

LÍNEAS BASE DE SUSCEPTIBILIDAD A TRES INSECTICIDAS EN POBLACIONES DE PICUDOS DEL CHILE *Anthonomus eugenii* Cano, 1894 (COLEOPERA: CURCULIONIDAE) DEL ESTADO DE SINALOA

Fabián Avendaño-Meza¹✉, José L. Corrales-Madrid¹, Saúl Parra-Terraza¹, Raymundo Medina-López¹, Sergio S. Gaspar-Aguilar² y Fabián D. Avendaño-Jatomea¹

¹Universidad Autónoma de Sinaloa. Ángel Flores y Riva Palacio S/N Colonia Centro. Culiacán, Sinaloa. México C. P. 80000.

²Fundación Produce Sinaloa. Juan Carrasco 787 Colonia Centro. Culiacán, Sinaloa. México. C. P. 80000.

✉ Autor de correspondencia: fabian@uas.edu.mx

RESUMEN. El picudo o barrenillo es la plaga más importante del cultivo del chile, ataca tanto a chiles dulces como picosos. El uso de insecticidas químicos convencionales es la práctica más común para su combate. Lo anterior genera una presión de selección sobre la plaga que provoca problemas resistencia. Se hicieron bioensayos con poblaciones de picudo del chile de La Cruz de Elota, Culiacán y El Rosario, Sinaloa durante los años 2010 y 2014. Los bioensayos se realizaron con el método de aplicación tópica. Se determinó la susceptibilidad de la plaga a los insecticidas malatión, oxamil y thiametoxam. La población de La Cruz de Elota es más tolerante a los tres insecticidas. La tolerancia más alta se registró para thiametoxam en la población de La Cruz de Elota y se considera como una población con nivel alto de resistencia a este insecticida. Se proponen como líneas base las DL_{50} de 0.200 y 0.044 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ para malatión y oxamil en los bioensayos realizados en 2010 y 0.011 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ para thiametoxam en el bioensayo en 2014.

Palabras clave: Bioensayo, resistencia, análisis probit, presión de selección, toxicología.

Baselines of susceptibility to tree insecticides in pepper weevil *Anthonomus eugenii* Cano, 1824 (Coleoptera: Curculionidae) from Sinaloa State, México

ABSTRACT. The pepper weevil is the most important pest of sweet and spicy chilies. The use of conventional chemical insecticides is the most common practice for its combat. This generates a select pressure on the pest causing resistance problems. Bioassays were carried out with pepper weevil populations of La Cruz de Elota, Culiacan and El Rosario, Sinaloa during the years 2010 and 2014. Bioassays were done with topical application method. The pepper weevil susceptibility to malathion, oxamyl and thiamethoxam was calculated. The pepper weevil population of La Cruz de Elota is the more tolerant to insecticides. The highest levels of tolerance were recorded for thiamethoxam in pepper weevils from La Cruz de Elota and it is regarded a very tolerant population to this insecticide. $LD_{50} = 0.200$ and $0.044 \mu\text{g insect}^{-1}$ to malathion and oxamyl in bioassays conducted in 2010 and $LD_{50} = 0.011 \mu\text{g insect}^{-1}$ for thiamethoxam in 2014 are proposed as baselines for pepper weevil.

Key words: Bioassay, resistance, probit analysis, selection pressure, toxicology.

INTRODUCCIÓN

El picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano es una plaga clave durante la etapa de floración y fructificación en todas las zonas productoras de chile. 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. El uso intensivo de insecticidas químicos convencionales es la práctica de combate más común para esta plaga y la aplicación es dirigida sólo a los adultos (García-Nevárez *et al.*, 2012). Se hipotetiza 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, 1999). Según expertos de la F. A. O. una población de

insectos se considera resistente cuando la DL_{50} calculada para esa población es dos veces mayor a la DL_{99} de una colonia susceptible (F. A. O., 1979). Investigadores de Ciba-Geigy (1991) señalan que, con los valores del factor de resistencia (FR), ésta se puede catalogar de la siguiente manera: de 1 a 3 X, la población es susceptible; de 4 a 10 X, es tolerante; más de 10 X, presenta una resistencia incipiente; más de 100 X, presenta una resistencia acentuada y más de 1000 X, se considera alta resistencia. A su vez, Young-Joon *et al.* (2004) consideran a la resistencia como baja si el FR es menor a 10 X; resistencia moderada si los valores están entre 10 y 40 X; resistencia alta si se alcanzan valores de 41 a 160 X y resistencia extremadamente alta si los valores exceden los 160 x. 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 plaguicidas. 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. Esta información es muy importante para manejar de manera racional a dichos productos. Por tal motivo, y con la finalidad de proveer los datos necesarios que enriquezcan este tópico, se planteó el presente trabajo con los objetivos de estimar la proporción de resistencia desarrollada por el picudo del chile a los insecticidas malatión, oxamil y thiametoxam, establecer líneas base para estos insecticidas en poblaciones de picudo del chile y generar información para diseñar estrategias de manejo eficientes de los insecticidas que se utilizan para combatir al picudo del chile en Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODO

Durante los meses de enero a mayo de 2010 y 2014 se realizaron bioensayos para determinar la susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de picudos del chile de tres áreas agrícolas del estado de Sinaloa. Se colectaron frutos de chile atacados por *A. eugenii* en plantaciones comerciales en Culiacán y La Cruz de Elota y en una parcela ejidal en el municipio de El Rosario. Los frutos se llevaron al 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, donde se lavaron y desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 0.1 % y se confinaron por separado en recipientes de plástico de medio litro de capacidad cubiertos con tela de malla 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 cada insecticida. Se prepararon diluciones de los insecticidas malatión (organofosforado), oxamil (carbamato) y thiametoxam (neonicotinoide) a partir de concentrado grado técnico y acetona como solvente. Las preparaciones se hicieron en frascos de 20 ml con tapa para que cierre herméticamente, éstos se protegieron de la luz para evitar la fotodegradación del producto. A partir de soluciones madre al 10 % se prepararon dosis de menor concentración en proporción logarítmica para obtener las diluciones del 1 % al 0.00001 %. Se determinó 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 calcularon las dosis intermedias; 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, en el caso del picudo del chile se le aplica una gota en el pronoto. Se utilizó una microjeringa adaptada a un dispensador de repetición manual PB600 Hamilton. Todas las pruebas se realizaron bajo condiciones ambientales de laboratorio. Se tomaron los adultos de picudo del chile de uno a tres días de emergidos del fruto, sin tomar en cuenta el sexo. Para realizar este proceso, los insectos se anestesiaron con CO_2 para facilitar su manejo en laboratorio. Posterior a la aplicación del

insecticida, los insectos se pasaron a vasos de unicel con frutos de Chile como sustrato alimenticio para que la mortalidad no ocurriera por inanición. Por cada dosis se trataron 10 adultos, se realizaron cuatro repeticiones en días diferentes. Para cada insecticida se emplearon de seis a nueve dosis más el testigo, al que sólo se le aplicó acetona. Las lecturas de mortalidad se tomaron a las 24 horas después de la aplicación, se observó 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 pinzas. El porcentaje de mortalidad se corrigió con la ecuación de Abbott (Abbott, 1925). Para determinar si las poblaciones colectadas en campos de Culiacán y La Cruz de Elota manifiestan el fenómeno de resistencia, se tomó como patrón de comparación o línea base los datos de la colonia de picudos de El Rosario, Sinaloa. Se considera susceptible ya que esta zona fue recientemente abierta a la agricultura, sólo se aplica fipronil para combatir al picudo y ocasionalmente piretroides para otras plagas, cuenta con mayor biodiversidad y no está sometida a presión de selección por los insecticidas considerados en el presente trabajo, además está aislada de centros de explotación intensiva del cultivo del Chile. La evaluación estadística se realizó con el procedimiento Probit \log_{10} del programa estadístico SAS (SAS, 2008). Se calcularon los valores de DL_{50} y DL_{95} para cada insecticida con sus respectivos intervalos de confianza o límites fiduciales (LF); así como los valores de la pendiente de la línea de regresión y las respuestas dosis-mortalidad. El programa hace un ajuste de regresión lineal entre los logaritmos del estímulo y las unidades probit de la respuesta (Ldp) y una prueba de bondad de ajuste mediante el cálculo de la Ji-cuadrada (χ^2) de los datos para cada insecticida y cada población de insectos, bajo la hipótesis nula de que los datos se ajustan a una línea recta (Robertson *et al.*, 2007). Si el valor de la χ^2 observado es mayor al valor tabulado, los datos no se ajustan a una línea recta y es un indicativo de fallas en la manipulación metodológica, o bien, no existe tal recta, debido a la heterogeneidad genética de los individuos en la muestra en su respuesta al tóxico (Lagunes y Vázquez, 1994, Rodríguez *et al.*, 2009). La proporción o factor de resistencia (FR) se calculó dividiendo la DL_{50} y DL_{95} de las poblaciones de La Cruz y Culiacán entre la DL_{50} y DL_{95} de la población de El Rosario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayos 2010. En los bioensayos con malation, la población de La Cruz de Elota registró las DL más altas, tanto al 50 % como al 95 %, los FR también fueron los más altos (Cuadro 1). De acuerdo a los criterios Young-Joon *et al.* (2004) y de investigadores de Ciba (1991), se puede catalogar a la población de picudos del Chile de La Cruz de Elota con una tolerancia moderada. La población de Culiacán es estadísticamente diferente tanto a la población de El Rosario, como a la de La Cruz de Elota y se considera que está en proceso de tolerancia para este insecticida. Los valores de χ^2 indican que los datos de las tres poblaciones están dentro del rango de aceptación y se ajustan a una línea recta.

Para oxamil, las DL más altas se registraron en la población de La Cruz de Elota, el FR_{50} indica que esta población está adquiriendo tolerancia a este insecticida. La población de Culiacán manifiesta una tolerancia más baja y se considera estadísticamente diferente a las poblaciones de La Cruz de Elota y El Rosario; en esta última se obtuvo el valor más bajo de susceptibilidad. En cuanto a su respuesta al tóxico con respecto al valor de la χ^2 en la prueba de bondad de ajuste, se considera que las tres poblaciones están dentro del rango de aceptación y los datos se ajustan a una línea recta (Cuadro 1).

El valor más alto de DL_{50} para thiametoxam se registró en la población de La Cruz de Elota, ésta es estadísticamente igual a la de Culiacán en su respuesta a este tóxico ya que sus límites fiduciales se traslapan a nivel de la DL_{50} . Sus respuestas relativas o el FR_{50} son también muy

similares y se consideran como poblaciones moderadamente tolerantes. En la población de El Rosario se registró el valor más bajo para este producto (Cuadro 1). La prueba de χ^2 indica que los datos obtenidos en las poblaciones de El Rosario y La Cruz de Elota no se ajustan al modelo lineal, lo cual puede ser un indicativo de que no existe tal recta debido a posible heterogeneidad genética de los individuos en las muestras en su respuesta al tóxico tal como lo indican Lagunes y Vázquez (1994) y Rodríguez *et al.* (2009).

Cuadro 1. Toxicidad a insecticidas en tres poblaciones de picudo del chile *A. eugenii* del Estado de Sinaloa. 2010.

Insecticida	N*	DL ₅₀ (LF 95%) ^ε	DL ₉₅ (LF 95%) ^ε	b	χ^2	Pr > χ^2	FR ₅₀ [¥]	FR ₉₅ [¥]
Malation								
El Rosario	120	0.200 (0.06-0.45)	1.60 (0.64-37.3)	1.819	8.605	0.071	--	--
Culiacán	180	1.521 (0.95-2.22)	29.1 (15.4-85.6)	1.282	5.223	0.265	7.61	18.18
La Cruz	240	4.728 (2.94-6.49)	81.9 (44.2-266)	1.328	6.982	0.137	23.64	51.18
Oxamil								
El Rosario	180	0.044 (0.03-0.05)	0.28 (0.18-0.57)	2.044	1.671	0.796	--	--
Culiacán	320	0.266 (0.20-0.34)	2.11 (1.50-3.47)	1.827	7.993	0.239	6.04	7.54
La Cruz	280	0.698 (0.51-0.91)	9.01 (5.58-19.2)	1.481	6.057	0.301	15.86	32.18
Thiametoxam								
El Rosario	180	0.005 (0.001-0.014)	0.085 (0.02-54.4)	1.343	12.23	0.016	--	--
Culiacán	280	0.064 (0.04-0.09)	1.19 (0.70-2.61)	1.296	6.066	0.300	12.80	14.00
La Cruz	240	0.072 (0.01-0.22)	1.27 (0.31-1722)	1.376	18.16	0.001	14.40	14.94

*Número de insectos tratados.

^εDosis Letal Media expresada en $\mu\text{g adulto}^{-1}$ y Límites Fiduciales al 95 %.

^εDosis Letal 95 expresada en $\mu\text{g adulto}^{-1}$ y Límites Fiduciales al 95 %.

b Pendiente de la línea de regresión.

[¥]Factor de resistencia, resultado de dividir la DL de la población problema entre la DL de la colonia de referencia.

Bioensayos 2014. En los bioensayos con malation, la población de La Cruz de Elota registró las DL más altas, tanto al 50 % como al 95 %, el FR también fue el más alto (Cuadro 2). De acuerdo a los criterios Young-Joon *et al.* (2004) y de investigadores de Ciba (1991), se puede considerar a la población de picudos del chile de La Cruz de Elota con una tolerancia moderada y con una tendencia homogénea a desarrollar resistencia si no se toman medidas correctivas a tiempo, ya que el valor de pendiente de la línea de regresión fue relativamente alto. Las poblaciones de Culiacán y El Rosario resultaron más susceptibles a este insecticida. Los valores de χ^2 indican que los datos de las tres poblaciones pasaron la prueba de bondad de ajuste y se considera que la respuesta al tóxico fue homogénea.

Para oxamil, las DL más altas también se registraron en la población de La Cruz de Elota. La pendiente de la línea de regresión alcanzó el nivel más bajo de las tres poblaciones, lo que sugiere que es una población heterogénea en cuanto a la respuesta al tóxico. El FR₅₀ indica que se está adquiriendo tolerancia a este insecticida en la población de La Cruz de Elota y, dado el valor alto de la χ^2 , probablemente se tengan núcleos de insectos resistentes interactuando con susceptibles, situación que se refleja en el FR₉₅ que se eleva hasta 38.27 X. La población de Culiacán manifiesta una tolerancia relativamente baja, aunque no se considera estadísticamente diferente a la población de La Cruz de Elota ya que coinciden en sus límites fiduciales, difiere estadísticamente de la población de referencia de El Rosario. Esta última se recomienda como línea base, dado el carácter homogéneo que manifiesta en cuanto a su respuesta al tóxico y al valor bajo de la χ^2 en la prueba de bondad de ajuste (Cuadro 2).

Los valores más bajos de DL₅₀ se registraron para thiametoxam, lo que indica que éste es uno de los productos más tóxicos para el picudo del chile y ha sido, hasta ahora, uno de los más efectivos; sin embargo, según los datos obtenidos en este trabajo, también es uno de los insecticidas

más explotados y propenso a que se desarrolle resistencia hacia él, sobre todo en la región de La Cruz de Elota (Cuadro 2). La prueba de χ^2 indica que los datos obtenidos en las tres poblaciones se ajustan a una línea recta, y por el valor de la pendiente, se pueden catalogar como de una respuesta homogénea. Lo anterior es particularmente negativo en el caso de la población de La Cruz de Elota ya que, según los criterios de Young-Joon *et al.* (2004), ésta se considera como una población con nivel alto de resistencia ya que alcanzó un FR de 45.02 X al nivel de la DL₅₀ y, de acuerdo a los expertos de la F.A.O. (1979), está muy cerca de considerarse estadísticamente resistente, ya que su DL₅₀ es mayor que la DL₉₉ de 0.386 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ de la colonia susceptible de El Rosario.

Cuadro 2. Toxicidad a insecticidas en tres poblaciones de picudo del Chile *A. eugenii* del Estado de Sinaloa. 2014.

Insecticida	N*	DL ₅₀ (LF 95%) ^é	DL ₉₅ (LF 95%) ^é	b	χ^2	Pr> χ^2	FR ₅₀ [¥]	FR ₉₅ [¥]
Malation								
El Rosario	360	0.230 (0.18-0.29)	2.84 (1.77-5.60)	1.508	6.376	0.382	--	--
Culiacán	240	0.623 (0.48-0.80)	5.45 (3.53-10.34)	1.748	4.756	0.313	2.71	1.92
La Cruz	314	3.837 (3.03-4.78)	35.74 (24.1-62.6)	1.697	3.283	0.773	16.68	12.58
Oxamil								
El Rosario	270	0.054 (0.04-0.07)	0.37 (0.25-0.69)	1.980	3.453	0.485	--	--
Culiacán	327	0.189 (0.08-0.37)	4.29 (1.41-97.7)	1.213	14.69	0.012	3.50	11.59
La Cruz	320	0.553 (0.08-1.67)	14.16 (3.39-40034)	1.168	29.55	0.000	10.24	38.27
Thiametoxam								
El Rosario	280	0.011 (0.008-0.014)	0.117 (0.08-0.22)	1.608	3.663	0.722	--	--
Culiacán	240	0.034 (0.02-0.07)	0.53 (0.20-5.43)	1.382	8.674	0.070	3.09	4.53
La Cruz	331	0.504 (0.36-0.66)	10.81 (6.2-25.2)	1.235	1.353	0.969	45.02	92.39

*Número de insectos tratados.

^éDosis Letal Media expresada en $\mu\text{g adulto}^{-1}$ y Límites Fiduciales al 95 %.

^é Dosis Letal 95 expresada en $\mu\text{g adulto}^{-1}$ y Límites Fiduciales al 95 %.

b Pendiente de la línea de regresión.

[¥]Factor de resistencia, resultado de dividir la DL de la población problema entre la DL de la colonia de referencia.

Líneas base. Los datos obtenidos en el presente estudio en la población de El Rosario son los más bajos registrados para los insecticidas malatión, oxamil y thiametoxam. Se proponen las DL₅₀ de 0.200 y 0.044 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ para malatión y oxamil en los bioensayos realizados en 2010 y 0.011 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ para thiametoxam en el bioensayo del 2014 como valores de referencia y líneas base que sirvan de comparativo para futuros trabajos de monitoreo de la resistencia a dichos insecticidas. Lo anterior en base a la homogeneidad en los resultados debidos a un valor alto de la pendiente de la línea de regresión (valor de b) y a un ajuste adecuado de los datos en la prueba de bondad de χ^2 .

CONCLUSIONES

Las poblaciones de picudos del Chile de La Cruz de Elota fueron más tolerantes a malatión, oxamil y thiametoxam. En la población de El Rosario se mantuvieron los niveles de susceptibilidad prácticamente al mismo nivel estadístico en los bioensayos del 2010 y 2014. En la población de Culiacán se registró una ligera disminución en la susceptibilidad a los tres insecticidas, lo mismo sucedió con el factor de resistencia. La tolerancia más alta se registró para thiametoxam en la población de La Cruz de Elota y se considera como una población con nivel alto de resistencia ya que alcanzó un FR de 45.02 X al nivel de la DL₅₀.

Se proponen como líneas base las DL₅₀ de 0.200 y 0.044 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ para malatión y oxamil en los bioensayos realizados en 2010 y 0.011 $\mu\text{g adulto}^{-1}$ para thiametoxam en el bioensayo del 2014.

Literatura Citada

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 263–267.
- Ciba, G. 1991. Entomología y Control de Insectos. Manual de uso interno. México. 187 p.
- F. A. O. 1979. Recommended methods for detection and measurement of resistance in agricultural pests to pesticides. *Plant Protection Bulletin*, 27: 29–32.
- García-Nevárez, G., Campos-Figueroa, M., Chávez-Sánchez, N. y F. Quiñonez-Pando. 2012. Eficacia de insecticidas biorracionales y convencionales contra el picudo del chile, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en el centro-sur de Chihuahua. *Southwestern Entomologist*, 37(3): 391–401.
- Jiménez, S. H. 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. 1994. *El bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas*. Colegio de Posgraduados, México. 60 p.
- Lagunes, T. A. y J. A. Villanueva. 1999. *Toxicología y manejo de insecticidas*. Colegio de Posgraduados. México. 264 p.
- Robertson, J. L., Russel, R. M., Preisler, H. K. and E. Savin. 2007. *Bioassay with Arthropods*. Second edition. CRC Press. Boca Raton, Florida. USA. 199 p.
- Rodríguez, M. C., Silva, G. y P. Guzmán. 2009. El Bioensayo con Plaguicidas en Artrópodos. Pp. 129–158. *In: Bautista, M. N., Soto, L., y R. Pérez (Eds.). Tópicos Selectos de Estadística aplicados a la Fitosanidad*. Colegio de Postgraduados, IPN CIIDIR Oaxaca. México.
- SAS Institute. 2008. SAS/STAT® 9.2 User's Guide: The PROBIT Procedure (Book Excerpt). Cary, NC: SAS Institute Inc. pp. 5249-5360.
- Young-Joon, K, Si-Hyeock L., Si-Woo L. and A. Young-Joon. 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanism. *Pest Management Science*, 60: 1001–1006.