ello, se consideró una solución madre (se diluyó una pastilla de ibuprofeno 400 mg en un litro de agua) con la cual se realizó las diluciones respectivas para los diferentes tratamientos. Asimismo, para la base de los diferentes tratamientos se utilizó el insecticida Spinetoram (SPI) 60 mg/L.

3.2.4. Bioensayos

El presente estudio se desarrolló en cinco etapas para evaluar el efecto individual o dual (IBU + SPI) con y sin tratamiento previo de IBU. Todos los bioensayos se realizaron bajo condiciones controladas de 25.0 ± 2.5 °C, 60.0 ± 5.0 por ciento de humedad relativa y fotoperiodo de luz (12 h): oscuridad (12 h).

a. Larvas IV evaluadas con las diferentes concentraciones de Ibuprofeno

Se establecieron tres grupos experimentales de IBU (A: 1.37 mg/L, B: 137 mg/L y C: 85000 mg/L) y un testigo (T₁: sin ibuprofeno, solo agua). Se realizaron seis repeticiones, cada repetición constaba de 10 placas Petri.

En cada placa se dispuso un disco de hoja de higuera embebida con la solución de interés, sobre ella se colocaron 10 larvas IV recién eclosionadas de *S. ochrea*, provenientes de criaderos libre de IBU. La mortalidad se reportó a las 24, 48 y 72 horas de iniciado el ensayo, y se consideraron larvas muertas cuando estas no presentaban movimiento.

b. Larvas IV evaluadas con la mezcla Ibuprofeno + Spinetoram, sin tratamiento previo con Ibuprofeno

Se establecieron tres grupos experimentales de la mezcla IBU + SPI (D: IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L; E: IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L; y, F: IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L) y dos testigos (T₂: sin mezcla IBU + SPI, solo agua; y, T₃: SPI 60 mg/L). Se realizaron seis repeticiones, cada repetición constaba de 10 placas Petri.

En cada placa se dispuso un disco de hoja de higuera embebida con la solución de interés, sobre ella se colocaron 10 larvas IV de *S. ochrea*, provenientes de criaderos libre de IBU. La mortalidad se reportó a las 24, 48 y 72 horas de iniciado el ensayo, y se consideraron larvas muertas cuando estas no presentaban movimiento. El grupo T₂ no obtuvo mortalidad.

c. Larvas IV evaluadas con la mezcla Ibuprofeno 85000 mg/L + Spinetoram, sin tratamiento previo con Ibuprofeno

Se establecieron tres grupos experimentales de la mezcla IBU 85000 mg/L + SPI (F: IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L; G: IBU 85000 mg/L+ SPI 45 mg/L; y, H: IBU 85000 mg/L+ SPI 30 mg/L). Se realizaron seis repeticiones, cada repetición constaba de 10 placas Petri. Se utilizó la información del grupo T₃ (larvas expuestas a SPI 60 mg/L, sin tratamiento previo) para realizar las comparaciones.

En cada placa se dispuso un disco de hoja de higuera embebida con la solución de interés, sobre ella se colocaron 10 larvas IV de *S. ochrea*, provenientes de criaderos libre de IBU. La mortalidad se reportó a las 24, 48 y 72 horas de iniciado el ensayo, y se consideraron larvas muertas cuando estas no presentaban movimiento.

d. Larvas IV evaluadas con Spinetoram, en especímenes con tratamiento previo de Ibuprofeno

Se establecieron criaderos para los tres grupos de tratamiento previo con IBU (I: IBU 1.37 mg/L; J: IBU 137 mg/L; y, K: IBU 85000 mg/L). Larvas recién eclosionadas se instalaron en recipientes con hojas de higuera embebidas con las soluciones de interés de cada grupo, la alimentación de las larvas se realizó hasta que alcanzaron el estadio IV.

Para establecer la mortalidad se aplicó hojas de higuera embebidas con SPI 60 mg/L. Se realizaron seis repeticiones, cada repetición constaba de 10 placas Petri. En ellas, se instalaron 10 larvas IV tratadas con las diferentes concentraciones de IBU. La mortalidad se reportó a las 24, 48 y 72 horas de iniciado el ensayo, y se consideraron larvas muertas cuando éstas no presentaban movimiento.

Se utilizó la información del grupo T₃ (larvas expuestas a SPI 60 mg/L, sin tratamiento previo) para realizar las comparaciones.

e. Larvas IV evaluadas con la mezcla Ibuprofeno + Spinetoram, en especímenes con tratamiento previo de Ibuprofeno

De los criaderos antes descritos (tratamiento I, J y K) se obtuvieron las larvas IV que sirvieron para establecer la mortalidad ante la exposición de la mezcla IBU + SPI. Se establecieron tres grupos: L (exposición de la mezcla IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes con tratamiento previo de IBU 1.37 mg/L); M (exposición de la mezcla IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes con tratamiento previo de IBU 137 mg/L); y, N (exposición de la mezcla IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes con tratamiento previo de IBU 85000 mg/L). Se realizaron seis repeticiones, cada repetición constaba de 10 placas Petri. Se utilizó la información del grupo T₃ (larvas expuestas a SPI 60 mg/L, sin tratamiento previo) para realizar las comparaciones.

La mortalidad se reportó a las 24, 48 y 72 horas de iniciado el ensayo, y se consideraron larvas muertas cuando estas no presentaban movimiento.

f. Comparación de la mortalidad obtenida de la mezcla Ibuprofeno + Spinetoram, en especímenes sin y con tratamiento previo de Ibuprofeno

Se comparó la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea* obtenida con la mezcla Ibuprofeno y Spinetoram, en especímenes con y sin tratamiento previo con Ibuprofeno. Se comparó el grupo D (la mezcla IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes sin tratamiento previo con ibuprofeno) y L (la mezcla IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes con tratamiento previo con IBU 1.37 mg/L). Se comparó el grupo E (la mezcla IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes sin tratamiento previo con ibuprofeno) y M (la mezcla IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes con tratamiento previo con IBU 137 mg/L). Se comparó el grupo F (la mezcla IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes sin tratamiento previo con ibuprofeno) y N (la mezcla IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L, en especímenes con tratamiento previo con IBU 1.37 mg/L). Asimismo, se utilizó el T₃ (SPI 60 mg/L) para realizar la comparación en cada grupo.

3.2.5. Análisis de datos

Los datos se sometieron a la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la distribución normal de los valores (Normal: $p > 0.05$, y No Normales: $p < 0.05$). Los valores obtenidos no presentaron una distribución normal y fueron analizados con la prueba no paramétrico de Kruskal-Wallis para determinar si existe o no una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de los grupos independientes. Se procedió a realizar la prueba de Dunn con un intervalo de confianza del 95 por ciento para determinar diferencia estadísticamente significativa entre los distintos grupos de estudio. La mortalidad se expresó en $\text{media} \pm \text{error estándar}$. Los análisis estadísticos se desarrollaron con el software OriginPro® 2022 (OriginLab Corporation, USA) y con nivel de significancia de $p < 0.05$ para todas las comparaciones.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IBUPROFENO (1.37, 137 Y 85000 mg/L) EN LA SUPERVIVENCIA DE LARVAS IV DE *Spodoptera ochrea*.

La actividad humana (industria, hogar, productos farmacéuticos y de uso personal, agricultura y transporte) contribuyen con la liberación continua de xenobióticos en los ecosistemas (Schriks *et al.* 2010; Gogoi *et al.* 2018; Riva *et al.* 2018; Montagner *et al.* 2019; Reichert *et al.* 2019; Su *et al.* 2020; Vashisht *et al.* 2020; Zhou *et al.* 2020; Im *et al.* 2021; Ouda *et al.* 2021). Las aguas residuales no tratadas son la principal fuente de liberación de contaminantes emergente (Luo *et al.* 2019; Ana y Espino 2020; Parida *et al.* 2021). Según la ONU, se estima unos 1500 Km³ de aguas residuales producidas anualmente que equivale seis veces más que el agua existente en los ríos del mundo (WWAP 2003).

La aparición de los productos farmacéuticos en el ambiente (Mulkiewicz *et al.* 2021) es uno de los principales problemas emergentes. Aunque la liberación de los AINEs pueden promover efectos tóxicos en los organismos silvestres no diana: *Gyps bengalensis* (Oaks *et al.* 2004), *Folsomia candida* (Chen *et al.* 2015), *Oryzias latipes* (Yokota *et al.* 2018), *Oreochromis niloticus* (Gröner *et al.* 2017), *Asterias rubens* (Zanuri *et al.* 2017), aun no se ha investigado adecuadamente como pueden responder el insecto *Spodoptera ochrea* ante este xenobiótico.

Los resultados presentados en la Figura 1 indican que la exposición de larvas IV de *Spodoptera ochrea* a las diferentes concentraciones de IBU (A: 1.37 mg/L, B: 137 mg/L y C: 85000 mg/L) no generaron mortalidad en los especímenes a las 24, 48 y 72 h de evaluación. Es probable que las dosis de IBU utilizadas no generen toxicidad en las larvas, pues se ha reportado tolerancias variables en diferentes organismos. Similar efecto, se reportó en los peces *Oryzias latipes* que toleran hasta 100 mg/L IBU (Kim *et al.* 2009).

Asimismo, Halling-Sørensen et al. describen la tolerancia a 173 mg/L y a 300mg/L del fármaco en los peces *Lepomis machrochirus* y *Cyprinodon variegatus* y concentraciones superiores a 100 mg/L en el crustáceo *Mysidopsis bahía*, respectivamente (Halling-Sørensen et al. 1998) y *Diamesa cinerella* describe tolerancia a 100 mg/L (Lencioni et al. 2020). Por el contrario, otras especies son menos tolerantes al IBU, como el cnidario *Hydra attenuar* que es susceptible a 22.36 mg/L (Quinn et al. 2008), el crustáceo *Daphnia magna* a 80 mg/L (Heckmann et al. 2007) y en el díptero *C. riparius* es 252.31 µg/L (LC10₂₄) (Muñiz-González 2021), el gasterópodo *Planorbis carinatus* es 20 mg/L (LC50) (Pounds et al. 2008), *Baetis alpinus* es susceptible a 14.80 mg/L y *Periodes intricatus* a 16.32 mg/L (Lencioni et al. 2020).

Aunque estos resultados sugieren que las dosis no generan toxicidad (muerte) en las larvas, su influencia puede tener lugar a muchos niveles, y los efectos se pueden ver tanto en el comportamiento como en la fisiología, pero también en alteraciones genéticas o trastornos de la reproducción, que afectan el desarrollo de poblaciones enteras (Świacka et al. 2021), como se reporta en *Cyprinus carpio* (Gutiérrez-Noya et al. 2020), *Rhamdia quelen* (Mathias et al. 2018), *Danio rerio* (Zhang et al. 2020), *Daphnia magna* (Wang et al. 2016; Grzesiuk et al. 2020), *Dreissena polymorpha* (André y Gagné 2017), *Ruditapes philippinarum* (Milan et al. 2013) y *Chironomus riparius* (Muñiz-González 2021). Es probable que nuestros resultados sigan el patrón de Wang et al, teniendo dosis baja (1.37 mg/L IBU) que no genere ningún cambio y concentraciones altas (137 y 85000 mg/L IBU) que induzcan un efecto notorio en las larvas (Wang et al. 2016).

4.2 EFECTO DE LA MEZCLA DE IBUPROFENO (1.37, 137 Y 85000 mg/L) Y SPINETORAM (60 mg/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE *Spodoptera ochrea*, SIN TRATAMIENTO PREVIO CON IBUPROFENO.

En la Figura 2 se muestra que la mortalidad larvas IV de *Spodoptera ochrea* -sin tratamiento previo con el fármaco- obtenida por la mezcla F (IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L) es mayor al de las otras concentraciones ensayadas (D: IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L, y, E: IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L) incluyendo al testigo (T₃: SPI 60 mg/L). A las 24 h de evaluación, la mortalidad de larvas de *S. ochrea* de la mezcla F (90.50 ± 1.40 por ciento) fue significativamente mayor en comparación a la mezcla E (74.83 ± 1.77 por ciento,

$F = -5.05803$, $p < 0.05$), D (62.50 ± 2.34 por ciento, $F = -8.29932$, $p < 0.05$) y el grupo testigo (60.83 ± 2.21 por ciento, $F = 8.85571$, $p < 0.05$). A las 72 h de evaluación, se observa que los grupos D, E y F (95.17 ± 0.99 por ciento, 95.67 ± 1.02 por ciento, y 99.33 ± 0.33 por ciento, respectivamente) tienen valores similares y estadísticamente no presentan diferencia significativa. Sin embargo, la comparación entre los grupos F y T₃ (99.33 ± 0.33 por ciento y 90.83 ± 1.53 por ciento, respectivamente) denota diferencia significativa ($F = -4.21579$, $p < 0.05$).

El canal alimentario de los insectos es un conducto que se divide en: intestino anterior, medio y posterior, donde el intestino anterior y posterior están revestidos por una capa cuticular llamada íntima cuticular. En la porción media del canal es donde ocurre la digestión y la absorción de nutrientes (Lemaitre y Miguel-Aliaga 2013); se encuentra protegido por una membrana peritrófica que protege al epitelio intestinal de los cambios físicos y químicos debido a la ingesta de alimentos (Zhong *et al.* 2012). Esta membrana contiene poros que permiten la permeabilidad de enzimas digestivas y productos de la digestión (Klowden 2007), pero es importante mantener su integridad para evitar el ingreso de patógenos (Erlandson *et al.* 2019) y toxinas (Guo *et al.* 2019) al hemocele. En relación con esto, se ha observado que la mezcla D (IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L) no influye en el aumento de la mortalidad de larvas pues es probable que la membrana peritrófica limite la acción de la baja concentración del antiinflamatorio. Sin embargo, conforme aumenta la concentración del fármaco en las mezclas ensayadas, se produce un efecto dañino del ibuprofeno sobre el epitelio intestinal, lo que genera cambios profundos en la hidrofobicidad, permeabilidad, fluidez, propiedades biomecánicas y estabilidad de estas membranas y barreras (Lichtenberger *et al.* 2012). Esto permitiría el ingreso de una mayor cantidad del Spinetoram, lo que se refleja en un aumento de la mortalidad de las larvas expuestas a la mezcla F, llegando a valores superiores al 90 por ciento en el grupo F (IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L). El daño que genera el ibuprofeno en el epitelio del intestino medio puede ser similar al daño tisular y degradativo que sufrió el intestino de las larvas de *Galleria melonella* expuestas al AINE indometacina (Emery *et al.* 2019).

4.3 EFECTO DE LA MEZCLA DE IBUPROFENO (85000 mg/L) Y SPINETORAM (60, 45 Y 30 MG/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE *Spodoptera ochrea*, SIN TRATAMIENTO PREVIO CON IBUPROFENO.

En la Figura 3 se observa que la mortalidad obtenida en las larvas IV de *Spodoptera ochrea* -sin tratamiento previo con el fármaco- por las mezcla F, G y H (IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L; IBU 85000 mg/L + SPI 45 mg/L; e, IBU 85000 mg/L + SPI 30 mg/L, respectivamente) tienen similares resultados, además son mayores en comparación al grupo testigo (T₃: SPI 60 mg/L). La mortalidad, a las 24 h de evaluación, es significativamente superior en los grupos F (90.50 ± 1.40 por ciento, $F = 9.67615$, y $p < 0.05$), G (85.00 ± 1.36 por ciento, $F = 6.90405$, y $p < 0.05$) y H (82.17 ± 1.43 por ciento, $F = 5.8546$, y $p < 0.05$) en comparación al grupo T₃ (60.83 ± 2.21 por ciento). A las 48 y 72 de evaluación, los valores de mortalidad del grupo F (97.83 ± 0.54 por ciento, $F = 5.48186$, y $p < 0.05$; y, 99.33 ± 0.33 por ciento, $F = 4.29199$, y $p < 0.05$; respectivamente) muestra diferencia significativa con relación al grupo control T₃ (87.67 ± 1.57 por ciento, y 90.83 ± 1.53 por ciento, respectivamente). Asimismo, a las 72 horas de evaluación, la mortalidad de los grupos F (99.33 ± 0.33 por ciento), G (97.83 ± 0.54 por ciento) y H (97.17 ± 0.68 por ciento) no establece diferencia significativa entre sí.

Las larvas de *Spodoptera ochrea* expuestas a 85000 mg/L de ibuprofeno -sin tratamiento previo con el fármaco- sufrirían cambios graves en la constitución del epitelio intestinal (Lichtenberger *et al.* 2012; Emery *et al.* 2019). Asimismo, el ibuprofeno podría estar generando la alteración gen *dcy*, involucrado en la reducción del ancho de la membrana peritrófica (Kuraishi *et al.* 2011). Estas alteraciones aumentarían el tránsito del contenido intestinal hacia la cavidad corporal debido al aumento de la permeabilidad. Esto permitiría entender porque a pesar de disminuir la concentración del insecticida de 60 a 30 mg/L de espinetoram, las mortalidades de las mezcla F, G y H son mayores a la reportada por el grupo control (T₃). Las múltiples puertas de ingreso permitirían que el insecticida llegue a los receptores nicotínicos de la acetilcolina y los receptores GABA existentes en las membranas postsinápticas del sistema nervioso de los insectos, provocando una transmisión nerviosa anormal (Shimokawatoko *et al.* 2012; Fu *et al.* 2018) con la posterior muerte de los especímenes afectados.

4.4 EFECTO DEL SPINETORAM (60 mg/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE *Spodoptera ochrea*, CON TRATAMIENTO PREVIO DE IBUPROFENO (1.37, 137 y 85000 mg/L).

En la Figura 4 se observa que las mortalidades obtenidas por la exposición de SPI 60 mg/L en larvas IV de *Spodoptera ochrea* -con tratamiento previo de IBU (I: con tratamiento previo de IBU 1.37 mg/L; J: con tratamiento previo de IBU 137 mg/L; y, K: con tratamiento previo de IBU 85000 mg/L) - no siguen un patrón específico. A las 24 h de evaluación, los grupos J (70.00 ± 1.45 por ciento, $F = -5.19653$, y $p < 0.05$) y K (68.67 ± 2.29 por ciento, $F = -4.57228$, y $p < 0.05$) muestran mortalidades significativamente superiores al grupo I (54.50 ± 1.95 por ciento). Asimismo, a las 48 h de evaluación, los grupos I (76.50 ± 1.66 por ciento), J (76.17 ± 1.24 por ciento) y K (79.00 ± 1.93 por ciento) muestran mortalidades similares y estadísticamente no presentan diferencia significativas ($p > 0.05$). Sin embargo, a las 72 h de evaluación se observa que el grupo J (92.00 ± 1.16 por ciento) muestra una mortalidad significativamente superior a la obtenida por los grupos I (85.50 ± 1.49 por ciento, $F = -3.1072$, y $p < 0.05$) y K (85.50 ± 1.53 por ciento, $F = 3.05748$, y $p < 0.05$).

La alimentación es una actividad inherente de los seres vivos, pero abarca diferentes procesos que transforman los alimentos ingeridos. Los insectos presentan diferentes mecanismos para evitar los potenciales daños mecánicos y tóxicos producto de la transformación mecánica y química de los alimentos, así como de las sustancias que puedan ingerir. Los insectos presentan cuatro mecanismos generales: desintoxicación bioquímica, excreción rápida, excreción por almacenamiento y no absorción. La desintoxicación está dada por un conjunto de enzimas como las monooxigenasas, esterasas e hidrolasas del citocromo P450, entre otras encargadas de la transformación de xenobióticos (Lindroth 1991).

El tratamiento previo con ibuprofeno de larvas, no generó mortalidad en los especímenes. Sin embargo, es probable que las dosis subletales ensayadas (IBU 1.37 mg/L, IBU 137 mg/L y IBU 85000 mg/L) induzcan la producción de enzimas de detoxificación; pues se ha reportado que dosis subletales de bifentazato estimulan la sobreproducción de carboxilesterasa, glutatión S-transferasa y oxidasa multifuncional (Shang y Xue 2019), dosis subletales de tolfenpirad favorecieron el incremento de superóxido dismutasa, peroxidasa, catalasa, carboxilesterasa, glutatión-S-transferasa y las monooxigenasas P450, se incrementaron con el tiempo de exposición (Zhang *et al.* 2022). El tratamiento previo de

larvas a la dosis subletal de 1.37 mg/L de ibuprofeno estaría aumentando la actividad de la glutatión S-transferasa como ha sido reportado en pez zebra (Bartoskova *et al.* 2013) y ratón (Van Lieshout *et al.* 1997). La actividad de la enzima detoxificadora glutatión S-transferasa protegería a las larvas de la acción de los radicales libres de oxígeno dañinos causados por la exposición a insecticidas (Enayati *et al.* 2005; Pavlidi *et al.* 2018).

4.5 EFECTO DE LA MEZCLA DE IBUPROFENO (1.37, 137 Y 85000 mg/L) Y SPINETORAM (60 mg/L) EN LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE *Spodoptera ochrea*, CON TRATAMIENTO PREVIO DE IBUPROFENO (1.37, 137 Y 85000 mg/L, RESPECTIVAMENTE).

En la Figura 5 se observa que las mortalidades obtenidas por la exposición a las mezclas (IBU + SPI 60 mg/L) en larvas IV de *Spodoptera ochrea* -con tratamiento previo de IBU (L: larvas expuestas a la mezcla IBU 1.37 mg/L + SPI 60 mg/L, con tratamiento previo de IBU 1.37 mg/L; M: larvas expuestas a la mezcla IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L, con tratamiento previo de IBU 137 mg/L; y, N: larvas expuestas a la mezcla IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L, con tratamiento previo de IBU 85000 mg/L) - no siguen un patrón específico.

A las 24 h, los grupos L (70.00 ± 2.60 por ciento, $F = 0.01346$, y $p < 0.05$), M (84.17 ± 1.39 por ciento, $F = 7.31074$, y $p < 0.05$) y N (76.83 ± 2.07 por ciento, $F = 4.84287$, y $p < 0.05$) presentan mortalidades significativamente superiores al grupo T₃ (60.83 ± 2.21 por ciento). A las 48 h, el grupo N (91.33 ± 1.40 por ciento, $F = -3.86173$, y $p < 0.05$) muestra una mortalidad significativamente superior que el grupo L (83.00 ± 1.72 por ciento). Asimismo, a las 72 h, resalta la mortalidad obtenida por los grupos M (98.33 ± 0.64 por ciento, $F = -5.32663$, y $p < 0.05$) y N (95.83 ± 0.76 por ciento, $F = -3.36991$, y $p < 0.05$) en comparación al grupo L (87.83 ± 1.63 por ciento).

El tratamiento previo con dosis subletales de ibuprofeno estimulan la producción de enzimas detoxificantes (Shang y Xue 2019; Zhang *et al.* 2022). Sin embargo, la actividad enzimática no sería suficiente para proteger a los individuos de la exposición de la mezcla (IBU + SPI). El ibuprofeno presente en las mezcla probablemente aumente el daño en la membrana intestinal (Lichtenberger *et al.* 2012), permitiendo que ingrese y llegue a su diana una mayor cantidad del insecticida. Esto reflejaría las altas mortalidades similares entre las mezclas M y N, y diferenciadas de lo reportado por el grupo T₃.

4.6 COMPARACIÓN DE LA MORTALIDAD DE LARVAS IV DE *Spodoptera ochrea* TRATADAS CON LA MEZCLA IBUPROFENO Y SPINETORAM, EN ESPECÍMENES CON Y SIN TRATAMIENTO PREVIO CON IBUPROFENO, ASI COMO LA APLICACIÓN DE SOLO SPINETORAM (60 mg/L).

En la Figura 6 se observa la mortalidad de las larvas IV de *Spodoptera ochrea* expuestas a la mezcla (IBU + SPI), con y sin tratamiento previo de IBU, comparada con la mortalidad de larvas con SPI. A las 24 h de la exposición de las mezclas se observa mayor mortalidad en los tratamientos con IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L e IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L. A las 24 h de la aplicación de la mezcla IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L, se observa que las larvas con tratamiento previo con IBU 137 mg/L (grupo M: 84.17 ± 4.40 por ciento, $F = 7.58167$, y $p < 0.001$) tienen una mortalidad significativamente superior a la obtenida por el grupo T₃ (60.83 ± 2.21 por ciento). Similar efecto, se observa al aplicar la mezcla IBU 85000 mg/L + SPI 60 mg/L en larvas sin tratamiento previo con IBU (grupo F: 90.50 ± 1.34 por ciento, $F = 8.88691$, y $p < 0.001$) tienen una mortalidad significativamente superior a la obtenida por el grupo T₃ (60.83 ± 2.21 por ciento).

La investigación del efecto de las dosis subletales de los insecticidas comunes es importante para su manejo integral en el campo. Se ha reportado que dosis subletales de dinotefurano estimula la oviposición en la generación F₀ y F₁ provocando el crecimiento de la población de *Spodoptera frugiperda* (Wu *et al.* 2022), e incluso aumento la capacidad reproductiva de la generación F₁ de *Rhopalosiphum padi* (Deng *et al.* 2019). Semejante efecto estimulante, fue reportado por la aplicación de deltametrina en la reproducción del pulgón del algodón *Aphis gossypii* (Shang *et al.* 2021). Asimismo, la aplicación de concentraciones subletales de spinetoram aumento significativamente el tiempo de desarrollo de las larvas de *S. frugiperda* (Gao *et al.* 2021b). Los efectos de la aplicación de dosis subletales pueden afectar negativamente el manejo de plagas.

En la Figura 6 se observa que, a las 24 horas después de, la aplicación de la mezcla (IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L), las larvas de *Spodoptera ochrea* con tratamiento previo de IBU 137 mg/L (grupo M) murieron un 38% más que el grupo T₃. Asimismo, la mortalidad de larvas -sin tratamiento previo- alcanzada por la mezcla (grupo E) es solo del 23 por ciento mayor a lo obtenido por T₃. Sin embargo, al utilizar la concentración más alta ensayada (IBU

85000 mg/L), se observa que la mezcla (IBU 8500 mg/L + SPI 60 mg/L) genera un 49 por ciento más de larvas muertas en la población sin tratamiento previo (grupo F), a diferencia del 26 por ciento en la población con tratamiento previo de IBU 8500 mg/L (grupo N) en comparación al grupo T₃. El aplicar la mezcla (IBU 137 mg/L + SPI 60 mg/L, o, IBU 8500 mg/L+ SPI 60 mg/L) aumenta la mortalidad de las larvas expuestas, lo cual podría ser un problema si se busca prevenir los efectos negativos de los contaminantes emergentes como el ibuprofeno en el ambiente y en los organismos que lo habitan. El uso del Ibuprofeno podría generar contaminación en productos de exportación, por ello su uso como sinergista o potenciador es discutible e incluso descartado.

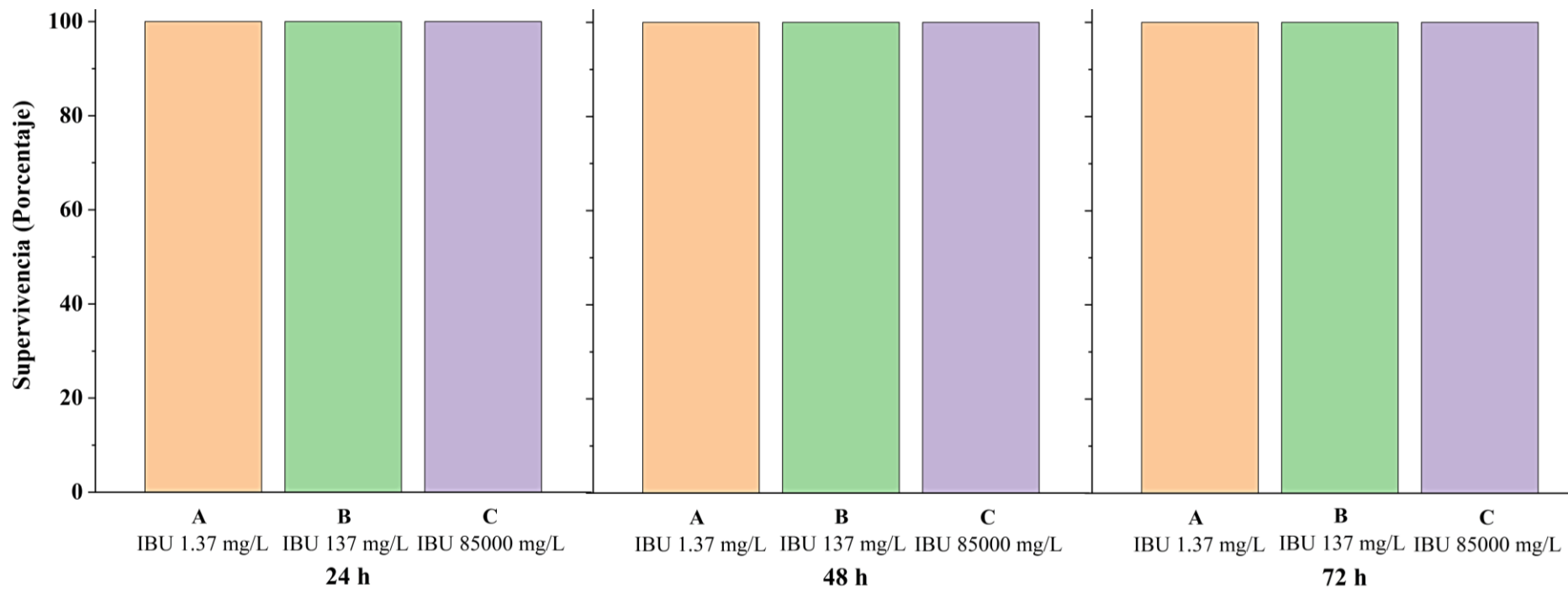


Figura 1. Porcentaje de supervivencia de larvas IV de *Spodoptera ochrea* a la exposición de diferentes concentraciones de IBU

IBU: Ibuprofeno

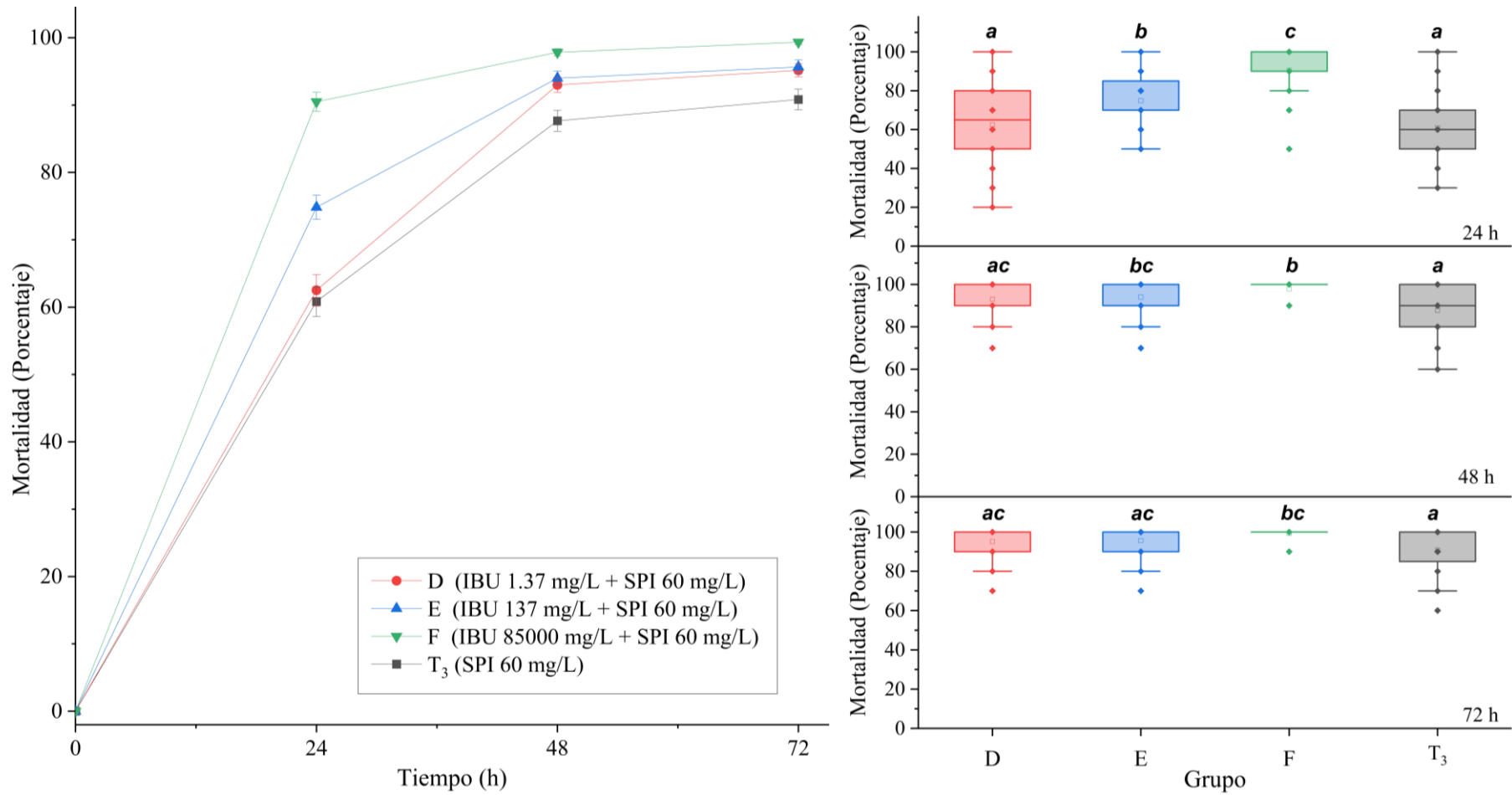


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea* obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU + SPI. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora de evaluación

SPI: Spinetoram. IBU: Ibuprofeno. T₃: Testigo del ensayo. Letras distintas indican diferencia significativa

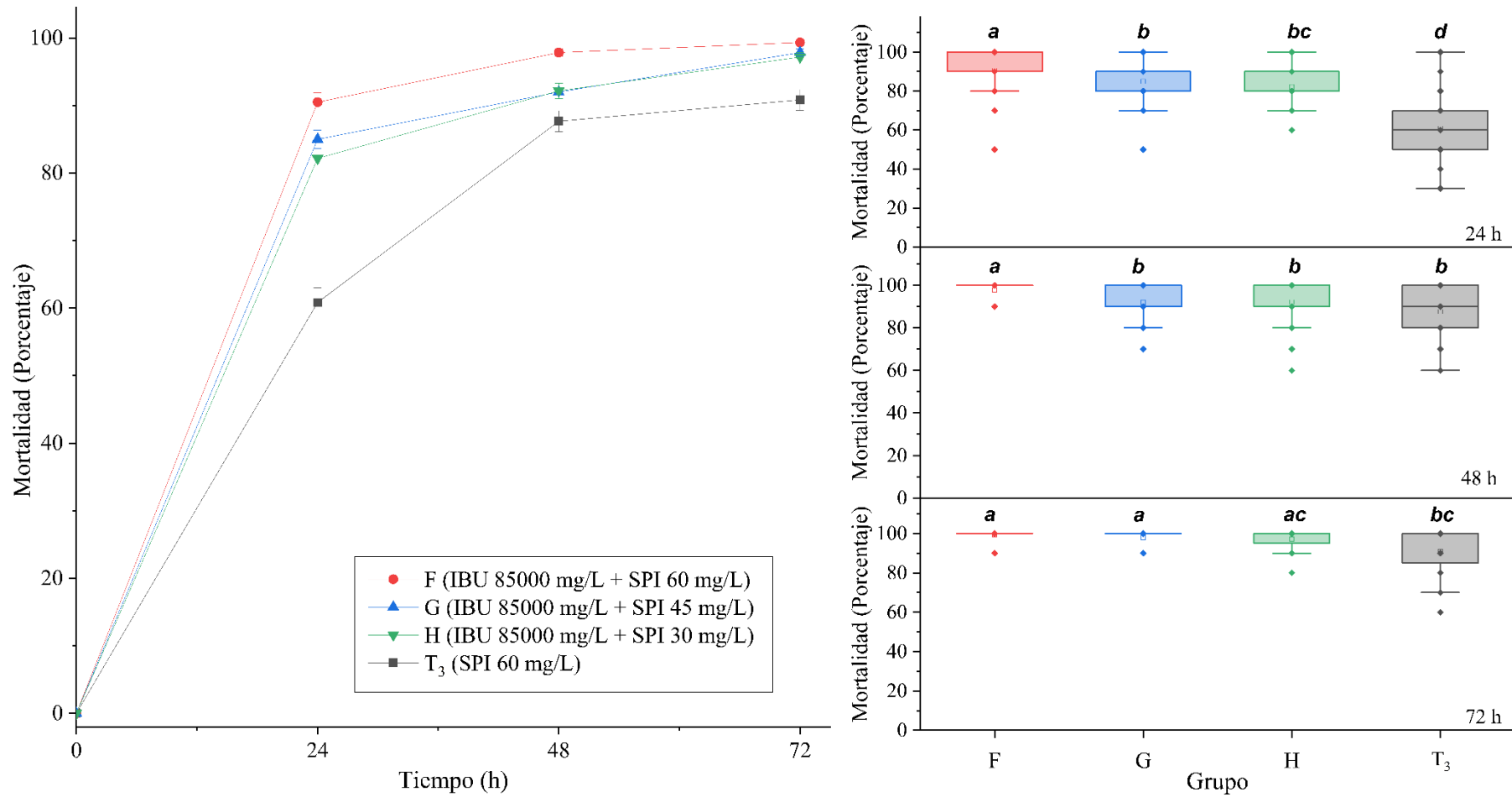


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea* obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU 85000 mg/L + SPI. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora de evaluación

SPI: Spinetoram. IBU: Ibuprofeno. T₃: Testigo del ensayo. Letras distintas indican diferencia significativa

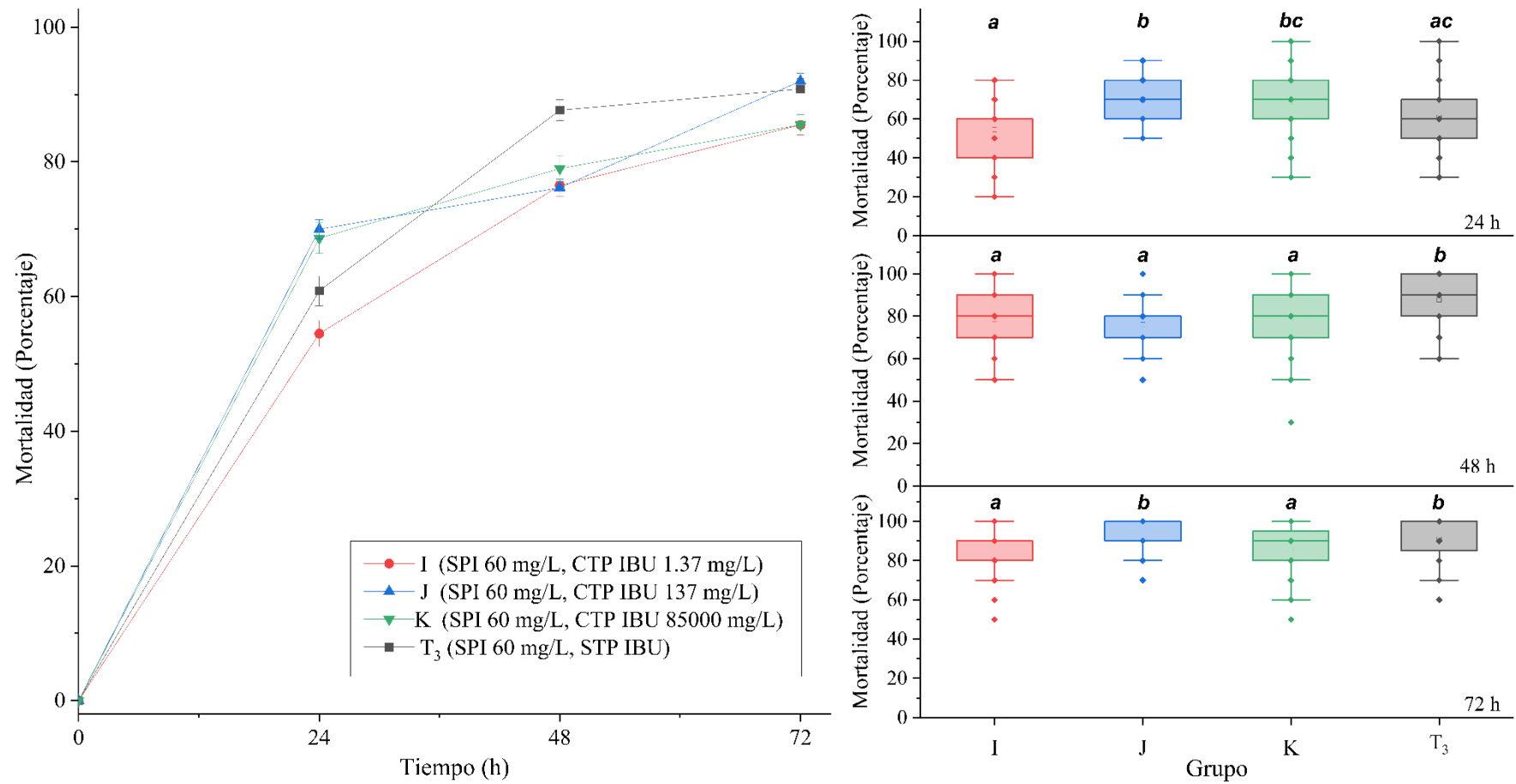


Figura 4. Porcentaje de mortalidad obtenida por SPI 60 mg/L en larvas IV de *Spodoptera ochrea* tratadas previamente con diferentes concentraciones de IBU. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora evaluada

STP IBU: Sin Tratamiento Previo de Ibuprofeno. CTP IBU: Con Tratamiento Previo de Ibuprofeno. SPI: Spinetoram. Letras distintas indican diferencia significativa

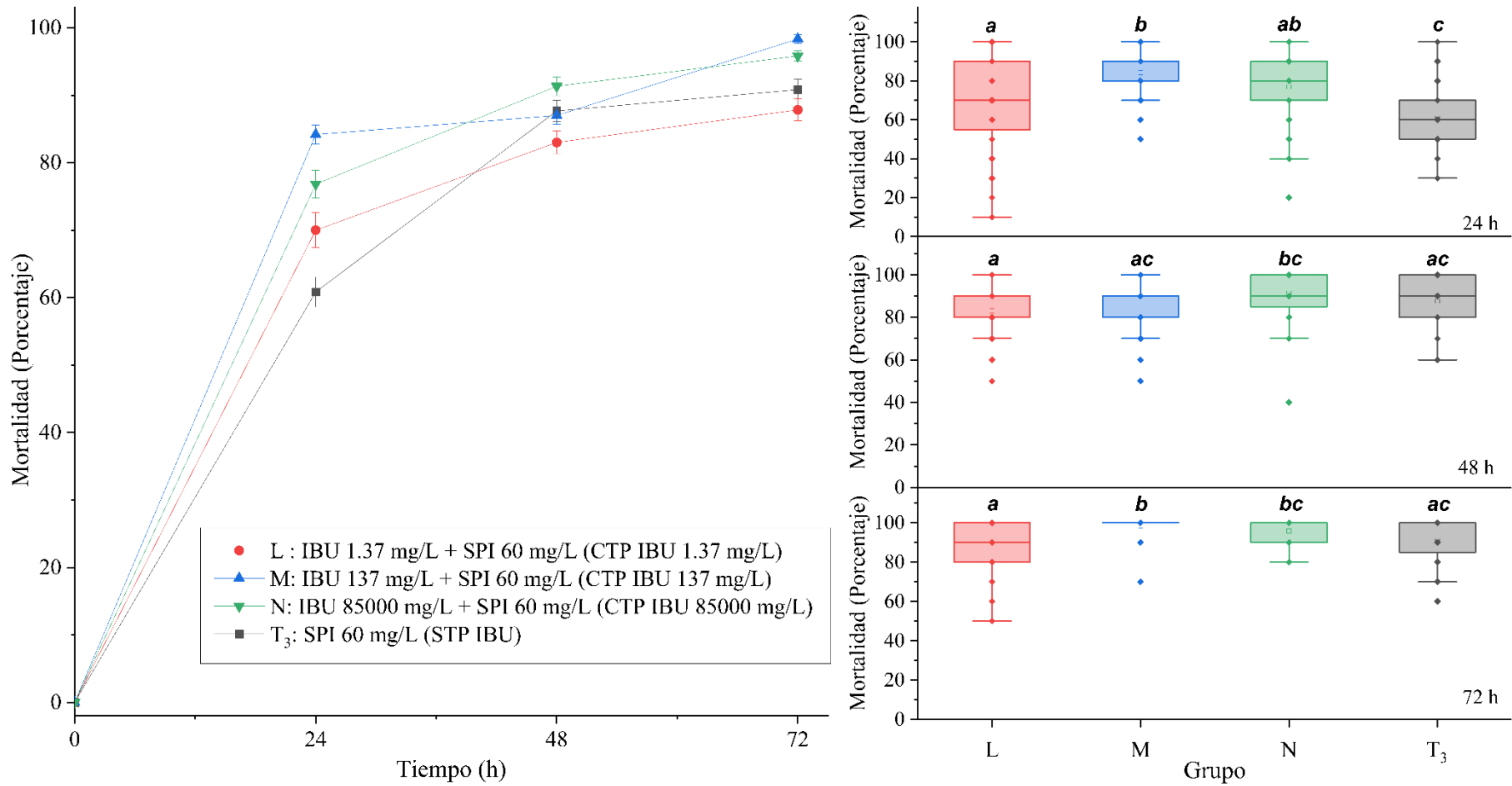
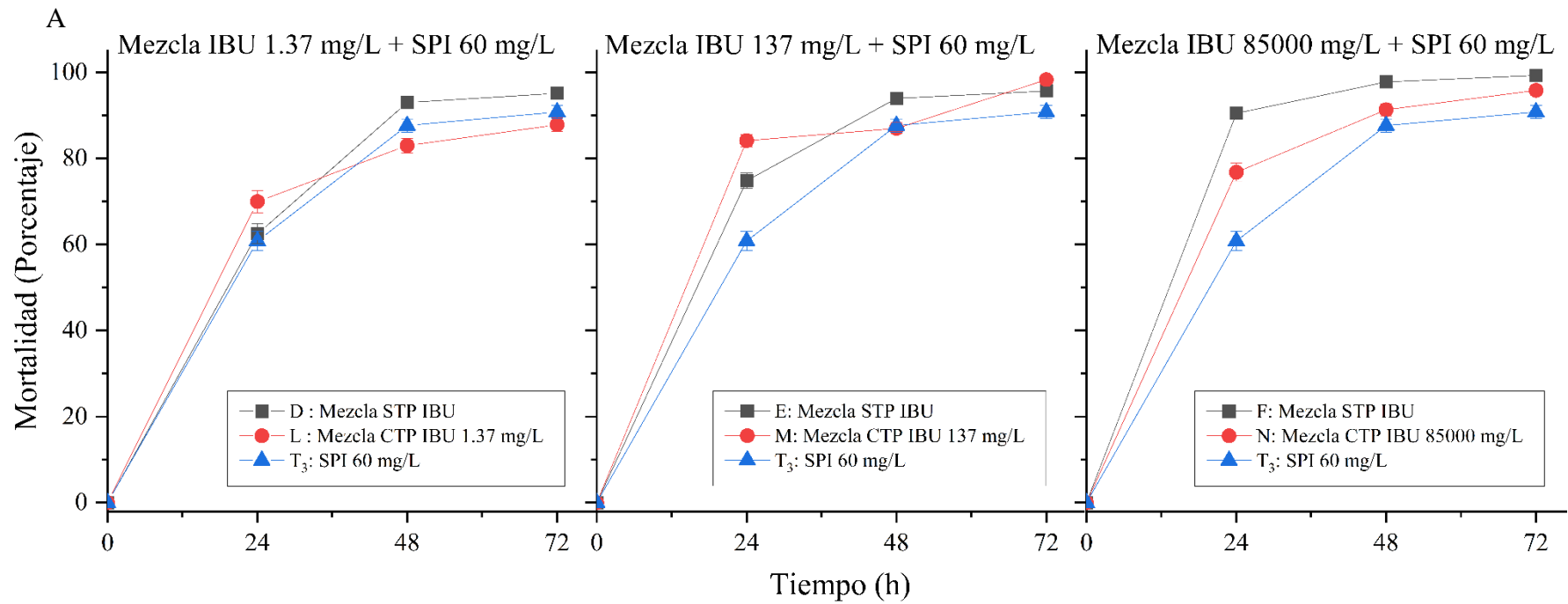


Figura 5. Porcentaje de mortalidad obtenida por la mezcla IBU + SPI en larvas IV de *Spodoptera ochrea* tratadas previamente con IBU. A la izquierda, curvas de mortalidad. A la derecha, box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora evaluada

SPI: Spinetoram. IBU: Ibuprofeno. STP IBU: Sin Tratamiento Previo de Ibuprofeno. CTP IBU: Con Tratamiento Previo de Ibuprofeno. Letras distintas indican diferencia significativa



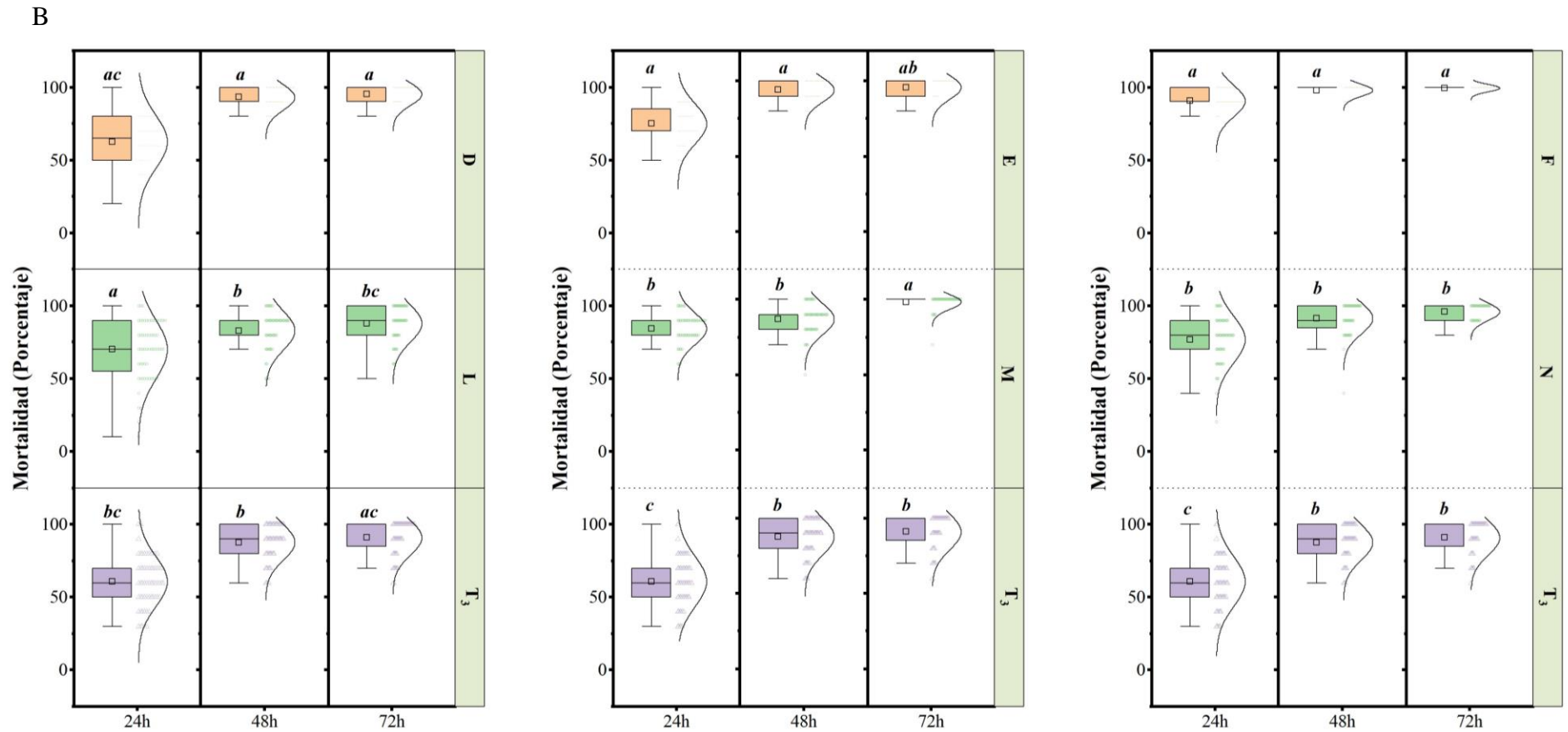


Figura 6. Comparación del porcentaje de mortalidad obtenida por la exposición a la mezcla IBU + SPI en larvas IV de *Spodoptera ochrea* con y sin tratamiento previo con IBU y T₃. A. Curvas de mortalidad. B. Box plot de la mortalidad de larvas de los grupos ensayados por hora evaluada

IBU: Ibuprofeno. STP: Sin Tratamiento Previo. CTP: Con Tratamiento Previo. SPI: Spinetoram. Letras distintas indican diferencia significativa

V. CONCLUSIONES

Según los resultados encontrados, se concluye que:

1. Las concentraciones del contaminante Ibuprofeno (1.37, 137 y 85000 mg/L) no generaron mortalidad de las larvas IV de *Spodoptera ochrea*.
2. La mezcla contaminante Ibuprofeno 85000 mg/L e insecticida Spinetoram 60 mg/L aumenta en 48 por ciento la mortalidad de larvas IV de *S. ochrea* en comparación con la mortalidad obtenida al aplicar solo el insecticida Spinetoram 60 mg/L, en las primeras 24 h de evaluación.
3. Las mezclas del contaminante Ibuprofeno 85000 mg/L con las diferentes concentraciones del insecticida Spinetoram 60, 45 y 30 mg/L generan mortalidades similares.
4. La mortalidad obtenida por el insecticida Spinetoram 60 mg/L en poblaciones de larvas de *S. ochrea* tratadas previamente con diferentes concentraciones del contaminante Ibuprofeno no sigue un patrón.
5. La mezcla contaminante Ibuprofeno 85000 mg/L e insecticida Spinetoram 60 mg/L aumenta en 26 por ciento la mortalidad de larvas IV de *S. ochrea* con tratamiento previo del contaminante Ibuprofeno 85000 mg/L en comparación con la mortalidad obtenida al aplicar solo el insecticida Spinetoram 60 mg/L, en las primeras 24 h de evaluación.
6. Aunque el efecto toxico de la mezcla contaminante Ibuprofeno e insecticida Spinetoram es mayor que la aplicación de solo el insecticida Spinetoram, el uso de contaminantes emergentes como el ibuprofeno es discutible pues aumenta el impacto negativo sobre los especímenes expuestos, y uso en prácticas agrícolas no es recomendable pues podría generar un aumento de los contaminantes en el ambiente y tener más efectos adversos en los organismos que en el habitan.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda que:

1. Se analice el efecto del contaminante ibuprofeno sobre las enzimas de detoxificación de *Spodoptera ochrea*, así como los cambios anatómicos y morfológicos que podrían generarse.
2. Se analice variables ecológicas de los diferentes estadios de *Spodoptera ochrea* que podrían verse afectadas por el contaminante ibuprofeno.
3. Se analice el efecto del contaminante ibuprofeno en múltiples generaciones de *Spodoptera ochrea*.
4. Se investigue la correlación entre la detección del contaminante ibuprofeno y de otros contaminantes emergentes en el rechazo de productos de agroexportación.
5. Se analice otros contaminantes emergentes como los disruptores endocrinos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre-Martínez, G; Del Valls, T; Martín-Díaz, M. 2013. Identification of biomarkers responsive to chronic exposure to pharmaceuticals in target tissues of *Carcinus maenas*. *Marine environmental research* 87:1-11.
- Ahmali, A; Mandi, L; Loutfi, K; El Ghadraoui, A; El Mansour, TE; El Kerroumi, A; Hejjaj, A; Del Bubba, M; Ouazzani, N. 2020. Agro-physiological responses of Koroneiki olive trees (*Olea europaea* L.) irrigated by crude and treated mixture of olive mill and urban wastewaters. *Scientia Horticulturae* 263:109101.
- Aldini, GM; Wijonarko, A; de Putter, H; Hengsdijk, H; Trisyono, YA. 2021. Insecticide Resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Populations in Shallot Areas of Java, Indonesia. *Journal of economic entomology* 114(6):2505-2511.
- Ana, KMS; Espino, MP. 2020. Occurrence and distribution of hormones and bisphenol A in Laguna Lake, Philippines. *Chemosphere* 256:127122.
- André, C; Gagné, F. 2017. Cumulative effects of ibuprofen and air emersion in zebra mussels *Dreissena polymorpha*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 55:156-164.
- Arlos, MJ; Bragg, L; Parker, W; Servos, M. 2015. Distribution of selected antiandrogens and pharmaceuticals in a highly impacted watershed. *Water research* 72:40-50.
- Armes, NJ; Wightman, JA; Jadhav, DR; Ranga Rao, GV. 1997. Status of insecticide resistance in *Spodoptera litura* in Andhra Pradesh, India. *Pesticide Science* 50(3):240-248.
- Atkinson, TJ; Fudin, J. 2020. Nonsteroidal antiinflammatory drugs for acute and chronic pain. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics* 31(2):219-231.

- Austin, B. 1998. The effects of pollution on fish health. *Journal of applied microbiology* 85(S1):234S-242S.
- Baker, BP; Green, TA; Loker, AJ. 2020. Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biological Control* 140:104095.
- Bartoskova, M; Dobsikova, R; Stancova, V; Zivna, D; Blahova, J; Marsalek, P; Zelnickova, L; Bartos, M; Di Tocco, FC; Faggio, C. 2013. Evaluation of ibuprofen toxicity for zebrafish (*Danio rerio*) targeting on selected biomarkers of oxidative stress. *Neuro Endocrinol Lett* 34(2):102-108.
- Besard, L; Mommaerts, V; Abdu-Alla, G; Smagghe, G. 2011. Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest management science* 67(5):541-547.
- Betz, A; Andrew, NR. 2020. Influence of non-lethal doses of natural insecticides spinetoram and azadirachtin on *Helicoverpa punctigera* (native budworm, Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Frontiers in physiology* 11:1089.
- Biggs, J; Von Fumetti, S; Kelly-Quinn, M. 2017. The importance of small waterbodies for biodiversity and ecosystem services: implications for policy makers. *Hydrobiologia* 793(1):3-39.
- Birch, G; Drage, D; Thompson, K; Eaglesham, G; Mueller, J. 2015. Emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, a food additive and pesticides) in waters of Sydney estuary, Australia. *Marine pollution bulletin* 97(1-2):56-66.
- Cardoso, P; Barton, PS; Birkhofer, K; Chichorro, F; Deacon, C; Fartmann, T; Fukushima, CS; Gaigher, R; Habel, JC; Hallmann, CA. 2020. Scientists' warning to humanity on insect extinctions. *Biological Conservation* 242:108426.
- Chaoua, S; Boussaa, S; El Gharmali, A; Boumezzough, A. 2019. Impact of irrigation with wastewater on accumulation of heavy metals in soil and crops in the region of Marrakech in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 18(4):429-436.

- Chen, G; den Braver, MW; van Gestel, CA; van Straalen, NM; Roelofs, D. 2015. Ecotoxicogenomic assessment of diclofenac toxicity in soil. *Environmental Pollution* 199:253-260.
- Chen, H; Liu, H; Chen, X; Qiao, Y. 2020. Analysis on impacts of hydro-climatic changes and human activities on available water changes in Central Asia. *Science of The Total Environment* 737:139779.
- Cheng, T; Wu, J; Wu, Y; Chilukuri, RV; Huang, L; Yamamoto, K; Feng, L; Li, W; Chen, Z; Guo, H. 2017. Genomic adaptation to polyphagy and insecticides in a major East Asian noctuid pest. *Nature ecology & evolution* 1(11):1747-1756.
- Chopra, S; Kumar, D. 2020. Ibuprofen as an emerging organic contaminant in environment, distribution and remediation. *Heliyon* 6(6):e04087.
- Combes, A; Franchineau, G. 2019. Fine particle environmental pollution and cardiovascular diseases *Metabolism* 100:153944.
- Cruces, LM; Callohuari, Y; Santivañez, T; Delgado, P. 2016. Guía de identificación y control de las principales plagas que afectan a la quinua en la zona andina. Santiago: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- de Martino, M; Chiarugi, A; Boner, A; Montini, G; de' Angelis, GL. 2017. Working Towards an Appropriate Use of Ibuprofen in Children: An Evidence-Based Appraisal. *Drugs* 77(12):1295-1311.
- Deng, D; Duan, W; Wang, H; Zhang, K; Guo, J; Yuan, L; Wang, L; Wu, S. 2019. Assessment of the effects of lethal and sublethal exposure to dinotefuran on the wheat aphid *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus). *Ecotoxicology* 28(7):825-833.
- Dulio, V; van Bavel, B; Brorström-Lundén, E; Harmsen, J; Hollender, J; Schlabach, M; Slobodnik, J; Thomas, K; Koschorreck, J. 2018. Emerging pollutants in the EU: 10 years of NORMAN in support of environmental policies and regulations. *Environmental Sciences Europe* 30(1):1-13.

- Edwards, QA; Sultana, T; Kulikov, SM; Garner-O'Neale, LD; Metcalfe, CD. 2019. Micropollutants related to human activity in groundwater resources in Barbados, West Indies. *Science of The Total Environment* 671:76-82.
- Emery, H; Johnston, R; Rowley, AF; Coates, CJ. 2019. Indomethacin-induced gut damage in a surrogate insect model, *Galleria mellonella*. *Archives of Toxicology* 93(8):2347-2360.
- Enayati, AA; Ranson, H; Hemingway, J. 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect molecular biology* 14(1):3-8.
- Erlandson, MA; Toprak, U; Hegedus, DD. 2019. Role of the peritrophic matrix in insect-pathogen interactions. *Journal of insect physiology* 117:103894.
- Falahi, OAA; Abdullah, SRS; Hasan, HA; Othman, AR; Ewadh, HM; Al-Baldawi, IA; Kurniawan, SB; Imron, MF. 2021. Simultaneous removal of ibuprofen, organic material, and nutrients from domestic wastewater through a pilot-scale vertical sub-surface flow constructed wetland with aeration system. *Journal of Water Process Engineering* 43:102214.
- Fan, Z; Qian, L; Chen, Y; Fan, R; He, S; Gao, Y; Gui, F. 2021. Effects of elevated CO₂ on activities of protective and detoxifying enzymes in *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa* under spinetoram stress. *Pest management science*:
- Favetti, BM; Butnariu, AR; Foerster, LA. 2015. Biology and reproductive capacity of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera, Noctuidae) in different soybean cultivars. *Revista Brasileira de Entomologia* 59:89-95.
- Fu, B; Li, Q; Qiu, H; Tang, L; Zeng, D; Liu, K; Gao, Y. 2018. Resistance development, stability, cross-resistance potential, biological fitness and biochemical mechanisms of spinetoram resistance in *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae). *Pest management science* 74(7):1564-1574.
- Galm, U; Sparks, TC. 2016. Natural product derived insecticides: discovery and development of spinetoram. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 43(2-3):185-193. Consultado 11/2/2022 Disponible en <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1710-x> doi 10.1007/s10295-015-1710-x

- Gao, Y-F; Gong, Y-J; Cao, L-J; Chen, J-C; Gao, Y-L; Mirab-balou, M; Chen, M; Hoffmann, AA; Wei, S-J. 2021a. Geographical and interspecific variation in susceptibility of three common thrips species to the insecticide, spinetoram. *Journal of Pest Science* 94(1):93-99.
- Gao, Z; Chen, Y; He, K; Guo, J; Wang, Z. 2021b. Sublethal effects of the microbial-derived insecticide spinetoram on the growth and fecundity of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of economic entomology* 114(4):1582-1587.
- García-Fernández, AJ; Espín, S; Gómez-Ramírez, P; Sánchez-Virosta, P; Navas, I. 2021. Water Quality and Contaminants of Emerging Concern (CECs). *Chemometrics and Cheminformatics in Aquatic Toxicology*:1-21.
- Geissen, V; Mol, H; Klumpp, E; Umlauf, G; Nadal, M; Van der Ploeg, M; Van de Zee, SE; Ritsema, CJ. 2015. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research* 3(1):57-65.
- Ghorani-Azam, A; Riahi-Zanjani, B; Balali-Mood, M. 2016. Effects of air pollution on human health and practical measures for prevention in Iran. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 21.
- Ginebreda, A; Muñoz, I; de Alda, ML; Brix, R; López-Doval, J; Barceló, D. 2010. Environmental risk assessment of pharmaceuticals in rivers: relationships between hazard indexes and aquatic macroinvertebrate diversity indexes in the Llobregat River (NE Spain). *Environment international* 36(2):153-162.
- Gogoi, A; Mazumder, P; Tyagi, VK; Chaminda, GT; An, AK; Kumar, M. 2018. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: a review. *Groundwater for Sustainable Development* 6:169-180.
- Gómez-Oliván, LM; Neri-Cruz, N; Galar-Martínez, M; Islas-Flores, H; García-Medina, S. 2014. Binary mixtures of diclofenac with paracetamol, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid and these pharmaceuticals in isolated form induce oxidative stress on *Hyalella azteca*. *Environmental monitoring and assessment* 186(11):7259-7271.

- Gómez, S; Rojas-Valencia, N; Giovannini, T; Restrepo, A; Cappelli, C. 2022. Ring Vibrations to Sense Anionic Ibuprofen in Aqueous Solution as Revealed by Resonance Raman. *Molecules* 27(2):442.
- Gouda, AA; El-Sayed, MIK; Amin, AS; El Sheikh, R. 2013. Spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Arabian Journal of Chemistry* 6(2):145-163.
- Gröner, F; Höhne, C; Kleiner, W; Kloas, W. 2017. Chronic diclofenac exposure affects gill integrity and pituitary gene expression and displays estrogenic activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere* 166:473-481.
- Grzesiuk, M; Pijanowska, J; Markowska, M; Bednarska, A. 2020. Morphological deformation of *Daphnia magna* embryos caused by prolonged exposure to ibuprofen. *Environmental Pollution* 261:114135.
- Guo, W; Kain, W; Wang, P. 2019. Effects of disruption of the peritrophic membrane on larval susceptibility to Bt toxin Cry1Ac in cabbage loopers. *Journal of insect physiology* 117:103897.
- Gutiérrez-Moreno, R; Mota-Sanchez, D; Blanco, CA; Whalon, ME; Terán-Santofimio, H; Rodríguez-Maciel, JC; DiFonzo, C. 2019. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. *Journal of economic entomology* 112(2):792-802.
- Gutiérrez-Noya, VM; Gómez-Oliván, LM; del Carmen Ramírez-Montero, M; Islas-Flores, H; Galar-Martínez, M; Dublán-García, O; Romero, R. 2020. Ibuprofen at environmentally relevant concentrations alters embryonic development, induces teratogenesis and oxidative stress in *Cyprinus carpio*. *Science of The Total Environment* 710:136327.
- Halling-Sørensen, B; Nielsen, SN; Lanzky, P; Ingerslev, F; Lützhøft, HH; Jørgensen, S. 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* 36(2):357-393.
- Hashmat, S; Shahid, M; Tanwir, K; Abbas, S; Ali, Q; Niazi, NK; Akram, MS; Saleem, MH; Javed, MT. 2021. Elucidating distinct oxidative stress management, nutrient

- acquisition and yield responses of *Pisum sativum* L. fertigated with diluted and treated wastewater. *Agricultural Water Management* 247:106720.
- Hassena, AB; Zouari, M; Trabelsi, L; Khabou, W; Zouari, N. 2018. Physiological improvements of young olive tree (*Olea europaea* L. cv. Chetoui) under short term irrigation with treated wastewater. *Agricultural Water Management* 207:53-58.
- Heckmann, L-H; Callaghan, A; Hooper, HL; Connon, R; Hutchinson, TH; Maund, SJ; Sibly, RM. 2007. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology letters* 172(3):137-145.
- Im, JK; Kim, SH; Kim, YS; Yu, SJ. 2021. Spatio-Temporal Distribution and Influencing Factors of Human and Veterinary Pharmaceuticals in the Tributary Surface Waters of the Han River Watershed, South Korea. *International journal of environmental research and public health* 18(15):7969.
- Isman, MB. 2019. Challenges of pest management in the twenty first century: new tools and strategies to combat old and new foes alike. *Frontiers Media SA*. 2 p.
- Jurado, A; Vázquez-Suñé, E; Pujades, E. 2021. Urban Groundwater Contamination by Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs *Water* 13(5):720. Disponible en <https://www.mdpi.com/2073-4441/13/5/720>
- Kergoat, GJ; Goldstein, PZ; Le Ru, B; Meagher Jr, RL; Zilli, A; Mitchell, A; Clamens, A-L; Gimenez, S; Barbut, J; Nègre, N. 2021. A novel reference dated phylogeny for the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae: Noctuinae): new insights into the evolution of a pest-rich genus. *Molecular phylogenetics and evolution* 161:107161.
- Khan, HK; Rehman, MYA; Junaid, M; Lv, M; Yue, L; Haq, I-u; Xu, N; Malik, RN. 2021. Occurrence, source apportionment and potential risks of selected PPCPs in groundwater used as a source of drinking water from key urban-rural settings of Pakistan- *Science of The Total Environment*:151010.
- Khaniabadi, YO; Sicard, P; Takdastan, A; Hopke, PK; Taiwo, AM; Khaniabadi, FO; De Marco, A; Daryanoosh, M. 2019. Mortality and morbidity due to ambient air pollution in Iran. *Clinical Epidemiology and Global Health* 7(2):222-227.

- Kim, J-W; Ishibashi, H; Yamauchi, R; Ichikawa, N; Takao, Y; Hirano, M; Koga, M; Arizono, K. 2009. Acute toxicity of pharmaceutical and personal care products on freshwater crustacean (*Thamnocephalus platyurus*) and fish (*Oryzias latipes*). The Journal of toxicological sciences 34(2):227-232.
- Kkadan, SK; Sirait, BA; Asfa, R; de Souza Tavares, W; Tarigan, M; Duran, A; Yong Wong, C; Sharma, M. 2020. Evaluation of a spinetoram-based insecticide against lepidopteran and thrips infesting acacia and eucalyptus in Sumatra, Indonesia. Journal of Entomology and Zoology Studies 8:1345-1351.
- Klement, A; Kodešová, R; Golovko, O; Fér, M; Nikodem, A; Kočárek, M; Grabic, R. 2020. Uptake, translocation and transformation of three pharmaceuticals in green pea plants. Journal of Hydrology and Hydromechanics 68(1):1-11.
- Klowden, M. 2007. Physiological systems in insects. Academic. Oxford, United Kingdom.
- Köck-Schulmeyer, M; Ginebreda, A; Postigo, C; López-Serna, R; Pérez, S; Brix, R; Llorca, M; de Alda, ML; Petrović, M; Munné, A. 2011. Wastewater reuse in Mediterranean semi-arid areas: The impact of discharges of tertiary treated sewage on the load of polar micro pollutants in the Llobregat river (NE Spain). Chemosphere 82(5):670-678.
- Kodešová, R; Klement, A; Golovko, O; Fer, M; Kočárek, M; Nikodem, A; Grabic, R. 2019. Soil influences on uptake and transfer of pharmaceuticals from sewage sludge amended soils to spinach. Journal of environmental management 250:109407.
- Kumar, RM; Gadratagi, B-G; Paramesh, V; Kumar, P; Madivalar, Y; Narayanappa, N; Ullah, F. 2022. Sustainable Management of Invasive Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Agronomy 12(9):2150. Disponible en <https://www.mdpi.com/2073-4395/12/9/2150>
- Kuraishi, T; Binggeli, O; Opota, O; Buchon, N; Lemaitre, B. 2011. Genetic evidence for a protective role of the peritrophic matrix against intestinal bacterial infection in *Drosophila melanogaster*. Proceedings of the National Academy of Sciences 108(38):15966-15971.

- Lemaitre, B; Miguel-Aliaga, I. 2013. The digestive tract of *Drosophila melanogaster*. Annual review of genetics 47(ARTICLE):377-404.
- Lencioni, V; Bellamoli, F; Paoli, F. 2020. Multi-level effects of emerging contaminants on macroinvertebrates in Alpine streams: From DNA to the ecosystem. Ecological Indicators 117:106660.
- Li, M; Liu, W; Slaveykova, VI. 2020. Effects of Mixtures of Engineered Nanoparticles and Metallic Pollutants on Aquatic Organisms. Environments 7(4):27. Disponible en <https://www.mdpi.com/2076-3298/7/4/27>
- Li, W; Zhang, J; Zhang, P; Lin, W; Lin, Q; Li, Z; Hang, F; Zhang, Z; Lu, Y. 2015. Baseline Susceptibility of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to the Novel Insecticide Spinetoram in China. Journal of economic entomology 108(2):736-741. Disponible en <https://doi.org/10.1093/jee/tou060> doi 10.1093/jee/tou060
- Liburd, O; Funderburk, J; Olson, S. 2000. Effect of biological and chemical insecticides on *Spodoptera* species (Lep., Noctuidae) and marketable yields of tomatoes. Journal of Applied Entomology 124(1):19-25.
- Lichtenberger, LM; Zhou, Y; Jayaraman, V; Doyen, JR; O'Neil, RG; Dial, EJ; Volk, DE; Gorenstein, DG; Boggara, MB; Krishnamoorti, R. 2012. Insight into NSAID-induced membrane alterations, pathogenesis and therapeutics: characterization of interaction of NSAIDs with phosphatidylcholine. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids 1821(7):994-1002.
- Liggett, JL; Zhang, X; Eling, TE; Baek, SJ. 2014. Anti-tumor activity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase-independent targets. Cancer Letters 346(2):217-224.
- Lindroth, RL. 1991. Differential toxicity of plant allelochemicals to insects: roles of enzymatic detoxication systems. CRC press. 1-34 p.
- Luo, Z; Tu, Y; Li, H; Qiu, B; Liu, Y; Yang, Z. 2019. Endocrine-disrupting compounds in the Xiangjiang River of China: spatio-temporal distribution, source apportionment, and risk assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety 167:476-484.

- Madikizela, LM; Chimuka, L. 2016. Determination of ibuprofen, naproxen and diclofenac in aqueous samples using a multi-template molecularly imprinted polymer as selective adsorbent for solid-phase extraction. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 128:210-215.
- Madikizela, LM; Chimuka, L. 2017. Occurrence of naproxen, ibuprofen, and diclofenac residues in wastewater and river water of KwaZulu-Natal Province in South Africa. *Environmental monitoring and assessment* 189(7):1-12.
- Manisalidis, I; Stavropoulou, E; Stavropoulos, A; Bezirtzoglou, E. 2020. Environmental and health impacts of air pollution: a review. *Frontiers in public health* 8:14.
- Marchlewicz, A; Guzik, U; Wojcieszynska, D. 2015. Over-the-counter monocyclic non-steroidal anti-inflammatory drugs in environment—sources, risks, biodegradation *Water, Air, & Soil Pollution* 226(10):1-13.
- Martínez-Piernas, A; Plaza-Bolaños, P; García-Gómez, E; Fernández-Ibáñez, P; Agüera, A. 2018a. Determination of organic microcontaminants in agricultural soils irrigated with reclaimed wastewater: Target and suspect approaches. *Analytica chimica acta* 1030:115-124.
- Martínez-Piernas, AB; Polo-López, MI; Fernández-Ibáñez, P; Agüera, A. 2018b. Validation and application of a multiresidue method based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry for evaluating the plant uptake of 74 microcontaminants in crops irrigated with treated municipal wastewater. *Journal of Chromatography A* 1534:10-21.
- Matamoros, V; Arias, CA; Nguyen, LX; Salvadó, V; Brix, H. 2012. Occurrence and behavior of emerging contaminants in surface water and a restored wetland. *Chemosphere* 88(9):1083-1089.
- Mathias, FT; Fockink, DH; Disner, GR; Prodocimo, V; Ribas, JLC; Ramos, LP; Cestari, MM; de Assis, HCS. 2018. Effects of low concentrations of ibuprofen on freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 59:105-113.

- Matongo, S; Birungi, G; Moodley, B; Ndungu, P. 2015. Pharmaceutical residues in water and sediment of Msunduzi River, kwazulu-natal, South Africa. *Chemosphere* 134:133-140.
- Mendes Reis, M; da Silva, AJ; Gonçalves Lopes, ÉM; Silva Donato, LM; Barros, RE; Facco Pegoraro, R; Tuffi Santos, LD. 2021. Use of treated wastewater in irrigation: productive and nutritional aspects of millet and chemical properties of clay and sandy loam soils. *Archives of Agronomy and Soil Science* 67(14):2063-2076. Disponible en <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1820489>.
- Milan, M; Pauletto, M; Patarnello, T; Bargelloni, L; Marin, MG; Matozzo, V. 2013. Gene transcription and biomarker responses in the clam *Ruditapes philippinarum* after exposure to ibuprofen. *Aquatic Toxicology* 126:17-29.
- Miller, TH; Bury, NR; Owen, SF; MacRae, JI; Barron, LP. 2018. A review of the pharmaceutical exposome in aquatic fauna. *Environmental Pollution* 239:129-146.
- Montagner, CC; Sodr , FF; Acayaba, RD; Vidal, C; Campestrini, I; Locatelli, MA; Pescara, IC; Albuquerque, AF; Umbuzeiro, GA; Jardim, WF. 2019. Ten years-snapshot of the occurrence of emerging contaminants in drinking, surface and ground waters and wastewaters from S o Paulo State, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 30:614-632.
- Montesdeoca-Esponda, S; Palacios-Díaz, MdP; Est vez, E; Sosa-Ferrera, Z; Santana-Rodríguez, JJ; Cabrera, MdC. 2021. Occurrence of Pharmaceutical Compounds in Groundwater from the Gran Canaria Island (Spain). *Water* 13(3):262.
- Morales-Rodríguez, RJ; Rold n-Rodríguez, J; Salvador-Herrera, K. 2022.   El ibuprofeno y fenobarbital influyen en la tolerancia del vector del dengue al larvicida temefos? *Ecología Aplicada* 21(1):49-55.
- Mul , R; Sabella, G; Robba, L; Manachini, B. 2017. Systematic review of the effects of chemical insecticides on four common butterfly families. *Frontiers in Environmental Science* 5:32.

- Mulkiewicz, E; Wolecki, D; Świacka, K; Kumirska, J; Stepnowski, P; Caban, M. 2021. Metabolism of non-steroidal anti-inflammatory drugs by non-target wild-living organisms. *Science of The Total Environment* 791:148251.
- Muñiz-González, A-B. 2021. Ibuprofen as an emerging pollutant on non-target aquatic invertebrates: Effects on *Chironomus riparius*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 81:103537.
- Oaks, JL; Gilbert, M; Virani, MZ; Watson, RT; Meteyer, CU; Rideout, BA; Shivaprasad, H; Ahmed, S; Chaudhry, MJI; Arshad, M. 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427(6975):630-633.
- Oliveira, BF; Scheffers, BR. 2019. Vertical stratification influences global patterns of biodiversity. *Ecography* 42(2):249-249.
- Ouda, M; Kadadou, D; Swaidan, B; Al-Othman, A; Al-Asheh, S; Banat, F; Hasan, SW. 2021. Emerging contaminants in the water bodies of the Middle East and North Africa (MENA): A critical review. *Science of The Total Environment* 754:142177.
- Pandey, S. 2006. Water pollution and health Kathmandu University medical journal (KUMJ) 4(1):128-134.
- Parida, VK; Saidulu, D; Majumder, A; Srivastava, A; Gupta, B; Gupta, AK. 2021. Emerging contaminants in wastewater: A critical review on occurrence, existing legislations, risk assessment, and sustainable treatment alternatives. *Journal of Environmental Chemical Engineering*:105966.
- Pavlidis, N; Vontas, J; Van Leeuwen, T. 2018. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current opinion in insect science* 27:97-102.
- Petrie, B; Barden, R; Kasprzyk-Hordern, B. 2015. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water research* 72:3-27.
- Picó, Y; Alvarez-Ruiz, R; Alfarhan, AH; El-Sheikh, MA; Alobaid, SM; Barceló, D. 2019. Uptake and accumulation of emerging contaminants in soil and plant treated with

- wastewater under real-world environmental conditions in the Al Hayer area (Saudi Arabia). *Science of The Total Environment* 652:562-572.
- Picó, Y; Campo, J; Alfarhan, AH; El-Sheikh, MA; Barceló, D. 2021. A reconnaissance study of pharmaceuticals, pesticides, perfluoroalkyl substances and organophosphorus flame retardants in the aquatic environment, wild plants and vegetables of two Saudi Arabia urban areas: Environmental and human health risk assessment. *Science of The Total Environment* 776:145843.
- Pounds, N; Maclean, S; Webley, M; Pascoe, D; Hutchinson, T. 2008. Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70(1):47-52.
- Prud'Homme, SM; Renault, D; David, J-P; Reynaud, S. 2018. Multiscale approach to deciphering the molecular mechanisms involved in the direct and intergenerational effect of ibuprofen on mosquito *Aedes aegypti*. *Environmental science & technology* 52(14):7937-7950.
- Qandil, AM. 2012. Prodrugs of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), more than meets the eye: a critical review. *International journal of molecular sciences* 13(12):17244-17274.
- Quinn, B; Gagné, F; Blaise, C. 2008. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of The Total Environment* 389(2-3):306-314.
- Reichert, G; Hilgert, S; Fuchs, S; Azevedo, JCR. 2019. Emerging contaminants and antibiotic resistance in the different environmental matrices of Latin America. *Environmental Pollution* 255:113140.
- Riva, F; Castiglioni, S; Fattore, E; Manenti, A; Davoli, E; Zuccato, E. 2018. Monitoring emerging contaminants in the drinking water of Milan and assessment of the human risk. *International journal of hygiene and environmental health* 221(3):451-457.
- Saglam, O; Athanassiou, C; Vassilakos, T. 2013. Comparison of spinetoram, imidacloprid, thiamethoxam and chlorantraniliprole against life stages of *Tribolium confusum*

- Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on concrete. *Crop Protection* 53:85-95.
- Sánchez, G; Vergara, C. 1997. Plagas de hortalizas. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima (Perú). Departamento de Entomología.
- Santisteban, EG. 2014. Especies del género *Spodoptera* (Lepidoptera: Phalaenidae) encontrados en los cultivos de arroz, maíz, ají pprika y tomate de la región Lambayeque. Tesis Bachiller. Lambayeque, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. 239 p. Disponible en <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/4866>
- Schriks, M; Heringa, MB; van der Kooi, MM; de Voogt, P; van Wezel, AP. 2010. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water research* 44(2):461-476.
- Seal, DR; Schuster, DJ; Klassen, W. 2007. Comparative effectiveness of new insecticides in controlling armyworms (Lepidoptera: Noctuidae) and leafminers (Diptera: Agromyzidae) on tomato. *In*. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. p. 170-177.
- Shang, J; Yao, Y-S; Chen, L-L; Zhu, X-Z; Niu, L; Gao, X-K; Luo, J-Y; Ji, J-C; Cui, J-J. 2021. Sublethal exposure to deltamethrin stimulates reproduction and alters symbiotic bacteria in *Aphis gossypii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(50):15097-15107.
- Shang, S; Xue, Y. 2019. Effect of sublethal concentrations of bifenthrin on detoxifying enzymes in *Tetranychus truncatus*. *Chinese Journal of Applied Entomology* 56(4):728-735.
- Shimokawatoko, Y; Sato, N; Yamaguchi, Y; Tanaka, H. 2012. Development of the novel insecticide spinetoram (Diana®). Sumitomo Chemical Co., Ltd., Tokyo.
- Sim, W-J; Lee, J-W; Oh, J-E. 2010. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. *Environmental Pollution* 158(5):1938-1947.
- Singh, BN; Hidangmayum, A; Singh, A; Guru, A; Yashu, BR; Singh, GS. 2020. Effect of Emerging Contaminants on Crops and Mechanism of Toxicity. Cham, Springer

International Publishing. 217-241 p. Disponible en https://doi.org/10.1007/978-3-030-33281-5_6

Snow, DD; Cassada, DA; Larsen, ML; Mware, NA; Li, X; D'Alessio, M; Zhang, Y; Sallach, JB. 2017. Detection, occurrence and fate of emerging contaminants in agricultural environments. *Water Environment Research* 89(10):897-920.

Sparks, TC; Crossthwaite, AJ; Nauen, R; Banba, S; Cordova, D; Earley, F; Ebbinghaus-Kintscher, U; Fujioka, S; Hirao, A; Karmon, D. 2020. Insecticides, biologics and nematicides: Updates to IRAC's mode of action classification-a tool for resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 167:104587.

Su, C; Cui, Y; Liu, D; Zhang, H; Baninla, Y. 2020. Endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment of China: which chemicals are the prioritized ones? *Science of The Total Environment* 720:137652.

Świacka, K; Michnowska, A; Maculewicz, J; Caban, M; Smolarz, K. 2021. Toxic effects of NSAIDs in non-target species: A review from the perspective of the aquatic environment. *Environmental Pollution* 273:115891.

Tamilselvan, R; Kennedy, J; Suganthi, A. 2021. Sublethal and transgenerational effects of spinetoram on the biological traits of *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae). *Ecotoxicology* 30(4):667-677.

Todd, EL; Poole, RW. 1980. Keys and Illustrations for the Armyworm Moths of the Noctuid Genus *Spodoptera* Guenée from the Western Hemisphere. *Annals of the Entomological Society of America* 73(6):722-738. Disponible en <https://doi.org/10.1093/aesa/73.6.722> doi 10.1093/aesa/73.6.722

Topping, CJ; Aldrich, A; Berny, P. 2020. Overhaul environmental risk assessment for pesticides. *Science* 367(6476):360-363.

Ukaogo, PO; Ewuzie, U; Onwuka, CV. 2020. Environmental pollution: causes, effects, and the remedies. Elsevier. 419-429 p.

- Van Lieshout, E; Tiemessen, DM; Peters, W; Jansen, J. 1997. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on glutathione S-transferases of the rat digestive tract. *Carcinogenesis* 18(3):485-490.
- Vashisht, D; Kumar, A; Mehta, SK; Ibhaddon, A. 2020. Analysis of emerging contaminants: A case study of the underground and drinking water samples in Chandigarh, India. *Environmental Advances* 1:100002.
- Vassilakos, TN; Athanassiou, CG; Saglam, O; Chloridis, AS; Dripps, JE. 2012. Insecticidal effect of spinetoram against six major stored grain insect species. *Journal of Stored Products Research* 51:69-73.
- Wang, L; Peng, Y; Nie, X; Pan, B; Ku, P; Bao, S. 2016. Gene response of CYP360A, CYP314, and GST and whole-organism changes in *Daphnia magna* exposed to ibuprofen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 179:49-56.
- Wang, T; Wang, L; Chen, Q; Kalogerakis, N; Ji, R; Ma, Y. 2020. Interactions between microplastics and organic pollutants: Effects on toxicity, bioaccumulation, degradation, and transport. *Science of The Total Environment* 748:142427.
- Waraksa, E; Wójtowicz-Zawadka, M; Kwiatkowska, D; Jarek, A; Małkowska, A; Wrzesień, R; Namieśnik, J. 2018. Simultaneous determination of ibuprofen and its metabolites in complex equine urine matrices by GC-EI-MS in excretion study in view of doping control. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 152:279-288.
- Wei, J; Zhang, L; Yang, S; Xie, B; An, S; Liang, G. 2018. Assessment of the lethal and sublethal effects by spinetoram on cotton bollworm PloS one 13(9):e0204154.
- Wu, H-M; Feng, H-L; Wang, G-D; Zhang, L-L; Zulu, L; Liu, Y-H; Zheng, Y-L; Rao, Q. 2022. Sublethal Effects of Three Insecticides on Development and Reproduction of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Agronomy* 12(6):1334.
- WWAP, U. 2003. Water for people, water for life (2003): 3rd World Water Forum in Kyoto Japan. www.norman-network.net:

- Yee, WL; Alston, DG. 2012. Behavioral responses, rate of mortality, and oviposition of western cherry fruit fly exposed to malathion, zeta-cypermethrin, and spinetoram. *Journal of Pest Science* 85(1):141-151.
- Yilmaz, B; Erdem, AF. 2019. Determination of Ibuprofen in Human Plasma and Urine by Gas Chromatography/Mass Spectrometry *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 97(2):415-420. Disponible en <https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-414>.
- Yokota, H; Taguchi, Y; Tanaka, Y; Uchiyama, M; Kondo, M; Tsuruda, Y; Suzuki, T; Eguchi, S. 2018. Chronic exposure to diclofenac induces delayed mandibular defects in medaka (*Oryzias latipes*) in a sex-dependent manner. *Chemosphere* 210:139-146.
- Yu, S. 1991. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 39(1):84-91.
- Zanuri, NBM; Bentley, MG; Caldwell, GS. 2017. Assessing the impact of diclofenac, ibuprofen and sildenafil citrate (Viagra®) on the fertilisation biology of broadcast spawning marine invertebrates. *Marine environmental research* 127:126-136.
- Zhang, C-X; Wang, Z-J; Li, J-J; Wang, N-M; Xue, C-B. 2022. Sublethal effects of tolfenpyrad on the development, reproduction, and predatory ability of *Chrysoperla sinica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 236:113482.
- Zhang, D-d; Xiao, Y-t; Xu, P-j; Yang, X-m; Wu, Q-l; Wu, K-m. 2021. Insecticide resistance monitoring for the invasive populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in China. *Journal of Integrative Agriculture* 20(3):783-791.
- Zhang, K; Li, J; Liu, H; Wang, H; Lamusi, A. 2018. Semi-synthesis and insecticidal activity of spinetoram J and its D-forosamine replacement analogues. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 14(1):2321-2330.
- Zhang, K; Yuan, G; Werdich, AA; Zhao, Y. 2020. Ibuprofen and diclofenac impair the cardiovascular development of zebrafish (*Danio rerio*) at low concentrations. *Environmental Pollution* 258:113613.
- Zhong, X; Zhang, L; Zou, Y; Yi, Q; Zhao, P; Xia, Q; Xiang, Z. 2012. Shotgun analysis on the peritrophic membrane of the silkworm *Bombyx mori*. *BMB reports* 45(11):665.

Zhou, X; Peng, F; Luo, Z; Li, Y; Li, H; Yang, Z. 2020. Assessment of water contamination and health risk of endocrine disrupting chemicals in outdoor and indoor swimming pools. *Science of The Total Environment* 704:135277.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Registro de mortalidad de los diferentes grupos, a las 24, 48 y 72 h de evaluación.

Grupo D								
24 h			48 h			72 h		
8	5	8	10	10	8	10	10	8
4	4	8	10	9	9	10	10	9
7	7	10	10	9	10	10	9	10
4	2	10	10	8	10	10	8	10
3	6	7	9	10	9	10	10	10
3	6	6	10	10	8	10	10	8
4	4	8	7	10	8	10	10	8
5	5	4	9	9	8	9	9	9
7	7	7	8	10	10	8	10	10
8	6	6	10	10	10	10	10	10
4	3	8	10	9	10	10	10	10
5	4	7	9	10	9	9	10	9
7	7	7	9	10	9	10	10	9
8	5	8	10	10	10	10	10	10
6	7	7	9	10	10	10	10	10
7	8	5	10	10	7	10	10	7
6	8	8	9	9	9	9	10	9
8	9	6	10	10	7	10	10	8
4	9	6	9	10	9	10	10	9
7	6	6	10	9	8	10	9	8

Grupo E								
24 h			48 h			72 h		
7	9	5	10	10	9	10	10	9
5	6	10	9	8	10	10	10	10
7	8	5	10	9	8	10	10	8
6	8	8	10	9	10	10	9	10
9	7	6	9	10	9	10	10	10
9	8	9	10	9	9	10	9	10
9	7	7	10	10	8	10	10	8
8	7	8	9	10	10	9	10	10
6	5	7	9	9	10	10	9	10
7	5	10	10	10	10	10	10	10
9	6	9	10	8	10	10	8	10
9	7	8	10	9	10	10	9	10
10	8	8	10	10	10	10	10	10
7	7	7	10	8	8	10	8	8
8	6	8	9	9	10	10	9	10
9	9	7	10	10	7	10	10	7
7	9	8	10	9	10	10	9	10
10	7	8	10	9	10	10	9	10
7	8	5	10	10	7	10	10	7
6	7	7	9	10	9	10	10	9

Grupo F								
24 h			48 h			72 h		
9	9	5	10	10	10	10	10	10
9	7	10	10	10	10	10	10	10
9	7	9	9	10	10	10	10	10
9	8	9	10	10	10	10	10	10
10	10	8	10	10	10	10	10	10
10	9	9	10	10	10	10	10	10
10	10	9	10	10	10	10	10	10
9	10	10	10	10	10	10	10	10
10	10	7	10	10	10	10	10	10
9	10	9	10	10	10	10	10	10
9	9	10	9	9	10	9	10	10
10	9	10	10	9	10	10	9	10
9	9	8	9	10	10	10	10	10
10	9	9	10	10	9	10	10	10
9	9	10	10	9	10	10	10	10
9	10	9	9	10	10	10	10	10
10	10	9	10	10	10	10	10	10
5	10	9	10	10	9	10	10	10
8	9	9	10	9	9	10	10	9
9	10	9	9	10	9	10	10	9

Grupo T ₃								
24 h			48 h			72 h		
7	8	8	8	10	10	10	10	10
6	7	7	6	10	7	8	10	7
6	8	5	8	10	9	10	10	10
10	6	5	10	8	9	10	8	7
6	5	8	10	9	10	10	9	10
6	7	7	9	10	10	10	10	10
8	7	8	9	7	8	10	7	8
6	10	7	10	10	9	10	10	9
4	7	6	9	9	7	9	9	7
3	3	7	8	8	7	10	8	7
7	5	8	10	6	9	10	7	9
3	4	5	7	10	10	9	10	10
6	8	6	10	8	8	10	9	8
6	7	4	9	10	9	10	10	9
4	5	5	9	10	9	9	10	9
6	4	6	9	8	7	10	9	7
5	8	8	10	10	9	10	10	9
5	5	3	9	9	6	10	9	6
3	9	4	9	9	6	10	9	6
5	7	6	10	9	8	10	10	8

Grupo G								
24 h			48 h			72 h		
8	9	8	10	9	9	10	9	9
9	8	8	9	9	9	10	9	10
9	9	9	10	9	9	10	10	9
10	8	10	10	10	10	10	10	10
8	8	8	10	9	9	10	10	10
8	9	7	8	9	9	10	9	9
8	10	9	9	10	9	10	10	9
8	9	9	9	10	9	10	10	10
9	8	9	10	9	10	10	9	10
9	8	10	9	9	10	10	10	10
8	10	8	8	10	10	10	10	10
8	10	10	9	10	10	10	10	10
5	8	10	7	10	10	10	10	10
8	9	9	8	9	10	10	10	10
10	9	8	10	10	9	10	10	9
10	8	8	10	8	9	10	10	9
8	8	8	8	9	9	9	10	10
8	8	9	9	8	10	9	10	10
8	8	8	9	8	9	10	10	10
7	10	5	9	10	7	9	10	10

Grupo H								
24 h			48 h			72 h		
6	10	9	10	10	9	10	10	9
8	7	8	10	9	9	10	10	10
7	9	8	10	9	9	10	9	9
8	8	6	9	9	7	10	10	10
8	8	8	9	8	10	9	10	10
8	8	7	10	9	9	10	10	9
9	8	9	9	9	9	10	9	10
9	6	9	10	8	9	10	10	10
9	9	10	9	9	10	10	10	10
8	10	8	9	10	9	9	10	10
9	7	8	9	8	9	10	10	10
9	9	8	10	9	10	10	9	10
9	6	9	9	10	9	9	10	10
10	7	7	10	10	9	10	10	10
9	8	8	10	10	9	10	10	9
9	9	9	10	9	9	10	10	10
8	10	8	10	10	9	10	10	9
7	9	9	9	10	10	9	10	10
8	8	9	10	10	9	10	10	9
6	6	10	6	6	10	8	8	10

Grupo I								
24 h			48 h			72 h		
8	8	7	9	9	7	10	9	9
6	6	5	10	7	5	10	10	8
4	6	2	8	7	8	8	7	9
6	7	2	9	7	5	10	9	5
5	6	4	5	9	7	8	9	7
5	4	5	7	8	5	7	8	7
6	8	7	7	9	8	8	9	8
5	6	5	9	7	9	9	9	9
8	3	4	8	6	10	9	6	10
5	3	3	8	9	9	9	9	9
5	6	5	9	7	5	9	8	8
7	6	4	7	7	7	10	9	9
6	5	8	7	7	9	7	9	9
5	4	6	7	7	6	7	9	10
5	4	3	9	8	9	10	10	9
4	6	5	8	7	7	8	10	7
6	6	4	8	7	5	8	9	5
7	7	8	8	9	9	9	9	9
6	7	4	8	8	8	9	9	9
7	6	6	8	8	9	8	8	9

Grupo J								
24 h			48 h			72 h		
8	9	7	9	9	7	9	9	9
7	6	7	8	8	9	9	10	10
8	8	7	8	8	7	9	8	9
8	8	8	8	8	8	9	10	9
7	7	7	8	7	7	10	8	10
7	5	5	7	7	6	8	8	7
9	8	7	9	8	8	10	10	10
7	7	6	7	7	7	9	8	7
5	7	5	8	7	8	10	10	10
5	8	8	5	8	8	10	10	10
7	8	9	7	8	9	9	9	9
9	6	7	9	6	7	10	10	8
7	7	6	9	7	6	9	10	10
6	6	7	6	6	7	9	10	9
6	6	6	8	8	9	10	9	9
8	5	8	8	7	8	8	7	10
7	8	5	7	8	7	8	10	8
8	7	8	10	7	9	10	10	10
7	5	7	7	8	7	9	8	10
8	7	8	8	7	8	10	10	9

Grupo K								
24 h			48 h			72 h		
9	6	8	9	9	10	9	9	10
9	8	8	10	8	8	10	10	8
6	6	9	8	8	9	8	8	10
8	3	8	8	7	8	8	7	8
8	5	7	8	8	7	8	9	8
9	7	8	9	8	8	9	8	9
7	7	6	7	8	7	7	8	8
7	5	7	9	8	8	10	8	8
7	8	8	7	10	8	7	10	10
10	8	9	10	9	9	10	10	9
6	6	9	9	7	9	9	7	9
7	5	8	8	7	8	8	7	9
7	5	10	8	9	10	9	9	10
5	6	7	8	7	7	8	7	8
4	9	7	9	9	7	10	10	7
5	3	6	8	3	6	8	6	9
6	4	9	9	5	9	9	5	10
10	3	5	10	3	5	10	6	9
6	5	7	8	5	7	9	9	10
7	5	9	8	7	9	8	8	9

Grupo L								
24 h			48 h			72 h		
7	10	6	8	10	9	9	10	10
5	9	5	8	9	5	8	9	6
8	9	5	8	9	8	8	9	9
7	8	7	9	9	8	9	9	8
7	9	7	7	10	7	9	10	8
6	9	8	9	9	9	9	9	9
8	8	5	9	9	5	9	9	7
9	9	10	10	9	10	10	10	10
6	9	7	9	9	7	9	10	9
7	9	10	8	9	10	8	10	10
6	7	5	7	9	8	7	9	8
5	8	9	6	9	9	6	10	10
9	9	7	10	9	8	10	10	8
5	7	9	5	9	9	5	9	10
5	7	5	7	9	5	7	10	7
5	1	8	9	7	8	9	8	10
3	2	8	9	8	10	9	8	10
4	6	8	7	9	8	7	10	10
9	7	9	9	7	10	10	7	10
7	3	8	9	6	8	9	6	9

Grupo M								
24 h			48 h			72 h		
9	9	10	9	9	10	9	10	10
10	9	9	10	9	9	10	10	9
9	9	8	9	9	8	9	10	10
8	9	6	8	10	6	10	10	10
9	5	7	9	5	7	10	7	10
9	10	8	9	10	8	10	10	10
10	9	7	10	9	7	10	10	10
10	10	8	10	10	8	10	10	10
9	10	7	10	10	7	10	10	10
8	8	9	8	8	9	9	10	10
8	9	8	9	9	8	9	10	10
8	9	7	10	9	7	10	10	10
6	8	6	9	8	10	10	10	10
7	9	9	8	9	9	10	10	10
8	9	8	8	9	9	9	10	10
8	9	9	9	9	9	9	10	10
9	8	9	9	8	9	10	10	10
8	9	8	9	9	8	10	10	10
9	8	8	9	8	8	10	10	10
8	9	9	8	9	10	10	10	10

Grupo N								
24 h			48 h			72 h		
9	9	10	9	10	10	9	10	10
6	9	10	8	10	10	8	10	10
6	9	8	10	10	10	10	10	10
8	7	8	8	7	10	9	10	10
5	7	6	8	10	8	9	10	10
8	5	8	10	8	10	10	9	10
8	8	10	8	9	10	10	9	10
9	9	7	10	9	10	10	9	10
8	6	10	9	9	10	10	9	10
9	9	8	9	9	9	10	10	10
6	8	8	8	9	10	10	9	10
8	8	4	9	10	4	9	10	9
6	8	2	8	8	9	9	9	10
5	7	10	8	8	10	8	8	10
7	9	7	8	10	9	9	10	9
6	9	8	10	10	10	10	10	10
7	10	9	10	10	9	10	10	9
7	9	6	9	9	9	9	9	9
9	8	7	10	10	8	10	10	10
8	8	8	9	10	10	9	10	10

Anexo 2. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea* obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU + SPI.

A las 24 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.0.12888	6.45153E-4	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	99.24072	3	2.26333E-21

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-40.63333	-3.24129	0.00714	1
	1.37 x 85000	-104.04167	-8.29932	6.28255E-16	1
	1.37 x T ₃	6.975	0.55639	1	0
	137 x 85000	-63.40833	-5.05803	2.54164E-6	1
	137 x T ₃	47.60833	3.79768	8.76346E-4	1
	85000 x T ₃	111.01667	8.85571	4.98918E-18	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 48 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.31753	1.28319E-21	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	32.20283	3	4.74284E-7

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-6.88333	-0.55018	1	0
	1.37 x 85000	-35.53333	-2.84018	0.02705	1
	1.37 x T3	28.75	2.29799	0.12937	0
	137 x 85000	-28.65	-2.28999	0.13213	0
	137 x T3	35.63333	2.84817	0.02638	1
	85000 x T3	64.28333	5.13817	1.66459E-6	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 72h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.41634	7.3392E-37	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	28.0863	3	3.48366E-6

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-5.5	-0.43503	1	0
	1.37 x 85000	-32.1	-2.53896	0.06671	0
	1.37 x T ₃	21.2	1.67682	0.56146	0
	137 x 85000	-26.6	-2.10394	0.2123	0
	137 x T ₃	26.7	2.11185	0.2082	0
	85000 x T ₃	53.3	4.21579	1.49344E-4	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

Anexo 3. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad de larvas IV de *Spodoptera ochrea* obtenida por la exposición de las diferentes mezclas IBU 85000 mg/L + SPI.

A las 24 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.22135	1.00478E-10	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	99.96318	3	1.58275E-21

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	60 x 45	34.38333	2.7721	0.03342	1
	60 x 30	47.4	3.82155	7.95696E-4	1
	60 x T ₃	120.01667	9.67615	2.28469E-21	1
	45 x 30	13.01667	1.04945	1	0
	45 x T ₃	85.63333	6.90405	3.03243E-11	1
	30 x T ₃	72.61667	5.8546	2.86892E-8	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 48h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.26575	2.8571E-15	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	36.9435	3	4.72979E-8

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	60 x 45	49.80833	4.04257	3.17207E-4	1
	60 x 30	45.81667	3.7186	0.0012	1
	60 x T3	67.54167	5.48186	2.52532E-7	1
	45 x 30	-3.99167	-0.32397	1	0
	45 x T3	17.73333	1.43928	0.90042	0
	30 x T3	21.725	1.76326	0.46714	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 72h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.43307	7.56275E-40	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	33.25952	3	2.83921E-7

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	60 x 45	16.725	1.3236	1	0
	60 x 30	21.30833	1.68633	0.5504	0
	60 x T ₃	54.23333	4.29199	1.06249E-4	1
	45 x 30	4.58333	0.36272	1	0
	45 x T ₃	37.50833	2.96838	0.01796	1
	30 x T ₃	32.925	2.60566	0.05502	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

Anexo 4. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad obtenida por SPI 60 mg/L en larvas IV de *Spodoptera ochrea* tratadas previamente con diferentes concentraciones de IBU.

A las 24 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.14376	9.05862E-5	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	34.46845	3	1.57767E-7

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-64.79167	-5.19653	1.21826E-6	1
	1.37 x 85000	-57.00833	-4.57228	2.8947E-5	1
	1.37 x T ₃	-25.26667	-2.02648	0.25629	0
	137 x 85000	7.78333	0.62425	1	0
	137 x T ₃	39.525	3.17005	0.00914	1
	85000 x T ₃	31.74167	2.5458	0.06542	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 48h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.16334	4.9331E-6	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	34.17962	3	1.81553E-7

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	7.25833	0.58865	1	0
	1.37 x 85000	-16.86667	-1.36788	1	0
	1.37 x T ₃	-58.425	-4.73825	1.29341E-5	1
	137 x 85000	-24.125	-1.95653	0.30242	0
	137 x T ₃	-65.68333	-5.3269	5.99412E-7	1
	85000 x T ₃	-41.55833	-3.37037	0.0045	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 72 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.22856	2.09254E-11	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	18.89497	3	2.87416E-4

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-38.54167	-3.1072	0.01133	1
	1.37 x 85000	-0.61667	-0.04972	1	0
	1.37 x T ₃	-36.54167	-2.94596	0.01932	1
	137 x 85000	37.925	3.05748	0.01339	1
	137 x T ₃	2	0.16124	1	0
	85000 x T ₃	-35.925	-2.89624	0.02266	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

Anexo 5. Análisis estadístico, a las 24, 48 y 72h, de la mortalidad obtenida por la mezcla IBU + SPI en larvas IV de *Spodoptera ochrea* tratadas previamente con IBU.

A las 24 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
mortalidad	240	0.18646	9.84828E-8	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	56.83767	3	2.78333E-12

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-53.05833	-4.2548	1.25542E-4	1
	1.37 x 85000	-22.28333	-1.78692	0.4437	0
	1.37 x T ₃	38.10833	3.05594	0.01346	1
	137 x 85000	30.775	2.46788	0.08155	0
	137 x T ₃	91.16667	7.31074	1.59401E-12	1
	85000 x T ₃	60.39167	4.84287	7.67877E-6	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 48 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
Mortalidad	240	0.249	1.85402E-13	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	15.91482	3	0.00118

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-16.86667	-1.37415	1	0
	1.37 x 85000	-47.4	-3.86173	6.75509E-4	1
	1.37 x T ₃	-25.93333	-2.11282	0.2077	0
	137 x 85000	-30.53333	-2.48759	0.07717	0
	137 x T ₃	-9.06667	-0.73867	1	0
	85000 x T ₃	21.46667	1.74891	0.48183	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 72 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
mortalidad	240	0.33737	2.38006E-24	Rechazar la normalidad

Mortalidad: En el nivel de 0,05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"Mortalidad"	40.00744	3	1.06165E-8

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"Mortalidad": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"Mortalidad"	1.37 x 137	-66.96667	-5.32663	6.00295E-7	1
	1.37 x 85000	-42.36667	-3.36991	0.00451	1
	1.37 x T ₃	-20.06667	-1.59613	0.66275	0
	137 x 85000	24.6	1.95672	0.30228	0
	137 x T ₃	46.9	3.7305	0.00115	1
	85000 x T ₃	22.3	1.77378	0.4566	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

Anexo 6. Estadística comparativa de la mortalidad obtenida por la exposición a la mezcla IBU + SPI en larvas IV de *Spodoptera ochrea* con y sin tratamiento previo con IBU y T₃.

1. Comparación entre los grupos D - L y T₃

A las 24h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
24h	180	0.14382	0.00107	Rechazar la normalidad

24h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"24h"	9.98031	2	0.0068

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"24h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"24h"	D x L	-22.29167	-2.37314	0.05291	0
	D x T ₃	5.81667	0.61924	1	0
	L x T ₃	28.10833	2.99238	0.0083	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 48 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
48h	180	0.25764	6.4269E-11	Rechazar la normalidad

48h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"48h"	21.40121	2	2.25314E-5

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"48h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"48h"	D x L	42	4.53475	1.73014E-5	1
	D x T ₃	22.65	2.44553	0.04339	1
	L x T ₃	-19.35	-2.08922	0.11006	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 72 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
72h	180	0.29127	7.75389E-14	Rechazar la normalidad

72h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"72h"	12.93902	2	0.00155

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"72h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"24h"	D x L	31.46667	3.33957	0.00252	1
	D x T ₃	17.03333	1.80775	0.21193	0
	L x T ₃	-14.43333	-1.53182	0.3767	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

2. Comparación de E – M y T3

A las 24 horas

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
24h	180	0.17035	5.16964E-5	Rechazar la normalidad

24h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"24h"	57.60118	2	3.10501E-13

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"24h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"24h"	E x M	-32.94167	-3.52095	0.00129	1
	E x T ₃	37.99167	4.06072	1.46765E-4	1
	M x T ₃	70.93333	7.58167	1.02339E-13	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 48 horas

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
48h	180	0.24432	7.32905E-10	Rechazar la normalidad

48h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"48h"	17.82089	2	1.34972E-4

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"48h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"48h"	E x M	36.18333	3.90746	2.79819E-4	1
	E x T ₃	28.31667	3.05793	0.00669	1
	M x T ₃	-7.86667	-0.84953	1	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

A las 72 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
72h	180	0.40899	7.20407E-27	Rechazar la normalidad

72h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"72h"	19.77225	2	5.08758E-5

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"72h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"72h"	E x M	-14.05	-1.48098	0.41583	0
	E x T ₃	19.925	2.10025	0.10712	0
	M x T ₃	33.975	3.58123	0.00103	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

3. Comparación entre los grupos F - N y T₃

A las 24 h

Test de Normalidad Kolmogorov-Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
24h	180	0.17221	4.10317E-5	Rechazar la normalidad

24h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"24h"	79.35549	2	5.86373E-18

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"24h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"24h"	F x N	43.31667	4.6125	1.19357E-5	1
	F x T ₃	83.45833	8.88691	1.88488E-18	1
	N x T ₃	40.14167	4.27442	5.74919E-5	1

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

48 h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
48h	180	0.29657	2.49618E-14	Rechazar la normalidad

48h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"48h"	31.66192	2	1.33261E-7

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"48h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"48h"	F x N	32.71667	3.48037	0.0015	1
	F x T ₃	47.65833	5.06985	1.19437E-6	1
	N x T ₃	14.94167	1.58948	0.33586	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.

72h

Test de Normalidad Kolmogorov_Smirnov

	DF	Estadística	p-valor	Decisión a nivel (5%)
72h	180	0.40333	3.84026E-26	Rechazar la normalidad

72h: En el nivel de 0.05, los datos no se extrajeron significativamente de una población distribuida normalmente.

Test de Kruskal-Wallis

	Chi-Cuadrado	DF	Prob > Chi-Cuadrado
"72h"	28.66421	2	5.96548E-7

Hipótesis nula: Las muestras provienen de la misma población.

Hipótesis alternativa: Las muestras provienen de diferentes poblaciones.

"72h": En el nivel 0.05, las poblaciones son significativamente diferentes.

Test de Dunn

		Dif. rango medio	Z	Prob	Sig
"72h"	F x N	25.45	2.68718	0.02162	1
	F x T ₃	40.85	4.31321	4.82704E-5	1
	N x T ₃	15.4	1.62603	0.31183	0

Sig = 1, indica que la diferencia de las medias es significativa al nivel de 0.05.

Sig = 0, indica que la diferencia de las medias NO es significativa al nivel de 0.05.