



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas



Tesis

“Actividad biológica de malatión, bifentrina y spinosad sobre el enrollador de hojas, *Amorbia* sp. (Lepidoptera: Tortricidae: Tortricinae)”.

Que presenta para obtener el grado académico de:

MAESTRA EN CIENCIAS

Biol. Alma Mirella Espino Herrera

DIRECTOR DE TESIS:

**Doctor Ingeniero Agrónomo
Samuel Pineda Guillermo**

Morelia, Michoacán, México, Agosto de 2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por abrirme las puertas para continuar con mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante los dos años de la maestría, sin su apoyo esto no habría sido posible.

A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por el financiamiento de esta investigación durante el periodo de 2013-2015.

A mi asesor de tesis, el Dr. Samuel Pineda Guillermo, por su apoyo en el desarrollo de este trabajo.

A los integrantes de mi mesa revisora, los Drs. José Luciano Morales García, José Isaac Figueroa de la Rosa, Ángel Rebollar Alviter y la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, por el tiempo invertido en revisar mi trabajo, por sus observaciones y por ser parte de mi formación.

A los productores de zarzamora de Tocumbo, y Peribán, por permitirme hacer mis colectas de material biológico para los experimentos en sus cultivos.

A mis padres y hermanos por estar siempre pendientes de mí,.... y del proyecto (siempre preguntando cómo estaban mis bichos).

A mis compañeros del laboratorio que de una u otra forma contribuyeron al desarrollo del trabajo, en especial a quienes me apoyaron con las colectas de material biológico en campo, Anny, Alicé, Yadi, Manuel, Almiux, Tommy,.... y en especial a mi hermanita Mirta que estuvo todas sus vacaciones alimentando a mis bichos mientras yo hacía mis experimentos.

Infinitas gracias a todos,.....!!!

ÍNDICE

i.	ÍNDICE DE FIGURAS-----	1
ii.	ÍNDICE DE CUADROS-----	2
iii.	RESUMEN-----	3
iv.	ABSTRACT-----	4
1.	INTRODUCCIÓN-----	5
2.	ANTECEDENTES-----	7
2.1.	Manejo y control de plagas en cultivos de zarzamora-----	7
2.2.	Descripción de los insecticidas y su modo de acción:-----	8
2.2.1.	Malatión-----	8
2.2.2.	Bifentrina-----	9
2.2.3.	Spinosad-----	11
3.	JUSTIFICACIÓN-----	14
4.	HIPÓTESIS-----	15
5.	OBJETIVO GENERAL-----	15
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	15
7.	MATERIALES Y MÉTODOS-----	16
7.1.	Obtención y cría del enrollador <i>Amorbia</i> sp.-----	16
7.2.	Insecticidas-----	18
7.3.	Actividad ovicida y mortalidad larvaria-----	18
7.4.	Toxicidad larvaria por ingestión-----	19
7.5.	Toxicidad larvaria por aplicación tópica-----	19

7.6.	Toxicidad en adultos por ingestión y efectos en la fecundidad y fertilidad-----	20
8.	ANÁLISIS DE DATOS-----	22
9.	RESULTADOS -----	23
9.1.	Actividad ovicida y mortalidad larvaria-----	23
9.2.	Toxicidad larvaria de <i>Amorbia</i> sp.: tratamientos por ingestión y tópico -----	28
9.3.	Toxicidad en adultos por ingestión -----	30
10.	DISCUSIÓN-----	33
10.1.	Efecto ovicida de los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad -----	33
10.2.	Susceptibilidad de larvas de tercer estadio: tratamiento tópico e ingestión-----	35
10.3.	Susceptibilidad de adultos de <i>Amorbia</i> sp.: efectos subletales. -----	36
11.	CONCLUSIONES -----	39
12.	LITERATURA CITADA -----	40

i. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de cría del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. **a.** adultos en jaula de madera cubierta con tela de organza, alimento a base de miel de abeja y sustrato de oviposición. **b.** masa de huevos previos a emerger depositados en vasos de plástico de 4 cm altura por 6 cm de diámetro. **c.** Eclosión de huevos, suministro de cubos de dieta hasta la formación de pupas. **d.** colocación de pupas en caja de Petri dentro de la jaula de cría.....17

ii. ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Mortalidad causada por los insecticidas bifentrina, spinosad y malatión sobre huevos de < 48 h de edad de dos poblaciones (orgánica y convencional) del enrollador de hojas, <i>Amorbia</i> sp.	24
Cuadro 2. Mortalidad causada por los insecticidas bifentrina, spinosad y malatión sobre huevos de 6 días de edad de dos poblaciones (orgánica y convencional) del enrollador de hojas <i>Amorbia</i> sp.	25
Cuadro 3. Mortalidad causada por bifentrina y spinosad sobre larvas provenientes de huevos de dos edades (<48 h y 6 días de edad) y dos poblaciones (orgánica y convencional) del enrollador de las hojas, <i>Amorbia</i> sp.	26
Cuadro 4. Mortalidad de larvas provenientes de huevos de dos edades (< 48 h y 6 días de edad) de dos poblaciones del enrollador de hojas, <i>Amorbia</i> sp., tratados con diferentes concentraciones de malatión.	27
Cuadro 5. Efecto de spinosad y bifentrina, en tratamientos por ingestión y tópico, sobre larvas de tercer ínstar de dos poblaciones del enrollador de las hojas, <i>Amorbia</i> sp.	29
Cuadro 6. Mortalidad de adultos de dos poblaciones del enrollador de hojas, <i>Amorbia</i> sp., tratados con diferentes concentraciones de spinosad, bifentrina y malatión.	31
Cuadro 7. Fecundidad, fertilidad y % de eclosión de huevos de hembras de <i>Amorbia</i> sp., alimentadas con miel al 20% tratada con diferentes concentraciones de spinosad, bifentrina y malatión.	32

iii. RESUMEN

Se determinó la toxicidad de los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad sobre huevos, larvas y adultos de *Amorbia* sp., de dos poblaciones colectadas en cultivos de zarzamora (*Rubus* sp.): uno con manejo orgánico y el otro con manejo convencional. En el primer experimento, círculos de plástico de color azul de alta densidad que contenían las masas de huevos de dos diferentes edades: jóvenes (< 48 h de edad) y viejos (6 d de edad) se sumergieron en diferentes concentraciones de cada insecticida diluidos en una solución de Tween al 0.01%. La mortalidad registrada por los tres insecticidas sobre los huevos de las dos edades y poblaciones de *Amorbia* sp., no fue mayor a 30%. La mortalidad de las larvas que emergieron de ambas edades de huevos y poblaciones incrementó significativamente, comparado con el testigo, en todas las concentraciones de los insecticidas bifentrina y spinosad. Los valores de las CL_{50s} fueron muy similares para spinosad (6.62 y 9.37 mg de i.a./L para huevos < 48 h de edad y 9.43 y 8.05 mg de i.a./L para huevos de 6 días de edad) y bifentrina (27.95 y 29.74 mg de i.a./L para huevos < 48 h de edad y 32.48 y 25.48 mg de i.a./L para huevos de 6 días de edad) para las poblaciones orgánica y convencional respectivamente. Para el caso de malatión no se obtuvo la CL₅₀ debido a que la mortalidad causada no sobrepasó el 50%. En el segundo experimento se evaluó el efecto de estos insecticidas sobre larvas de tercer estadio del enrollador a través de los métodos de ingestión y tópico. Las CL_{50s} de spinosad fueron 3.94 y 6.51 mg de i.a./L, y 55.98 y 76.48 mg de i.a./larva, para la población orgánica y convencional respectivamente, en los tratamientos de ingestión y tópico, respectivamente, mientras que para bifentrina fueron de 28.25 y 44.53 mg de i.a./L, y 61.83 y 86.13 mg de i.a./larva, respectivamente. Malatión no causó mortalidad en ninguno de los dos métodos ensayados. Finalmente, se evaluaron los efectos letales y subletales causados por los insecticidas sobre los adultos del enrollador a través del método de ingestión. No se obtuvieron diferencias entre poblaciones, pero sí entre malatión y los otros dos insecticidas (spinosad y bifentrina). Los valores de las CL_{50s} para la población orgánica fueron 18.61, 26.18 y 80.1 mg de i.a./L para spinosad, bifentrina y malatión, respectivamente, y para la población convencional 27.12, 28.62 y 90.70 mg de i.a./L, respectivamente. Spinosad causó la mayor reducción, respecto al testigo, en el número de huevos puestos por hembra (72 y 82% para la población convencional y orgánica, respectivamente). La fertilidad no fue afectada por ningún insecticida. Se concluye que los insecticidas spinosad y bifentrina pueden incluirse en un programa de manejo para el control de *Amorbia* sp. Sin embargo, es necesario realizar más ensayos en semi-campo y campo para comprobar sus efectos. El efecto ovicida y larvario de malatión fue muy bajo por lo que debido a su mínimo desempeño en este ensayo, no se recomienda su uso, puesto que sólo causó efecto en adultos con dosis mucho más elevadas que el spinosad y la bifentrina. Es posible que el enrollador de la hojas *Amorbia* sp., haya desarrollado alguna habilidad que le permita evadir o tolerar la acción del malatión y sea esta la causa de su desempeño en este estudio.

Palabras clave: Insecticidas, *Amorbia* sp., Toxicidad, Efectos letales, Efectos subletales.

iv. ABSTRACT

The toxicity of the insecticide malathion, bifenthrin and spinosad on eggs, larvae and adults was determined *Amorbia* sp., Collected from two populations in cultures of blackberry (*Rubus* sp), one organic management and the other with conventional management. In the first experiment, circles of blue plastic high density egg masses containing two different ages: young (<48 h old) and old (6 d of age) were immersed in different concentrations of each insecticide diluted in a solution of 0.01% Tween. The mortality from the three insecticides on eggs of the two ages and populations *Amorbia* sp., was no more than 30%. The mortality of larvae emerging from eggs both ages and populations increased significantly compared with the control, in all concentrations of the insecticide bifenthrin and spinosad. LC_{50s} values were very similar for spinosad (6.62 and 9.37 mg a.i/L egg <48 h old and 9.43 and 8.05 mg a.i/L for eggs 6 days old) and bifenthrin (27.95 and 29.74 mg a.i/L egg <48 h old and 32.48 and 25.48 mg a.i/L for eggs 6 days old) for organic and conventional populations respectively. In the case of malathion LC₅₀ it was not obtained because the mortality did not exceed 50%. In the second experiment the effect of these insecticides on third instar larvae of the winding through ingestion and topical methods were evaluated. The LC_{50s} of spinosad were 3.94 and 6.51 mg a.i/L, and 55.98 and 76.48 mg a.i./larva, for organic and conventional population, respectively, in the treatment of ingestion and topical, respectively, while for bifenthrin were of 28.25 and 44.53 mg a.i/L, and 61.83 and 86.13 mg a.i./larva, respectively. Malathion caused no mortality in any of the two methods tested. Finally, the lethal and sublethal effects caused by insecticides on adults of the winding through the method of ingestion were evaluated. No differences between populations were obtained, but yes, between malathion and two insecticides (spinosad and bifenthrin). LC_{50s} values for organic population were 18.61, 26.18 and 80.1 mg a.i/L spinosad, bifenthrin and malathion, respectively, and for conventional population 27.12, 28.62 and 90.70 mg a.i/L, respectively. Spinosad caused the largest reduction compared to the control on the number of eggs laid per female (72 and 82% for conventional and organic population, respectively). Fertility was not affected by any insecticide. It is concluded that spinosad and bifenthrin insecticides can be included in a management program to control *Amorbia* sp. However, additional testing is in semi-field and field to test its effects. The ovicidal and larval effect of malathion was very low so due to its low performance on this test, its use is not recommended, since only caused effect in adults with much higher than the dose spinosad and bifenthrin. It is possible that the winding of leaves, *Amorbia* sp., has developed a skill that allows you to avoid or tolerate the action of malathion and is this the cause of his performance in this study.

1. INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de zarzamora, *Rubus* sp. L. (Rosaceae), ha aumentado exponencialmente tanto en área cultivada como en su producción. En 1990, se cultivaron menos de 90 ha, por tanto no se obtenía la producción suficiente para competir en el mercado exterior (Muñoz y Juárez 1995). La zarzamora pertenece al grupo de las frutillas junto con la frambuesa (*Rubus* sp. L), arándano (*Vaccinium* sp. L) y la fresa (*Fragaria* sp. L). El primer registro que se tiene acerca de la exportación de frutillas mexicanas es de 1992, año en el que se exportaron 13 toneladas de fruta fresca de frambuesa y zarzamora en conjunto. De 1990 a 1995 el área destinada al cultivo de zarzamora aumentó considerablemente en más de 390% alcanzando las 493 ha de superficie cultivada y fue así como México destacó como un productor más de dicha frutilla, aportando alrededor del 7% de la producción mundial, con 4 mil toneladas (Muñoz y Juárez 1995). En años más recientes, el aumento en la producción y área de cultivo de zarzamora no se ha hecho esperar, ya que para los años 2011 y 2012, la producción obtenida fue de 135 563 y 139 803 toneladas, respectivamente (SIAP 2012). Para el año 2013 la superficie sembrada ascendió a las 12 117 ha, sin embargo, la producción disminuyó cerca de un 8% en comparación del año anterior, alcanzando un total de 128, 976 toneladas de fruta (SIAP 2013). Dentro de los principales estados productores de esta frutilla se encuentran: Michoacán, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Jalisco y Colima, de los cuales, el estado de Michoacán ocupa el primer lugar como productor y exportador a nivel mundial aportando más del 95% de la producción total nacional, seguido por Jalisco y Colima (Sánchez 2008; Morales 2009; SIAP 2012, 2013; Sistema Producto Zarzamora de Michoacán Plan Rector Estatal 2013).

Como en todos los cultivos, independientemente de su importancia en la economía del país, las plagas y enfermedades constituyen uno de los factores principales que pueden llegar a generar importantes pérdidas en la producción de zarzamora, tanto por su impacto en el rendimiento, así como por los gastos en insumos químicos utilizados para su control y saneamiento (Ochoa y De la Tejada 2004).

Dentro de los cultivos de zarzamora se albergan una gran cantidad de insectos tanto benéficos como perjudiciales. Se tiene registro de una gran variedad de hemípteros, ortópteros,

coleópteros, dípteros, himenópteros, lepidópteros, entre otros (Jiménez *et al.*, 2006; Jiménez y Laguna 2008).

En México, recientemente se identificó a los enrolladores de hojas, *Argyrotaenia montezumae* Walsingham y *Amorbia* sp. (Lepidoptera: Tortricidae) en las zonas productoras de zarzamora de Tangancícuaro y Los Reyes, Michoacán (Rebollar *et al.*, 2009; Barreto 2012; Juárez 2013). Las larvas de estos insectos se alimentan exclusivamente de las hojas, doblándolas con seda que ellas mismas producen, lo que se conoce comúnmente como “*empanada*”. La presencia de estos enrolladores de hojas dentro de los cultivos de zarzamora es esporádica, apareciendo principalmente entre los meses de agosto a noviembre, donde *Amorbia* sp., se encuentra con mayor abundancia (Juárez 2013).

Existe poca información en relación a los enrolladores asociados a cultivos de zarzamora, lo que conlleva a que los agricultores realicen aplicaciones continuas de diversos insecticidas tales como malatión y bifentrina, de los grupos de los organofosforados y piretroides, respectivamente, y en menor proporción otros agentes biológicos como el spinosad, del grupo de las espinosinas. Sin embargo, aún con el uso de estos productos, el resurgimiento de estos organismos se sigue dando. Por lo tanto, es importante la realización de estudios en los que se evalúe el efecto que estos insecticidas pueden causar sobre los enrolladores de hojas. Al respecto, se tiene conocimiento de que la utilización de estos agentes de control de una manera inadecuada puede traer como consecuencia la pérdida de fauna benéfica, contaminación ambiental y generación de resistencia en los insectos (Badii y Garza 2007).

Debido a la contaminación que causan los insecticidas, en los últimos años, se ha optado por recomendar y aplicar insecticidas de origen biológico que sean menos dañinos al medio y menos residuales que los convencionales (insecticidas químicos), sin embargo, no se descarta la importancia que éstos tienen en el control de una gran variedad de insectos plaga cuando se utilizan de la forma correcta y en dosis adecuadas (Devine *et al.*, 2008). Es ésta la principal razón del presente trabajo: encontrar las dosis adecuadas de los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad, para el control del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., y así evitar que exista contaminación y pérdida de fauna benéfica.

2. ANTECEDENTES

En general, el nombre común de enrolladores de hojas ha sido aplicado a los individuos de la familia Tortricidae (Lepidoptera) debido a que, muchas especies pertenecientes a esta familia, en su estado larvario doblan o enrollan las hojas de sus hospederos para su alimentación y protección.(Juárez 2013).

La familia de los tortricidos se encuentra dividida en tres subfamilias: Tortricinae, Olethreutinae y Chlidanotinae (BIO-NICA ORG 2015): Las especies de las dos primeras subfamilias se comportan como enrolladores de hojas y barrenadores de frutos, respectivamente; mientras que los individuos de la subfamilia Chlidanotinae pueden tener cualquiera de estos dos hábitos alimenticios (TortAI 2015; Tortricid.net 2015).

En México, los tortricidos han sido poco estudiados y se estima que pueden existir más de 1500 especies, la mayoría de ellas no descritas (Varela *et al.*, 2009). A nivel mundial, los tortricidos representan un grupo de insectos de gran importancia económica ya que incluyen diversas plagas de cultivos frutícolas, hortícolas, ornamentales y forestales (Meijerman y Ulenberg 2000). Al respecto, en Estados Unidos de América se reportó la presencia de los enrolladores de hojas, *Argyrotaenia citrana* Fernald y *Choristoneura rosaceana* Harris (Lepidoptera: Tortricidae) en los cultivos de zarzamora (Ellis *et al.*, 1991).

Recientemente en México, se han identificado a los enrolladores de hojas, *Argyrotaenia montezumae* Walsingham y *Amorbia* sp. (Lepidoptera: Tortricidae) en las zonas productoras de zarzamora de Tangancícuaro y Los Reyes, Michoacán (Rebollar *et al.*, 2009; Barreto 2012; Juárez 2013). Encontrándose a *Amorbia* sp., en mayor abundancia, pero sin causar daños económicos (Juárez 2013).

2.1. Manejo y control de plagas en cultivos de zarzamora

Actualmente, dentro de la zona productora de zarzamora en el estado de Michoacán, existen cultivos en los cuales el manejo y control de insectos plaga se hace de manera tradicional, con el uso de diversos insecticidas químicos, a estos cultivos se les conoce como cultivos con manejo tradicional o cultivos con manejo convencional. Existen también los

cultivos en los cuales el manejo de los insectos plaga se realiza de una forma más amigable con el medio ambiente, lo que se conoce como manejo orgánico. En estos cultivos se utilizan mayoritariamente plaguicidas de origen biológico tales como, los hongos entomopatógenos *Beauveria* sp., *Metarhizium* sp., y la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner. También se utilizan a manera de repelentes, extractos vegetales y de organismos marinos (conversación con productores y observación personal).

Dentro de los cultivos con manejo convencional, el uso de los insecticidas químicos como el malatión y bifentrina son una de las principales herramientas para el combate de organismos perjudiciales. También, aunque en menor cantidad, se utilizan algunos plaguicidas de origen biológico, tales como el spinosad. Sin embargo, para algunos cultivos orgánicos este insecticida está prohibido, por lo que su manejo se realiza con entomopatógenos, bacterias y repelentes.

2.2. Descripción de los insecticidas y su modo de acción:

2.2.1. Malatión

El malatión es un insecticida que pertenece al grupo de los organofosforados. En este grupo químico se encuentran los compuestos orgánicos derivados de la molécula del ácido fosfórico. Tienen dos características distintivas: generalmente son mucho más tóxicos para los vertebrados que otras clases de insecticidas y la mayoría son químicamente inestables o no persistentes. Esta última característica es la que les sirvió para ser incluidos en el uso agrícola como substitutos de los organoclorados, caracterizados por ser muy persistentes (Ware y Whitacre 2004).

Los organofosforados actúan por ingestión principalmente y en menor grado por inhalación y por contacto al absorberse a través de los lípidos de la cutícula de los insectos (EPA 2015; Moreno *et al.*, 2010; Carod 2002). Estos compuestos, envenenan a insectos y mamíferos principalmente por la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa (ACE) en las terminaciones nerviosas. El resultado es la pérdida de la acetilcolinesterasa, encargada de degradar al neurotransmisor acetilcolina (ACo) en sus componentes individuales (colina y ácido acético). Al no existir ACE, pero sí una sobre producción excesiva de ACo en las terminaciones nerviosas, se da una sobre estimulación al insecto. La enzima es imprescindible para el control normal de la transmisión de los impulsos nerviosos que van desde las fibras

nerviosas hasta las células musculares y glandulares y, también hacia otras células nerviosas en los ganglios autónomos, como también al sistema nervioso central (SNC). Altas concentraciones de ACo en el SNC causan alteraciones sensoriales y de comportamiento, incoordinación, depresión de la función motora y depresión respiratoria. Un aumento en las secreciones pulmonares y la depresión respiratoria son las causas usuales de muerte por envenenamiento de compuestos organofosforados (Bloomquist 2015; Ríos 2015; Bisset 2002; Montenegro 2001; Pant y Katiyar 1983).

Al igual que otros organofosforados, el malatión se ha utilizado para el control de una amplia variedad de insectos y arácnidos, entre ellos pulgones (Homoptera: Aphididae), langostas y otros ortópteros (Orthoptera: varias familias), insectos escama (Homoptera: varias familias), mosca de las frutas (Diptera: Tephritidae), moscas y mosquitos (Diptera: varias familias), ácaro rojo (Arachnida: Acarina), entre otros (National Wildlife Federation 1984).

En cuanto al uso de los insecticidas organofosforados para reducir poblaciones de lepidópteros, se tiene conocimiento de la aplicación de azinphosmetyl sobre *Ch. rosaceana* y *Pandemis limitata* Robinson (Lepidoptera: Tortricidae) (Smirle *et al.*, 2003; Smirle *et al.*, 2002; Reissig *et al.*, 1986) y sobre *Archips argyrospilus* Waker (Lepidoptera: Tortricidae) (Vakenti *et al.*, 1984). Específicamente, el insecticida malatión se ha usado para una gran cantidad de pirálidos, entre éstos, *Cadra cautela* Walker y *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) (Wool *et al.*, 1992; Attia *et al.*, 1981), clorpirifos y metil-clorpirifos sobre *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) (Moreno *et al.*, 2010).

2.2.2. Bifentrina

La bifentrina pertenece al grupo de los piretroides. Son compuestos sintéticos basados estructuralmente en la molécula de la piretrina natural producida por la planta ornamental *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.). Los piretroides comparten el modo de acción con los organofosforados y se les considera venenos axónicos (aquellos que afectan la transmisión de impulsos nerviosos a lo largo de los axones). Aparentemente, funcionan manteniendo abiertos los canales de sodio en las membranas de las neuronas. Hay dos tipos de piretroides. El Tipo I, entre otras respuestas fisiológicas, tiene un coeficiente de temperatura negativa (su efectividad disminuye al aumentar la temperatura del ambiente; es decir, su eficacia es mayor a bajas temperaturas). En contraste, el Tipo II tiene un coeficiente de temperatura positiva,

mostrando incremento de la mortalidad al aumentar la temperatura ambiental (Ware y Whitacre 2004).

Los piretroides afectan tanto el sistema nervioso periférico como al SNC del insecto (Bloomsquit y Miller 1985). Inicialmente estimulan las células nerviosas al producir descargas repetitivas y eventualmente causan parálisis. Tales efectos son causados por su acción sobre el canal de sodio, un hueco diminuto que le permite a los iones de sodio penetrar al axón y causar excitación nerviosa, su efecto estimulante es mucho más pronunciado que en los organofosforados (Ware y Whitacre 2004; Robert y Hutson 1999; Velisek *et al.*, 2009; Mata 2014).

Los signos de intoxicación con piretroides se desarrollan rápidamente y existen varios síndromes de envenenamiento para los dos tipos de compuestos. Los signos típicos de intoxicación por los piretroides del Tipo I incluyen hiperexcitabilidad y convulsiones en insectos, y temblores de todo el cuerpo en mamíferos. En insectos, los piretroides del Tipo II causan principalmente ataxia (descoordinación de movimientos), mientras que en mamíferos producen coreoatetosis (movimientos involuntarios e incontrolables) y salivación. Los efectos causados por los piretroides del Tipo I sobre los insectos se dejan ver casi inmediatamente después de entrar en contacto con ellos (uno o dos minutos después del tratamiento) y pueden resultar en la caída; es decir, la pérdida de la postura normal y de la locomoción. La exposición de humanos a cualquiera de los dos tipos de piretroides puede causar parestesia, una sensación de quemazón o picazón de la piel, pero este efecto es más intenso con los compuestos del Tipo II (Bloomquist 2015).

La intoxicación con piretroides resulta de sus potentes efectos sobre la generación de impulsos nerviosos tanto dentro del SNC como del periférico. En condiciones normales, las neuronas poseen un voltaje que traspasa las membranas, de unos -60 mV, en el lado interno. El impulso nervioso o potencial de acción consiste en una despolarización transitoria (onda positiva) cuya onda de ascenso es impulsada por un influjo de iones Na⁺, seguidos por un descenso del flujo hacia afuera de iones K⁺ (Bloomquist 2015).

Los insecticidas pertenecientes a este grupo, pueden actuar tanto por ingestión como por contacto. Estimulan inicialmente a las células nerviosas produciendo repetidas descargas y

eventuales casos de parálisis. El sitio exacto de acción de los piretroides en la sinapsis no es conocido, pero es probable que la acción tóxica de los piretroides sea bloquear el axón nervioso. En esencia, los piretroides son moduladores en los canales de sodio, actúan postergando el cierre de dichos canales provocando repetitivas descargas nerviosas, que pueden causar parálisis y posteriormente la muerte (Bloomquist 2015; Moreno *et al.*, 2010; Wolansky *et al.*, 2007; Ponce *et al.*, 2006; Bisset 2002).

Gran cantidad de estudios han sido realizados con fines de conocer susceptibilidad y/o grados de resistencia de distintos insectos hacia los integrantes del grupo de los piretroides, entre éstos, los lepidópteros. Se tienen reportes de aplicación de cipermetrina en *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) en Honduras (Ovalle y Cave 1989) así como en poblaciones de *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) en Chile (Salazar y Araya 1997), de lambda-cihalotrina en *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Morillo y Notz 2001), esfenvalerato, bifentrina, cipermetrina, lambda-cihalotrina y deltametrina para control de la polilla del racimo de la vid, *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) (Moreno *et al.*, 2010).

2.2.3. Spinosad

El spinosad es el primer integrante de la nueva clase de insecticidas denominada Naturalyte, en la cual se encuentran aquellos insecticidas que no se adaptan a las características previas de los insecticidas químicos ni de los biológicos, sino que tienen un modo de acción totalmente novedoso (Thomson *et al.*, 1999).

Es un insecticida neurotóxico, producto de la fermentación aeróbica del actinomiceto del suelo *Saccharopolyspora spinosa* Mertz & Yao, microorganismo que se obtuvo por primera vez de una muestra de suelo tomada en una destilería de ron abandonada en Las Islas Vírgenes, EUA en 1982.

Spinosad está compuesto por la mezcla de dos lactonas macrocíclicas, las espinosinas A y D, que son las que le dan la actividad insecticida y de donde proviene su nombre (Bailey *et al.*, 1999; Moulton *et al.*, 1999; Pineda *et al.*, 2007a). Fue registrado por la EPA en 1997 como insecticida de bajo riesgo. Diez años después, en 2007, se registró otro insecticida

dentro del mismo grupo de los Naturalyte, el spinoteram, producto de la mezcla de dos spinosinas (J y L) sintéticamente modificadas, (Dripps *et al.*, 2008).

Spinosad es un sólido cristalino de color gris claro a blanco con un olor a tierra similar al del agua ligeramente estancada. Tiene un pH de 7.74, es estable en presencia de metales y iones metálicos durante 28 días, y como material formulado tiene una vida de anaquel de tres años. La degradación de spinosad en el medio ambiente ocurre mediante una combinación de rutas, principalmente fotodegradación y degradación microbial a sus componentes naturales: carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. La vida media de spinosad degradado por fotólisis en el suelo es 9-10 días. Es menos de 1 día para fotólisis acuosa y la fotólisis en la superficie de la hoja resulta en una vida media de 1.6 a 16 días. La vida media de spinosad degradado por metabolismo aeróbico del suelo en ausencia de luz es 9-17 días. La hidrólisis no contribuye de manera significativa a la degradación ya que spinosad es relativamente estable en agua a pH de 5-7 y tiene una vida media de por lo menos 200 días a pH de 9 (University of Minnesota 2015).

Este insecticida actúa sobre el SNC de los insectos y se considera con mínimas posibilidades de generar resistencia cruzada con otros insecticidas, aún si son de origen biológico, debido a que su modo de acción es distinto al del resto de los neurotóxicos (Salgado *et al.*, 2005; Thomson *et al.*, 2000; Thomson *et al.*, 1999). Es considerado por la EPA como un insecticida de toxicidad relativamente baja para aves y mamíferos y ligeramente tóxico para peces. Además, las pruebas de toxicología en mamíferos han demostrado que spinosad no es carcinogénico, teratogénico, o mutagénico y tiene amplios márgenes de seguridad para muchos insectos benéficos y organismos relacionados (Schoonover y Larson 1995).

Es un insecticida que actúa por ingestión y contacto. Su modo de acción se caracteriza por la excitación del SNC de los insectos, lo cual lleva a contracciones musculares involuntarias, postración con temblores, y parálisis. Desde el punto de vista bioquímico, spinosad puede actuar de dos formas: 1) tiene un efecto sinérgico sobre la actividad de la acetilcolina, ya que actúa sobre un sitio diferente del receptor postsináptico. Cuando la molécula de spinosad se fija sobre este receptor permite la entrada continua de cationes, provocando una excitación constante de la célula nerviosa (Salgado 1997) y, 2) hay evidencia de que puede afectar a los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA),

neurotransmisor que activa los canales que permiten el flujo de los iones Cl⁻ hacia las células, sin embargo, no se conoce con certeza el mecanismo de acción en este caso (Salgado 1997; Salgado 1998; Watson 2001; Orr *et al.*, 2009). Su modo de acción es único, se considera que su punto de efecto son los receptores nicotínico-acetilcolínicos (Sial y Brunner 2010). Aun cuando hay otros compuestos, como el imidacloprid, que también actúa sobre los receptores nicotínicos, spinosad se coloca en un grupo alterno debido a que actúa en un sitio distinto al del imidacloprid. De manera similar ocurre con la avermectina, aun siendo una lactona macrocíclica, y siendo a su vez un producto de origen natural también actúa sobre un sitio diferente al del spinosad (Orr *et al.*, 2009; Díaz *et al.*, 2000).

Ninguna otra clase de productos afecta al SNC del insecto con el mismo modo de acción de spinosad y no se ha demostrado ninguna resistencia cruzada con este compuesto (Salgado 1997 y 1998; Salgado y Sparks 2005).

Un modo de acción único, junto con un alto grado de actividad en las plagas objetivo y una baja toxicidad para los organismos “no blanco” (incluyendo muchos artrópodos benéficos), hacen del spinosad una nueva y excelente herramienta para el manejo de insectos plaga (Thomson *et al.*, 1995; Thomson *et al.*, 2002). En México, fue introducido en 1997 en algodónero y en 1998 para los cultivos de brasicas, frutales y hortalizas (Thomson *et al.*, 1999). Desde entonces ha sido ampliamente utilizado para el control de diferentes insectos, entre estos, algunos integrantes de la familia Tortricidae (Lepidoptera).

Jones *et al.*, (2010), reportaron la utilización de spinosad contra *Grapholita molesta* Busck (Lepidoptera: Tortricidae), Sial *et al.* (2010) y Smirle *et al.* (2003) para el control de *Ch. rosaceana*. Rizzo *et al.* (2012) reportaron a spinosad para el control de *Grapholita funebrana* Treitschke (Lepidoptera: Tortricidae). En otros lepidópteros se cuenta con reportes del uso de spinosad sobre nóctuidos, gelechídos y plutelídos entre otros (Wang *et al.*, 2009; Yin *et al.*, 2008; Pineda *et al.*, 2007a, 2007b).

3. JUSTIFICACIÓN

El amplio uso de insecticidas químicos dentro de los cultivos de zarzamora, que es donde se alberga nuestro insecto nocivo en cuestión, sin tener antecedentes de dosis a utilizar para los diferentes grupos de insectos, ha traído consigo, la aparición de organismos resistentes a ciertos compuestos, pérdida de fauna benéfica, contaminación ambiental, etc.

La necesidad de contar con información confiable acerca de los verdaderos efectos que los distintos insecticidas aplicados en campo causan a los organismos que ahí se encuentran, entre ellos, *Amorbia* sp., es lo que nos ha llevado a realizar los siguientes experimentos, con los cuales se pretende encontrar las CL_{50} s, de los insecticidas anteriormente descritos (malatión, bifentrina y spinosad), mismos que son ampliamente utilizados en cultivos de zarzamora con manejo tradicional (convencional). Se realizaron los ensayos con estos insecticidas ya que están estrictamente prohibidos (al menos el malatión y la bifentrina) para cultivos con manejo orgánico, lo cual los hace una referencia perfecta para hacer una comparación de susceptibilidad a los compuestos entre los dos tipos de manejo (o poblaciones de origen orgánico o convencional).

Con esta investigación se pretende demostrar si las aplicaciones de insecticidas realizadas dentro de los cultivos, corresponden a las dosis necesarias para el control de las poblaciones del insecto en cuestión o si en su defecto, ha desarrollado estrategias de evasión del compuesto.

4. HIPÓTESIS

Los individuos de la población del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., provenientes de un cultivo orgánico de zarzamora son más susceptibles a los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad que los de una población proveniente de un cultivo convencional.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos letales y subletales causados por los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad sobre dos poblaciones del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto ovicida de los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad sobre dos poblaciones del enrollador de hojas, *Amorbia* sp.
- Determinar la susceptibilidad de las larvas de tercer estadio de dos poblaciones del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., hacia los insecticidas malatión bifentrina y spinosad.
- Determinar la susceptibilidad de los adultos de dos poblaciones del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., hacia los insecticidas malatión bifentrina y spinosad, así como sus efectos subletales.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Obtención y cría del enrollador *Amorbia* sp.

En los meses de septiembre y octubre de 2013 se colectaron huevos y larvas del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp., en cultivos de zarzamora en dos sitios del estado de Michoacán: San Sebastián (N 19° 34' 24.1'', W 102° 27' 51.8'', 1340 msnm), municipio de Los Reyes, y Santa Clara (N 19° 32' 33.1'', W 102° 30' 02.7'', 1267 msnm), municipio de Tocuambo. La distancia entre un cultivo y el otro es de aproximadamente 8 km. En el primer sitio, el manejo del cultivo se realiza tradicionalmente; es decir, con el uso de insecticidas químicos tales como bifentrina y malatión. El segundo sitio el cultivo se maneja orgánicamente mediante el uso de insecticidas biológicos a base de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, los hongos entomopatógenos *Beauveria* sp. y *Metarhizium* sp., principalmente; repelentes a base de extractos vegetales como *Capsicum* sp. (chile), *Allium* sp. (ajo), *Azadiracta indica* A. Juss (neem) y de organismos marinos como algas y crustáceos (conversación personal con productores). Debido a ello, los insectos colectados en estos sitios se les ha denominado como poblaciones convencional y orgánica, respectivamente. El material colectado se trasladó al Laboratorio de Entomología Agrícola del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) en Morelia, Michoacán, México.

Los adultos (45 y 50 de las poblaciones convencional y orgánica, respectivamente) (generación cero [F₀]) provenientes del material que se colectó en campo, se colocaron en jaulas de madera (40 x 25 x 25 cm) cubiertas con tela de organza y se mantuvieron en una cámara bioclimática a 25 ± 2 °C, 16h:8h (luz: oscuridad) y 65 ± 5% de HR. El proceso completo de cría del insecto se realizó de acuerdo a las técnicas establecidas para los enrolladores de hojas *A. montezumae* (Barreto 2012) y *Amorbia* sp. (Juárez 2013). Los adultos (30 machos y 15-20 hembras aproximadamente) se colocaron en jaulas de madera (30 cm de alto x 35 cm de largo) cubiertas con tela de organza y se alimentaron con una solución de miel de abeja al 20% (Fig. 1a). En las paredes internas de la jaula, se colocaron dos plásticos de alta densidad de color azul (20 cm²) como sustrato para oviposición. Las masas de huevos (≤6 días de edad) depositadas sobre este plástico, se recortaron en recuadros (aproximadamente 1.5 cm

de diámetro) y se colocaron individualmente en recipientes de plástico (4 cm altura x 6 cm de diámetro) (Fig. 1b). Después de la emergencia de las larvas, en ese mismo vaso de plástico se le colocaron, para su alimentación, trozos (aproximadamente 0.8 cm³) de una dieta artificial a base de soya y germen de trigo desarrollada para *Argyrotaenia* sp. (Rosas y Villegas 2008) (Fig. 1c). La dieta se reemplazó cada que fue necesario. Las larvas se mantuvieron en estos vasos de plástico hasta la formación de las pupas, las cuales, cuando tenían tres días de edad se colocaron en una caja Petri de plástico dentro de la jaula de cría para la emergencia de los adulto (Fig. 1d).

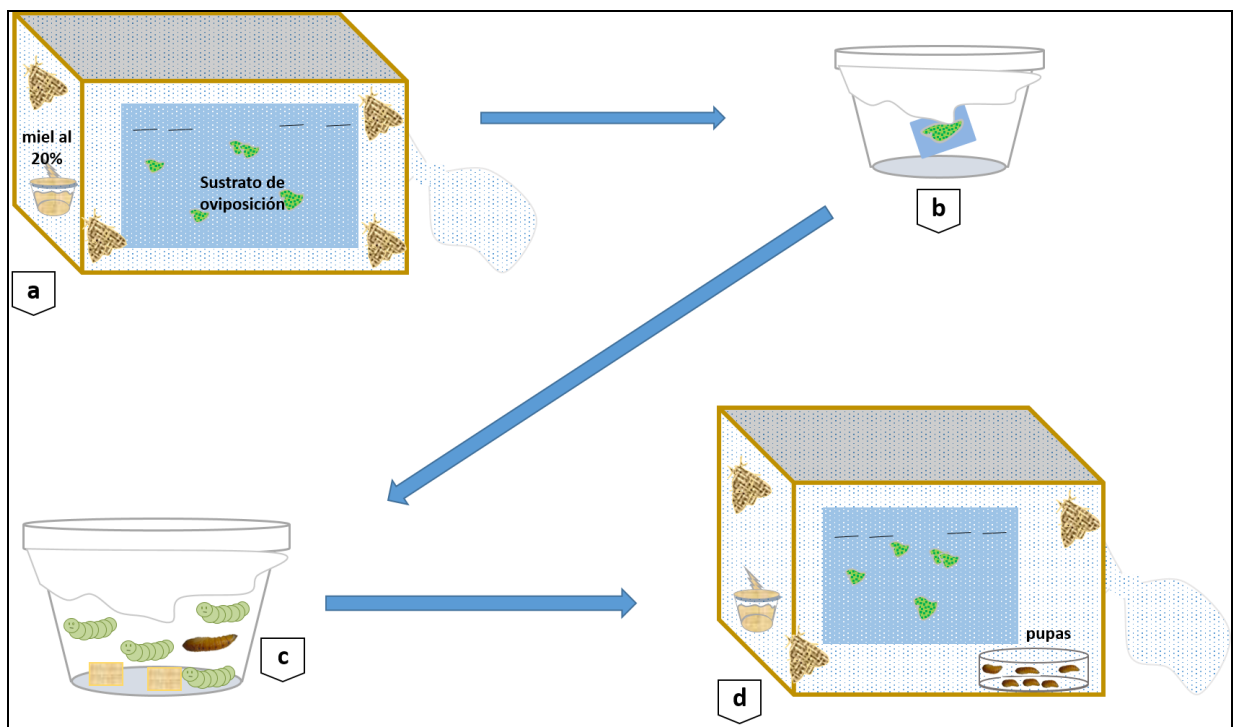


Figura 1. Esquema del proceso de cría del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. **a.** Adultos en jaula de madera cubierta con tela de organza, alimento a base de miel de abeja y sustrato de oviposición. **b.** Masa de huevos previos a emerger depositados en vasos de plástico de 4 cm altura por 6 cm de diámetro. **c.** Eclosión de huevos, suministro de cubos de dieta hasta la formación de pupas. **d.** Colocación de pupas en caja de Petri dentro de la jaula de cría.

7.2. Insecticidas

Se utilizaron los insecticidas Tracer (48% de spinosad, suspensión concentrada, Dow AgroSciences, Zamora, Michoacán, México), Malphos 1000 (83.70% de malatión, concentrado emulsionable, Agrícola Innovación, S.A de C.V., México D.F.) y Talstar 100 (12.15% de bifentrina, concentrado emulsionable, FMC Agroquímica de México S. de R. L. de C.V., Zapopan, Jalisco, México).

7.3. Actividad ovicida y mortalidad larvaria

Muestras de huevos de un mínimo de 45 y un máximo de 263 de dos diferentes edades; jóvenes (< 48 h de edad) y viejos (6 d de edad), se colectaron de las hembras (F₂) de cada población a ensayar (orgánica y convencional) del enrollador de hojas, *Amorbia* sp. Los cuadrados de plástico de alta densidad de color azul que contenían las masas de huevos se recortaron en pequeños círculos (aproximadamente 15 mm de diámetro) y se sumergieron durante 5 s en una las siete diferentes concentraciones (0.1, 1, 10, 50, 100, 200 y 500 mg de ingrediente activo [i.a.]/L) de malatión, bifentrina y spinosad. Estas concentraciones se diluyeron en 20 mL de agua destilada más el adherente-dispersante Tween a 0.01% (peso: volumen). Las muestras de huevos de los testigos se trataron únicamente con agua destilada más el adherente-dispersante Tween a 0.01%.

Después del secado a temperatura ambiente (2 h aproximadamente postratamiento), los círculos de plástico de alta densidad de color azul que contenían las masas de huevos tratados se transfirieron a vasos de plástico (4 cm de altura x 6 cm de diámetro) ventilados. Cada tratamiento se repitió cuatro veces y cada repetición consistió de un círculo de plástico de alta densidad con una masa de huevos. Previamente, Juárez (2013) reportó que la duración del estado de huevo del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., es de 8.5 ± 0.57 días. Con base en ello, la emergencia de las larvas se registró a partir del sexto y segundo día después del tratamiento de los huevos <48 h y de 6 días de edad, respectivamente. La emergencia de las larvas se registró durante los primeros cinco días post-emergencia cuando ya no existió más emergencia en los tratamientos. El efecto ovicida causado por los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad se determinó a través de la diferencia del número de huevos y el número de larvas emergidas por cada tratamiento. En los tratamientos en los que hubo suficientes larvas disponibles, se seleccionaron al azar 80 de las que emergieron el primer día. Estas larvas se

colocaron, sobre dieta semisintética sin insecticida, en cuatro vasos de plástico ventilados (20 larvas por vaso), como los descritos anteriormente, y se observaron diariamente para determinar su mortalidad.

7.4. Toxicidad larvaria por ingestión

Larvas de tercer estadio (<24 h después de la ecdisis) del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., de las poblaciones orgánica y convencional se alimentaron continuamente con dieta artificial que contenía diferentes concentraciones de spinosad (1, 5, 10, 30 y 50 mg de i.a./L), malatión (10, 20, 30, 50, 70 y 100 mg i.a/L) y bifentrina (10, 20, 30, 50, 70 y 100 mg de i.a/L). Las concentraciones requeridas de cada insecticida se prepararon en 50 mL de agua destilada. En cada concentración e insecticida se sumergieron cubos (~0.5 cm³) de dieta artificial durante 1 min y posteriormente se colocaron, por 5 min, sobre papel absorbente para eliminar el exceso de humedad. Estos cubos de dieta se transfirieron, individualmente, a cajas para cultivo de tejidos de 24 celdas, y posteriormente se colocó una larva de tercer estadio de *Amorbia* sp. A las larvas de los testigos se les ofreció dieta sin tratar. Por cada concentración e insecticida, se realizaron cuatro repeticiones de 10 larvas cada una. La mortalidad larvaria se registró cada 24 h durante cinco días post-tratamiento. Una larva se consideró como muerta cuando no se observó ningún movimiento al ser estimulada con un pincel.

7.5. Toxicidad larvaria por aplicación tópica

Larvas de tercer estadio (< 24 h después de la ecdisis) se trataron tópicamente, con un microaplicador manual (Burkard, Hertfordshire, Reino Unido) sobre el dorso del tórax con 0.5 µL de spinosad, bifentrina y malatión. Las concentraciones de bifentrina y malatión se disolvieron en 10 mL de acetona al 99.5%. Debido a la imposibilidad de disolverse en acetona, spinosad se disolvió en metanol al 99%. Las concentraciones ensayadas para bifentrina fueron: para la población orgánica 10, 30, 50, 70 y 100 de i.a/L (0.001, 0.005, 0.008, 0.011 y 0.016 µg de i.a/larva) y para la convencional 10, 30, 50, 100 y 150 mg de i.a/L (0.001, 0.005, 0.008, 0.016 y 0.025 µg de i.a/larva). Para malatión se usaron las concentraciones de 100, 200, 300 y 500 mg de i.a/L para ambas poblaciones (0.016, 0.033, 0.05 y 0.083 µg de i.a/larva). Para spinosad se ensayaron: 20, 50, 75 y 100 mg de i.a/L para la población orgánica (0.003, 0.008, 0.012 y 0.016 µg de i.a/larva) y 20, 50, 75, 100 y 150 mg de i.a/L (0.003, 0.008, 0.012, 0.016 y 0.025 µg de i.a/larva) para la población convencional. Los insectos del testigo se trataron

solamente con 0.5 µL de acetona para malatión y bifentrina, y 0.5 µL de metanol para spinosad. Para las dos poblaciones de *Amorbia* sp., se ensayaron 20 larvas para cada concentración de malatión y bifentrina. Para spinosad se realizaron tres repeticiones por concentración y cuatro para el testigo, cada una con 10 larvas. El peso inicial de las larvas fue de 3.0 ± 0.02 ($\bar{X} \pm EE$) mg. Después del tratamiento, las larvas se transfirieron individualmente a cajas para cultivo de tejidos de 24 celdas y se alimentaron con dieta artificial. La mortalidad larvaria se registró diariamente durante cinco días postratamiento.

7.6. Toxicidad en adultos por ingestión y efectos en la fecundidad y fertilidad

Los efectos causados por spinosad, bifentrina y malatión se estudiaron permitiendo a los adultos (< 48 h de edad) alimentarse continuamente de una solución de miel de abeja al 20% que contenía diferentes concentraciones de los tres insecticidas. Las dos poblaciones del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp., se trataron con 30, 50, 100, 200 y 250 mg de i.a./L de malatión y 10, 20, 30, 50 y 70 mg de i.a./L de bifentrina. Para el caso de spinosad se utilizaron 1, 5, 10, 30 y 50 mg de i.a./L para la población orgánica y 5, 10, 30, 50 y 70 mg de i.a./L para la población convencional. Las concentraciones de los tres insecticidas se prepararon en 15 ml de la solución de miel de abeja al 20%. A los individuos de los testigos se les ofreció únicamente la solución de miel al 20%. Para cada concentración, insecticida y población ensayada, se colocaron, en un vaso de plástico transparente ventilado (7.5 cm de altura x 11.5 cm de diámetro; Reyma®), 1 hembra + 2 machos. Las soluciones insecticidas se ofrecieron a los adultos en vasos de plástico de 3.5 cm altura x 4.5 cm de diámetro, cubiertos con Parafilm® que contenían un trozo de paño espuma absorbente (aproximadamente 4 cm largo x 1.5 ancho; Corazzi®). Los bebederos se reemplazaron cada cuatro días con el fin de evitar el crecimiento de hongos.

En la población orgánica, malatión, bifentrina y spinosad se ensayaron con individuos de la F2; mientras que para la población convencional sólo spinosad se evaluó en la F2, los otros dos insecticidas se ensayaron con individuos de la F3. Se realizaron siete repeticiones por cada concentración. La mortalidad de los adultos se registró cada 24 h durante los primeros cinco días después del tratamiento. Los individuos sobrevivientes se mantuvieron en las mismas condiciones durante toda su vida para observar los efectos subletales de fecundidad y fertilidad.

Los parámetros de fecundidad y fertilidad se registraron desde el primer día después del tratamiento hasta la muerte de las hembras. Los vasos en que se encontraban los adultos se cambiaron al menos una vez por semana dependiendo de la oviposición de las hembras ya que las paredes internas de los vasos funcionaron como sustrato de oviposición. Los huevos se recortaron a los cinco días de edad y se depositaron en vasos de plástico (4 cm de altura x 6 cm de diámetro) ventilados (una masa de huevos por vaso) hasta la emergencia de las larvas, aproximadamente ocho días después de la oviposición. Después de la emergencia de las larvas, se contabilizó el número de huevos no eclosionados (fértil y estéril). Se consideró como fecundidad el número total de huevos ovipositados por las hembras (eclosionados, no eclosionados (fértil) y estéril) y como fertilidad los huevos eclosionados y los no eclosionados en los cuales la formación de la larva fue evidente. En el análisis estadístico sólo se consideraron las concentraciones de los insecticidas en las cuales existieron datos de oviposición de al menos tres hembras.

8. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos del efecto ovicida, mortalidad de larvas neonatas emergidas de huevos tratados con malatión y los de efectos subletales (fecundidad y fertilidad) de adultos del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp., se sometieron a un análisis de varianza. Los análisis se realizaron a través del procedimiento de Modelos Lineales Generales (GLM) y las medias se separaron con la prueba de rangos múltiples de diferencias mínimas significativas (LSD) ($P < 0.05$) con el programa SAS (SAS/STAT versión 9.3; SAS Institute Cary, NC). Los datos de mortalidad de larvas emergidas de los huevos de dos edades y los del tratamiento por ingestión y tópico sobre larvas de tercer estadio tratados con spinosad y bifentrina, así como los de mortalidad de adultos se sometieron a una regresión probit con el programa POLO PC (LeOra Software 1987). Los análisis probit para las larvas provenientes de los huevos < 48 h de edad tratados con bifentrina y para las provenientes de huevos de < 48 h y 6 días de edad tratados con spinosad, se realizaron con el programa R Core Team (2014). Cuando existió sobre dispersión en los datos se aplicó la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow. Los valores de las concentraciones letales cincuenta (CL_{50}) se calcularon en mg de i.a/L de dieta. Cuando los límites confidenciales (LC) al 95% no se traslaparon, los valores de las CL_{50} se consideraron significativamente diferentes.

9. RESULTADOS

9.1. Actividad ovicida y mortalidad larvaria

La actividad ovicida dependió del insecticida ensayado y población de enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. El efecto causado por bifentrina sobre huevos < 48 h de edad fue dependiente de la concentración, tanto en la población orgánica como en la convencional (Cuadro 1). La mortalidad causada por este insecticida estuvo comprendida entre 6 y 21% y 12 y 31% en cada una de estas poblaciones, respectivamente. En la población orgánica se observaron diferencias significativas entre las concentraciones más altas de bifentrina (200 y 500 mg de i.a/L) y el testigo; mientras que en la población convencional estas diferencias se observaron a partir de la concentración de 50 mg de i.a./L.

La mortalidad causada por malatión y spinosad sobre huevos del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., fue muy similar para las dos poblaciones (entre 4 a 12% y 4 a 14% para malatión y spinosad, respectivamente, para la población orgánica, y entre 8 a 18% y 5 a 14% para malatión y spinosad, respectivamente, para la población convencional) (Cuadro 1). En los tratamientos con spinosad y malatión no se observaron diferencias entre el testigo y las concentraciones ensayadas. Sin embargo, entre poblaciones, sí se observaron diferencias significativas ($F = 43$, $gl = 2$, $P < 0.002$) en la concentración de 50 mg de i.a/L de malatión, la cual causó 6.39 y 18.08% de mortalidad de huevos en las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente.

En cuanto a las mortalidades de huevos de 6 días de edad, sólo algunas concentraciones mostraron diferencias significativas comparado con los testigos ($F = 43$, $gl = 2.42$, $P < 0.0002$) (Cuadro 2). En la población orgánica sólo se observaron diferencias entre la concentración más alta ensayada (500 mg i.a/L) y el testigo en los tratamientos con bifentrina y spinosad. Mientras que en la población convencional, las concentraciones de 200 y 500 mg de i.a/L de bifentrina y 100 y 500 mg i.a/L de spinosad fueron estadísticamente distintas con su respectivo testigo. Entre las poblaciones orgánica y convencional sólo se observaron diferencias significativas en la aplicación de las concentraciones más altas (200 y 500 mg de i.a/L) de bifentrina. Respecto a malatión, ninguna de las concentraciones ensayadas causó

efecto significativo en ninguna de las poblaciones del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. (Cuadro 2).

Cuadro 1. Mortalidad causada por los insecticidas bifentrina, spinosad y malatión sobre huevos de < 48 h de edad de dos poblaciones (orgánica y convencional) del enrollador de hojas, *Amorbia* sp.

CONC.	BIFENTRINA		MALATION		SPINOSAD	
	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional
0	4.39±2.80a	1.80±5.57a	4.39±2.80a	1.80±5.57a	4.39±2.80a	1.80±5.57a
0.1	6.28±3.23a	12.46±6.82ab	6.87±3.23a	14.16±5.57ab	4.08±3.23a	5.32±5.57a
1	6.21±2.80a	12.33±5.57ab	4.27±3.96a	16.22±6.82ab	6.49±2.80a	7.02±5.57a
10	9.5±2.80a	13.33±5.57ab	6.8±3.23a	15.81±6.82ab	8.35±3.23a	10.37±4.82a
50	11.29±2.80a	16.83±4.82b	6.39±3.23a*	18.08±4.82b*	8.44±3.23a	7.16±6.82a
100	13.95±2.80a	17.57±4.82b	7.17±2.80a	9.75±6.82ab	12.54±3.23a	13.80±4.82a
200	21.17±3.23b	23.64±4.82bc	6.10±3.96a	12.44±6.82ab	12.33±3.23a	13.36±4.82a
500	21.04±2.80b	31.43±4.82c	11.9±3.23a	7.62±6.82ab	14.13±3.23a	14.38±4.82a

Los datos son expresados como la media ± EE. Datos seguidos por la misma literal (dentro de la misma columna) no difieren estadísticamente. (*) Indica diferencias significativas entre las poblaciones (dentro de la misma fila) al ser tratadas con un mismo insecticida.

La mortalidad de las larvas que emergieron de los huevos <48 h y 6 días de edad de ambas poblaciones del enrollador de las hojas *Amorbia* sp., fue directamente proporcional al incremento de la concentración de los insecticidas bifentrina y spinosad, pero no en malatión. Sólo los datos de mortalidad causados por bifentrina y spinosad se ajustaron a un análisis probit (Cuadro 3).

Cuadro 2. Mortalidad causada por los insecticidas bifentrina, spinosad y malatión sobre huevos de 6 días de edad de dos poblaciones (orgánica y convencional) del enrollador de hojas *Amorbia* sp.

CONC.	BIFENTRINA		MALATION		SPINOSAD	
	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional
0	4.90±3.01a	4.08±6.05a	4.90±3.01a	4.08±6.05a	4.90±3.01a	4.08±6.05a
0.1	6.72±3.01ab	5.0±4.94a	7.14±3.01a	8.24±4.94a	3.29±3.01a	10.22±4.94ab
1	7.06±3.01ab	7.29±4.28a	7.33±2.61a	18±6.05a	5.63±3.01a	10.92±4.94ab
10	8.72±3.01ab	8.06±4.28a	7.62±2.61a	11.12±4.94a	6.56±2.61a	15.30±4.94ab
50	8.57±3.01ab	12.55±4.28a	5.87±3.69a	11.65±6.05a	9.5±3.01ab	14.65±4.94ab
100	11.50±3.01ab	12.73±4.28a	7.81±3.01a	7.47±6.05a	11.71±2.61ab	19.88±4.94b
200	11.93±3.01ab*	21.86±4.28b*	11.79±2.61a	12.72±4.28a	11.74±3.01ab	18.09±6.05ab
500	14.53±2.61b*	29.27±4.28b*	12.13±3.01a	15.44±4.28a	17.24±2.61b	21.16±4.28b

Los datos son expresados como la media ± EE. Datos seguidos por la misma literal (dentro de la misma columna) no difieren estadísticamente. (*) Indica diferencias significativas (dentro de la misma fila) entre las poblaciones al ser tratadas con el mismo insecticida.

Para cada uno de estos insecticidas, los valores de las CL₅₀ obtenidos para las larvas que emergieron de los huevos <48 h de edad (27.95 y 29.74 mg de i.a./L para bifentrina y 6.62 y 9.37 mg de i.a./L para spinosad en las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente) y para las larvas emergidas de huevos de 6 días de edad (32.48 y 25.48 mg de i.a./L para bifentrina y 9.43 y 8.05 mg de i.a./L para spinosad en las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente) no fueron significativamente distintos entre ambas poblaciones y edades de los huevos ensayados. Sin embargo, con base a los LC (Límites de Confianza) al 95% se observaron diferencias significativas entre los valores de las CL₅₀ de bifentrina y spinosad en ambas poblaciones y ambas edades de los huevos ensayadas. La mortalidad en los testigos no fue mayor al 4% en ninguno de los tratamientos.

Los datos de mortalidad causados por malatión se sometieron a un análisis de varianza debido a que no se ajustaron al modelo Probit. En general, el efecto de este insecticida dependió de la concentración del compuesto en ambas edades de los huevos y poblaciones ensayadas (Cuadro 4).

Cuadro 3. Mortalidad causada por bifentrina y spinosad sobre larvas provenientes de huevos de dos edades (<48 h y 6 días de edad) y dos poblaciones (orgánica y convencional) del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp.

Insecticida	Población	Huevos de <48 h de edad				Huevos de 6 d de edad			
		CL ₅₀ (95% LC)	Pendiente ± EE	χ ²	G I	CL ₅₀ (95% LC)	Pendiente ± EE	χ ²	gl
Bifentrina	Orgánica	27.95 aA (15.78-33.56)	0.69 ± 0.07	2.43	5	32.48 aA (13.76-51.75)	1.70 ± 0.21	8.55	5
	Convencional	29.74 aA (17.41-35.29)	0.52 ± 0.04	2.22	5	25.48 aA (15.46-36.45)	1.19 ± 0.14	3.27	5
Spinosad	Orgánica	6.62 bB (3.74-7.88)	0.72 ± 0.07	2.16	5	9.43 bB (6.54-10.59)	0.64 ± 0.03	0.22	4
	Convencional	9.37 bB (6.50-10.52)	0.64 ± 0.03	1.41	5	8.05 bB (5.57-9.04)	0.66 ± 0.04	0.68	4

De acuerdo a los límites de confianza, dentro de la misma columna (letras minúsculas) y fila (letras mayúsculas), los valores de las CL₅₀ seguidos por la misma letra no difieren significativamente. Los parámetros se obtuvieron con el programa POLO PC a las 72 h postratamiento.

La mortalidad fue muy similar en los huevos de las dos edades de la población orgánica (entre 4-49 y 4-46% para los huevos < 48 h y de 6 días de edad, respectivamente) y convencional (entre 5-21 y 7-17% para los huevos < 48 h y de 6 días de edad, respectivamente). Solamente la concentración más alta de las ensayadas (500 mg de i.a./L) fue significativamente distinta ($F = 7.49$, $gl = 48$, $P < 0.0001$ para los huevos < 48 h de edad y $F = 6.91$, $gl = 48$, $P < 0.0001$ para los huevos de 6 días de edad) al resto de las concentraciones y al testigo en cada una de las edades de los huevos y poblaciones del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. De igual forma, esta misma concentración causó un efecto significativo entre ambas poblaciones en cada edad de los huevos; aunque también la concentración de 200 mg de i.a./L mostró diferencias entre las dos poblaciones en los huevos de 6 días de edad.

Cuadro 4. Mortalidad de larvas provenientes de huevos de dos edades (< 48 h y 6 días de edad) de dos poblaciones del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., tratados con diferentes concentraciones de malatión.

Concentración	Huevos < 48 h de edad		Huevos de 6 días de edad	
	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional
0.0	3.75 ± 2.39aA	6.25 ± 1.25aA	5.0 ± 2.04aA	3.75 ± 1.25aA
0.1	3.75 ± 2.39aA	5.0 ± 2.04aA	3.75 ± 2.39aA	8.75 ± 3.14abA
1	6.25 ± 2.39aA	5.0 ± 3.53aA	6.25 ± 2.39aA	11.25 ± 4.26abA
10	5.0 ± 2.04aA	6.25 ± 2.39aA	5.0 ± 2.04Aa	11.25 ± 1.25abcA
50	13.75 ± 3.14aA	8.75 ± 3.14aA	12.5 ± 1.44aA	12.5 ± 2.5bcA
100	8.75 ± 2.39aA	8.75 ± 2.39aA	15.0 ± 5.0aA	7.5 ± 3.22abA
200	13.75 ± 4.26aA	12.5 ± 3.22abA	17.5 ± 4.78aA	8.75 ± 2.39abB
500	48.75 ± 11.25bA	21.25 ± 5.54bB	46.25 ± 10.68bA	17.5 ± 1.44cB

Los datos son expresados como la media ± EE. Para cada edad de huevos, dentro de la misma columna (letras minúsculas) y dentro de la misma fila (letras mayúsculas), datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente. Los análisis se realizaron a las 72 h después del tratamiento.

9.2. Toxicidad larvaria de *Amorbia* sp.: tratamientos por ingestión y tópico

Con los datos obtenidos se calcularon los valores de las CL_{50} de bifentrina y spinosad para las larvas de tercer ínstar de *Amorbia* sp., de ambas poblaciones ensayadas cuando se trataron por ingestión y tópicamente (Cuadro 5). De acuerdo a los LC, sólo se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones orgánica y convencional cuando se trataron vía ingestión con bifentrina. El valor de la CL_{50} de este compuesto para la poblacional convencional, representó prácticamente el doble del obtenido para la población orgánica (28.25 y 61.83 mg de i.a/L para las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente).

En el tratamiento tópico, no se registraron diferencias significativas entre poblaciones e insecticidas ensayados. Spinosad mostró diferencias significativas entre los tratamientos tópico e ingestión tanto en las larvas de las poblaciones orgánica y convencional del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. El tratamiento por ingestión fue 14 veces mayor en la población orgánica y 11.7 veces en la población convencional (4 y 56, y 6.5 y 76.5 mg de i.a./L, para los tratamientos por ingestión y tópico en la poblaciones orgánica y convencional, respectivamente). Respecto a bifentrina, no existieron diferencias significativas entre las poblaciones en el tratamiento tópico. Sin embargo, el valor de la CL_{50} de la población convencional (86.7 mg de i.a/L) fue casi el doble que el registrado para la población orgánica (44.5 mg de i.a/L). No fue posible calcular los valores de la CL_{50} para el insecticida malatión debido a que ninguna concentración causó mortalidad sobre las larvas en ambos métodos de aplicación.

Cuadro 5. Efecto de spinosad y bifentrina, en tratamientos por ingestión y tópico, sobre larvas de tercer ínstar de dos poblaciones del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp.

Población	Insecticida	Tratamiento por ingestión				Tratamiento tópico			
		CL ₅₀ (95% LC)	Pendiente ± EE	χ ²	gl	CL ₅₀ (95% LC)	Pendiente ± EE	χ ²	gl
Orgánica	Spinosad	3.94 (2.88-5.13)aA	2.07 ± 0.52	1.2	3	55.98 (39.47-70.29)aB	2.95 ± 0.73	1.8 3	2
	Bifentrina	28.25 (21.45-35.70)bA	2.98 ± 0.33	4.87	4	44.53 (25.05-58.57)aA	2.82 ± 0.83	0.1 8	3
Convencional	Spinosad	6.51 (4.86-8.46)aA	1.90 ± 0.22	1.27	3	76.48 (61.43-96.93)aB	2.37 ± 0.43	0.4 0	3
	Bifentrina	61.83 (47.82-89.63)cA	1.56 ± 0.27	1.74	4	86.13 (57.59-164.81)aA	1.53 ± 0.37	2.1 0	3

Dentro de la misma columna (letras minúsculas) y dentro de la misma fila (letras mayúsculas), datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente. Regresión probit ajustada a las 72 h después del tratamiento, excepto para la población orgánica tratada con bifentrina por el método de ingestión donde el probit se ajustó a las 96 h después del tratamiento.

9.3. Toxicidad en adultos por ingestión

Los valores de las CL_{50} de malatión (80.10 y 90.70 mg de i.a./L para las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente) fueron significativamente distintos a los registrados para spinosad y bifentrina en ambas poblaciones ensayadas (18.61 y 27.12, y 26.18 y 28.62 mg de i.a./L de spinosad y bifentrina para las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente). Entre bifentrina y spinosad no se registraron diferencias significativas y tampoco se observaron diferencias entre las poblaciones del insecto con ninguno de los insecticidas ensayados (Cuadro 6).

En cuanto a los efectos subletales, solo se observaron diferencias significativas en relación al número total de huevos ovipositados por hembra ($F = 5.87$, $gl = 13$, $P < 0.0001$) en ambas poblaciones (661 y 404 huevos por hembra para la población orgánica y convencional, respectivamente). Las distintas concentraciones de spinosad, fueron las que tuvieron mayor efecto en la disminución de la cantidad de huevos ovipositados por hembra en ambas poblaciones. Respecto al porcentaje de fertilidad y eclosión de huevos no se observaron diferencias estadísticas significativas ($F = 1.45$, $gl = 13$, $P = 0.16$ y $F = 1.13$, $gl = 13$, $P = 0.34$, respectivamente) (Cuadro 7).

Cuadro 6. Mortalidad de adultos de dos poblaciones del enrollador de hojas, *Amorbia* sp., tratados con diferentes concentraciones de spinosad, bifentrina y malatión.

Insecticida	Orgánica				Convencional			
	CL ₅₀ (95% LC)	Pendiente ± EE	χ ²	gl	CL ₅₀ (95% LC)	Pendiente ± EE	χ ²	gl
Spinosad	18.61 (8.94-53.09)aA	1.59 ± 0.30	3.11	3	27.12 (19.44-38.34)aA	1.97 ± 0.35	1.08	3
Bifentrina	26.18 (20.29-32.91)aA	2.79 ± 0.51	1.80	3	28.62 (22.86-35.39)aA	3.10 ± 0.54	0.25	3
Malatión	80.10 (60.35-103.23)bA	2.64 ± 0.45	1.91	3	90.70 (66.89-120.59)bA	2.29 ± 0.42	1.64	3

De acuerdo a los límites de confianza, dentro de la misma columna (letras minúsculas) y dentro de la misma fila (letras mayúsculas), datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente. Los análisis probit se ajustaron a las 72 h pos-tratamiento.

Cuadro 7. Fecundidad, fertilidad y % de eclosión de huevos de hembras de *Amorbia* sp., alimentadas con miel al 20% tratada con diferentes concentraciones de spinosad, bifentrina y malatión.

Insecticida	Dosis	No. huevos/hembra		Fertilidad/hembra (%)		% Eclosión/hembra (%)	
		Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional	Orgánica	Convencional
Testigo	0.0	661.0 ± 59.39aA	404.71 ± 91.57aB	89.57 ± 14.54aA	48.83 ± 14.54aA	50.99 ± 10.54aA	29.44 ± 10.54aA
	1	115.4 ± 70.24b	NE	57.82 ± 17.20a	NE	35.44 ± 12.48a	NE
Spinosad	5	NO-3	112.28 ± 59.39b	NO-3	39.34 ± 14.54a	NO-3	19.68 ± 10.54a
	10	142.57 ± 59.39bA	151.83 ± 64.15bA	83.31 ± 14.54aA	81.99 ± 15.70aA	53.77 ± 10.54aA	53.31 ± 11.39aA
	30	415.25 ± 78.56cA	215.66 ± 90.72abA	93.25 ± 19.23aA	53.42 ± 22.21aA	48.95 ± 13.96aA	33.28 ± 16.11aA
	50	171.0 ± 78.56bA	200.0 ± 70.27bA	25 ± 19.23bA	82.20 ± 17.20aB	19.17 ± 13.95aA	59.07 ± 12.48aB
Malatión	100	NO-3	243.5 ± 64.15a	NO-3	70.60 ± 15.70a	NO-3	48.59 ± 11.39a
	200	NO-3	204.6 ± 70.27b	NO-3	49.81 ± 17.20a	NO-3	35.59 ± 12.48a
	250	NE	192.0 ± 78.56b	NE	68.65 ± 19.23a	NE	38.51 ± 13.95a
Bifentrina	10	232.5 ± 78.56bc	NO-3	71.09 ± 19.23a	NO-3	40.83 ± 13.95a	NO-3

Para el análisis de datos, sólo se consideraron las concentraciones en las que existió un mínimo de tres hembras ovipositando. Los datos son expresados como la media ± EE. Datos seguidos por las mismas literales (minúsculas dentro de la misma columna, mayúsculas dentro de la misma fila) no difieren estadísticamente. NE = No Ensayada la concentración. NO-3= No Oviposición de las hembras, o en su caso menos de tres hembras ovipositando.

10. DISCUSIÓN

10.1. Efecto ovicida de los insecticidas malatión, bifentrina y spinosad

Los insectos plaga pueden presentarse dentro de los cultivos en cualquiera de sus diferentes estados de vida (huevo, larva, ninfa, pupa y adulto) y dependiendo del daño que causen, principalmente aquellos estados móviles, se ejercen los diversos métodos de control. La información acerca de la susceptibilidad del estado de huevo de lepidópteros plaga a diferentes insecticidas es escasa ya que la mayoría de los estudios están enfocados a su etapa larvaria porque es la que causa el mayor daño a los cultivos agrícolas.

En el presente estudio, los tres insecticidas ensayados causaron efecto ovicida sobre el enrollador de las hojas, *Amorbia* sp., para las dos edades de huevos y las dos poblaciones ensayadas. Bifentrina causó 21% y 31% de mortalidad de huevos en las poblaciones orgánica y convencional, respectivamente, mientras que malatión y spinosad causaron alrededor del 20% de mortalidad en ambas edades de ambas poblaciones. Al respecto Scholz *et al.*, (2000) reportaron también una mortalidad de entre el 10 y 30 % de huevos de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) tratados con spinosad, lo cual es similar a lo encontrado en nuestro trabajo.

El tipo de adherente y la forma cómo los huevos son depositados por las hembras de los insectos puede influenciar la actividad biológica de los insecticidas. El efecto ovicida observado por los insecticidas pudo ser debido al uso del adherente-dispersante que pudo ayudar a la deposición y penetración de los mismos, a través del corion. Al respecto, una concentración de 1000 mg de i.a/L de spinosad, mezclado con el adherente-dispersante SDS, causó 30% de mortalidad sobre huevos de 48 h de *S. frugiperda* (Zamora *et al.* 2008). De igual forma, este mismo compuesto, disuelto en acetona, causó efecto ovicida sobre huevos de dos edades (< 24 y de 24-48 h) de *Spodoptera littoralis* Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae) (Pineda *et al.* 2004). Estos autores obtuvieron bajos valores de las CL₅₀ de este compuesto (3.43 y 1.35 mg de i.a./L para los huevos de 24 y 24-48 h de edad, respectivamente).

Adán *et al.* (1996), señalaron que los solventes inorgánicos facilitan la deposición y penetración de los insecticidas en la cutícula de los insectos. Por lo tanto, en el estudio de

Pineda *et al.*, (2004), la acetona pudo facilitar la entrada del compuesto a través del delgado corion de los desnudos y lisos huevos de este insecto. En contraste, este mismo insecticida (spinosad), no causó ningún efecto sobre los huevos de la mosca del mediterráneo, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae), cuando se trataron con concentraciones desde 1 hasta 1000 mg de i.a/L) (Adán *et al.*, 1996).

Por otra parte, Toloza *et al.* (2008) realizaron un trabajo con el insecticida deltametrina, sobre huevos de la chinche *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae) en dos poblaciones (una de laboratorio, considerada como susceptible y otra proveniente de una localidad de Argentina) y obtuvieron una DL₅₀ de 6.0 y 6.1 ng de i.a./huevo para cada población, respectivamente. Por su parte, Mougabure *et al.* (2008), reportaron una DL₅₀ de 3780 ng de i.a./insecto del piretroide fenotrina para huevos de *Pediculus humanus capitis* De Geer (Phthiraptera: Pediculidae) en poblaciones de Argentina.

Los insecticidas spinosad y bifentrina mostraron una significativa mortalidad de las larvas neonatas provenientes de los huevos tratados del enrollador de hojas, *Amorbia* sp. Este efecto pudo deberse a que las larvas se intoxicaron al alimentarse del corion al momento de la eclosión. Estos resultados son similares a los reportados por Pineda *et al.* (2004), quienes realizaron un experimento en el que evaluaron la mortalidad de larvas provenientes de huevos de *S. littoralis* tratados con spinosad. Al respecto, estos autores registraron 100% de mortalidad a partir de la concentración de 10 mg de i.a/L. De igual forma, spinosad causó entre 20-80% y 67-100% de mortalidad de larvas provenientes de huevos de *H. armígera* (Scholz *et al.* 2000) y *S. frugiperda* (Zamora *et al.* 2008), respectivamente.

Por otra parte, Smirle *et al.* (2003), evaluaron los insecticidas spinosad y azinfosmetil sobre poblaciones orgánicas y convencionales del enrollador de las hojas *Ch. rosaceana*. Estos autores encontraron una alta susceptibilidad de las larvas neonatas de este insecto hacia spinosad y en este caso, al igual que en el presente estudio, no encontraron diferencias significativas entre poblaciones. Sin embargo, azinfosmetil mostró diferencias significativas entre las CL₅₀ de la población orgánica contra la población convencional (1.85 y 30.47 mg de i.a/L respectivamente). En contraste, en el presente estudio, la mortalidad obtenida con el

insecticida organofosforado (malatión) no superó el 50% en ninguna de las poblaciones y por ello no se obtuvieron las CL₅₀.

Jones *et al.* (2010) realizaron pruebas de susceptibilidad con los insecticidas spinosad y spinoteram sobre larvas neonatas de *Grapholita molesta* Busk (Lepidoptera: Tortricidae) y los valores de las CL₅₀ fueron de 0.03 y 0.6 mg de i.a/kg para cada compuesto, respectivamente. Las diferencias entre estos resultados y los del presente estudio pueden ser atribuidas a las metodologías usadas. En el presente estudio, la mortalidad de las larvas del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp., se registró en larvas neonatas provenientes de los huevos de dos edades tratados con las diferentes dosis de los insecticidas. Esto significa que el insecticida no estuvo directamente en contacto con la larva hasta que ésta consumió parte del corion del huevo al momento de su emergencia, por lo que la cantidad de insecticida consumido pudo ser mínima. En contraste, en el estudio de Jones *et al.* (2010), las larvas neonatas fueron expuestas directamente a la dieta artificial mezclada con los insecticidas, lo que posiblemente contribuyó a ingerir mayor cantidad de los compuestos.

10.2. Susceptibilidad de larvas de tercer estadio: tratamiento tópico e ingestión

La toxicidad causada por diferentes insecticidas vía ingestión y tópicamente sobre diferentes especies de insectos ha sido reportada en diversos estudios (Jones *et al.*, 2010; Anjum *et al.*, 1996; Pineda *et al.*, 2004, 2007a, 2007b; Méndez *et al.*, 2002; Medina *et al.*, 2001; Mascarenhas *et al.*, 1998; Payne *et al.*, 1999). En el presente estudio, spinosad y bifentrina fueron más tóxicos por ingestión que cuando se aplicaron tópicamente sobre las larvas del enrollador de las hojas, *Amorbia* sp. Esto puede ser debido al modo de acción, ya que ambos compuestos son neurotóxicos y actúan principalmente por ingestión (Salgado 1997, 1998; Bisset 2002; Ponce *et al.*, 2006; Wolansky *et al.*, 2007). Además, en el presente estudio, se registraron diferencias estadísticas entre los tratamientos tópico e ingestión, cuando se suministró spinosad, lo cual contrasta con lo reportado por Zamora *et al.* (2008), para larvas de tercer instar de *S. frugiperda*, en el cual no se encontraron diferencias significativas entre ambas formas de aplicación. Por su parte, Méndez *et al.* (2002), reportaron una CL₅₀ de 3 mg de i.a/kg para las larvas de segundo instar de *S. frugiperda*, tratadas por ingestión con el insecticida spinosad, lo que es similar a los resultados de este estudio y a los reportados para

S. litoralis (Pineda *et al.*, 2004). Otro reporte señala que spinosad causó una mayor mortalidad comparado con varios insecticidas sintéticos al ser suministrados mediante ingestión a larvas de primer y segundo instar de *H. virescens* (Payne *et al.*, 1999). En un tratamiento tópico, cipermetrina, clorpirifos y spinosad causaron 19, 49 y 93% de mortalidad, respectivamente, de larvas de cuarto estadio de *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) (Pozo 2010). En nuestro estudio el insecticida organofosforado no causó ningún efecto sobre las larvas de tercer estadio de *Amorbia* sp.

10.3. Susceptibilidad de adultos de *Amorbia* sp.: efectos subletales.

La evaluación de la susceptibilidad del estado adulto de los insectos hacia los insecticidas, así como los efectos subletales que éstos puedan causar en los sobrevivientes es de suma importancia debido a que estos efectos pueden verse reflejados en la descendencia como alteraciones en diferentes aspectos fisiológicos y de comportamiento (Desneux *et al.*, 2007; Araya *et al.*, 2005). En cuanto al efecto de los insecticidas sobre adultos de *Amorbia* sp., el spinosad fue el insecticida que mostró mayor efecto sobre ambas poblaciones del enrollador. En contraste Boyd y Boethel (1998), encontraron una mayor susceptibilidad de los adultos del depredador *Geocoris punctipes* Say (Hemiptera: Geocoridae) hacia insecticidas organofosforados (metil paration) y piretroides (permetrina) en comparación con el spinosad.

Después del spinosad, bifentrina fue el insecticida que mostró mejor efecto comparado con el malatión sobre los adultos de *Amorbia* sp. Al respecto, Hernández *et al.*, (2008), reportaron también un mejor efecto del insecticida cipermetrina comparado con otros insecticidas organofosforados (malatión y clorpirifos-etil) para el control del barrenador de las semillas *Bephratelloides cubensis* Ashmead (Hymenoptera: Eurytomidae). Por su parte Dávila *et al.*, (2012), muestran un mayor efecto con deltrametrina comparado con endosulfan (CL₅₀ de 31.2 y 149.31 ppm de i.a./L respectivamente) para el control de *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Psyllidae) en Coahuila, México. Por su parte, Zapata *et al.*, (2005), mencionaron un mayor efecto con el insecticida malatión comparado con la acción de una piretrina natural sobre *Psytalia concolor* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae), en el cual la

CL₅₀ de malatión fue de 37.3 mg de i.a/L comparado con 63.4 mg de i.a/L de la piretrina natural, lo cual es prácticamente el doble de ingrediente activo.

Respecto a los efectos subletales en la reproducción de adultos tratados con diferentes insecticidas, en el presente estudio se registraron diferencias significativas en cuanto al número total de huevos ovipositados respecto al testigo al ser tratados con spinosad, mostrándose una reducción de huevos de hembras tratadas con 10 mg de i.a/L en ambas poblaciones ensayadas (661 y 142, y 404 y 151 huevos/hembra (testigo y spinosad, respectivamente) para la población orgánica y convencional, respectivamente). Esta reducción en la oviposición puede ser debido a la inversión de energía por parte de las hembras tratadas para contrarrestar los efectos de los compuestos que poseen acción neurotóxica. Al respecto, Haynes (1988) y Desneux *et al.* (2007) reportaron que los insecticidas neurotóxicos pueden causar este tipo de efecto en los insectos cuando son tratados con insecticidas neurotóxicos. Estos autores mencionaron que la exposición de insectos a concentraciones no letales de insecticidas causa diversos efectos negativos tales como alteraciones en su conducta, reducción de la emergencia de adultos, malformaciones, aumento o disminución del ciclo biológico, reducción de tamaño, reducción en la fecundidad y viabilidad de huevos y problemas alimenticios que repercuten en la reproducción. Por ejemplo, en un tratamiento residual, spinosad causó una reducción de hasta un 86% en el número de huevos puestos por hembras de *S. littoralis* en comparación con el testigo (Pineda *et al.*, 2007b). A su vez, Wang *et al.* (2009), reportaron una reducción de hasta un 54% comparado con el control en la producción de huevos de hembras de *H. armigera* tratadas con spinosad. En contraste, López *et al.* (2011), no reportan diferencias estadísticamente significativas al ensayar diferentes concentraciones de spinosad disueltas en sucrosa (0 a 1 mg de i.a./L de spinosad) sobre *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae). En el presente trabajo, se observó un comportamiento de oviposición irregular de las hembras tratadas con los tres insecticidas ensayados. Los huevos fueron depositados aglomerados en forma de esfera.

La acción subletal de los neurotóxicos, también se ha observado en otras especies de insectos. Por ejemplo, en el parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) con el insecticida lambda-cialotrina, el cual afectó tanto la eclosión de los huevos así como la emergencia de los adultos hasta en un 35 y 25% respectivamente (Cónsoli

et al. 1998). López *et al.* (2011), también reportaron una alta reducción en la eclosión de los huevos provenientes de hembras de *H. zea* tratadas con diferentes concentraciones de spinosad de hasta un 77% menos en la concentración más alta ensayada (1 mg i.a/L) en comparación con el testigo (85% de eclosión en el testigo y de 8% con spinosad).

11. CONCLUSIONES

De manera general, retomando el origen del trabajo, es decir, la hipótesis y los objetivos planteados para su comprobación, se llegó a la conclusión de que no existen diferencias entre las poblaciones orgánica y convencional ensayadas. Se llegó a dicha conclusión debido a lo siguiente:

- Ninguno de los insecticidas, spinosad, bifentrina ni malatión mostraron un efecto ovicida superior al 30% de mortalidad
- En ambas poblaciones el spinosad resultó más efectivo que bifentrina sobre las neonatas provenientes de los huevos de las dos edades tratados con estos insecticidas. De igual manera, en ambas poblaciones el malatión no superó el 50% de mortalidad en ambas poblaciones.
- En cuanto al efecto sobre larvas de tercer estadio, tampoco se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones con los insecticidas bifentrina y spinosad.
- Malatión no causó mortalidad sobre las larvas de tercer estadio en los tratamientos tópico e ingestión. .

Por último, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que el orden de efectividad de los insecticidas ensayados sobre el enrollador de hojas, *Amorbia* sp., fue spinosad>bifentrina>malatión. Este último compuesto sólo mostró efecto sobre los adultos del enrollador. Por lo tanto, se sugiere realizar más estudios de susceptibilidad con otros insecticidas del grupo de los organofosforados sobre este lepidóptero para tener mayor certeza de si este organismo está desarrollando alguna tipo de resistencia para evitar la toxicidad de los integrantes del grupo al que pertenece el malatión, el cual se usa comúnmente en los cultivos de zarzamora.

12. LITERATURA CITADA

- Adan, A., P. Del Estal, F. Budia, M. Gonzalez y E. Viñuela. 1996. Laboratory evaluation of the novel naturally derived compound spinosad against *Ceratitis capitata*. *Pesticide Science*. 48: 261-268.
- Anjum, S. M., G. Dildar, M. Jalal, A. Muhammad y M. Sarfraz. 2007. Effect of various treatments of azadirachtin, spinosad and abamectin on the haemogram of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pakistan Journal of Entomology*. 29: 151-164.
- Araya, J. E., A. Sanhueza y M. A. Guerrero. 2005. Efecto de varios insecticidas sobre adultos de *Apanteles glomeratus* (L.), parasitoide de larvas de la mariposa blanca de la col, *Pieris brassicae* L. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. 31(4): 617-622.
- Attia, F. I., E. Shipp y G. J. Shanahan. 1981. Inheritance of resistance to malathion, DDT and dieldrin in *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*. 17 (3): 109-115.
- Badii, M. H y A. V. Garza. 2007. Resistencia en insectos, plantas y microorganismos. *CULCyT*. 4(18): 9-25.
- Bailey, D., P. Young y M. Roe. 1999. Laboratory selection of a Tracer® resistant strain of the tobacco and comparisons with field strains from southeastern US. En: *Proceedings, Beltwide Cotton Conferences*. Orlando, FL, USA 3-7 January. Volume 2 (editado por Dugger, P. y Richter, D). 1221-1224.
- Barreto, B. O. 2012. Parasitoides de dos enrolladores de hojas de zarzamora con énfasis en la biología de *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) y de su parasitoide *Apanteles cercana aristoteliae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae). Tesis de Maestría. Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 85p.

- BIO-NICA ORG, 2015. Fauna Entomológica de Nicaragua. Familia Tortricidae. Disponible en <http://www.bio-nica.info/Ento/Lepido/TORTRICIDAE.htm> (consultada en junio de 2015).
- Bisset, J. A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 54(3): 202-219.
- Bloomquist, J. R. 2015. Insecticidas: Química y características. Disponible en <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/BloomquistSp.htm> (consultada en junio de 2015).
- Bloomquist, J. R. y T. A. Miller. 1985. Carbofuran triggers flight motor output in pyrethroid-blocked reflex pathways of the house fly. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 23: 247-55.
- Boyd, M. L y D. J. Boethel. 1998. Susceptibility of predaceous hemipteran species to selected insecticides on soybean in Louisiana. *Journal of Economic Entomology*. 91 (2): 401-409.
- Carod, B. E. 2002. Insecticidas organofosforados. De la guerra química al riesgo laboral y doméstico. *Medifam*. 12: 333-340.
- Cónsoli, F. L., J. R. P. Parra y S. A. Hassan. 1998. Side effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*. 122: 43-47.
- Dávila, M. D., E. Cerna, L. A. Aguirre, O. García y M. Yisa. 2012. Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc.) en Coahuila, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3: 1145-1155.
- Desneux, N., A. Decourtye y J. M. Delpuech. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*. 52: 81-106.
- Devine, G. J., D. Eza, E. Ogosuku y M. J. Furlong. 2008. Uso de insecticidas: contexto y

- consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25 (1): 74-100.
- Díaz, M. S., A. Espuny, E. Escudero y C. M. Cárceles. 2000. Farmacología de los endectocidas: Aplicaciones terapéuticas (II). *Anales de Veterinaria de Murcia*. 16: 15-40.
- Dripps, J. E., C. V. De Amicis, T. C. Sparks y G. D. Crouse. 2008. Reduced risk pesticides: Environmental chemistry, toxicology and compatibility with IPM. *Division of Agrochemicals. The 236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA*. 17-21p.
- Ellis, M. A., R. H. Converse, R. N. Williams y B. Williamson. 1991. Compendium raspberry and blackberry diseases and insects. *The American Phytopathological Society*. ST Paul, Minnesota, USA. 100p.
- EPA, 2015. Insecticidas organofosforados. Capítulo 4. Sección 2. Disponible en <http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch4.pdf> (Consultada en junio de 2015).
- Haynes, K. F. 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review Entomology*. 33:149–168.
- Hernández, L. M., N. Bautista, J. L. Carrillo, H. Sánchez, M. A. Urías y M. D. Salas. 2008. Control del barrenador de las semillas, *Bephratelloides cubensis* Ashmead (Hymenoptera: Eurytomidae), en guanábana, *Annona muricata* L. (Annonales: Annonaceae). *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)*. 24: 199-206.
- Jiménez, E., F. Amador, N. Tijerino y J. M. Maes. 2006. Insectos asociados al cultivo de mora (*Rubus glaucus* Benth) en la Sabana, Madriz, Nicaragua. *Revista Nicaragüense de Entomología*. 66: 1-61.
- Jiménez, E. S. y M. R. Laguna. 2008. Insectos plagas y enfermedades asociadas a los cultivos de mora y fresa. *Guía técnica No. 13. Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua*.

- Jones, M. M., J. L. Robertson y R. A. Weinzierl. 2010. Susceptibility of oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) larvae to selected reduced-risk insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 103(5): 1815-1820.
- Juárez, G. A. C. 2013. Identificación y biología de un enrollador de hojas de zarzamora: parasitoides asociados a dos tortricidos. Tesis de Maestría. Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México. 65 p.
- López, D. J., A. M. Latheef y W. Hoffmann. 2011. Mortality and reproductive effects of ingested spinosad on adult bollworms. *Pesticide Management Science*. 67: 220-225.
- Mata, Z. P. 2015. Tendencias en el uso de insecticidas para el control de plagas. Sagarpa: Departamento de Evaluación de Insumos. Disponible en: <http://www.colpos.mx/entomologia/cursos/Tendencia1.ppt> (Consultada en junio de 2015).
- Mascarenhas, J., B. Graves, R. Leonard y E. Burris. 1998. Susceptibility of field populations of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to commercial and experimental insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 91: 827-833.
- Medina, M. P., F. Budía, L. Tirry, G. Smaghe y E. Viñuela. 2001. Compatibility of spinosad, tebufenozide and azadirachtin with eggs and pupae and the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology*. 11: 597-610.
- Meijerman, L. y S. A. Ulenberg. 2000. Arthropods of economic importance: Family Tortricidae leafrollers. Eurasian Tortricidae. Arthropods of Economic Importance (Zoological Museum University of Amsterdam). Disponible en <http://wbd.etibioinformatics.nl/bis/tortricidae.php?menuentry=inleiding> (Consultada en junio de 2015).

- Méndez, W. A., J. Valle, J. E. Ibarra, J. Cisneros, D. L. Penagos y T. Williams. 2002. Spinosad and nucleopolihedrovirus mixtures for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control*. 25: 195-206.
- Montenegro, R. A. 2001. Informe sobre los riesgos sanitarios y ambientales del malatión. RAP-AL URUAGUAY. Disponible en <http://webs.chasque.net/~rapaluy1/malation/informe1.html> (consultada en junio de 2015).
- Morales, M. T. 2009. México campeón mundial en exportación de zarzamoras. Mercados especiales. Universidad Autónoma de México. 59-62.
- Moreno, P. I., R. C. Rioja y V. Marco. 2010. Insecticidas para el control de la polilla del racimo de la vid: aspectos destacables para una utilización adecuada. *Agricultura: Revista Agropecuaria*. 929: 382-386.
- Morillo, F y A. Notz. 2001. Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. *Entomotropica*. 16(2): 79-87.
- Mougabore, G., E. N. Zerba y M. I. Picollo. 2008. Evidence of pyrethroid resistance in eggs of *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) from Argentina. *Journal of Medical Entomology*. 45(4): 693-697.
- Moulton, K., A. Pepper y J. Dennehy. 1999. Studies of resistance of beet armyworm (*Spodoptera exigua*) to spinosad in field populations from the southern USA and Southeast Asia. En: *Proceedings, Beltwide Cotton Conferences*. Orlando, FL, USA 3-7 January. Volume 2 (editado por Dugger, P. and Richter, D). 884-887p.
- Muñoz, R. M y M. A. Juárez. 1995. El mercado mundial de la frambuesa y zarzamora. Chapingo, Mex. 87p.
- Ochoa, F. L. y H. B. De la Tejada. 2004. La zarzamora ante los retos productivos, del mercado y del desarrollo local. Universidad Autónoma de Chapingo y Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 175 p.

- Orr, N., A. J. Shaffner, K. Richey K y G. D. Crouse. 2009. Novel mode of action of spinosad: Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 95(1): 1-5.
- Ovalle, O. G y R. D. Cave. 1989. Determinación de resistencia de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) a insecticidas comunes en Honduras. *CEIBA*. 30(1): 119-128.
- Pant, R y S. K. Katiyar. 1983. Effect of malathion and acetylcholine on the developing larvae of *Philosamia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae). *Journal of Biosciences*. 5(1): 89-95.
- Payne G., M. Hasty y Ch. O'Meara. 1999. Susceptibility of field-collected populations of tobacco budworm and cotton bollworm to various insecticides. *En Proceedings Beltwide Cotton Conference. National Cotton Council, Orlando, FL, USA 3-7 January*. Volume 2 (edited por Dugger, P. and Richter, D). 1778-1780.
- Pineda, S., F. Budia, M. I. Schneider, A. Gobbi, E. Viñuela y P. Del Estal. 2000. Efectividad biológica de spinosad y del regulador de crecimiento metoxifenocida (RH-2485) sobre huevos de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae). *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. 26: 483-491.
- Pineda, S., F. Budia, M. I. Schneider, A. Gobbi, E. Viñuela, J. Valle y P. Del Estal. 2004. Effects of two biorrational insecticides, spinosad and methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology*. 97 (6): 1906-1911.
- Pineda, S., G. Smagghe, M. I. Schneider, P. Del Estal, E. Viñuela, A. M. Martínez y F. Budia. 2006. Toxicity and pharmacokinetics of spinosad and methoxyfenozide to *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental entomology*. 35(4): 856-864.
- Pineda, S., M. I. Schneider y A. M. Martínez. 2007a. El spinosad, una alternativa para el control de insectos plaga. *Ciencia Nicolaita*. 46: 29-42.
- Pineda, S., M. I. Schneider, G. Smagghe, A. M. Martínez, P. Del Estal, E. Viñuela y F. Budia. 2007b. Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide and spinosad on *Spodoptera*

- littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*. 100(3): 773-780.
- Ponce, G., C. P. Cantú., A. Flores, M. Badii, R. Zapata, B. López e I. Fernández. 2006. Modo de acción de los insecticidas. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. Vol. 7 No. 4. Disponible en http://www.respyn.uanl.mx/vii/4/ensayos/modo_accion.htm (Consultada en junio de 2015).
- Pozo, P. I. 2010. Susceptibilidad a insecticidas de diferentes grupos químicos en poblaciones de *Tuta absoluta* (Myerick). Memoria para obtener título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. Valdivia, Chile. 44pp.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rebollar, A. A., I. López, A. M. Martínez, J. I. Figueroa, M. I. Schneider y S. Pineda. 2009. Identificación, dinámica poblacional y parasitoides del enrollador de las hojas, *Argyrotaenia montezumae* Walsingham (Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de zarzamora en Michoacán, México. *VI Congreso Nacional de Entomología Aplicada*. Mallorca, España. p. 44p.
- Reissig, W. H., B. H. Stanley y H. E. Hebding. 1986. Azinphosmethyl resistance and weight-related response of obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) larvae to insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 79: 329-333.
- Roberts, T. y D. Hutson. 1999. Metabolic pathways of agrochemicals. Part 2: Insecticides and Fungicides. *The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom*. 1180–1384p.
- Rosas, G. N. M. y J. M. Villegas. 2008. Bionomics of a novel species of *Argyrotaenia* (Lepidoptera: Tortricidae) presents in Mexican avocado orchards. *Acta Zoológica Mexicana*. 24: 129-137p.

- Ríos, J. C. 2015. Guía de intoxicaciones, CITUC: Organofosforados. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/publ/guiaintoxicaciones/Organofosforados.html#> (consultada en mayo de 2015).
- Rizzo, R., G. L. Verde y A. Lombardo. 2012. Effectiveness of spinosad and mineral oil for control of *Grapholita funebrana* Treitschke in organic plum orchards. *New mediterranean Journal of Economics, Agriculture and Environment= Revue Méditerranéenne D'economie, Agriculture et Environment* 11(4): 70-72.
- SAGARPA-SIAP. 2012. Producción Agrícola. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> (consultada en mayo de 2015).
- Salgado, V. L. 1997. The modes of action of spinosad and other insect control products. *Down to Earth*. 52: 35-43.
- Salgado, V. L. 1998. Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlated. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 60: 91-102.
- Salgado, V. L y T. C. Sparks. 2005. The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance. *Comprehensive Molecular Insect Science*. 6: 137-173.
- Sánchez, R. G. 2008. La red de valor de la zarzamora. El clúster de Los Reyes, Michoacán, un ejemplo de reconversión competitiva. Primera edición. Fundación PRODUCE Michoacán, A.C. Morelia, Michoacán, México. 116p.
- Scholz, B., D. Murray y R. Annetts. 2000. The ovicidal activity of Tracer Naturalyte insect control on *Helicoverpa*. En 10th Australian Cotton Conference. 227-232p.
- Schoonover, J. R y L. L. Larson. 1995. Laboratory activity of spinosad on non-target beneficial arthropods. *Arthropod Management Tests*. 20: 357p.
- Sial, A. A., J. F. Brunner y M. D. Doerr. 2010. Susceptibility of *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) to two new reduced-risk insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 103(1): 140-146.

- Sial A. A y J. F. Brunner. 2010. Toxicity and residual efficacy of chlorantraniliprole, spinoteram, and emamectin benzoate to obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*. 103(4): 1277-1285.
- SIAP (Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera). 2012. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Producción Agrícola Nacional. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> (Consultada en junio de 2015).
- SIAP (Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera). 2013. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Producción Agrícola del Estado de Michoacán. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> (consultada en junio de 2015).
- SISTEMA PRODUCTO ZARZAMORA DE MICHOACÁN: PLAN RECTOR ESTATAL. 2013. Disponible en http://www.oeidrus-portal.gob.mx/oeidrus_mic/docs/Plan_Rector_Zarzamora_2013.pdf (Consultada en junio de 2015).
- Smirle, M. J., D. T. Lowery y C. L. Zurowski. 2002. Resistance and cross-resistance to four insecticides in populations of obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*. 95: 820-825.
- Smirle, M. J., D. T. Lowery y C. L. Zurowski. 2003. Susceptibility of leafrollers (Lepidoptera: Tortricidae) from organic and conventional orchards to azinphosmethyl, spinosad and *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*. 96 (3): 879-884.
- Thomson, G. D., J. D. Busacca, O. K. Jantz, H. A. Kirst, L. L. Larson y T. C. Sparks. 1995. Spinosyns: an overview of new natural insect management systems. En *Proceedings, Beltwide Cotton Conference*. Orlando, Fl., USA 3-7 January. Volume 2 (editado por Dugger, P. and Richter, D). 1039-1043.

- Thomson, G. D., S. H. Hutchins y T. C. Sparks. 1999. Development of spinosad and attributes of a new class of insect control products. En: E. B. Radcliffe y W. D. Hutchinson (eds.), Radcliffe's IPM world textbook, URL: <http://ipmworld.umn.edu>, Universidad of Minesota, St. paul, M. N.
- Thompson, D., R. Dutton y T. C. Sparks. 2000. Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Management Science*. 56: 696-702.
- Tolozá, A. C., M. Germano, G. Mougabure, C. Vassena, E. Zerva y M. I. Picollo. 2008. Differential patterns of insecticide resistance in eggs and first instars of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. *Journal of Medical Entomology*. 45(3): 421-426.
- TortAI. 2015. Tortricid of agricultural importance. Superfamily Tortricoidea. Disponible en: <http://idtools.org/id/leps/tortai/tortricidae.html> (Consultada en Junio 2015).
- Tortricid.net. 2015. Tortricidae Resources on the web. Superfamilia Tortricoidea. Version 2.0. Disponible en: <http://www.tortricidae.com/morphology.asp> (Consultada en Junio 2015).
- University of Minnesota. 2015. El texto mundial del MIP. Disponible en: <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/SpinosadSp.htm> (consultada en junio de 2015).
- Vakenti, J. M., C. J. Campbell y H. F. Madsen. 1984. A strain of fruitree leafroller, *Archips argyrospilus* (Lepidoptera: Tortricidae) tolerant to asinphosmethyl in an apple orchard region of the Okanagan Valley of Br. Columbia. *Canadian Entomologist*. 116: 69-73.
- Varela F. S., J. W. Brown y A. G. Silva. 2009. Registro de *Platynota rostrana* (Walker, 1863) (Lepidoptera: Tortricidae) en cítricos de México. *Acta Zoológica Mexicana*. 25: 651-654p.
- Velisek, J., Z. Svobodova y V. Piackova. 2009. Effects of acute exposure to bifenthrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinárni Medicína*. 54(3): 131-137.

- Wang, D., P. Gong, M. Li, X. Qiu y K. Wang. 2009. Sublethal effects of spinosad on survival, growth and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide Management Science*. 65: 223-227.
- Watson, G. B. 2001. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid receptors from small-diameter cockroach neurones. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 71(1): 20-28.
- Wolansky, M. J., K. L. McDaniel, V. C. Moser y K. M. Crofton. 2007. Influence of dosing volume on the neurotoxicity of bifenthrin. *Neurotoxicology and Teratology*. 29: 377-384.
- Wool, D., J. H. Brower y N. B. Kamin. 1992. Reduction of malathion resistance in caged almond moth, *Cadra cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), populations by the introduction of susceptible males. *Journal of Stored Products Research*. 28(1): 59-65.
- Yin, X. H., Q. J. Wu, X. F. Li, Y. J. Zhang y B. Y. Xu. 2008. Sublethal effects of spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Crop Protection*. 27(10): 1385-1391.
- Zamora, M. C., A. M. Martínez, M. S. Nieto, M. I. Schneider, J. I. Figueroa y S. Pineda. 2008. Actividad de algunos insecticidas biorracionales contra el gusano cogollero. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31(4): 351-357.
- Zapata, N., P. Medina, E. Viñuela y F. Budia. 2005. Toxicidad de malatión, pimetrocina, piretrinas naturales+PBO y triflumuron en adultos del parasitoide *Psytalia concolor* Szépliget (Hym.: Braconidae) según el modo de aplicación. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. 31: 111-118.