

LINEAS BASE DE RESISTENCIA A CINCO INSECTICIDAS EN POBLACIONES DE PICUDO DEL CHILE *Anthonomus eugenii* Cano DE CULIACÁN, SINALOA

Fabián Avendaño-Meza¹, Saúl Parra-Terrazas¹, Roberto Gastélum-Luque¹, Miguel López-Meza¹, Raymundo Medina-López¹, Moisés Gilberto Yáñez Juárez¹. ¹Profesor Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Maxipista Culiacán-Mazatlán Km 17.5 Culiacán, Sinaloa A.P. 726. E-mail: fabian@uas.uasnet.mx

RESUMEN: Se realizó un bioensayo con poblaciones de picudo del chile colectadas en el Valle de Culiacán, Sinaloa con la finalidad de determinar la susceptibilidad de la plaga a insecticidas químicos sintéticos de diferente grupo o modo de acción, que se utilizan para su combate. Los resultados indican que la población ha desarrollado ligera tolerancia a los insecticidas malatión y clorpirifos etil, ya que se obtuvo un factor de resistencia de 5.21 y 3.86, respectivamente; valor que indica que actualmente se necesita ese número de veces más la cantidad de insecticida para obtener la DL₅₀, comparado con poblaciones susceptibles. Para thiamethoxam, oxamil y zetacipermetrina no se cuenta con datos para comparar, por lo tanto se proponen los valores de DL₅₀ del presente trabajo como líneas base para futuras referencias.

Palabras clave: bioensayo, susceptibilidad, tolerancia, toxicología.

Base line of resistance to five pesticides on pepper weevil *Anthonomus eugenii* Cano in Culiacan, Sinaloa

ABSTRACT: A bioassay was conducted with populations of pepper weevil of Culiacan, Sinaloa, in order to determine the susceptibility of the pest to different synthetic chemical insecticides or mode of action from a group commonly used for control in that region. The results indicate that the population is developing tolerance to insecticides, primarily malathion and chlorpyrifos ethyl because they showed a resistance factor of 5.21 and 3.86, this value indicate the number of times the amount of insecticide to reach the LD₅₀, compared with susceptible populations. For thiamethoxam, oxamyl and zetacypermethrin have no data to compare, therefore LD₅₀ values of this assay as a data line basis for future reference are proposed.

Key words: bioassay, susceptibility, tolerance, toxicology.

Introducción

El picudo del chile es una plaga clave durante la etapa de floración y fructificación del chile en todas las zonas productoras, ya que puede causar pérdidas masivas de frutos que en ocasiones alcanzan el 100% si no se toman medidas de combate. El daño causado por las larvas se manifiesta en el reducido número de frutos, su caída precoz, la maduración prematura y la producción de frutos deformes. Actualmente, la medida principal de control es la aplicación de insecticidas químicos-sintéticos que se hace cuando el monitoreo de adultos indica que es necesario; no obstante se sospecha que esta plaga está desarrollando resistencia en ciertas zonas productoras (Jiménez, 2004). Para determinar si una población de campo es resistente o susceptible, es necesario el conocimiento de la susceptibilidad base, la cual se encontrará en una población que no ha sido expuesta previamente a insecticidas y que servirá como punto de referencia para el análisis de futuros trabajos (Lagunes y Villanueva, 1994).

Según expertos de la FAO una población de insectos se considera resistente cuando la DL₅₀ calculada para esa población es dos veces mayor a la DL₉₉ de una colonia susceptible (FAO, 1979). Quiñónez y Flores (1991) realizaron un trabajo para determinar los niveles de susceptibilidad del barrenillo del chile a varios insecticidas en la localidad de Ojinaga, Chihuahua y señalan que las poblaciones del insecto no están sometidas a la presión de las aplicaciones de agroquímicos, por lo tanto, los resultados obtenidos pueden considerarse como los de una población susceptible y servir

Avendaño-Meza *et al.*: Líneas base de resistencia a cinco insecticidas en poblaciones de picudo del chile...

como una línea base para posteriores investigaciones. Avendaño *et al.* (2005) realizaron un estudio toxicológico para determinar si poblaciones de picudos colectadas en campos de La Cruz de Elota, Culiacán y Angostura en el estado de Sinaloa manifiestan tolerancia y/o resistencia comparadas con colonias susceptibles previamente evaluadas; los resultados indican que la población de picudos de Culiacán presentan tolerancia intermedia entre las poblaciones de La Cruz de Elota y Angostura; las dosis letales medias para los diferentes productos en la zona de Culiacán fueron: cyflutrin (0.085), azinfos metil (0.036), malatión (0.980), clorpirifos etil (0.024) y carbaril (0.890). En un trabajo realizado por Aispuro (2005) se señala que la respuesta al cyflutrin de tres poblaciones de picudos del chile colectados en Campo Ceuta, Caimanes y Tayoltita de la Cruz de Elota, Sinaloa, fue bastante heterogénea y con valores de CL_{50} muy altos (1'484,756, 63,318 y 42,200 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente), por lo que recomienda disminuir el uso de este producto en los campos mencionados.

En Sinaloa, la alta presión de selección con agroquímicos genera las condiciones idóneas para que las plagas desarrollen resistencia a insecticidas. En las últimas temporadas se ha manifestado una mayor dificultad para el control de esta plaga con los insecticidas usados convencionalmente; sin embargo, son escasos los trabajos sobre la susceptibilidad de la plaga a dichos insecticidas. A pesar del uso abundante de productos químicos para combatir al picudo del chile, se desconoce la susceptibilidad de esta plaga a los insecticidas empleados para su combate. El conocimiento que se genera con este tipo de trabajos es de suma importancia para utilizar los plaguicidas de manera racional. Por lo anterior y con la finalidad de proveer los datos necesarios que enriquezcan este tópico, se planteó el presente trabajo cuyos objetivos principales fueron el de determinar la dosis letal media (DL_{50}) de insecticidas químico-sintéticos en adultos de picudo del chile y comparar la susceptibilidad a insecticidas en colonias de picudo del chile colectadas en el Valle de Culiacán, Sinaloa; así como el de establecer líneas base que sirvan como referencia para el monitoreo de la resistencia a los insecticidas malation, clorpirifos etil, oxamil, thiametoxam y zetacipermetrina.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el laboratorio de Toxicología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en el km 17.5 de la carretera Culiacán-Eldorado, municipio de Culiacán, Sinaloa; para esto se colectaron frutos de chile atacados por el picudo en parcelas de agricultores cooperantes de Culiacán, Sinaloa. Estos frutos infestados se llevaron al laboratorio en donde fueron lavados y desinfectados superficialmente con Hipoclorito de Sodio al 0.1% y se confinaron por separado en charolas de plástico de medio litro de capacidad cubiertas con tela de tul, para esperar la emergencia de los adultos y facilitar su colecta. Una vez que emergieron los adultos, se procedió a hacer los bioensayos correspondientes para determinar la DL_{50} de los insecticidas.

Los productos que se evaluaron en el bioensayo fueron clorpirifos etil y malatión (organofosforados), oxamil (carbamato), zetacipermetrina (piretroide) y thiametoxam (neonicotinoide); las soluciones se prepararon en el laboratorio a las concentraciones correspondientes a partir del producto formulado, cuya concentración se consideró como la solución madre, a partir de la cual se diluyeron las concentraciones inferiores. Las preparaciones se hicieron en frascos de 20 ml con tapa para su cierre hermético y se protegieron de la luz para evitar la fotodegradación del producto. A partir de las soluciones madre se prepararon dosis de menor concentración en proporción logarítmica que consistieron en medir 1 ml de la solución madre (10%) y aforar a 10 ml con acetona para obtener la solución al 1% y a partir de ésta preparar, mediante el mismo procedimiento, la dilución al 0.1% y así, sucesivamente, hasta obtener la concentración de 0.00001% para determinar la ventana biológica de cada producto, que es el intervalo de respuesta del tóxico desde el 0% al 100% de mortalidad. A partir de estos datos se determinaron las dosis intermedias mediante la fórmula $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$, donde C_1 es

concentración inicial, V_1 es volumen inicial, C_2 es concentración final y V_2 es volumen final; con estas diluciones se realizaron los bioensayos definitivos para determinar la DL_{50} y DL_{95} de cada insecticida.

Los bioensayos se realizaron utilizando el método de aplicación tópica que, según Lagunes y Vázquez (1994), consiste en aplicar 1 μ l de la solución insecticida-solvente en una región determinada del cuerpo del insecto. Todas las pruebas se realizaron bajo condiciones ambientales en el laboratorio. Se trataron adultos de picudo del chile de uno a tres días de emergidos del fruto, para lo cual se recolectaron cada tres días y se seleccionaron por tamaño, sin tomar en cuenta el sexo, para aplicarles sobre el pronoto 1 μ l de solución de las dosis previamente preparadas mediante una microjeringa marca Hamilton adaptada a un repetidor manual que, en conjunto, tienen capacidad de liberar 1 μ l por cada graduación. Para realizar este proceso, los insectos se anestesiaron con éter para facilitar su manejo durante la manipulación en el laboratorio. Posterior a la aplicación del insecticida, los adultos se pasaron a vasos de unicel, donde se colocaron frutos de chile como sustrato alimenticio para que la mortalidad no ocurra por inanición.

Por cada dosis se trataron 10 adultos, se realizaron cuatro repeticiones en días diferentes, incluyendo un testigo por serie, al que sólo se le aplicó acetona. Para cada insecticida se emplearon nueve dosis más un testigo, para lo cual se necesitaron 100 adultos por repetición. Las lecturas de mortalidad se tomaron a las 24 horas después de la aplicación, observando cada insecto tratado en forma individual. El criterio que se tomó para considerar muerto a los picudos fue que se mantuvieran inmóviles, en posición dorsal o lateral, o que presentaran movimientos anormales y no reaccionaran al presionarle el rostrum con una pinza. El porcentaje de mortalidad fue corregido con la ecuación de Abbot (Abbot, 1925). Debido a que prácticamente todas las poblaciones de campo del picudo del chile están sujetas a presión de selección, es difícil evaluar de manera simultánea una colonia que se considere susceptible a insecticidas y que sirva como punto de referencia. Por tal motivo, para determinar si las poblaciones colectadas en campo manifiestan el fenómeno de resistencia, se tomó como patrón de comparación o línea base los datos de una colonia de picudos procedente de Ojinaga, Chihuahua (Cuadro 1) reportada como susceptible por Quiñones y Flores (1991) y los resultados obtenidos por Avendaño *et al.* (2001) en una colonia de picudos colectada en el valle de Culiacán, Sinaloa, datos que sirvieron de base en los análisis comparativos.

Cuadro 1. Dosis letal media (DL_{50}) y dosis letal al 95% (DL_{95}) de insecticidas en dos colonias susceptibles de barrenillo del chile *Anthonomus eugenii* Cano.

Insecticida	DL_{50}	DL_{95}
Fenvalerato	0.076	0.865 *
Malation	0.288	2.618 *
Cyflutrin	0.035	4.950 **
Clorpirifos etílico	0.052	0.949 **

* Respuesta de una población procedente de Ojinaga, Chihuahua (Quiñones y Flores, 1991).

** Respuesta de una población procedente de Culiacán, Sinaloa (Avendaño *et al.* 2001).

La evaluación estadística se realizó usando el método de máxima verosimilitud con el procedimiento Probit \log_{10} del programa estadístico SAS (SAS Institute, 2002), mediante el cual se calcularon las respuestas dosis-mortalidad (línea $ld-p$) y los valores de DL_{50} y DL_{95} para cada insecticida, así como los valores de la pendiente de la línea de regresión.

Resultados y Discusión

Los resultados de los bioensayos realizados con la población de adultos del picudo del chile colectados en el Valle de Culiacán, muestran que el producto más tóxico fue el thiametoxam, ya que el valor de DL_{50} fue el más bajo registrado con 0.064 μ g/adulto, le sigue el clorpirifos etil con una DL_{50}

Avendaño-Meza *et al.*: Líneas base de resistencia a cinco insecticidas en poblaciones de picudo del chile...

de 0.201 $\mu\text{g}/\text{adulto}$, oxamil con una DL_{50} de 0.271 $\mu\text{g}/\text{adulto}$, zetacipermetrina y malatión con DL_{50} de 0.803 y 1.503, respectivamente (Cuadro 2). Al comparar estos resultados con los reportados por Quiñónez y Flores (1991) para una colonia de picudos susceptibles de Ojinaga, Chihuahua, se calcula un incremento en nivel de tolerancia de la población en estudio en 5.21 unidades para malatión. Este valor del factor de resistencia es un indicativo de que la población de insectos está incrementando ligeramente la tolerancia hacia este producto.

En lo que respecta al monitoreo de la resistencia comparada con datos locales, cabe mencionar que la tolerancia a malatión se incrementó ligeramente con respecto a los resultados obtenidos por Avendaño *et al.* (2005) en el cual se obtuvo una DL_{50} de 0.980 $\mu\text{g}/\text{adulto}$. Si se comparan los resultados obtenidos en el presente bioensayo con respecto a clorpirifos etil, se observa un incremento en la proporción de la resistencia en 3.86 unidades con respecto a la colonia de referencia reportada por Quiñónez y Flores (1991), lo cual es un indicativo que las poblaciones de picudos están respondiendo a la presión de selección ejercida por este producto, aunque en menor escala que para malatión, debido, probablemente, a que el clorpirifos etil se utiliza en menor cantidad en cuanto a volumen y número de veces aplicado en la temporada; sin embargo, se observa que, a partir de 2005, se ha incrementado la tolerancia a este producto en 8.37 veces comparado con la DL_{50} obtenida por Avendaño *et al.* (2005) para una población de Culiacán, la cual fue de 0.024 $\mu\text{g}/\text{adulto}$.

Para los insecticidas oxamil, thiametoxam y zetacipermetrina no se tienen datos con el método de aplicación tópica para una colonia susceptible para comparar, por lo tanto se proponen los listados en el Cuadro 2 como referencia para futuros trabajos sobre monitoreo de la resistencia en Culiacán, Sin. Es importante señalar que la dosis de 0.803 $\mu\text{g}/\text{adulto}$, calculada para zatacipermetrina en este bioensayo, es relativamente alta para un piretroide, ya que en estudios anteriores se han obtenido valores de DL_{50} de 0.076 $\mu\text{g}/\text{adulto}$ para fenvalerato en el estudio realizado por Quiñónez y Flores (1991), 0.147 y 0.159 $\mu\text{g}/\text{adulto}$ para el mismo producto, reportado por López (1996) en dos regiones de San Luís Potosí, 0.035 $\mu\text{g}/\text{adulto}$ para cyflutrin en una colonia considerada como susceptible por Avendaño *et al.* (2001). Aunque no es correcta la comparación entre ingredientes activos diferentes, cabe aclarar que la falta de eficiencia para cyflutrin en la práctica se debe a la tolerancia que se ha presentado para este producto, según investigaciones realizadas por Aispuro (2005) y que se extiende, en mayor o menor grado a los demás piretroides ya que comparten mecanismos de resistencia similares.

Los valores de la pendiente (b) indican la homogeneidad o heterogeneidad de los datos, según sea el caso; en el presente trabajo la respuesta más homogénea se logró con los productos clorpirifos etil y oxamil, ya que obtuvieron valores de 3.14 y 2.00, respectivamente. Este parámetro indica que la mortalidad de la población de insectos a estos productos fue proporcional al incremento de la dosis. Por el contrario, malation, zetacipermetrina y thiametoxam presentaron una respuesta más errática en cuanto a la relación dosis-mortalidad, tal como se puede observar en los valores expresados en el Cuadro 2, es decir, que al menos en una de las dosis se presentan irregularidades, ya que en dosis mayores se eliminan menos insectos que en dosis inferiores. Este fenómeno se refleja especialmente en thiametoxam, ya que presentó el valor más bajo ($b=1.30$), por lo tanto se considera que se obtuvo una respuesta heterogénea. Lo anterior se traduce en términos prácticos a que, probablemente, estén interactuando poblaciones susceptibles y tolerantes a este insecticida en un mismo nicho y explicaría el hecho del porqué en algunas ocasiones no se controla satisfactoriamente al picudo del chile al aplicar dicho producto.

Cuadro 2. Resultados de los bioensayos realizados con el método de aplicación tópica en la población de picudos del chile colectados en Culiacán, Sinaloa. 2010.

Insecticida	DL ₅₀	L.F. 95%	DL ₉₅	b±ES	F.R.
Malation	1.503	0.967-2.138	23.381	1.38±0.17	5.21
Clorpirifos etil	0.201	0.167-0.239	0.672	3.14±0.33	3.86
Oxamil	0.271	0.204-0.339	1.804	2.00±0.23	
Thiametoxam	0.064	0.045-0.087	1.195	1.30±0.15	
Zetacipermetrina	0.803	0.632-1.010	5.668	1.94±0.20	

L.F.: Límites fiduciales (es el intervalo donde existe la probabilidad de encontrar la DL₅₀)

b: Valor de la pendiente de la línea de regresión (indica la homogeneidad de los resultados)

F.R.: Factor de Resistencia (resultado de dividir la DL₅₀ de la población en estudio entre la DL₅₀ de la colonia de referencia)

Para el manejo de la resistencia, la rotación entre insecticidas con diferente modo de acción es una práctica más recomendable que las mezclas de tanque. Sin embargo, para asegurar el control o ampliar el espectro de acción a otras plagas, a menudo se considera necesario mezclar diferentes productos y cuando esto ocurra, es importante que los insecticidas seleccionados sean de diferente modo de acción, que sean eficaces contra la plaga y que tengan el mismo periodo de persistencia en el ambiente en el cual estarán en contacto con la plaga. Se debe considerar que, con el uso de múltiples productos con el mismo modo de acción, se incrementa la presión de selección de la plaga hacia esos productos y hacia otros relacionados toxicológicamente. Finalmente, como estrategia de manejo de insecticidas para retrasar la resistencia del picudo del chile, Gastélum *et al.* (2009) recomiendan la rotación de insecticidas de diferente modo de acción, entre los cuales consideran a oxamil y carbaril (carbamatos); malatión, clorpirifos etil y azinfos metil (fosforados); permetrina, cyflutrin y zetacipermetrina (piretroides); thiamethoxam (neonicotinoide); criolita (inorgánico) y diflubenzurón (regulador del crecimiento de insectos), entre otros.

Agradecimientos

Se agradece a la Junta Local de Sanidad de Vegetal de la Cruz de Elota, Sinaloa por el apoyo y financiamiento otorgado para la realización del presente trabajo.

Literatura Citada

- Abbot, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 263-267.
- Aispuro, F. A. 2005. Respuesta toxicológica del picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano a cinco insecticidas en laboratorio. Tesis de Licenciatura en Ciencias Agropecuarias con Opción en Protección Vegetal. Facultad de Agronomía-UAS. 47 p.
- Avendaño, M. F., Gastélum, L. R., Ruiz, V. M. y López, M. M. 2001. Susceptibilidad del “Picudo del chile” *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera:Curculionidae) a insecticidas en Culiacán, Sin. XXXVI Congreso Nacional de Entomología y XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. ITESM-Campus Querétaro. Querétaro, Qro. pp. E-106.
- Avendaño-Meza, F., R. Gastélum-Luque, V. Acosta-Villegas, M. López-Meza y R. Medina-López. 2005. Evaluación toxicológica de insecticidas en poblaciones de picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano de tres regiones del centro de Sinaloa. En: 2ª Muestra y publicación de resultados de investigación científica agropecuaria. pp. 371-375.
- F.A.O. 1979. Recommended methods for detection and measurement of resistance in agricultural pests to pesticides. Plant Protection Bulletin (27): 29-32.

Avendaño-Meza *et al.*: Líneas base de resistencia a cinco insecticidas en poblaciones de picudo del chile...

- Gastélum, L. R., M. López M., T. P. Godoy A. y F. Avendaño M. 2009. Estrategias para el manejo del picudo o barrenillo del chile. En: Jornada para el manejo de plagas y enfermedades de impacto en la horticultura. Memoria de capacitación. Fundación Produce Sinaloa, SAGARPA. Gob. del estado de Sinaloa. pp. 27-41.
- Jiménez, S. H. (Editor). 2004. Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de chile dulce. Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza CATIE. Proyecto Manejo Integrado de Plagas. Turrialba, Costa Rica. 141 p.
- Lagunes, T. A. y M. Vázquez N. 1994. El bioensayo en el Manejo de Insecticidas y Acaricidas. Colegio de Posgraduados, México. pp. 60.
- Lagunes, T. A. y J. A. Villanueva. 1994. Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Posgraduados. México. 264 p.
- López, T. M. E. 1996. Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones de campo de adultos del barrenillo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) procedentes de San Luis Potosí, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México. 24 p.
- Quiñónez, P. F. y Flores, M. A. 1991. Toxicidad a insecticidas en poblaciones de picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera:Curculionidae) en el estado de Chihuahua. Resúmenes del XXVI Congreso Nacional de Entomología, Universidad Cristóbal Colón. Veracruz, Ver. pp. 264.
- SAS Institute, 2002. The SAS System for Windows™ Release 9.00. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.