

## COMPARACION DE SEIS METODOS DE BIOENSAYO PARA LA EVALUACION DE SUSCEPTIBILIDAD A CARBOFURAN DE *Faustinus apicalis* (FAUST)

Fabiola Borrero Fonseca\*

Ingeborg Zenner de Polanía\*

### RESUMEN

Adultos de Juan Viejo, *Faustinus apicalis* (Faust) (Coleoptera:Curculionidae), no sometidos a presión de selección por insecticidas, se utilizaron para comparar seis diferentes métodos de bioensayo para evaluar la susceptibilidad a insecticidas, a nivel de laboratorio, de poblaciones de curculiónidos. El estudio se realizó en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigación "Tibaitatá", y se trabajó con carbofuran como insecticida estándar. Los métodos comparados fueron: Aplicación topical con formulación comercial y con material técnico del insecticida; inmersión, exposición a residuos sobre papel filtro y exposición a residuos sobre vidrio tanto con formulación comercial como con material técnico. Los métodos se compararon con base a la sensibilidad, validez y eficiencia del ensayo; además se evaluó el tiempo óptimo de exposición, siempre utilizando por separado ambos sexos del insecto. La información obtenida permite concluir que el método más preciso para evaluar susceptibilidad en *F. apicalis* y otros curculiónidos con características similares es el de aplicación topical con formulación comercial del insecticida. El tiempo óptimo de exposición al insecticida para evaluación de mortalidad se estandarizó en 72 horas. Los machos fueron ligeramente más susceptibles que las hembras, por lo cual se recomienda la utilización de estas últimas.

### SUMMARY

Adults of *Faustinus apicalis* (Faust) (Coleoptera:Curculionidae), not subjected to selection pressure by insecticides, were used to compare six bioassay methods to test susceptibility to insecticides in curculionids under laboratory conditions, involving carbofuran as the standard insecticide. The methods tested at the Entomological Laboratory at CI "Tibaitatá" were: Topical application with technical grade and commercially formulated insecticide, dip test, exposure to residues on filter paper and exposure to residues on glass with commercial formulation and technical grade insecticide. The results of these experiments were judged on the basis of assay validity, sensitivity and efficiency; optimal exposition

time was also evaluated. All bioassays were performed with both males and females. Results indicated that the most precise method to test susceptibility in *F. apicalis* and other curculionids with similar characteristic is topical application with commercially formulated insecticide. Optimal exposure time to insecticide before mortality evaluation, was standardized at 72 hours. Males were slightly more susceptible than females; therefore the use of females is recommended.

### INTRODUCCION

El continuo aumento de casos de resistencia a insecticida en plagas de importancia económica es un serio problema para la producción y productividad de cultivos e incluye varios grupos diferentes de químicos (Cochran 1989). Por esta razón, la detección oportuna de poblaciones resistentes cobra especial importancia.

Aunque el manejo óptimo de la resistencia varía de sistema a sistema, debido a diferencias en los insectos plagas y en los cultivos, todos comparten la necesidad de una rápida y efectiva detección de cambios en los niveles de resistencia en una población dada (Leeper et al. 1988). Todo programa de manejo integrado de plagas debe considerar el potencial del insecto plaga para desarrollar resistencia a los insecticidas utilizados para su control y por lo tanto requiere del desarrollo y establecimiento de programas adecuados de manejo de resistencia, cuyo eje central es el monitoreo. Este se apoya en técnicas sencillas, pero confiables y precisas, que permiten la rápida y apropiada detección de niveles de resistencia en la plaga bajo estudio (Sanderson et al. 1989).

Los ensayos de concentraciones múltiples son con frecuencia utilizados a nivel de laboratorio para evaluar la respuesta de susceptibilidad de una población de insectos y para obtener información sobre la naturaleza de los mecanismos de resistencia (Ball 1981; Collins et al. en imprenta; Dahm et al. 1961); además,

su importancia para el monitoreo de resistencia a insecticidas y acaricidas es ya reconocida (Roush y Miller 1986; Staetz 1985).

Para facilitar el trabajo del monitoreo de resistencia se han venido desarrollando numerosos métodos de laboratorio que permiten evaluar la tolerancia de grupos de insectos a los productos utilizados para su control (Busvine 1971; 1980); la presencia de la resistencia como fenómeno evolutivo (Brown 1976) y la seguridad de que la resistencia existirá mientras se utilice el control químico de plagas, exige el desarrollo de nuevos métodos de evaluación de resistencia en insectos y la actualización y revalorización de los métodos ya existentes que permitan la oportuna y certera detección de población de insectos tolerantes.

Los métodos propuestos para evaluar resistencia en curculiónidos (Coleoptera) son muy limitados; así el único utilizado contra el picudo del algodónero, *Anthonomus grandis* Boheman, y el picudo negro del plátano, *Cosmopolites sordidus* (Germar), es la aplicación topical con material técnico del insecticida (ESA 1968; Collins et al. en imprenta). Para trabajos con plagas de granos almacenados, como *Sitophilus* spp., ha sido empleado el Método No. 15 de la FAO, el cual consiste en la exposición de adultos a papel filtro impregnado con una solución del tóxico, obtenida también a partir del material técnico (Busvine 1980). Ambos métodos requieren de solventes específicos.

Por su alto costo, consumo de tiempo y poca precisión para picudos no voladores, como son el gusano blanco de la papa, *Premnotrypes vorax* (Hustache) y el Juan Viejo, *Faustinus apicalis* (Faust), plagas de mucha importancia económica y sujetas a una fuerte presión de selección por insecticidas en Colombia, se realizó este estudio con el objetivo de examinar

\* *Bióloga y Entomóloga, respectivamente. Instituto Colombiano Agropecuario-ICA Sección Investigación básica Agrícola - Entomología. C.I- "Tibaitatá". Apartado Aéreo 151123 Eldorado, Bogotá, D.E. Colombia.*

detalladamente el método arriba mencionado y compararlo con cinco métodos más. Cada método se analizó utilizando tanto machos como hembras y estandarizando el tiempo óptimo de exposición al insecticida para evaluar la mortalidad. Finalmente, se compararon entre sí los seis métodos evaluados, teniendo en cuenta su precisión, sensibilidad y confiabilidad.

## MATERIALES Y METODOS

Los seis diferentes métodos de bioensayo, a nivel de laboratorio, para la determinación de susceptibilidad de *F. apicalis* a carbofuran fueron:

- a. Aplicación topical con material técnico.
- b. Aplicación topical con formulación comercial del insecticida.
- c. Exposición a residuos sobre vidrio con material técnico y solvente orgánico.
- d. Exposición a residuos sobre vidrio con formulación comercial del producto.
- e. Inmersión.
- f. Exposición a residuos sobre papel filtro.

Para la evaluación de los métodos se utilizaron, como material biológico, adultos jóvenes de *F. apicalis* provenientes de un cultivo de lulo localizado en el municipio de Anolaima (Cund.), con temperatura promedio de 24°C. El cultivo no había sido sometido a control químico, lo cual permitió considerar la población del insecto allí obtenida como susceptible. Observaciones preliminares indicaron que insectos maduros podrían ser más susceptibles al insecticida que los jóvenes de la misma población. De ser así, los resultados de los ensayos con poblaciones de distribución variable de edad podrían conducir a resultados inconsistentes y niveles inaceptables de mortalidad en los controles. Para evitar este problema se decidió trabajar con adultos de jua viejo de edad conocida, dos a siete días de emergidos, límite de edad considerado adecuado si se tiene en cuenta que los adultos de *F. apicalis* alcanzan una longevidad de más de un año.

Esto exigió realizar el siguiente procedimiento a nivel de campo, con el fin

de obtener las poblaciones adecuadas del insecto. Previa evaluación de la emergencia semanal de adultos por metro lineal de tallo de lulo infestado, y el estimativo del número requerido para los trabajos de laboratorio, se colocaron pedazos de aproximadamente 42 cm de longitud, con síntomas de ataque, en jaulas de madera y anejo de 50x50x50 cm, las cuales se mantuvieron en Anolaima. Cada semana, durante dos noches seguidas, y durante dos horas (8-10 p.m.), aprovechando el fototropismo negativo de los adultos, se recogieron los especímenes. Estos se separaron por sexos y se transportaron al laboratorio en frascos de vidrio, utilizando como alimento tallos sanos de lulo.

La evaluación de los métodos se realizó en el Laboratorio de Entomología del Centro de Investigación "Tibaitatá", del ICA, en Mosquera (Cund.), con un promedio de 22±2°C y 55-65% de humedad relativa. Los resultados se compararon sobre la base de: número de experimentos en los cuales los valores calculados de chi cuadrado fueron significativos al nivel del 5%, la medida de los valores estimados de DL50 o CL50, los valores medios de las pendientes estimadas, la amplitud de límite de confianza del 95% para las dosis letales medias estimadas y el error estandar asociado con las pendientes calculadas. Cada uno de los métodos se evaluó con cinco dosis del insecticida y un control. Las dosis se seleccionaron con base en una estimación previa de mortalidad con cada método, utilizando las dosis de 0,1; 1,0; 10; 100 y 1000 ppm o su equivalente en  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  o mg/ml. Cada ensayo se realizó con las siguientes dosis definitivas: 31,25; 62,5; 125, 250 y 500 ppm o equivalentes, cada una con tres repeticiones, de acuerdo con la disponibilidad del material biológico, y cada repetición con 10 adultos de *F. apicalis*. Todos los métodos se evaluaron, mínimo dos veces.

En los métodos: aplicación topical con material técnico del insecticida, exposición a residuos en vidrio con material técnico y con formulación comercial, y exposición a residuos sobre papel filtro, se utilizó acetona analítica (propanona) como solvente orgánico para la preparación de las soluciones de insecticida; los controles se trataron únicamente con el solvente. En el caso de aplicación topical con formulación comercial se utilizó además

del agua, detergente líquido como agente surfactante para cada una de las soluciones del insecticida. El detergente es necesario para permitir la penetración del tóxico por las partes articuladas del tórax del insecto.

Las diluciones seriadas, a las concentraciones deseadas, se hicieron siempre a partir de una solución stock del insecticida, aplicando luego los tratamientos respectivos en forma ascendente, desde el control hasta la dosis más alta.

Todos los adultos de *F. apicalis* tratados con cualquiera de los métodos se mantuvieron en un cuarto de cría bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (24±2°C y 65% HR).

Con cada uno de los métodos se realizaron evaluaciones de la mortalidad a intervalos de 24 horas durante siete días; se adoptó como criterio de mortalidad la inhabilidad del insecto para reaccionar ante el estímulo de pinchar su pico con pinzas (Teague et al. 1983). La duración óptima del tiempo de exposición al insecticida se determinó graficando la dosis letal o concentración letal media, según el método, para cada intervalo, contra el tiempo y considerando la correspondiente mortalidad en el control a través del tiempo.

Los datos de mortalidad se analizaron en el computador por el sistema Probit (Gerardino 1985), utilizando el paquete estadístico SPSSX; los resultados se compararon sobre la base de precisión, sensibilidad, reproductibilidad y consistencia de los ensayos. No fue necesario realizar la corrección de mortalidad de Abbott (Busvine 1980), debido a que los porcentajes de mortalidad en los controles fueron consistentemente bajos para todos los métodos. Los resultados se compararon contrastando las dosis letales o concentraciones letales medias, las pendientes calculadas con el error estandar asociado con las líneas de regresión dosis-mortalidad, y los límites de confianza al 95% para cada procedimiento. Cada uno de los métodos se evaluó por separado para machos y hembras.

Una breve descripción de cada método se da a continuación:

**Aplicación topical con material técnico:** Es una metodología ampliamente utilizada para el cálculo de dosis letales que permite cuantificar la cantidad de tóxico recibido

por cada insecto (Hinckle et al. 1985). Se utilizó el procedimiento estandar descrito por la Sociedad Entomológica de América para *A. grandis* (ESA 1986), con material técnico de carbofuran del 75% de pureza y acetona analítica como solvente orgánico. Se aplicó 1µl de la solución de insecticida sobre la superficie dorsal del tórax de cada adulto, mediante un microaplicador calibrado de pedal (ISCO), acondicionado con una jeringa hipodérmica graduada de 1/100 cc (Becton-Dickinson). Los insectos tratados se mantuvieron durante siete días en cajas de petri de 9 cm de diámetro, bajo condiciones constantes de temperatura y humedad relativa.

**Aplicación topical con formulación comercial:** El mismo método descrito anteriormente pero utilizando carbofuran 3F formulación comercial, disuelto en agua destilada para la preparación de las soluciones de prueba; se adicionó una gota de detergente líquido a cada solución como agente surfactante. Se hicieron aplicaciones localizadas de 1µl de la solución del insecticida por adulto como en el método anterior.

**Prueba de inmersión de adultos:** Los tratamientos se realizaron empezando con el testigo y progresando de menor a mayor concentración del insecticida. Con ayuda de pinzas finas se transfirieron adultos de *F. apicalis* a viales de vidrio de 30 ml de capacidad, que contenían la solución de insecticida. El vial se agitó durante 60 segundos para asegurar un buen mojado y luego el contenido de cada vial se vertió sobre una malla fina. Con pinzas suaves se retiraron los adultos de la malla y se colocaron sobre papel toalla para absorber el exceso de la solución. Finalmente, los insectos tratados se transfirieron a cajas de petri con una tira de papel secante y se mantuvieron en el cuarto de cría bajo condiciones constantes de temperatura y humedad relativa.

**Exposición a residuos sobre papel filtro:** Este método se basa en el confinamiento de los insectos a una superficie tratada con insecticida. Se utilizó como sustrato para esta técnica, papel filtro de 9 cm de diámetro impregnado con el insecticida disuelto en acetona como solvente volátil. Cada círculo de papel filtro se marcó con la dosis correspondiente de insecticida y se trató con 1 ml de solución, aplicada con jeringa hipodérmica

de 1 cc de capacidad, que permitió dispensar pequeños volúmenes de la mezcla sobre el papel. La aplicación se realizó en forma de espiral para asegurar una total cobertura. Los círculos de papel filtro tratados se dejaron secar al aire sujetos con clips y suspendidos de una cuerda. Después de 30 minutos, los papeles secos se transfirieron a cajas de petri donde se mantuvieron durante una noche; posteriormente los insectos fueron colocados en contacto con el papel filtro (Busvine 1980).

**Exposición a residuos sobre vidrio:** Diluciones del insecticida en acetona se utilizaron para tratar la base y la tapa de cajas de petri de 9 cm de diámetro. Las aplicaciones se hicieron con jeringa hipodérmica, distribuyendo 1,0 ml de la solución de insecticida sobre la base y 1,0 ml sobre la tapa. La solución se esparció homogéneamente a lo largo de la superficie de vidrio con una brocha de fibra de nylon. Las cajas tratadas se dejaron secar al aire hasta la completa evaporación de la acetona (Pree et al. 1989); luego se taparon y se dejaron durante una noche antes de colocar los insectos en contacto con la superficie tratada. Cada caja de petri representaba una repetición. Este método se trabajó en

dos modalidades, una con soluciones de carbofuran comercial disuelto en acetona y otra con material técnico de carbofuran del 75% de pureza con acetona como solvente orgánico.

**RESULTADOS Y DISCUSION**

**Tiempo de exposición:** La tendencia general en todos los métodos fue la disminución de la dosis letal media (DL50) a medida que aumentaba el tiempo de exposición (Fig. 1 y 2). Para todos los métodos, la mortalidad en los controles fue consistentemente baja y se mantuvo en el nivel del 5% para las 144 horas iniciales de exposición al insecticida. A las 168 horas se observó un incremento en la mortalidad en los controles de un rango del 5 al 10%. Al evaluar la mortalidad a intervalos de 24 horas durante siete días, se observó que la mortalidad, medida como concentración letal media (CL50) o dosis letal media (DL50), después de tres días de exposición al insecticida mostraron poco cambio. Se exceptúan los datos obtenidos con la exposición a residuos sobre vidrio donde la respuesta fue más lenta, tanto para machos como para hembras. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Collins et al. (en

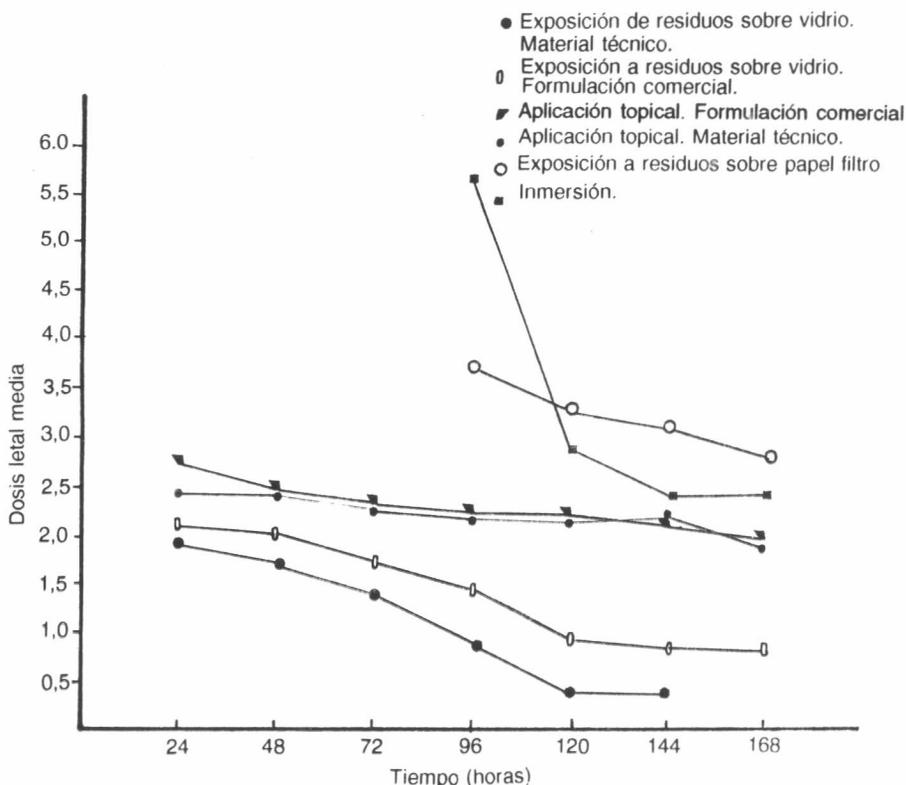


Figura 1. Respuesta medida como dosis letal media de la población de machos de *F. apicalis* a carbofuran a través del tiempo de exposición para todos los métodos evaluados.

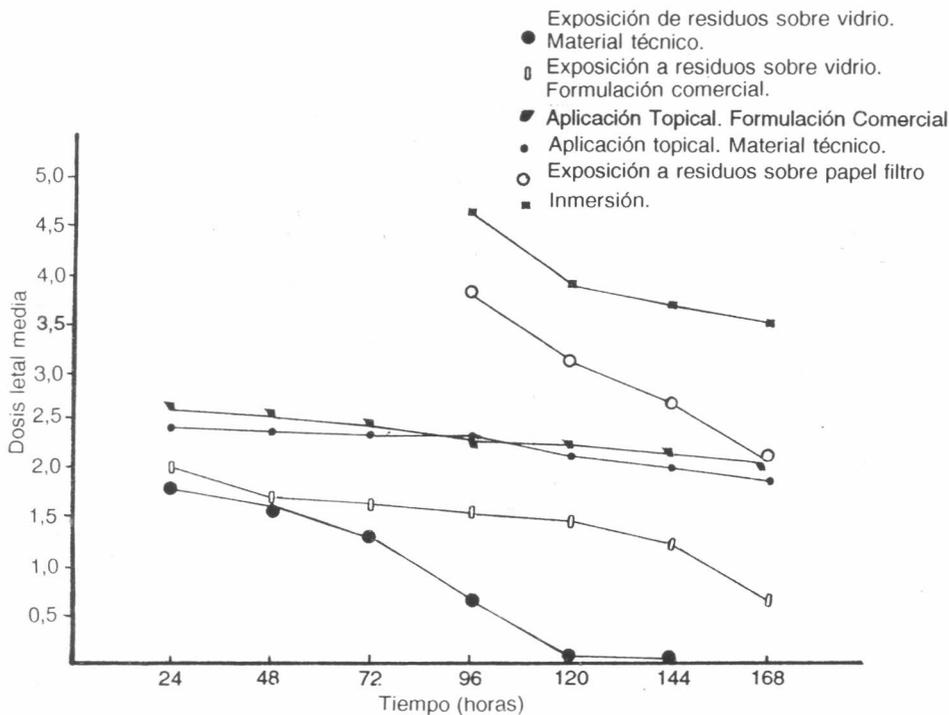


Figura 2. Respuesta medida como dosis letal media de la población de hembras de *F. apicalis* a carbofuran a través del tiempo de exposición para todos los métodos evaluados.

imprenta), quienes utilizando el método de aplicación topical y material técnico, en una población susceptible del picudo negro del plátano, *C. sordidus*, observaron que después de 72h, la mortalidad no aumenta significativamente.

Así, para el método de aplicación topical tanto con formulación comercial como con material técnico, el tiempo óptimo de evaluación se estandarizó en 72 horas post-tratamiento, con base en los bajos porcentajes de mortalidad en los controles,

en la obtención de datos más consistentes que los observados a las 48 horas y en límites de confianza del 95%, estrechos en la mayoría de los casos. El tiempo adicional de exposición no proporcionó datos sustancialmente más confiables para la DL50 basado en la amplitud de los límites de confianza del 95% o dosis letales medias significativamente menores (Tablas 1 y 2). Para el método de exposición a residuos sobre vidrio se obtuvieron datos más consistentes a las 96 horas de evaluación (Tablas 3 y 4). Esta diferencia se explica teniendo en cuenta que en este último método los insectos permanecen en contacto continuo con la superficie impregnada con insecticida y pueden acumular la dosis letal, mientras que la aplicación topical se realiza una sola vez.

**Sexo:** La mortalidad obtenida con cada método fue evaluada separadamente por sexo mediante análisis probit (Tablas 1 a 6). Sanderson et al. (1989) concluyeron que valores menores de error estandar asociados a las pendientes calculadas, indican menor variabilidad en la respuesta. En este estudio se observó que el error estandar asociado a la pendiente de las líneas de regresión dosis-mortalidad, tendió a ser menor para machos que para hembras, a excepción del método de aplicación topical, en el cual el error

Tabla 1. Respuesta de mortalidad de adultos de *F. apicalis* a carbofuran para sexo masculino y femenino. Aplicación topical de carbofuran comercial y agua como solvente.

Sexo	n	Tiempo de evaluación <sup>a</sup>	Pendiente ± ES	DL <sub>50</sub> <sup>b</sup>	Límite de confianza 95 %	DL <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Límite de confianza 95 %
♂	270	24	2,04 ± 0,17	2,74	2,58 - 3,05	3,36	3,05 - 4,09
		48	1,90 ± 0,12	2,48	2,35 - 2,68	3,18	2,42 - 3,65
		72	1,91 ± 0,10	2,32	2,20 - 2,46	2,98	2,77 - 3,34
		96	1,97 ± 0,10	2,22	2,11 - 2,35	2,87	2,68 - 3,18
		120	2,13 ± 0,11	2,21	2,10 - 2,32	2,81	2,64 - 3,08
		144	2,08 ± 0,10	2,10	1,99 - 2,21	2,71	2,55 - 2,97
		168	2,79 ± 0,23	1,90	1,61 - 2,17	2,36	2,11 - 3,06
♀	270	24	2,30 ± 0,16	2,60	2,48 - 2,79	3,16	2,92 - 3,62
		48	1,91 ± 0,12	2,56	2,42 - 2,77	3,23	2,96 - 3,74
		72	2,18 ± 0,13	2,44	2,33 - 2,59	3,03	2,82 - 3,39
		96	2,44 ± 0,13	2,31	2,21 - 2,43	2,83	2,67 - 3,09
		120	2,15 ± 0,11	2,26	2,16 - 2,39	2,82	2,68 - 3,14
		144	1,88 ± 0,10	2,16	2,05 - 2,29	2,84	2,65 - 3,15
		168	2,00 ± 0,12	2,06	1,94 - 2,21	2,70	2,49 - 3,09

a: horas  
b: µg/adultos  
c: µg/adulto

**Tabla 2.** Respuesta de mortalidad de adultos de *F. apicalis* a carbofuran para sexo masculino y femenino. Aplicación topical de carbofuran técnico y acetona como solvente.

Sexo	n	Tiempo de Evaluación <sup>a</sup>	Pendiente ± ES	DL <sub>50</sub> <sup>b</sup>	Límite de confianza 95%	DL <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Límite de confianza 95%
♂	240	24	2,85 ± 0,69	2,48	2,26 - 2,70	2,85	2,60 - 3,53
		48	1,97 ± 0,51	2,44	2,25 - 2,93	3,09	2,71 - 4,24
		72	2,47 ± 0,52	2,27	2,27 - 2,27	2,79	2,79 - 2,79
		96	1,65 ± 0,42	2,20	2,03 - 2,55	2,98	2,60 - 4,07
		120	1,15 ± 0,36	2,18	1,98 - 2,64	3,29	2,76 - 5,43
		144	1,20 ± 0,36	2,13	2,13 - 2,13	3,20	3,20 - 3,20
		168	2,13 ± 0,45	1,82	1,67 - 1,95	2,42	2,22 - 2,85
♀	240	24	2,28 ± 0,41	2,48	2,35 - 2,69	3,05	2,81 - 3,52
		48	2,26 ± 0,40	2,45	2,32 - 2,65	3,02	2,79 - 3,47
		72	1,82 ± 0,33	2,37	2,22 - 2,58	3,07	2,79 - 3,62
		96	1,69 ± 0,32	2,32	2,16 - 2,54	3,08	2,78 - 3,68
		120	1,50 ± 0,30	2,14	1,98 - 2,35	3,00	2,69 - 3,66
		144	1,45 ± 0,30	2,01	1,83 - 2,19	2,89	2,60 - 3,54
		168	1,37 ± 0,30	1,85	1,62 - 2,03	2,78	2,49 - 3,46

a: Hora  
 b: µg/adulto  
 c: µg/adulto

estandar para machos fue ligeramente superior aunque no significativamente diferente al de las hembras, 0,10 vs. 0,16, respectivamente, para aplicación topical con formulación comercial y 0,30 vs. 0,11 para el mismo método pero con carbofuran técnico.

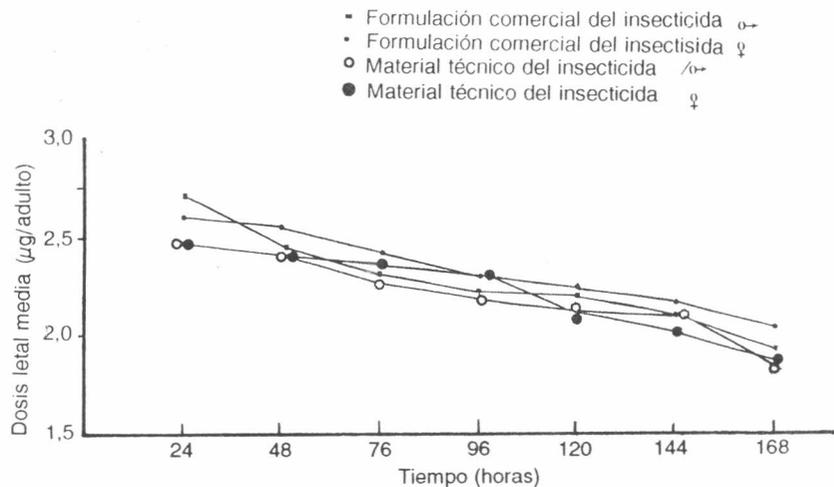
En cuanto a los valores obtenidos de DL50 no se observaron diferencias significativas entre machos y hembras a excepción del método de inmersión, con el cual se obtuvieron para los machos valores menores de CL50 (Tabla 6). Para el método de aplicación topical en sus dos versiones, se obtuvieron también valores de DL50 ligeramente mayores aunque estadísticamente no significativas para las hembras que para los machos (Tablas 1 y 2, Fig. 3). Estos valores menores de dosis letal media para machos sugieren que el uso de hembras incrementaría la sensibilidad del ensayo.

**Comparación de métodos de bioensayo:** Los resultados de los bioensayos realizados se observan en las Tablas 1 a 6, las cuales incluyen para cada método los valores por sexo de las pendientes de las líneas de regresión con el error estandar asociado, las DL50 y DL90 ó CL50 y CL90, según el método, con los correspondientes límites de confianza al 95% para cada 24 horas de exposición durante 7 días.

Hinkle et al. (1985) y Dahm et al. (1961), en estudios similares, concluyen que

pendientes mayores son indicativo de una técnica más sensible y que rangos más estrechos de valores para una técnica dada sugieren que este método proporcionaría resultados reproducibles con mayor confiabilidad. Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten concluir que los valores de las pendientes obtenidas con cada método para machos y hembras fueron superiores para aplicación topical con formulación comercial, indicando mayor sensibilidad y precisión de este método seguido por el mismo método con material técnico del insecticida (Fig. 4).

El promedio de las pendientes obtenidas con aplicación topical con producto comercial fue de 2,12, mientras que para la aplicación topical con material técnico fue de 1,84 en comparación con la técnica de exposición a residuos sobre vidrio con valores de 1,68 vs. 1,05 para material técnico y producto comercial, respectivamente. Los valores más bajos de pendientes tanto para machos como para hembras se obtuvieron con el método de inmersión (Tabla 6, Fig. 4). Aunque para el método de exposición a residuos sobre vidrio con material técnico se obtuvieron pendientes mayores con



**Figura 3.** Comparación de la respuesta de mortalidad de *F. apicalis* a carbofuran para sexo masculino y femenino con el método de aplicación topical utilizando material técnico y formulación comercial de insecticida.

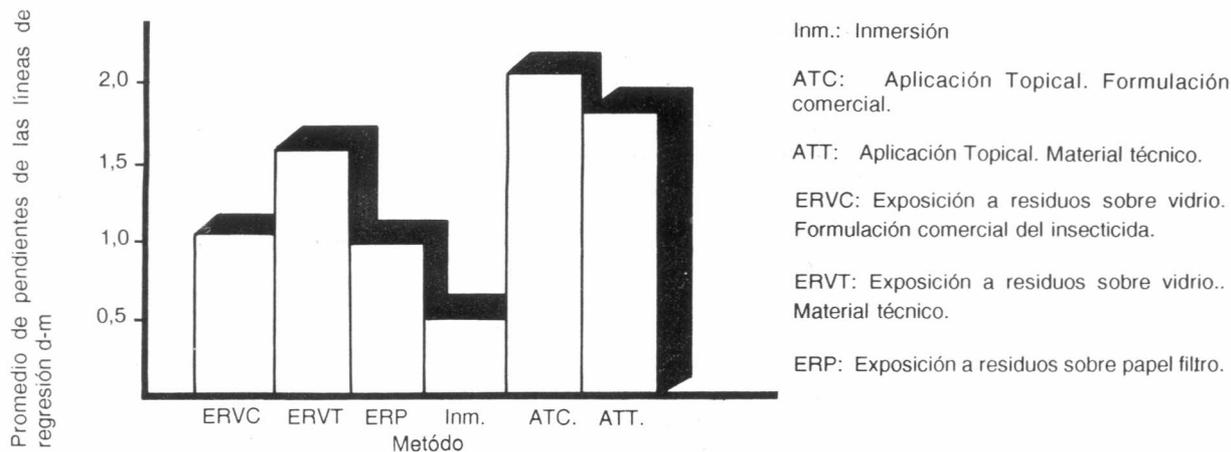


Figura 4. Comparación de bioensayos para evaluación de resistencia *F. apicalis* con base en precisión del método.

Tabla 3. Respuesta de mortalidad de adultos de *F. apicalis* a carbofuran para sexo masculino y femenino. Exposición a residuos, sobre material de vidrio, de carbofuran de formulación comercial.

Sexo	n	Tiempo de evaluación <sup>a</sup>	Pendiente ± ES	DL <sub>50</sub> <sup>b</sup>	Límite de confianza 95%	DL <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Límite de confianza 95%
♂	530	24	1,03 ± 0,07	2,15	1,81 - 2,57	3,38	2,88 - 4,35
		48	0,98 ± 0,07	2,05	1,70 - 2,47	3,35	2,83 - 4,33
		72	0,95 ± 0,05	1,75	1,40 - 2,15	3,12	2,62 - 4,06
		96	1,05 ± 0,07	1,44	1,11 - 1,79	2,66	2,23 - 3,42
		120	1,05 ± 0,05	0,99	0,65 - 1,33	2,20	1,79 - 2,88
		144	1,06 ± 0,05	0,89	0,55 - 1,22	2,09	1,68 - 2,77
		168	1,13 ± 0,07	0,83	0,51 - 1,16	1,96	1,57 - 2,61
♀	524	24	0,96 ± 0,10	2,05	1,79 - 2,29	3,38	2,90 - 4,80
		48	0,96 ± 0,10	1,74	1,29 - 1,97	3,07	2,67 - 4,28
		72	0,95 ± 0,10	1,61	1,00 - 1,86	2,98	2,59 - 4,20
		96	1,19 ± 0,11	1,57	1,13 - 1,78	2,64	2,38 - 3,28
		120	1,18 ± 0,11	1,46	0,82 - 1,71	2,62	2,35 - 3,37
		144	1,25 ± 0,14	1,21	0,34 - 1,51	2,23	2,02 - 2,70
		168	0,95 ± 0,27	0,60	0,12 - 1,64	1,94	1,53 - 2,60

a: Horas  
 b: ppm  
 c: ppm

hembras que con machos (Tabla 4), no se observó diferencia significativa entre las pendientes de los dos sexos con los distintos métodos evaluados. Los valores de error estandar asociados a las pendientes fueron consistentemente bajos para todos los métodos, indicando alta confiabilidad en los resultados; la mayor variabilidad se detectó con la técnica de exposición a residuos sobre vidrio con material técnico. Se deduce que los rangos más estrechos de valores para la DL50 obtenidos con el método de aplicación topical con material técnico y con formulación comercial, sugieren que estas técnicas proporcionan resultados más reproducibles para carbofuran que los otros métodos evaluados. Sin embargo, con el método de exposición a residuos sobre vidrio, en sus dos versiones, se obtuvieron valores bajos de CL50 (Tablas

4 y 5), lo que permite calificar a esta técnica como más sensible que la de inmersión y la de exposición a residuos sobre papel filtro. Se obtuvieron límites de confianza al 95% razonablemente estrechos para la aplicación topical en sus dos modalidades (Tablas 1 y 2) y para la exposición a residuos sobre vidrio con formulación comercial (Tabla 3). Con los métodos de exposición a residuos sobre papel filtro e inmersión se obtuvieron límites de confianza de rango bastante amplio (Tablas 5 y 6), señalando estos métodos como poco reproducibles.

Finalmente, la comparación de los métodos basado en el número de experimentos en los cuales los valores calculados de chi cuadrado fueron significativos al nivel del 5% proporcionó los siguientes resultados: Los métodos

de inmersión y exposición a residuos sobre papel filtro mostraron el porcentaje más alto de ensayos con valores de chi cuadrado significativos al 5%. La técnica de aplicación topical con formulación comercial mostró un porcentaje aceptablemente bajo, el 4% de los ensayos, con valores significativos de chi cuadrado. Para los métodos de exposición a residuos sobre vidrio y aplicación topical con material técnico, el 100% de los ensayos presentaron ajuste (100% no significativo).

El análisis completo y conjunto de los resultados permite concluir que los métodos más precisos y reproducibles corresponden a la aplicación topical en sus dos versiones y a la exposición a residuos sobre vidrio. Éste último método mostró en promedio pendientes más

**Tabla 4.** Respuesta de mortalidad de adultos de *F. apicalis* a carbofuran para sexo masculino y femenino. Exposición a residuos, sobre material de vidrio, de carbofuran técnico y acetona como solvente.

Sexo	n	Tiempo de evaluación <sup>a</sup>	Pendiente ± ES	CL <sub>50</sub> <sup>b</sup>	Límite de confianza 95 %	CL <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Límite de confianza 95 %
♂	250	24	0,42 ± 0,93	1,91	0,95 - 2,48	3,30	2,66 - 6,58
		48	1,37 ± 0,98	1,71	0,39 - 2,22	3,11	2,51 - 5,92
		72	0,51 ± 1,00	1,40	0,37 - 1,94	2,80	2,25 - 4,92
		96	0,77 ± 1,20	0,85	0,23 - 1,57	2,25	1,52 - 3,42
		120	1,51 ± 1,64	0,41	0,10 - 1,32	1,80	0,41 - 2,72
		144	1,51 ± 1,64	0,41	0,10 - 1,32	1,80	0,41 - 2,72
		168	—	—	—	—	—
♀	250	24	0,42 ± 0,94	1,81	0,69 - 2,35	3,21	2,59 - 6,27
		48	0,47 ± 0,98	1,51	0,18 - 2,03	2,91	2,35 - 5,27
		72	0,54 ± 1,03	1,28	0,17 - 1,85	2,68	2,13 - 4,56
		96	2,40 ± 1,67	0,64	-3,17 - 1,44	2,04	1,06 - 3,03
		120	5,09 ± 3,65	0,01	-5,43 - 1,17	1,41	0,89 - 2,44
		144	5,09 ± 3,65	0,01	-5,43 - 1,17	1,41	0,89 - 2,44
		168	—	—	—	—	—

a: Horas  
b: ppm  
c: ppm

**NOTA:** Los porcentajes de mortalidad a las 168 h de exposición fueron del 100% para todas las dosis en ambos sexos.

**Tabla 5.** Respuesta de mortalidad de adultos de *F. apicalis* a carbofuran para sexo masculino y femenino. Exposición a residuos, en sustrato de celulosa, de carbofuran comercial y acetona como solvente.

Sexo	n	Tiempo de evaluación <sup>a</sup>	Pendiente ± ES	CL <sub>50</sub> <sup>b</sup>	Límite de confianza 95 %	CL <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Límite de confianza 95 %
♂	560	96	1,08 ± 0,17	3,74	3,07 - 9,00	4,93	3,75 - 14,48
		120	1,36 ± 0,16	3,29	2,89 - 4,78	4,22	3,49 - 7,12
		144	1,29 ± 0,13	3,14	2,80 - 4,08	4,12	3,48 - 6,07
		168	1,63 ± 0,12	2,79	2,59 - 3,17	3,57	3,18 - 4,43
♀	560	96	0,48 ± 0,05	3,83	2,88 - 7,04	6,46	4,63 - 13,51
		120	0,58 ± 0,05	3,16	2,50 - 4,71	5,36	4,09 - 9,00
		144	0,69 ± 0,05	2,52	2,05 - 3,36	4,36	3,48 - 5,57
		168	1,01 ± 0,16	2,01	1,65 - 3,83	3,27	1,98 - 5,03

a: Horas  
b: ppm  
c: ppm

**NOTA:** No se registró mortalidad de adultos durante las 72 horas iniciales de exposición para ninguna dosis.

**Tabla 6.** Respuesta de mortalidad de adultos de *F. apicales* a carbofuran para sexo masculino y femenino. Inmersión en carbofuran de formulación comercial.

Sexo	n	Tiempo de evaluación <sup>a</sup>	Pendiente ± ES	CL <sub>50</sub> <sup>b</sup>	Límite de confianza 95 %	CL <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Límite de confianza 95 %
♂	330	96	0,42 ± 0,14	5,69	3,01 - 7,51	8,72	4,21 - 10,12
		120	1,14 ± 0,12	2,90	2,54 - 3,62	4,02	3,40 - 5,86
		144	0,66 ± 0,04	2,38	1,80 - 3,30	4,31	3,36 - 5,38
		168	0,69 ± 0,04	2,42	1,98 - 3,47	4,68	3,66 - 7,12
♀	330	72	0,26 ± 0,05	7,59	4,11 - 10,53	12,39	6,32 - 18,62
		96	0,41 ± 0,05	4,62	3,24 - 12,93	7,74	5,12 - 24,98
		120	0,50 ± 0,05	3,88	2,93 - 7,33	6,42	4,60 - 13,92
		144	0,46 ± 0,04	3,70	2,76 - 6,72	6,47	4,62 - 13,36
		168	0,28 ± 0,04	3,57	2,34 - 9,62	8,10	5,16 - 25,41

a: Horas  
b: ppm  
c: ppm

**NOTA:** No se registró mortalidad durante las 72 horas iniciales para machos, ni durante las 48 horas iniciales para hembras.

empinadas con material técnico, pero fue superado en cuanto a las otras variables por la técnica de formulación comercial con la cual se obtuvo menor variabilidad (valores de error estándar menores) y resultados más reproducibles indicados por rangos más estrechos de CL50 y límites de confianza al 95%.

Al comparar entre sí los métodos de aplicación topical, material técnico vs. formulación comercial, se observaron valores de DL50 similares (no significativamente diferentes) y rangos de confianza al 95% razonablemente estrechos para las dos técnicas. Sin embargo y contrario a lo encontrado en la literatura revisada, la cual recomienda el uso del método de aplicación topical con material técnico del insecticida para tóxicos de distintos grupos químicos, los resultados obtenidos en este trabajo indican una menor variabilidad y una mayor sensibilidad del método con formulación comercial, medida en valores de pendientes calculadas de las líneas de regresión dosis-mortalidad. Los valores de DL50 y límites de confianza al 95% fueron similares a los obtenidos con material técnico del insecticida. Además, la utilización del método con el producto comercial, disponible en cualquier momento, aunque no consume menos tiempo es más económico.

Por último, al comparar los métodos de exposición a residuos sobre vidrio y aplicación topical, ambos con formulación comercial del insecticida, se concluye que el método de aplicación topical supera en sensibilidad y precisión a la exposición de residuos. El promedio de las pendientes obtenidas con el primer método doblan en valor a las obtenidas con la técnica de exposición a residuos (2,12 vs. 1,05). El error estándar indicó la misma variabilidad para ambos métodos. El rango de valores de los límites de confianza del 95% fue más estrecho para la aplicación topical, indicando resultados más reproducibles.

Aunque, debido a la imposibilidad de obtener poblaciones tolerantes de *F. apicalis* a carbofuran, no fue factible evaluar los métodos con cepas resistentes, se recomienda la utilización del método de aplicación topical con producto comercial del insecticida y detergente líquido como agente surfactante para la evaluación de niveles de tolerancia en poblaciones de la plaga, con hembras adultas de dos a siete días

de emergencia y evaluación de mortalidad a las 72 horas post-tratamiento. Este método podría ser útil para la evaluación de susceptibilidad a carbamatos y otros grupos de insecticidas en curculiónidos plagas, tales como **Anthonomus grandis**, **Premnotrypes vorax** y **Cosmopolites sordidus**.

## AGRADECIMIENTO

A la Sección de Biometría del Instituto Colombiano Agropecuario "ICA", por facilitar el paquete estadístico SPSSX.

## BIBLIOGRAFIA

- BALL, H.J. 1981.. Insecticide resistance - a practical assessment. Bulletin of the Entomological Society of America (Estados Unidos) v. 27, p. 261-262.
- BROWN, A.W. 1976. How have Entomologist dealt with resistance? Proceedings of the American Phytopathological Society (Estados Unidos) v.3, p.67-74.
- BUSVINE, J.R. 1971. A critical review of the techniques for testing insecticides. London, The Commonwealth Institute of Entomology, Commonwealth Agricultural Bureaux. 345 p.
- 1980. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. FAO Plant Production and Protection paper. Roma, Food and Agricultural Organization of the United Nations. 127 p.
- COCHRAN, D.C. 1989. Monitoring for insecticide resistance in field collected strains of the German cockroach (Dyctioptera: Blattellidae). Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 82 no. 2, p. 336-341.
- COLLINS, P.J.; TREVERROW, N.L.; LAMBKIN, T.M. s.f. Organophorus insecticide resistance and its management in the banana weevil borer (Coleoptera: Curculionidae). Crop Protection (Inglaterra) (en imprenta).
- DAHM, P.A.; GURLAND, J.; LEE, I.; BERLIN, J. 1961. A comparison of some house fly bioassay methods. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 54, p. 343-347.
- ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA. 1968. First conference on test methods for resistance in insects of agricultural importance. Method for the boll weevil and tentative method for spider mites. Bulletin of the Entomological Society of America (Estados Unidos) v. 14 no. 1, p. 31-37.
- GERARDINOG., A. 1985. Métodos estadísticos para determinar la dosis mediana efectiva en ensayos biológicos. ICA-Infoma (Colombia) v. 19 no. 4., p. 437-449.
- HINCKLE, N.C.; SHEPPARD, D.C.; NOLAN, M.P. 1985. Comparing residue exposure and topical application techniques for assessing permethrin resistance in house flies (Diptera: Muscidae). Journal of Economic Entomology (Estados Unidos). v. 78, p. 722-724.
- LEEPER, J.T.; RAFFA, K.F.; BRUHN, J.A. 1988. Analysis of mortality characterization in developing LD values from topical application test results. Tropical Pest Management (Inglaterra) v. 34 no. 4, p. 404 - 406.
- PREE, D.J.; COLE, M.J.; FISHER, P.A. 1989. Comparison of leaf disc and petri dish assays for the assessment of dicofol resistance in populations of European red mite from Southern Ontario. Canadian Entomologist v. 121, p. 771-776.
- ROUSH, R.T.; MILLER, G.L. 1986. Consideration for design of insecticide resistance monitoring programs. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 79, p. 293-298.
- SANDERSON, J.P.; PARRELLA, M.P.; TRUMBLE, J.T. 1989. Monitoring insecticide resistance in *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) with yellow sticky cards. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 82 no. 4, p. 1011-1018.
- STAETZ, C.A. 1985. Susceptibility of *Heliothis virescens* (F) (Lepidoptera: Noctuidae) to permethrin from across the cotton belt: a five year study. Journal of Economic Entomology (Estados Unidos) v. 78, p. 505-510.
- TEAGUE, T.G.; CATE, J.R.; PLAPP, F.W. 1983. Toxicity of azinphosmethyl and methyl parathion to three populations of boll weevil. The South Western Entomologist (Estados Unidos) v.8 no. 2, p. 107-112.