

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Susceptibilidad de Poblaciones Larvales de la Cepa
"Viena 7-Tolimán 99-TSL" de *Ceratitis capitata*
(Wied.) (Díptera) a Malatión**

Margarita Bibiana Lara Monserrat

Bióloga

Guatemala, Febrero de 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Susceptibilidad de Poblaciones Larvales de la Cepa
"Viena 7-Tolimán 99-TSL" de *Ceratitis capitata*
(Wied.) (Díptera) a Malatión**

Informe Final de Tesis

Presentado por:

Margarita Bibiana Lara Monserrat

Para optar al título de

Bióloga

Guatemala, Febrero de 2007

***JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA***

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto

Secretario

Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez

Vocal III

Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela

Vocal IV

Br. Ángel Jacobo Conde Pereira

Vocal V

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es fruto del esfuerzo y colaboración de muchas personas. Dejo constancia de mi gratitud a todas ellas, pero especialmente a:

Los Directores y Personal Administrativo del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, USDA, por todo el apoyo recibido de principio a fin en este proyecto.

Dr. Pedro Rendón, Director de Métodos, por su dirección, orientación y apoyo.

Ing. Agr. Oscar Zelaya, Director del Laboratorio "El Pino", por toda su colaboración.

Ing. Agr. Amílcar Gutiérrez, Asesor del Proyecto, por su tiempo, conocimiento y orientación.

Ing. Agr. Víctor Álvarez, por su asesoría en materia estadística.

Ing. Agr. Felipe Jerónimo, por todo el apoyo recibido durante la ejecución del proyecto.

Todo el Personal de Métodos Petapa, por su valiosísima colaboración.

Todo el Personal de la Planta Modelo "El Pino" por todo el apoyo recibido.

Y a todas las personas que, de una u otra forma, colaboraron en este proyecto, aunque sus nombres no figuren en esta página. Mil Gracias.

DEDICATORIA

Dedico este acto de mi graduación profesional a la memoria de mi Padre Arturo Lara Larrave, como testimonio de mi eterna gratitud por esmerarse en mi formación, por sus valiosas enseñanzas y, sobre todo, por su digno ejemplo.

A mi Madre Antonia Cristina Monserrat Silva, como un sencillo reconocimiento a toda una vida de esfuerzo y sacrificio y por ayudarme a alcanzar esta meta.

A mi hija Viviana, porque tú eres la razón de mi vida y todos mis logros se justifican en ti.

Y al Lic. Edgar Rolando García Rivera, porque gracias a su invaluable apoyo este proyecto de tesis se ha convertido en realidad.

Dedico esta tesis a la Madre Naturaleza y al milagro de la Vida manifestada en cada una de sus criaturas.

A todos los animales experimentales, cuyas vidas han sido sacrificadas a favor de la ciencia y del bienestar mundial.

Y a los innumerables seres del planeta Tierra, cuyo destino está en manos de la humanidad.

INDICE

CONTENIDO	PAG
1 Resumen	1
2 Introducción	3
3 Antecedentes	5
4 Justificación	9
5 Objetivos	10
6 Hipótesis	11
7 Materiales y métodos	12
7.1 Universo	12
7.2 Muestra	12
7.3 Materiales	12
7.4 Métodos	14
7.4.1 Fases del experimento	14
7.4.2 Determinación de la concentración inicial del i.a	16
7.4.3 Preparación de las diluciones	16
7.4.4 Impregnación del olote de maíz	17
7.4.5 Preparación de la dieta	17
7.4.6 Lavado de cristalería y utensilios	18
7.4.7 Determinación de las concentraciones que se aplicaron a la dieta	19
7.4.8 Metodología para la siembra de huevos	19
Fase I	19
7.4.9 Metodología para la extracción larval	21
Fase II	24
7.4.10 Metodología para la colecta de larva, colecta de pupa y estimación de los parámetros de calidad del insecto	24
7.4.11 Variables a considerar	25
7.4.12 Análisis de datos	25
7.4.12.1 Diseño de la investigación	25
8 Resultados y Discusión	26
8.1 Mortalidad larval	26
8.2 Efecto ovicida	35
8.3 Recuperación larva	38
8.4 Porcentaje de pupa blanca	42
8.5 Peso pupa	46
8.6 Emergencia	51
8.7 Habilidad de vuelo	56
8.8 Longevidad	61
9 Conclusiones	65
10 Recomendaciones	67
11 Referencias bibliográficas	68
12 Anexos	70

1. RESUMEN

Se evaluó la susceptibilidad de poblaciones larvales de la cepa “Viena 7-Tolimán 99-TSL” (letalmente sensible a la temperatura) de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Díptera) a diferentes concentraciones de malatión. Para definir el límite máximo permisible de residuos de malatión en el olote de maíz, que se utiliza en la Planta de Producción MOSCAMED “El Pino”, para preparar la dieta larval, se determinó la concentración que causa la “menor mortalidad aceptable” y la concentración letal media (DL50) o dosis necesaria para que el 50% de la población o menos, presente la respuesta, en este caso mortalidad. Adicionalmente se evaluó el efecto residual del ingrediente activo en el insecto adulto.

Para el logro de estos objetivos se utilizó un diseño experimental completamente al azar, que se desarrolló en dos fases, con dos dietas diferentes,¹ en cada fase. En la Fase 1 se determinó la mortalidad larval y, adicionalmente, el efecto ovicida de malatión (efecto agudo) y en la Fase 2, se determinó el efecto crónico del ingrediente activo, mediante la evaluación de los parámetros de calidad del insecto adulto (peso, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad).

La metodología aplicada consistió básicamente en la impregnación de olote de maíz con malatión, previa preparación de las diluciones (dosis) empleadas en cada bioensayo, utilizando para ello una bomba de aspersión y un tambor de rotación. El olote impregnado con el ingrediente activo, se incorporó a los otros ingredientes de la dieta, mediante el mezclado de los mismos. La mezcla obtenida se distribuyó en bandejas de cría larval y éstas se colocaron aleatoriamente en anaqueles.

En la Fase 1, utilizando la técnica de “inmersión-aspersión”, se obtuvo un sedimento fino que incluía las larvas colectadas en cada tratamiento, desde 48 a 144 horas de edad. Durante 5 días consecutivos, con ayuda de un estereoscopio, se extrajeron, una por una, todas las larvas que contenía cada muestra. Mediante la aplicación de fórmulas y cálculos sencillos se determinó el número de larvas muertas en cada tratamiento y, finalmente, el porcentaje de mortalidad larval. A esta base de datos se le aplicó Análisis Probit. En la Fase 2, las larvas permanecieron en las bandejas de cría hasta completar el tercer estadio larval, luego del cual se colectaron en agua y se midieron en volúmenes. Las larvas colectadas se trasladaron a cajas petri para que puparan en aserrín. Las pupas obtenidas fueron colectadas, por tamizado, y también se midieron en volúmenes. Con los volúmenes de larva se calculó la recuperación larval y el porcentaje de hembras. Los volúmenes de pupa obtenidos se sometieron a pruebas

¹ La dieta de olote de maíz que contiene 15% de olote (ingrediente que se utilizó como vehículo de impregnación del insecticida malatión) y la dieta “mix”, que contiene el 7.5% de olote.

de calidad del insecto (peso, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad). A esta base de datos se le aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Al evaluar la mortalidad larval, los resultados obtenidos muestran una tendencia general al incremento de la mortalidad larval en el tiempo y en proporción directa a la concentración, cuando se aplicó malatión a ambas dietas, en dosis de 5 y 10 ppm. Al aplicar la dosis 100 ppm se obtuvo casi un 100% de mortalidad larval. Al evaluar el efecto ovicida de malatión, se encontró una relación directa entre mortalidad y concentración, en dieta de olote de maíz, pero no en dieta mix.

En cuanto a los parámetros de calidad del insecto se concluyó que, en general, no se ven afectados por dosis menores de 10 ppm en dieta mix y por dosis menores de 2 ppm en dieta de olote de maíz. No obstante, se observó que el peso se ve ligeramente incrementado, sobre todo en las hembras. También se observó un ligero estímulo de la emergencia que se atribuyó, entre otras causas, al efecto "hormesis".

Entre los alcances más significativos de este trabajo se pueden mencionar: 1) Se estableció el límite máximo permisible de residuos de malatión en olote por debajo de 0.035 ppm (límite inferior de la dosis letal estimada DL1), ya que, considerando que la producción actual del Laboratorio "El Pino" asciende a 2,000.000.000 (dos mil millones) de moscas semanales, el 1% de mortalidad larval, representa 20.000,000 (veinte millones) de insectos de pérdida semanal. 2) Se determinó que el valor de la DL50 en dieta de olote de maíz oscila entre 6.79 – 8.84 ppm; mientras que en dieta mix, su valor es de 16.69 ppm. 3) Que probablemente, los machos sean más susceptibles a efectos crónicos del insecticida y las hembras, al efecto agudo y 4) La evidencia de pesos más altos en hembras que en machos sugiere que, probablemente, existe una relación directa entre peso y longevidad; pues esta última se utiliza en la cría a gran escala como indicador de la reserva nutricional del insecto al momento de la emergencia.

2. INTRODUCCION

La Mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.), es considerada como una de las plagas de mayor importancia cuarentenaria a nivel mundial, pues ataca a más de 250 especies de frutas y hortalizas, muchas de ellas de importancia económica (Liquidó, et al., citado por García, EA., 1998) (1). Esta plaga fue detectada en Chiapas, México por primera vez en enero de 1977, a un kilómetro de la frontera con Guatemala. Ante la amenaza invasora de esta plaga exótica para América (pero especialmente para México y Estados Unidos), se firmó un convenio de cooperación entre estos dos gobiernos y el gobierno de Guatemala, dando origen al Programa Moscamed (García, EA., 1998) (2).

La misión del Programa Moscamed es, proteger la fruticultura y horticultura regional de los catastróficos efectos que significa la presencia de la mosca del Mediterráneo y proteger las áreas libres de infestación de la plaga.

El reconocimiento internacional de México y El Petén, Guatemala, como zona libre de esta plaga permite el fortalecimiento de los proyectos productivos y la libre comercialización de frutos y hortalizas a los mercados más competitivos del mundo.

El Programa Regional involucra dos métodos de producción de moscas estériles: Una, en Metapa, Chiapas, México, donde se inició la producción de insectos estériles de una cepa bisexual (hembras y machos en proporción 1:1) a mediados de 1979, utilizando técnicas avanzadas, desarrolladas principalmente en Viena, Austria, en relación a la cría de insectos y al uso pacífico de la energía nuclear. Y otra, en "El Pino", Guatemala (Villaseñor, et al. 2000.) (3).

La Planta de Producción "El Pino", ubicada en Barberena, Santa Rosa, Guatemala es la planta de producción de la cepa "TSL" (por sus siglas en inglés letalmente sensible a la temperatura) más grande del mundo. Su producción actual asciende a dos mil millones de ejemplares machos semanales. Para sostener e incrementar la producción de moscas estériles, se necesitan grandes cantidades de dieta artificial para producirlas. En algunas de las materias primas utilizadas en la elaboración de la dieta, se han encontrado residuos de plaguicidas, especialmente malatión, hasta una concentración de 1 ppm.

Existe la posibilidad de que, los residuos del plaguicida al entrar en contacto con huevos y larvas de la Mosca del Mediterráneo, afecten negativamente su desarrollo, limitando así, significativamente, la producción a gran escala de la cepa "TSL". El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo fundamental de evaluar la susceptibilidad larval de la

cepa "TSL" a diferentes concentraciones de malatión, adicionadas a la dieta para cría larval, utilizada en la Planta "El Pino"; mediante el cálculo de la concentración letal media (DL50) y de la concentración que cause la "menor mortalidad aceptable" para la Planta "El Pino". Así mismo, el presente trabajo, evaluó el efecto que causan dosis bajas del insecticida en el peso de la pupa, la emergencia, la habilidad de vuelo y la longevidad del insecto adulto.

De constatarse dicho efecto nocivo en las larvas, obligaría a todos los países donde se produce la cepa "TSL" a gran escala, a llevar un control de calidad más estricto de los residuos de químicos de las materias primas utilizadas en la elaboración de la dieta, así como otras consecuencias que podrían derivarse de los resultados de este trabajo, tales como, evaluación del proceso general de producción, sustitución de materias primas y proveedores de las mismas.

Por lo tanto, la trascendencia de este trabajo rebasa el límite de nuestras fronteras, constituyéndose así, en un aporte significativo al proceso de producción de moscas estériles a gran escala, y, consecuentemente, a la economía agrícola de los países afectados por la plaga.

Una amplia gama de trabajos de investigación se han elaborado para evaluar la susceptibilidad de poblaciones larvales de diferentes especies de insectos, incluyendo *Ceratitis capitata* (Wied.), a diversos insecticidas, utilizando diferentes técnicas de aplicación. No obstante, no se han reportado hasta la fecha, trabajos similares que evalúen la susceptibilidad de larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.) a insecticidas aplicados directamente a la dieta.

3. ANTECEDENTES

3.1 Planteamiento del problema

Los insectos continúan siendo los mejores competidores del hombre. En la medida que se ha incrementado la producción de alimentos, no hemos podido reducir los daños causados por los insectos.

La gran antigüedad de los insectos se ha traducido en una tremenda ventaja evolutiva para su sobre vivencia, adaptación y desarrollo (Metcalf, 1991; citado por Klassen, W. 2000) (4). Los primeros insectos aparecieron en el récord fósil del Período Devónico inferior, alrededor de 390 millones de años atrás. La Clase Insecta ha sido dividida en 270 órdenes, alrededor de 945 familias y muchos millones de especies. Durante estos 400 millones de años, los insectos han sufrido muy diversos cambios y las combinaciones genéticas ventajosas han sido retenidas en sus líneas germinales. En su combinación de genes los insectos tienen la información genética para enfrentarse a casi cualquier cambio inimaginable. Los insectos tienen tremendas ventajas numéricas. Por cada humano sobre la Tierra, hay doscientos millones de insectos (Klassen, W. 2000) (5).

Los daños causados por los insectos, dada su diversidad en número de especies y en sus hábitos alimenticios son muy variados, además, muchos productos tales como flores, hortalizas y frutas aunque sufran poco daño desmerecen considerablemente en la calidad comercial con la consiguiente rebaja en sus precios y de las ganancias del productor (Liquido, et al., citado por García, EA., 1998) (1).

Algunos autores también consideran como pérdida económica, los gastos que se realizan tanto en insecticidas como en equipos y mano de obra para controlar las plagas de la agricultura. Mayor aún es el daño causado por un gran grupo de insectos que atacan a los granos almacenados, aunque algunos de estos mismos insectos empiezan a desarrollarse en forma incipiente en el campo al final de la cosecha y aumentan a niveles que causan grandes pérdidas económicas bajo condiciones de almacén si no se les controla en forma adecuada (Ibid ítem).

En los Estados Unidos, los entomólogos consideran que los daños por plagas alcanzan un promedio de 13.8% de la producción potencial nacional, lo cual representa en la actualidad poco más de 50 mil millones de dólares (ibid ítem).

La Mosca del Mediterráneo, es una de las plagas más devastadoras del mundo, afectando a más de 200 especies de frutas y hortalizas (Ibid ítem). La Mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) es originaria de África Occidental y actualmente se encuentra distribuida en los cinco continentes (López, R. 1979) (6). Fue registrada en América, inicialmente en USA en

1901 y en Argentina en 1934 (1). Se presume que fue introducida accidentalmente a Costa Rica en 1955 y desde entonces se ha extendido a través de Centroamérica. Llegó a Nicaragua en 1960, a Panamá en 1963, infestó el Salvador en 1975, invadió a Guatemala en 1976. Posteriormente el 31 de enero de 1977, se detectó el primer espécimen adulto en la zona del Soconusco, Chiapas, México y hasta el final del mismo año, se capturaron 122 moscas (Ibid ítem).

La erradicación de la mosca del mediterráneo en Guatemala, no se ha llevado a cabo, debido a que la tecnología usada antes de la técnica del insecto estéril, se basaba en la dispersión aérea de un aerosol-cebo de malatión. Este último fue prohibido en Guatemala en 1987 atendiendo a fuertes quejas de grupos ecológicos y apicultores, así como también a contratos financieros (Villaseñor, et al. 2000.) (3).

El uso de la técnica del insecto estéril comienza a desarrollarse alrededor de 1950. El desarrollo de la técnica, en la mosca del mediterráneo, produjo promisorios resultados alrededor del mundo, especialmente la cepa de sexado genético la cual permite liberar únicamente machos estériles (ibid ítem).

Moscas estériles de diferentes cepas han sido liberadas desde 1998. En la zona de control después de las dispersiones aéreas, solamente machos estériles fueron liberados en una densidad de 1500 moscas/Ha., teniendo cuidado de que las capturas con trampa reflejaran una razón mínima, estéril-fértil de 80:1. Las moscas de la cepa normal bisexual fueron liberadas en las restantes zonas de control² y baja prevalencia³ en una densidad gradual descendente de 5000 – 2000 moscas contabilizadas para la infestación gradual (ibid ítem).

3.2 Determinación de Residuos de Insecticidas

Raúl León (1977) (7) realizó nueve evaluaciones de insecticidas contra larvas de *Heliothis virescens* en el laboratorio del CAE-Valle del Yaqui. “Las larvas de *Heliothis virescens* provinieron de huevecillos colectados en terminales de algodón en el Valle del Yaqui, Comunidades Indígenas Yaquis, Costa de Hermosillo, Región de Caborca, Son. y Valle de Mexicali, BC. Las larvas se criaron con dieta artificial y estaban en el tercer estadio cuando se expusieron a los insecticidas...” (Ibid ítem).

“Se usaron lotes de 30 gusanos para evaluar cada insecticida; los gusanos se colocaron individualmente en vasitos de plástico con 4 g de dieta artificial a la que se agregaron 3 gotas

2/ Zona de Control: Esta incluye las áreas sujetas a las más intensas actividades de control, tales como, aplicaciones aéreas de cebos de insecticidas, usados para reducir altas poblaciones de moscas silvestres, la liberación de moscas estériles en muy altas densidades y las destrucciones de los hospederos preferidos infestados (Villaseñor, et.al., 2003) (3).

3/ Zona de Baja Prevalencia: Esta es un área que ha sido sometida a actividades de erradicación o bien, son zonas con bajas posibilidades de establecimiento de plagas. En algunas oportunidades han sido detectadas y tratadas bajo planes de emergencia (Ibid. Ítem).

de una solución acuosa del insecticida sin que tocasen a las larvas; los vasitos se taparon y se dejaron en reposo para observaciones de mortalidad, sobre vivencia y apariencia física de las larvas...” (Ibid ítem).

“Se encontró que “Belmark, Orthene, Methamidophos, Permethrín y Cypermethrín, fueron los más eficientes al producir una mortalidad de larvas entre 88.3 y 81% en 63 a 93 horas después de la aplicación; les siguen Endrín + Paratión metílico, Permethrín, Sulprofos, otro compuesto de Permethrín (Ambush), Paratión metílico y Deltamethrín con 74.4 a 57.8% de larvas muertas; Methyl Parathion, Methyl clorpirifos, Monocrotophos, Volatón, Profenopos, Mevinphos y Endrín, mataron de 50.6 a 18.3% de larvas; Triazophos, Gana y EI-117850 a las dosis probadas no mostraron efectos letales sobre las larvas...” (Ibid ítem).

Trabajos realizados por Randall Higgins (1987) (8) “registraron residuos de insecticidas dentro del perímetro de las dispersiones como dentro y fuera de los límites de los tratamientos y aplicaciones directas en granos. Los productos detectados fueron: metil pirimifos, metil clorpirifos y malatión. Así mismo determinaron que el metil pirimifos y el metil clorpirifos, son consistentes, independientemente de la acción del malatión, en la supresión de los estadios larvales de la polilla india de la harina...” (Ibid ítem).

Koren y colaboradores (1984) (9) utilizando ejemplares adultos de *C. capitata* (Wied.) condujeron ensayos de susceptibilidad usando el método de aplicación tópica para estimar la DL50. Bioensayos similares también fueron conducidos por Mota y colaboradores (1985) (10) para deducir concentraciones letales de malatión en aplicaciones residuales y localizadas utilizando adultos esterilizados de *A. ludens* Loew y *C. capitata* (Wied.), observando diferencias en los niveles de susceptibilidad dependientes de la especie y del sexo (Ibid ítem).

R.J. Wood (1987) (11) “expuso a las larvas de *C. capitata* (Wied.), después del tercer estadio larvario, a los siguientes insecticidas: Dieldrín, malatión y permetrín, por inmersión en dispersiones etanólicas en agua desionizada (agua destilada) a $26^{\circ}\text{C} \pm 1.5$. Después se expusieron en series (o tandas) de 50/hora. Las larvas fueron lavadas y secadas y se les permitió pupar en aserrín fino. El recuento de mortalidad se hizo diez días después, como porcentaje de emergencia. La razón de la resistencia a la concentración letal media (CL50) fue estimada con respecto a un seleccionado control de especies...” (Ibid ítem).

Los adultos fueron expuestos a una aplicación de una solución del insecticida en alcohol absoluto en el tórax dorsal con una microjeringa y la dosis letal media (DL 50) fue reportada dos horas después, tomando la habilidad de caminar como criterio de “supervivencia” (Ibid ítem).

E. González y colaboradores (12) trabajaron con poblaciones adultas de *Anastrepha striata* Schiner (mosca de la guayaba) y determinaron los niveles de susceptibilidad de estas poblaciones al insecticida malatión. Usando la técnica de aplicaciones tópicas, probaron las siguientes concentraciones: 0, 2, 6, 19 y 28 ppm; obteniendo una DL50 = 6,8 ppm (hembras) y una DL50 = 6,5 ppm (machos). Estos bioensayos fueron realizados en condiciones normales

de laboratorio ($25^{\circ}\text{C} \pm 1$; 70% HR. y fotoperíodo 12:12). "Para ello se separaron dos grupos por sexo y basándose en un arreglo estadístico de 5 tratamientos y 5 repeticiones de 20 moscas cada uno, se procedió a la aplicación de las diferentes dosis. Las moscas correspondientes a cada replicación se inmovilizaron a través del efecto de una hipotermia de contacto a 0°C por tres minutos y en la etapa siguiente se les aplicó en forma tópica en el mesonoto, utilizando una microjeringa Hamilton, $5\mu\text{L}$ de la solución del insecticida en dosis de: 0, 2, 16, 19 y 28 ppm de malatión en acetona. Aplicadas las referidas dosis se introdujeron las moscas en jaulas y transcurridas 24 horas se evaluaron la mortalidad y sobre vivencia..." (Ibid ítem).

Puede concluirse que machos y hembras de *A. striata Schiner* sometidas a pruebas de susceptibilidad con el insecticida malatión aplicado en forma tópica, mostraron respuestas de mortalidad similares (Ibid ítem).

4. JUSTIFICACION

La mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wied.), es considerada como una de las plagas más perjudiciales a la agricultura, según varios autores, pues tiene más de 250 especies de hospederos, siendo ésta la causa de fuertes pérdidas en varias frutas y hortalizas (Arana, BF., 1977) (13).

Para reducir los daños a la fruticultura nacional y evitar su dispersión a países vecinos, el programa MOSCAMED, con el apoyo del Departamento de Agricultura de los EE.UU. "USDA" y de México, ejerce una serie de medidas para su control, entre las cuales sobresale la técnica del insecto estéril (TIE). "La TIE se fundamenta en la eliminación de las hembras, las que se consideran innecesarias para efecto de la liberación de insectos estériles, por lo tanto, la cría larvaria es exclusivamente de machos (Manual para la Producción de Machos Térmicos, s.f.) (14). Además "el método TIE" es eficiente, si se cuenta con densidades adecuadas de moscas estériles, pues deberán competir con sus congéneres silvestres. Por esta razón, la cría larvaria es masiva⁴ y la Planta "El Pino" no puede arriesgarse a perder ni el 1% de la población.

Con el objetivo de evitar pérdidas en el proceso de producción, se necesita determinar si a las concentraciones iniciales de 1, 5 y 10 ppm del insecticida más frecuentemente aplicado en el olote de maíz (malatión), provoca mortalidad u otros efectos que reduzcan la producción de insectos o que afecten la calidad de los mismos; pues estos parámetros son de suma importancia para obtener insectos lo suficientemente aptos para competir con sus homólogos silvestres (Manual Internacional de Control de Calidad, 2003) (15). Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación serán un aporte valioso para la producción de la planta "El Pino" y para todos los países donde se produce la cepa "TSL" a gran escala.

⁴ La producción actual de la Planta "El Pino" asciende a 2,000.000 (dos mil millones) de moscas semanales.

5. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la susceptibilidad de poblaciones larvales de la cepa “Viena 7-Tolimán 99-TSL” (letalmente sensible a la temperatura) de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Díptera) a diferentes concentraciones de malatión, adicionadas a la dieta larval utilizada en la Planta de Producción MOSCAMED “El Pino”.

Objetivos Específicos

- Determinar la concentración letal media (CL50), en larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Díptera) del insecticida malatión, adicionado a dietas larvales utilizadas en la Planta de Producción Moscamed “El Pino”.
- Determinar la concentración que cause la “menor mortalidad aceptable” para la producción de la Planta “El Pino”, para definir el límite máximo permisible de residuos de malatión en el olote de maíz.
- Determinar el efecto de dosis bajas de malatión en: el peso de la pupa, el porcentaje de emergencia, la habilidad de vuelo y la longevidad.

6. HIPOTESIS

1. A una concentración menor de 10 ppm de malatión, existe efecto letal en larvas de la cepa "Viena 7 – Tolimán 99 – TSL" de *Ceratitis capitata* (Wied.).
2. Las diferentes concentraciones del insecticida evaluado tendrán efecto en las variables de la calidad del insecto de *Ceratitis capitata* (Wied.).

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo

Población de *Ceratitis capitata* (Wied.) de la cepa “Viena 7-Tolimán 99-TSL” (por sus siglas en inglés: letalmente sensible a la temperatura) producida en la Planta de Producción Moscamed “El Pino”. Esta población asciende, actualmente, a dos mil millones de insectos semanales.

7.2 Muestra

De esta población se tomó una muestra, obtenida de la “Colonia Liberación”⁶ de diferente volumen, por cada bioensayo que se realizó, y a su vez, se distribuyó en dos fases para cada dieta (de olote de maíz o mix), según el esquema que se presenta en la sección Métodos de este trabajo.

7.3 Materiales

7.3.1 Mobiliario y equipo

- anaqueles de aluminio (con cobertores de cedazo)
- refrigerador
- 4 aparatos de aire acondicionado
- 1 calentador
- 1 humidificador
- 1 deshumidificador
- 1 ventilador
- 3 estereoscopios(Wild M7-S, HeerBrugger, USA; AO American Optical, Switz.).
- 2 lupas de escritorio
- 1 mezcladora de 7Kg. de capacidad y cobertores/chalecos para mezclar
- 2 tambores de rotación (diseñados y manufacturados, durante esta evaluación)
- bombas de aspersion de 1 – 3.5 L.
- cajas plásticas con tapadera de 40 Kg. de capacidad
- coladores de diferentes tamaños
- auxiliar de pipeta
- pinzas de disección
- pinceles (#1)

⁶ En el proceso de producción de la Planta “El Pino” se manejan dos colonias: 1) **Los machos térmicos**, cuya finalidad es la producción de machos estériles que se liberarán posteriormente entre las poblaciones de moscas silvestres y 2) **las colonias de iniciación, inyección y liberación**, cuyo propósito es la producción de hembras, que a su vez servirán para sostener la producción de machos.

- hielera portátil
- equipo de protección para aplicación de insecticidas organofosforados
- cedazo plástico de 1/14" y 1/16"
- retazos de tela ("organza", "quiana", "lycra")
- papel filtro negro

7.3.2 Instrumentos

- 2 higrotermógrafos
- 1 termo higrógrafo digital
- 1 termómetro digital
- 1 potenciómetro digital WTW pH 330
- 3 micro pipetas "Eppendorf" (1/50, 1/100 y 1/1000 μ L)
- 1 balanza ACCULAB VI –4800 (480g capacidad límite de lectura: 0.1g; USA)
- 1 balanza METTLER PE 1608 (150g capacidad)
- contadores manuales

7.3.3 Cristalería

Diversa

7.3.4 Solventes – reactivos - preservantes

- etanol
- acetona grado reactivo
- HCl concentrado
- Formol al 12%
- solución de azul de metileno (1:1000)
- nipagín (polvo)
- benzoato (polvo)

7.3.5 Ingredientes de dieta

Olote de maíz grueso, olote de maíz fino, bagazo de caña, germen de trigo, levadura, azúcar.

7.4 Métodos

7.4.1 Fases del experimento

El experimento consta de dos fases (fase 1 y fase 2). Cada una de las fases consta de tres lotes, identificados por letras (A, B y C), realizados en diferentes tiempos (bioensayos), distribuidos de la siguiente manera:

FASE	LOTE	FECHA BIOENSAYO
1	A	23.3.05
1	B	12.4.05
1	C	13.6.05
2	A	2.5.05
2	B	23.5.05
2	C	4.7.05

Los dos primeros bioensayos de la fase 1 (lotes A y B) se realizaron en dieta de olote de maíz (15% de olote en la dieta preparada) y el tercero (lote C), en dieta mix (7.5% olote + 7.5% bagazo de caña). El propósito de estos tres bioensayos fue evaluar el efecto agudo de malatión, mediante pruebas de mortalidad larval y efecto ovicida. De manera similar, los dos primeros bioensayos de la fase 2 (lotes A y B) se realizaron en dieta de olote de maíz y el tercero (lote C), en dieta mix. El propósito de estos tres bioensayos fue determinar el efecto crónico o residual del insecticida, mediante evaluación de los parámetros de calidad del insecto adulto (peso, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad).

En la fase 1, se extrajeron todas las larvas de la dieta, cada 24 horas, a partir de las 48 horas después de la siembra de los huevos, finalizando a las 144 horas. Los resultados obtenidos se expresaron en términos de porcentaje de mortalidad larval. Como parte de la fase 1 se incluyó el efecto ovicida del producto, expresado en términos de porcentaje de mortalidad de huevos a las 48 horas.

En la fase 2 las larvas permanecieron en bandejas de cría hasta completar su ciclo de desarrollo (6 días). Al finalizar dicho ciclo se hicieron cinco colectas larvales y, al finalizar la última colecta larval, se realizaron cinco colectas de pupa. Los resultados obtenidos se expresaron en términos de recuperación larval y porcentaje de pupa blanca y una muestra representativa del volumen total de pupa obtenido, se sometió a pruebas de calidad del insecto (peso, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad).

Fase 1

La fase 1 consta de tres lotes⁷ (A, B y C), que incluyeron cuatro tratamientos con tres réplicas cada uno (12 cajas petri estándar) x 5 días que duró la extracción larval, dan un total de 60 cajas petri, cada una de las cuales se sembró con 200 a 300 huevos seleccionados (huevo sano sin ningún defecto) en 20g de dieta de olote de maíz ó mix.

El lote A de la fase 1 sirvió para determinar, en un rango amplio de concentraciones, la DL50 y la concentración que causa la “menor mortalidad aceptable” para la Planta “El Pino”. El lote B sirvió para confirmar este valor (efecto agudo del insecticida). En el caso de la dieta mix, se realizó solamente un bioensayo para evaluar la fase 1 y un bioensayo para evaluar la fase2, debido a que esta parte del experimento es un aporte adicional de esta investigación para el Laboratorio “El Pino”, que será de utilidad para la cría de colonias, donde específicamente se utiliza la dieta mix.

Fase 2

La segunda fase consta, también, de tres lotes (A, B y C), que incluyeron seis tratamientos con cuatro réplicas, cada uno, que se sembraron según la densidad correspondiente a los gramos de dieta que se utilizó en cada bioensayo realizado.

En esta segunda fase se ajustó el rango de las concentraciones, mediante el cálculo del porcentaje de mortalidad larval efectuado en la primera fase y se determinó si alguna de las concentraciones menores aplicadas, afectaba los parámetros de calidad del insecto: peso de la pupa, porcentaje de emergencia, habilidad de vuelo e índice de longevidad (prueba de “estrés”), además de evaluar el efecto en la recuperación larval y en el porcentaje de pupa blanca obtenido⁸.

Cada mezclada de 1 ó 2 Kg. de dieta preparada con cada uno de los tratamientos, se distribuyó, equitativamente por peso, en bandejas plásticas con tapadera de 0.5 ó 1 Kg. de capacidad. Las bandejas permanecieron siempre tapadas para evitar la evaporación y el intercambio de gases tóxicos entre tratamientos.

Tanto las cajas petri como las bandejas se distribuyeron, aleatoriamente, dentro de charolas plásticas de 80 x 80cm., que a su vez, se colocaron por niveles en un anaquel

⁷ Un lote es un conjunto de cajas petri estándar (60 – 72) o bandejas de 0.5 – 1 Kg. de capacidad (24) que se siembran con huevos de colonias sobre una cantidad específica de dieta (20 g/caja petri ó 300 – 600 g/bandeja de 0.5 Kg. ó bandeja de 1 Kg.); cálculo que se hace tomando como referencia la densidad de siembra en producción, esto es = 4ml. de huevo/5000 g de dieta de olote de maíz o mix.

⁸ En la producción de colonias, este parámetro se utiliza para determinar el porcentaje de hembras recuperado; pues éstas servirán, a su vez, para sostener la producción de machos estériles.

de aluminio con capacidad para dos charolas por nivel y un total de 7 niveles por anaquel (Anexo I, ilustración 1A y 1B).

7.4.2 Determinación de la concentración inicial del ingrediente activo

La determinación de la concentración inicial de los residuos de malatión en los ingredientes sólidos de la dieta la realizó el laboratorio INLASA. El laboratorio INLASA trabaja con un límite de detección de 0.001mg/Kg. para insecticidas órgano-fosforados. Y considerando este límite de detección, el resultado de los análisis previos, efectuados a las muestras de olote de maíz que se sometieron a ensayo, fue de 0 ppm. De modo que, el lote específico de olote de maíz que se sometió a experimentación, no contenía malatión en dosis detectables por el laboratorio. Por lo tanto, sobre el porcentaje encontrado (0 ppm) se agregó el insecticida, hasta llegar a las dosis que se sometieron a prueba en cada fase.

El olote de maíz que se utilizó es un subproducto agrícola para consumo animal, tratado con plaguicidas en algún momento del proceso, que va de la siembra a la cosecha y durante el almacenamiento, antes de que llegue a la planta "El Pino" para ser utilizado en la preparación de la dieta.

Se utilizó este olote porque, en primera instancia, el presente trabajo pretendió ser una reproducción, en pequeña escala, de lo que se hace normalmente en la producción a gran escala en el Laboratorio "El Pino" y, en segunda instancia, porque el objetivo central de esta investigación fue determinar la concentración letal media DL50 y el efecto de otras dosis bajas, utilizando las mismas materias primas para preparar la dieta, en la que se llevó a cabo el desarrollo larval.

7.4.3 Preparación de las diluciones

El insecticida que se utilizó en este trabajo para contaminar la dieta es malatión 57 EC (57% de pureza, perteneciente al grupo de los órgano-fosforados y de uso muy amplio en el control de plagas de insectos). Para preparar las diluciones se utilizaron micro pipetas "Eppendorf" y balones aforados de diferentes volúmenes. Inicialmente, se preparó una solución madre (1,000 ó 2,000 ppm.) y de ésta se obtuvieron las diluciones en orden decreciente (100, 10, 1, etc.).

Es muy importante utilizar el equipo de protección (respirador para gases orgánicos, guantes de nitrilo y bata impermeable) pues los órgano fosforados son sumamente tóxicos y de efecto residual.

Al terminar de preparar las diluciones, se forraron los balones con papel aluminio (para evitar que la luz solar desestabilice la estructura molecular del producto). A continuación, se identificó, cada una de ellas, mediante una etiqueta con los siguientes datos:

concentración en ppm, nombre de la persona que preparó la dilución, fecha y hora de preparación. Luego se almacenaron en un refrigerador, para conservarlas a una temperatura baja (aproximadamente 5°C), pues las temperaturas altas también favorecen la desestabilización de la estructura molecular y la evaporación del producto. Cada balón se destinó para contener siempre la misma concentración; para ello se identificaron con una marca permanente. El tiempo de preparación fue, aproximadamente, de 20 minutos por dilución.

7.4.4 Impregnación de olote de maíz

Con las diluciones preparadas el mismo día o con un día de anticipación, se impregnó el olote (150g. de olote grueso + 30g. de olote fino por cada kilo de dieta preparada), utilizando para ello una bomba de aspersion de 1.5L y un tambor de rotación (el volumen para impregnar fue de 180cc. de solución de ingrediente activo, i.a., calculado en una proporción de 1g. olote = 1cc. de solución de i.a.) (Anexo I, ilustración 2).

Se colocaron los 180g. de olote dentro del tambor de rotación y se aplicó una rotación en seco para que se mezclara bien y luego se agregó, mediante una brisa fina y uniforme, el volumen total de i.a. para impregnar (180cc. ó 360cc., si se van a preparar 1 ó 2 Kg. de dieta), haciendo rotar el tambor en dos direcciones cada vez. Cuando se consumió todo el volumen para impregnar, se mezcló, por última vez, con rotación en dos direcciones, la cantidad total de olote para lograr impregnación uniforme. Luego se sacó el olote del tambor y se trasladó a dos bandejas plásticas para pesarlo. En la primera se pesó el porcentaje para la preparación de la “fase líquida” de la dieta (52.8g, peso húmedo) y en la segunda se pesó el porcentaje que se agrega al final del mezclado (237.28g, peso húmedo). **Es importante aclarar que, cada vez que se habla de las concentraciones empleadas en este trabajo, se hace referencia a las concentraciones aplicadas directamente al olote de maíz y no, a la concentración final en la dieta.**

7.4.5 Preparación de la dieta

Previo a agregar los ingredientes a la mezcladora⁹, se prepararon los recipientes con los preservantes de la dieta (formol, benzoato, nipagín, HCl) y los volúmenes de agua (217cc. en la “fase líquida” de la dieta y 85cc. para ajustar el volumen final). Si el benzoato y nipagín se agregan en solución, estos volúmenes se restan al volumen total de agua (500cc.).

⁹ Para la preparación de la dieta se destinó un “chaleco de fibra de vidrio” exclusivamente para la dieta con agua (dieta para el grupo testigo) y otro, exclusivamente para la dieta impregnada con malatión.

Con anticipación se calibró el potenciómetro para medir el pH de la dieta. Los ingredientes de la dieta se agregaron a la mezcladora en el siguiente orden: Olote impregnado con i.a. (52.8g.), germen de trigo (40g.), levadura (99g.), azúcar (120.1g.) y volumen inicial de agua (217cc.). Se mezclaron, en seco, todos los ingredientes sólidos de la dieta durante 1 minuto y luego se mezclaron todos los ingredientes más el volumen inicial de agua (esta fase se denomina “fase líquida”) durante 5 minutos más; luego se agregó el formol (0.75cc.), benzoato (13.64cc.), nipagín (4.4cc.) y se mezcló todo durante 2 a 3 minutos más. En seguida se agregaron los otros ingredientes: Olote impregnado (237.28g.) para la fase final y el volumen final de agua (85cc.).

Se mezcló todo durante 5 a 7 minutos y finalmente se agregó HCl (12cc. iniciales) y se midió el pH (el rango óptimo es de 3.5 – 3.7). Si faltara ácido se agregan de 1.5 a 2 cc. adicionales y se vuelve a medir el pH. Entre cada medición de pH se mezcló nuevamente durante 1 a 2 minutos más (Anexo I, ilustración 3).

Como se recordará (ver Fases del Experimento, Pág. 15) se impregnaron dos dietas diferentes: la dieta de olote de maíz, que contiene el 15% de olote y la dieta mix, que contiene 7.5% de olote de maíz y 7.5% de bagazo de caña. Debido a esto, cada vez que se menciona en el presente trabajo, 1 ppm de i.a. en la dieta de olote de maíz, se está refiriendo a 1 ppm en el ingrediente olote que, para la dieta de olote es 0.15 ppm y para la dieta mix es 0.075 ppm; de igual manera, al hablar de 10 ppm en la dieta, se refiere a 10 ppm en el ingrediente olote que, equivale a 1.5 ppm en dieta de olote ó 0.75 ppm en dieta mix. De igual forma, al hablar de 100 ppm en el ingrediente olote, en el total de la dieta de olote equivale a 15 ppm y en la dieta mix a 7.5 ppm.

La dieta preparada se trasladó a bandejas plásticas de 0.5 a 1 Kg. de capacidad (según el requerimiento de cada bioensayo) y se pesó, una por una, la cantidad en gramos establecida para cada réplica, por cada tratamiento. Luego se sembraron, una por una, con huevos de “colonia liberación” (ver inciso 7.4.8 en este mismo apartado).

7.4.6 Lavado de cristalería y utensilios y eliminación de desechos tóxicos

Entre mezclada y mezclada se lavó el “chaleco de fibra de vidrio”, el aspa de la mezcladora, el tambor de rotación, la botella de aspersion, los balones y probetas que se utilizaron para medir los volúmenes de solución por tratamiento.

El lavado se efectuó con agua, jabón clínico y esponja, frotando las superficies de dichos utensilios. Luego, la solución de jabón y el primer enjuague de agua se descartaron a través del sifón del lavabo a una cubeta plástica, que se vació en un tonel con aserrín

para absorber el agua de desecho; cubeta por cubeta, de cada lavado¹⁰. Luego cada uno de los utensilios mencionados, se lavó con etanol al 95% o con acetona grado reactivo y se secaron con toallas de papel.

Para lavar la cristalería, ésta se sumergió antes en una solución de agua y jabón clínico y luego se lavaron con cepillos para cristalería, recipiente por recipiente. De la misma forma en que se procedió para los anteriores, la solución de jabón y el primer enjuague de agua se descartaron a través del sifón del lavabo, cubeta por cubeta, y de aquí, a varios recipientes con aserrín. Al finalizar el lavado, se enjuagaron con etanol al 95% o acetona grado reactivo y se dejaron secar al aire.

Al final de todo el proceso, se volvieron a lavar todos los utensilios de la misma forma.

7.4.7 Determinación de las concentraciones que se aplicaron a la dieta

Previo a la ejecución de los bioensayos definitivos se llevaron a cabo tres bioensayos preliminares, en dieta de olote de maíz, en los que se probaron diferentes rangos de concentraciones de malatión que oscilan entre 1 y 1,000 ppm. Con ellos se determinó el rango inicial de concentraciones que se aplicó en la Fase 1 y sirvieron, además, para definir la metodología aplicada en el presente trabajo. Los resultados obtenidos se muestran a continuación.

Preliminar # 1: Dosis probadas: 0, 1, 10, 100 y 1,000 ppm. Los resultados obtenidos muestran una mortalidad larval de 100% en el caso de las concentraciones 100 y 1000 ppm, desde las 48 horas después de la siembra y en el caso de la dosis 10 ppm, hasta de 97%, a las 144 horas.

Preliminar # 2: Dosis probadas: 0, 1, 10 y 100 ppm. Los resultados obtenidos muestran, nuevamente, una mortalidad larval de 100% para la concentración 100 ppm, desde las 48 horas después de la siembra y para la concentración 10 ppm, 88% a las 72 horas.

Preliminar # 3: Dosis probadas: 0, 1, 5 y 10 ppm; se obtuvo una mortalidad larval de 49% en la concentración 10 ppm a las 144 horas.

7.4.8 Metodología para la siembra de huevos

Cuando el propósito bioensayo fue extraer todas las larvas de la dieta, a partir de las 48 horas de la siembra de huevos, éste se realizó en caja petri estándar (15 x 90mm.). En

¹⁰ El desecho colectado en los toneles se volvió a mezclar con aserrín seco, con ayuda de una pala, y se descartó en bolsas plásticas gruesas, forradas con bolsas negras. Estas bolsas se entregaron a la empresa ECOTERMO, S.A. que se encargó del tratamiento de los desechos tóxicos para evitar contaminación ambiental; tomando en consideración el efecto tóxico residual del insecticida que se empleó.

este caso, los huevos¹¹ se lavaron y se decantaron varias veces, hasta que se eliminaron todos los huevos que flotaban. Para realizar la selección, conteo y siembra de los huevos se requirió de un equipo de trabajo integrado por 4 personas. Dos de ellas realizaron la selección de los huevos sanos bajo el estereoscopio y sobre un disco de papel filtro negro (90mm. de diámetro) que se colocó sobre un paño absorbente que permaneció húmedo todo el tiempo; ambos se colocaron sobre el fondo de una caja petri estándar (30 en total). Cada caja petri con huevos seleccionados se trasladó a una tercera persona, quien con la ayuda de una pizeta que contenía agua destilada, lo trasladó a un cuadrado de tela de “quiana” negra colocada sobre un colador, que a su vez se colocó en un contenedor donde escurre el agua del colador.

Del total de huevos, así obtenidos, se seleccionaron los 200 huevos que se necesitaban para la siembra¹². La cuarta persona se encargó de trasladar únicamente 200 huevos a un trozo de tela de “lycra spandex” de color negro o azul oscuro (21/2” largo x 11/2” ancho), con ayuda de un pincel fino (#1), humedecido en agua. Finalmente, el trozo de tela de “lycra” se colocó sobre cada caja petri (60 en total).¹³

En la Fase 2, cuyo objetivo es obtener volumen de larva y pupa y medir los parámetros de calidad del insecto (peso, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad), la metodología que se aplicó es la siguiente:

Los huevos (10–20cc.) se lavaron y se decantaron varias veces, hasta que se descartaron todos los huevos flotantes. Luego se filtró el agua, utilizando un cuadrado de tela de “quiana” negra, colocado sobre un colador fino (luz de malla de 1/32” y 3” de diámetro), que a su vez, se colocó sobre un contenedor donde escurrió el agua. Los huevos limpios se tomaron con una espátula y se pesaron en una balanza, sobre una caja petri. Con ayuda de una pizeta que contenía agua destilada, los huevos se esparcieron sobre una tira de papel higiénico (2 cuadros de hoja simple) colocada sobre la superficie de la dieta, réplica por réplica (24 bandejas en total que contenían la cantidad de dieta correspondiente a la densidad de siembra que se determinó para este propósito).

Las bandejas sembradas con huevos se distribuyeron, al azar, dentro de charolas negras, colocadas a su vez, en los anaqueles. Allí permanecieron durante los cinco días que duró la extracción larval más dos días más (7 en total). Estas etapas se denominan, en producción, “iniciación larval” y “maduración larval” y se requiere para su

¹¹ El término **huevo**, en singular, se aplica en el proceso de producción del Laboratorio “El Pino” para denominar cualquier cantidad en volumen de huevo. No obstante, con el propósito de emplear una terminología de uso más general, cada vez que se haga referencia a este término, en este trabajo, se utilizará el término en plural (huevos).

¹² Mediante el cálculo del porcentaje de mortalidad larval, de las pruebas preliminares, se constató que, al sembrar 200 huevos se obtienen 100 larvas vivas en el testigo.

¹³ Se trabajaron 4 tratamientos x 3 réplicas = 12 x 5 días de extracción larval = 60 cajas petri, que contenían 20 gramos de dieta de colonias cada una.

sostenimiento de las siguientes condiciones ambientales: T 22 ± 2 °C; HR 90-100% y foto período 12:12 (Anexo I, ilustración 4).

Fase 1

7.4.9 Metodología para extracción larval

La extracción larval se inició a las 48 horas después de la siembra. Con 24 horas de anticipación a cada extracción larval, se eligieron 12 de las 60 muestras al azar y en cuatro grupos (tratamientos) de tres réplicas, cada uno, se procedió a leer, bajo el estereoscopio y un contador manual, los huevos enteros (huevos no eclosionados). Por diferencia se obtuvieron los huevos eclosionados y, aplicando la siguiente fórmula, se obtuvo el porcentaje de eclosión:

$$\% \text{ Eclosión} = \frac{\text{Huevos eclosionados} \times 100}{\text{Huevos sembrados}}$$

A continuación, se preparó una serie de 12 bandejas plásticas de 0.5 Kg., que se sometieron a la técnica de inmersión-aspersión, previo a la extracción larval. En el borde de cada bandeja se colocó un cuadrado de cedazo plástico de 30 x 30cm. (de 1/16" hasta las 96 horas de edad y de 1/14" a partir de las 120 horas de edad) ajustándolo al borde con un par de bandas elásticas y permitiendo que el cedazo formara una ligera depresión en la parte central de la bandeja. Luego se agregó agua a las bandejas, procurando que el nivel de la misma llegara hasta tocar la depresión hecha por el cedazo.

A continuación se extrajo el cuadrado de tela de "lycra", donde se sembraron los huevos, y con ayuda de una bomba de aspersión se lavó la tela con agua sobre el cedazo. Luego, cada una de las muestras conteniendo dieta y larva se depositaron sobre la depresión formada por el cedazo en la parte central de la bandeja, procurando que el volumen de agua sobrenadante la cubriera, aproximadamente, a la mitad. Luego se lavó la caja petri con agua a presión, procurando que no quedara algún residuo en la misma (Anexo I, ilustración 5).

A partir de las 12:00 horas, cada dos horas, se pusieron en remojo el contenido de un grupo de tres cajas petri (las 3 réplicas de cada tratamiento) y se asperjaron cada 15 minutos con agua, durante dos horas (Anexo I, ilustración 6) para hacer que las larvas se fueran al fondo. Así, el grupo que se colocó a las 12:00 horas se terminó de asperjar a las 14:00 horas y a esa hora se puso el segundo grupo en inmersión (previa lectura de eclosión); hasta finalizar la aspersión de las 12 muestras de cada día a las 18:00 horas. La primera serie de muestras permaneció un mínimo de 18 horas en

inmersión. Es decir, que la extracción larval de la primera serie se programó entre las 6:00 – 7:00 a.m., la segunda entre 8:00 – 9:00, la tercera entre 11:00 – 12:00 y la cuarta entre 13:00 – 14:00 horas, intercalando las lecturas de eclosión, la preparación de las bandejas y la aspersión de la próxima serie de muestras del siguiente día; todo esto durante cinco días consecutivos.

Previo a la extracción larval, se coló el sedimento y sobrenadante colectado en la bandeja, utilizando un cuadrado de tela de “quiana” negra (20 x 20cm previamente cuadrículado), que se ajustó a la boca de un beaker plástico de 1L. de capacidad, con una banda elástica, procurando que la tela haga una leve depresión en la parte central.

Antes de colar la muestra se asperjó, por última vez, todo el desecho sólido que quedó sobre el cedazo y éste se colocó en un colador (2.5” de diámetro) que a su vez, se sumergió totalmente en un contenedor (de 0.5 L de capacidad) con agua cuyo nivel cubría totalmente el colador. El tiempo que duró la extracción larval (aproximadamente 2 horas por muestra) es el tiempo que el desecho permaneció en inmersión. Esto con el propósito de recuperar alguna larva que pudiera haberse quedado escondida entre las partículas gruesas de olote. Pues se observó, durante la ejecución de esta etapa de la metodología que, algunas larvas permanecían en la superficie del cedazo y continuaban alimentándose; mientras que la mayor parte de ellas, se precipitaban al fondo de la bandeja junto con las partículas finas de olote. En consecuencia, al sumergir el desecho de olote grueso durante dos horas, fue factible recuperar estas larvas que no precipitaban junto a las demás.

A continuación se coló el sedimento y sobrenadante colectado en la bandeja, poco a poco, para evitar que se derramara. Esto tomó aproximadamente 15 minutos. El sedimento fino así obtenido consta de partículas de olote fino, en su mayoría, un porcentaje menor de partículas de olote grueso y las larvas recuperadas de la edad correspondiente (48, 72, 96, 120 ó 144 horas). El sedimento final obtenido se tiñó con solución de azul de metileno (1:1000) para lograr un contraste entre el color del residuo, el fondo negro de la tela y el color blanco semitransparente de las larvas, sobre todo las de las primeras horas.

Este sedimento teñido se esparció bien sobre el cuadro de la tela con la ayuda de un pincel fino (#1) y se extrajo el exceso de agua, mediante un gotero pipeta. Adicionalmente, se necesitó una “bombonera” transparente (molde para hacer chocolates) a la que se le llenaron 15 agujeros de agua y se identificó, mediante una etiqueta, el tratamiento y réplica a la que correspondía; un recipiente con agua (donde se lavaron los residuos de dieta que quedaban en el pincel) y, en los dos últimos días, (cuando las larvas han crecido lo suficiente), una pinza fina de disección.

La técnica de extracción consistió en colocar la muestra ya preparada, como se indicó anteriormente, bajo el estereoscopio y con la ayuda del pincel y/o pinza, se fue extrayendo, de una en una, cada larva que se encontraba en el sedimento de la dieta

(Anexo I, ilustración 7). Se recomienda iniciar con el menor aumento, para lograr una visión panorámica de la muestra y después, pasar al mayor aumento para terminar de extraer lo que haya quedado. Simultáneamente, se fue contando el número de larvas extraídas y, en grupos de 10 se colocaron en los agujeros de la “bombonera” y cada 10 larvas se hizo una anotación (Anexo I, ilustración 8). Se recomienda hacer un chequeo para corroborar (bajo el estereo) si surgiera alguna duda, pues este procedimiento deberá ser muy exacto.

Este recuento de larvas dio el número de larvas vivas que se encontraron en cada muestra (Anexo I, ilustración 9). Con este dato se obtuvieron las larvas muertas, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Larvas muertas (X dosis)} = \text{Huevos eclosionados}^{14} \text{ (X dosis)} - \text{larvas vivas (X dosis)}$$

Con este dato se obtuvo el promedio de larvas muertas, cada 24 horas, en cada tratamiento.

Es importante aclarar que el trabajo incluye dos aspectos de la mortalidad larval: 1) Mortalidad larval, cada 24 horas a partir de las 48 horas de la siembra y 2) mortalidad larval, como consecuencia del efecto acumulativo de malatión, que sirvió para calcular las dosis letales estimadas por Probit.

1. Cálculo de la Mortalidad Larval Cada 24 Horas

Huevos enteros: Este dato se obtuvo de la lectura de las cajas petri, a las 48 horas después de la siembra de huevos (tiempo en el que normalmente se toma el porcentaje de eclosión máxima en la producción).

Huevos eclosionados: Es la diferencia entre los huevos sembrados y los huevos enteros (huevos no eclosionados).

Larvas vivas: Este dato se obtuvo del conteo directo de larvas vivas, durante los cinco días que duró la extracción larval en la Fase I. Recuérdese que en esta fase del experimento se extrajeron, una a una, todas las larvas que había en cada muestra que se sometió a ensayo.

Larvas potenciales: Se refiere a las larvas “potencialmente vivas” o las que se estima que sobrevivieron al efecto del insecticida. Este dato se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Larvas Potenciales (X dosis)} = \text{Huevos eclosionados (X dosis)} * [\text{Larvas vivas testigo} / \text{Huevos eclosionados testigo}]$$

¹⁴ Huevos eclosionados = insectos tratados

Utilizando los datos anteriores se obtuvo el **porcentaje de mortalidad larval asociada al producto, cada 24 horas**, mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Mortalidad Larval (X dosis)} = \frac{\text{Larvas potenciales (X dosis)} - \text{Larvas vivas (X dosis)}}{\text{Larvas potenciales}}$$

2. Cálculo de la Mortalidad Larval por Efecto Acumulativo de Malatión

Se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Larvas muertas (X dosis)} = \text{Huevos eclosionados (X dosis)} - \text{Larvas vivas (X dosis)}$$

Con este dato se obtuvo el promedio de larvas muertas, cada 24 horas, en cada tratamiento. A continuación, se obtuvo el promedio total de larvas muertas en todas las horas por cada tratamiento. Este dato se registró en una base de datos a la que se le aplicó análisis “probit” de mortalidad larval (Anexo II).

Para el cálculo del **Efecto Ovicida de Malatión** se siguió el siguiente procedimiento:

Huevos enteros: Son los huevos que no eclosionaron. Este dato se obtuvo de la lectura de las cajas petri a las 48 horas después de la siembra.

Porcentaje de No Eclosión: Este dato se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ No Eclosión} = \text{Huevos enteros} / \text{Huevos sembrados} \times 100$$

Efecto Ovicida (Porcentaje de Mortalidad Huevos a las 48 Horas)

$$\% \text{ Mortalidad de Huevos} = (\% \text{ No Eclosión del tratamiento} / \% \text{ No Eclosión Testigo} \times 100) - 100$$

Fase 2

7.4.10 Metodología para la colecta de larva, colecta de pupa y estimación de parámetros de calidad del insecto.

Se siguió la metodología indicada en el Manual de Procedimientos para la Producción de Colonias del Laboratorio “El Pino” (16), en términos generales, haciendo la salvedad que, como los volúmenes de larva y pupa que se manejaron en este trabajo fueron muy pequeños, en relación a los volúmenes que se trabajan en la producción a gran escala, se utilizaron probetas de 10 – 25cc., coladores y beakers de 250cc. – 1,000cc. para efectuar las colectas de larva y pupa.

En cuanto a los parámetros de calidad del insecto, las muestras se tomaron respetando la cantidad de pupa sugerida en el Manual de Procedimientos de Control de Calidad para cada parámetro (15).

7.4.11 Variables a considerar

- Mortalidad larval
- Efecto ovicida
- Recuperación larval
- Porcentaje de pupa blanca
- Peso de la pupa
- Porcentaje de emergencia
- Habilidad de vuelo
- Índice de longevidad

7.4.12 Análisis de datos

7.4.12.1 Diseño de la investigación

El diseño experimental que se aplicó fue completamente al azar.

- 1) Para la determinación de la mortalidad larval (cálculo de la DL50 y de la dosis que causa la “menor mortalidad aceptable” para la Planta “El Pino”), fases IA y IB, se aplicaron las siguientes dosis: 0, 1, 5 y 10 ppm de malatión, en dieta de olote de maíz y 0, 1, 10 y 100 ppm en dieta mix; eligiendo, por conveniencia, 3 réplicas para cada dosis. En esta fase se incluyó el “Análisis Probit” (Finney, D.J., 1971) (17) y (Gil, S. y LC. Calderón, 1980) (18), que normalmente se aplica cuando el objetivo de un experimento es estimar la dosis necesaria (ensayo cuantil) para que una proporción dada (usualmente el 50%) de la población presente la respuesta, en este caso, mortalidad. Este incluyó un intervalo de confianza de 95% (Anexo II).
- 2) Para la evaluación del efecto de dosis bajas del insecticida en los parámetros de calidad del insecto, fases II A y IIB, se afinó el rango de concentraciones, tomando en cuenta los resultados obtenidos en la Fase I y se aplicaron las siguientes dosis: 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5 y 2 ppm eligiendo, por conveniencia, 4 réplicas para cada dosis. En esta fase se utilizó la prueba no paramétrica o de distribución libre de Kruskal-Wallis (Statistix 8, 1981-2003) (19), para las variables asociadas a la calidad del insecto (porcentaje

de pupa blanca, peso de la pupa, porcentaje de emergencia, habilidad de vuelo, e índice de longevidad) y se incluyó la comparación de medias de rangos, en aquellos casos en los que la prueba indicó que había diferencia significativa en alguna de las dosis.

El diseño experimental se ha resumido en un cuadro que aparece como anexo al final del presente documento (Anexo V).

8. RESULTADOS Y DISCUSION

Fase 1

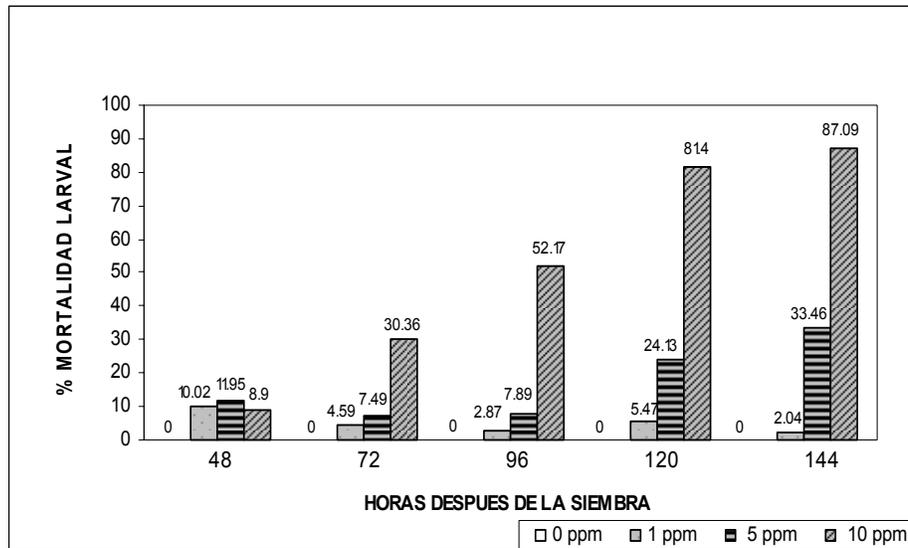
1. Mortalidad larval

Los valores que se presentan a continuación, obtenidos en los diferentes tratamientos en los tres bioensayos donde se evaluó la mortalidad larval, fueron corregidos por el valor de la mortalidad natural encontrada en el testigo. Por esta razón el valor de la mortalidad del testigo, por efecto del insecticida, que se reporta en las gráficas y tablas, es cero.

1.1 Lote A (Bioensayo 23.3.05)

La gráfica 1.1A muestra, con ligeros cambios en el comportamiento de los tratamientos 1 y 5 ppm de malatión, una tendencia general al incremento de la mortalidad larval, a través del tiempo y en proporción directa a las concentraciones.

No obstante, se puede observar que el tratamiento 1 ppm inicia con una mortalidad del 10% a las 48 horas, desciende entre 2 – 5% entre las 96 y 120 horas, para volver a descender al 2% a las 144 horas. Mientras que el tratamiento 5 ppm inicia con una mortalidad del 12% a las 48 horas, desciende al 8% entre las 72 y 96 horas, se incrementa a 25% a las 120 horas y alcanza el 33% a las 144 horas. El tratamiento 10 ppm, inicia con un 8% de mortalidad, la que se incrementa gradualmente hasta alcanzar el 87% a las 144 horas. A excepción del tratamiento 1 ppm, que muestra una mortalidad sin tendencia específica, la proporción de mortalidad, en el tratamiento 5 ppm, se incrementa tres veces entre las 72 y 120 horas y, aproximadamente, cuatro veces a las 144 horas; mientras que en el tratamiento 10 ppm, la proporción se incrementa tres veces a las 72 horas, cinco veces a las 96 horas y nueve veces más entre las 120 y 144 horas después de la siembra. Si se comparan los porcentajes de mortalidad obtenidos entre tratamientos a las 144 horas, se observa que la mortalidad en el tratamiento 5 ppm se incrementa un 31% en relación a la mortalidad obtenida en el tratamiento 1 ppm y 85% en el tratamiento 10 ppm del insecticida.



Gráfica 1.1A Mortalidad larval de *Ceratitits capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión, en dieta de olote de maíz. Bioensayo 23.3.05.

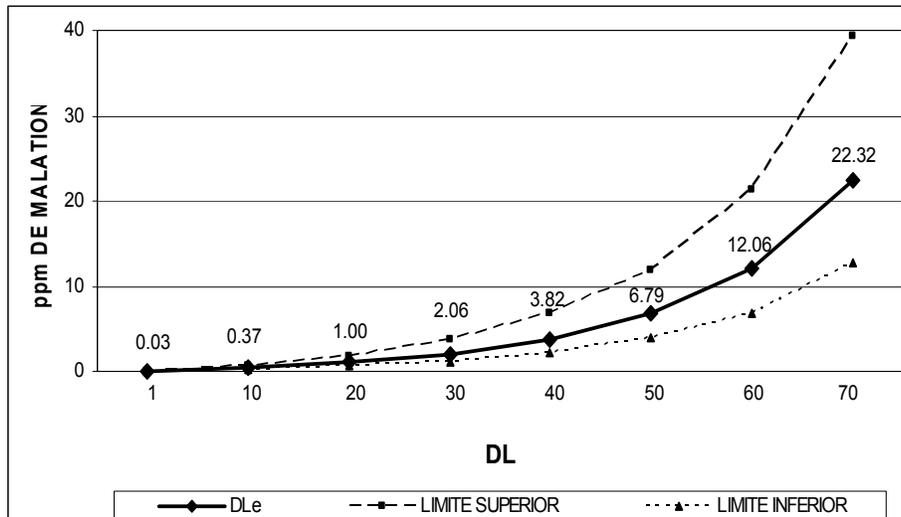
En la tabla 1.1A puede observarse un resumen de las diferentes pruebas de Kruskal & Wallis aplicadas a los valores de mortalidad larval obtenidos cada 24 horas, a partir de la siembra. Se observa diferencia significativa entre el testigo y la concentración 10 ppm, a partir de las 72 horas; mientras que 1 y 5 ppm no muestran diferencia significativa entre tratamientos.

TABLA 1.1A RESUMEN DE LAS DIFERENTES PRUEBAS DE KRUSKAL & WALLIS REALIZADAS EN FUNCION DEL TIEMPO (VALORES PROMEDIO DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD LARVAL) BIOENSAYO 23.3.05

HORAS DESPUES DE LA SIEMBRA	TRATAMIENTOS			
	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
48	0	10	12	9
72	0	5	7	30*
96	0	3	8	52*
120	0	5	24	81*
144	0	2	33	87*

* P < 0.05

La gráfica 1.1B representa las dosis estimadas por Probit, a partir de la DL1 hasta la DL70, con sus respectivos límites de confianza, en dieta de olote de maíz.



Gráfica 1.1B Dosis letales de malatión y límites de confianza (Probit) en dieta larval de olote de maíz para *Ceratitis capitata* (Wied.). Bioensayo 23.3.05.

La tabla 1.1B muestra los valores estimados por Probit de las dosis letales y sus límites de confianza en dieta de olote de maíz.

Tabla 1.1B DOSIS LETALES ESTIMADAS, DLe, (PROBIT) Y SUS LIMITES DE CONFIANZA DE LA VARIABLE MORTALIDAD LARVAL DE *Ceratitis capitata* (Wied.) EN DIETA DE OLOTE DE MAIZ BIOENSAYO 23.3.05

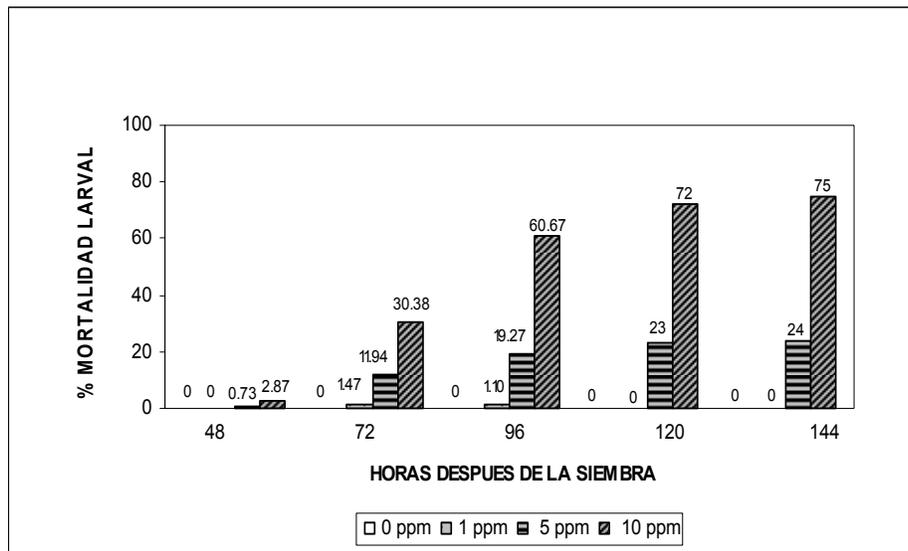
DL	DLe (ppm)	LIMITES DE CONFIANZA AL 95%		
		LIMITE SUPERIOR	LIMITE INFERIOR	ANCHURA
1	0.0345	0.0609	0.0196	0.0413
10	0.3699	0.6528	0.2097	0.4431
20	1.0044	1.7719	0.5693	1.2026
30	2.0638	3.6414	1.1699	2.4715
40	3.8185	6.7369	2.1644	4.5725
50	6.7868	11.9746	3.8471	8.1275
60	12.0626	21.2795	6.8365	14.443
70	22.3189	39.3788	12.6514	26.7274

1.2 Lote B (1.2 Bioensayo 12.4.05)

La gráfica 1.2A muestra una clara tendencia al incremento de la mortalidad larval, en el tiempo y a medida que se incrementan las concentraciones.

A excepción del tratamiento 1 ppm, que muestra valores de mortalidad sin tendencia específica, en el tratamiento 5 ppm el porcentaje de mortalidad se incrementa 10% a las 72 horas, 18% a las 96 horas, 22% a las 120 horas y 23% a las 144 horas; mientras que en el tratamiento 10 ppm, el porcentaje de mortalidad se incrementa en un 27% a las 72 horas, 57% a las 96 horas, 69% a las 120 horas y 72 % a las 144 horas.

Si se comparan los porcentajes de mortalidad, obtenidos entre tratamientos, a las 144 horas después de la siembra, se observa que la mortalidad en el tratamiento 5 ppm se incrementa un 24% y un 75% en el tratamiento 10 ppm, con relación al tratamiento 1 ppm. Esto significa que la mortalidad obtenida en el tratamiento 5 ppm es la tercera parte de la mortalidad obtenida en el tratamiento 10 ppm.



Gráfica 1.2A. Mortalidad larval de *Ceratitis capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión en dieta de olote de maíz. Bioensayo 12.4.05.

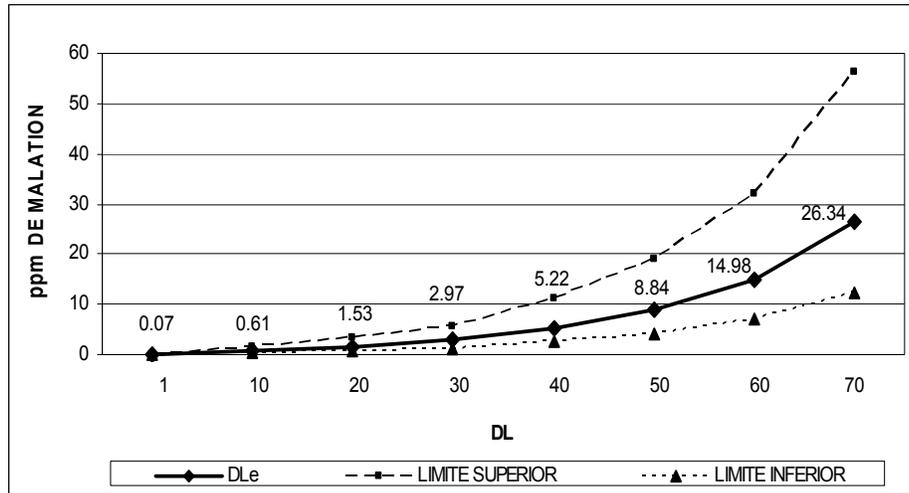
En la tabla 1.2A se presenta el resumen de las diferentes pruebas de Kruskal & Wallis aplicadas a los valores de mortalidad larval obtenidos cada 24 horas, a partir de la siembra. Se observa diferencia significativa únicamente entre el testigo y el tratamiento 10 ppm, a partir de las 96 horas.

TABLA 1.2A RESUMEN DE LAS DIFERENTES PRUEBAS DE KRUSKAL & WALLIS REALIZADAS EN FUNCION DEL TIEMPO (VALORES PROMEDIO DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD LARVAL)
BIOENSAYO 12.4.05

HORAS DESPUES DE LA SIEMBRA	TRATAMIENTOS			
	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
48	0	0	1	3
72	0	1	12	30
96	0	1	19	61*
120	0	7	23	72*
144	0	5	24	75*

* P < 0.05

La gráfica 1.2B representa las dosis estimadas por Probit, a partir de la DL1 hasta la DL70, con sus respectivos límites de confianza en dieta de olote de maíz.



Gráfica 1.2B Dosis letales de malación y límites de confianza (Probit) en dieta larval de olote de maíz para *Ceratitis capitata* (Wied.). Bioensayo 12.4.05.

La tabla 1.2B muestra los valores estimados por Probit para las dosis letales y sus límites de confianza, en dieta de olote de maíz., en la segunda repetición del ensayo en el tiempo (repetición I 23.03.05, repetición II 12.04.05).

Tabla 1.2B DOSIS LETALES ESTIMADAS, DLe, (PROBIT) Y SUS LIMITES DE CONFIANZA DE LA VARIABLE MORTALIDAD LARVAL DE *Ceratitis capitata* (Wied.) EN DIETA DE OLOTE DE MAIZ BIOENSAYO 12.4.05

DL	DLe (ppm)	LIMITES DE CONFIANZA AL 95%		ANCHURA
		LIMITE SUPERIOR	LIMITE INFERIOR	
1	0.0695	0.1486	0.0326	0.116
10	0.6129	1.3092	0.2869	1.0223
20	1.532	3.2727	0.7173	2.5554
30	2.9659	5.6469	1.2376	4.4093
40	5.2153	11.1406	2.4417	8.6989
50	8.8388	18.8803	4.138	14.7423
60	14.9799	31.997	7.0123	24.9847
70	26.3415	56.2613	12.3308	43.9305

Fase I – Dieta Mix

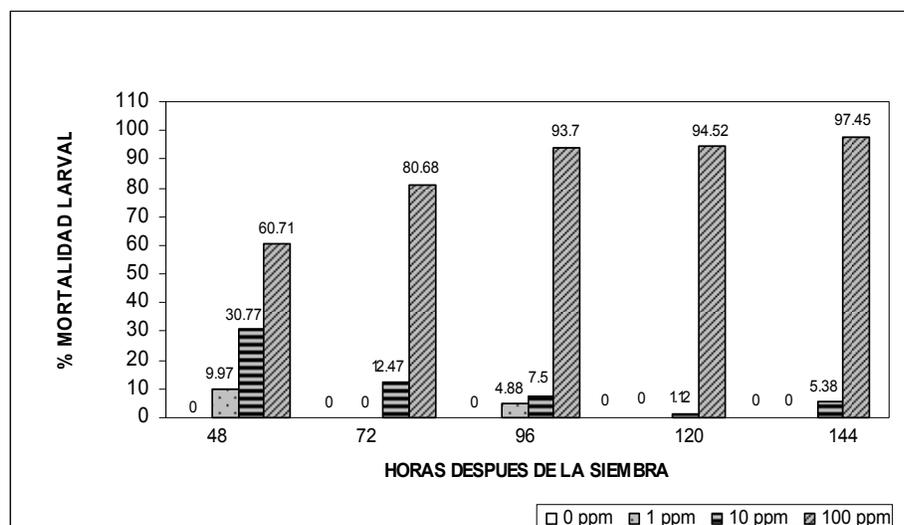
1.3 Lote Único (Bioensayo 13.6.05)

La gráfica 1.3A muestra tendencia general al descenso de la mortalidad larval en el tiempo y a medida que se incrementan las concentraciones. La excepción la constituye el tratamiento 100 ppm, cuya tendencia es en sentido contrario, es decir, se incrementa la mortalidad larval en el tiempo y como la concentración es alta, la mortalidad se incrementa hasta un 37% entre las 48 y 144 horas. Esta última tendencia es similar a lo que se observó con dieta de olote de maíz, con relación al tratamiento 10 ppm, donde el incremento de la mortalidad larval es del 72% entre las 48 y 144 horas.

La mortalidad en el tratamiento 1 ppm inicia con un 10%, desciende a 0 a las 72 horas, se incrementa en un 4% a las 96 horas y vuelve a descender a 0 a las 120 y 144 horas. El tratamiento 10 ppm inicia con un 31 % de mortalidad que luego desciende a 12% a las 72 horas, a 7% a las 96 horas y a 1% a las 120 horas; para incrementarse en un 5% a las 144 horas.

A diferencia del comportamiento observado en las concentraciones 1 y 10 ppm, el tratamiento 100 ppm inicia con un 60% de mortalidad a las 48 horas, la que se incrementa gradualmente en el tiempo hasta un 97% a las 144 horas.

Si se comparan los porcentajes de mortalidad larval obtenidos entre tratamientos a las 144 horas, se observa que la proporción de mortalidad obtenida es 0% para la dosis 1 ppm, 5% para 10 ppm y 97% para 100 ppm, es decir, que la diferencia de mortalidad obtenida entre 10 y 100 ppm es de 92%.



Gráfica 1.3A Mortalidad larval de *Ceratitidis capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión, en dieta mix. Bioensayo 13.6.05.

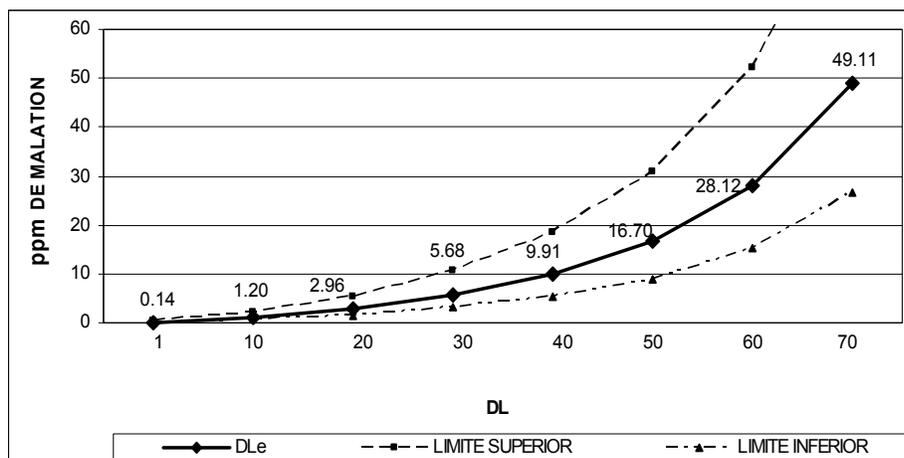
A continuación, en la tabla 1.3A se presenta el resumen de las diferentes pruebas de Kruskal & Wallis aplicadas a los valores de mortalidad larval obtenidos cada 24 horas. Se observa diferencia significativa, entre el testigo y el tratamiento 100 ppm, únicamente a las 96 horas; hecho que tiene su explicación en la variabilidad, existente entre réplicas del mismo tratamiento y la variabilidad entre tratamientos. Además, hay que tomar en cuenta que la metodología empleada en este trabajo, para determinar mortalidad larval, no permite trabajar con más de tres réplicas por tratamiento¹⁴, y esta limitante también se refleja en los resultados obtenidos.

TABLA 1.3A RESUMEN DE LAS DIFERENTES PRUEBAS DE KRUSKAL & WALLIS REALIZADAS EN FUNCION DEL TIEMPO (VALORES PROMEDIO DEL PORCENTAJE DE MORTALIDAD LARVAL)
BIOENSAYO 13.6.05

HORAS DESPUES DE LA SIEMBRA	TRATAMIENTOS			
	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
48	0	10	31	61
72	0	0	12	81
96	0	5	8	94*
120	0	0	1	95
144	0	0	5	97

* P < 0.05

La gráfica 1.3B representa las dosis letales estimadas por Probit, a partir de la DL1 hasta la DL70, con sus respectivos límites de confianza, en dieta mix.



Gráfica 1.3B Dosis letales de malación y límites de confianza (Probit) en dieta larval mix para *Ceratitidis capitata* (Wied.). Bioensayo 13.6.05.

¹⁴ Trabajar con más de tres réplicas, por tratamiento, implicaría un incremento significativo de los costos del trabajo en cuanto a personal y material requeridos.

La tabla 1.3B muestra los valores estimados por Probit para las dosis letales, con sus límites de confianza, en dieta mix.

Tabla 1.3B DOSIS LETALES ESTIMADAS, DLe, (PROBIT) Y SUS LIMITES DE CONFIANZA DE LA VARIABLE MORTALIDAD LARVAL DE *Ceratitis capitata* (Wied.) EN DIETA MIX BIOENSAYO 13.6.05

DL	DLe (ppm)	LIMITES DE CONFIANZA AL 95%		
		LIMITE SUPERIOR	LIMITE INFERIOR	ANCHURA
1	0.1393	0.2579	0.0752	0.1827
10	1.1953	2.2138	0.6454	1.5684
20	2.9552	5.4733	1.5957	3.8776
30	5.6758	10.5111	3.0645	7.4466
40	9.9135	18.3589	5.3525	13.0064
50	16.6957	30.9205	9.0147	21.9058
60	28.1177	52.0771	15.1829	36.8942
70	49.1109	90.9592	26.5188	64.4404

Discusión

Los resultados obtenidos muestran, aparentemente, dos tendencias opuestas. Cuando se aplicó malatión, en dosis de 5 y 10 ppm en dieta de olote de maíz¹⁵, los resultados muestran tendencia general al incremento de la mortalidad larval en el tiempo y en proporción directa a la concentración. El comportamiento del tratamiento 1 ppm es muy similar al del testigo y, en algunos casos, superó el porcentaje de larvas vivas obtenido en el testigo; este comportamiento se atribuye a un “efecto estimulante”, denominado en toxicología, *efecto hormesis* (del cual se hablará más adelante...ver discusión de resultados de la variable emergencia, Pág. 56) y que, probablemente, desencadena un mecanismo de defensa en las larvas. Pero cuando se aplicó malatión en dieta “mix”¹⁶ la tendencia general fue hacia el descenso de la mortalidad larval en el tiempo y a medida que se incrementan las concentraciones, hasta 10 ppm, a excepción de la dosis 100 ppm, donde se obtuvo casi un 100% de mortalidad larval. Los resultados obtenidos, en general, coinciden con las observaciones de varios investigadores, entre ellos Bisset, JA., 2002 (21) del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” de Cuba, quien dice que “existe una correlación positiva entre la dosis de un plaguicida y el porcentaje de mortalidad que ocasiona. Sin embargo, si se aplican dosis bajas, el porcentaje de mortalidad producido en la población podría no ser adecuado...” y agrega: “si la dosis es muy alta, se espera que el porcentaje de mortalidad sea muy alto, mucho más del necesario, pues se está utilizando más de lo indispensable...” (Ibid ítem).

¹⁵ Recuérdese que los bioensayos del 23.03.05 y del 12.04.05 son repeticiones en el tiempo y ambos presentan la misma tendencia.

¹⁶ La dieta mix es una mezcla que contiene 7.5% de olote de maíz y 7.5% de bagazo de caña. Cada vez que se hace referencia a esta mezcla en este trabajo, se usa este término.

Este comportamiento puede atribuirse a que, si bien las concentraciones iniciales aplicadas al olote fueron 1, 10 y 100 ppm de malatión; al incorporar este ingrediente a la dieta mix, en un 7.5% (la mitad de la proporción con la que se prepara la dieta de olote de maíz), como vehículo de impregnación del ingrediente activo, se obtuvo una concentración final en la dieta mix equivalente a la mitad de la concentración final en la dieta de olote de maíz. Es decir que, al aplicar 1 ppm del insecticida al ingrediente olote equivale a 0.15 ppm en la dieta de olote y a 0.075 ppm en la dieta mix; de igual manera, al aplicar 10 ppm al ingrediente olote equivale a 1.5 ppm en dieta de olote y a 0.75 ppm en dieta mix y al aplicar 100 ppm al ingrediente olote, equivale a 15 ppm en la dieta de olote de maíz y a 7.5 ppm en la dieta mix.

No obstante, al analizar estadísticamente los resultados no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos; por lo que puede concluirse que existe una tendencia general al incremento de la mortalidad larval en el tiempo y en proporción directa a la concentración, cuando se aplicó malatión en ambas dietas, en dosis de 5 y 10 ppm.

En el caso del tratamiento 100 ppm, la concentración es alta, a pesar de la dilución, y el insecticida se degrada, a consecuencia del metabolismo larval, dando lugar a compuestos más tóxicos que el compuesto "original"; ya que, el malatión técnico no es una sustancia pura única, sino una mezcla de composición variable. Además del malatión pueden encontrarse hasta 14 metabolitos distintos además de los aditivos inertes. Por esta razón se aplica el término "complejo malatión" para designar su compleja estructura y su efecto tóxico es, por lo tanto, función de este arreglo de moléculas. Por esta razón el malatión y sus metabolitos pueden permanecer un cierto tiempo, ser químicamente transformados a moléculas no tóxicas (fundamentalmente por hidrólisis) o convertirse en productos más tóxicos que el propio plaguicida. Esto ocurre, por ejemplo, cuando por efecto de la temperatura o la acción microbiana el malatión se convierte en fracciones más tóxicas como el malaoxón..." (Montenegro, RA. 2001) (20). Por lo que se puede concluir que, la alta mortalidad obtenida en el tratamiento 100 ppm podría atribuirse, entre otras causas, a este proceso de transformación molecular del insecticida, inducido por las condiciones ambientales y el metabolismo larval.

Por otra parte, los resultados del análisis "Probit" indican que, cuando se impregna la dieta de olote de maíz con malatión, la dosis letal necesaria para matar el 1% de la población larval oscila entre 0.03 y 0.07 ppm; mientras que, con dieta mix esta dosis es de 0.14 ppm. Si se comparan estas dosis letales obtenidas con la dosis máxima detectada en laboratorio (1ppm), en los análisis preliminares efectuados a diferentes lotes de olote de maíz, por el Departamento de Control de Proceso de la Planta "El Pino" (Reporte interno de análisis de residuos de malatión, efectuado por INLASA. 2002, 22), estas dosis representan menos del

10% (en dieta de olote de maíz) y menos del 14% (en dieta mix) de la concentración detectada inicialmente en el laboratorio. Por lo que se sugiere que el límite de aceptación a los proveedores de olote se fije por debajo de 0.03 ppm; ya que, considerando que la producción actual del laboratorio “El Pino” asciende a 2,000.000, 000 (dos mil millones) de moscas semanales, el 1% de mortalidad larval, DL1, representa 20.000,000 (veinte millones) de insectos de pérdida semanal.

Al comparar los valores de DL50 obtenidos en ambas dietas, éste oscila entre 6.8 y 8.8 ppm (en dieta de olote de maíz), mientras que en dieta mix es 16.7 ppm. Es decir, que se requiere, aproximadamente, el doble de ingrediente activo en dieta mix para obtener la misma mortalidad larval.

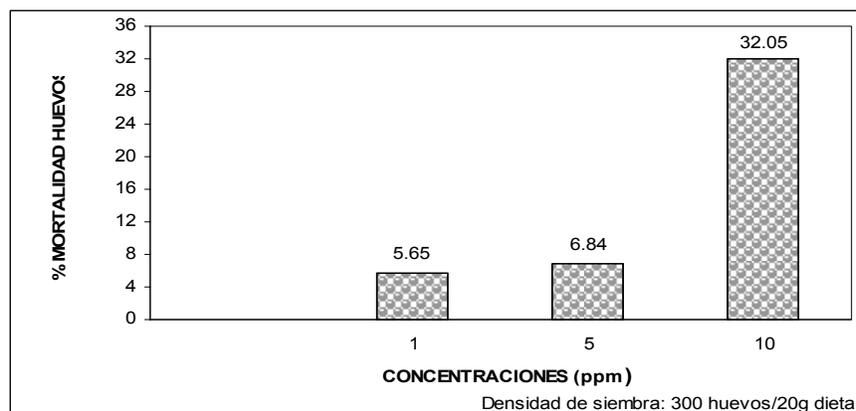
Fase 1

2. Efecto Ovicida

Al igual que en la variable anterior, los valores de mortalidad obtenidos en los tres bioensayos realizados, fueron corregidos por el valor de la mortalidad natural de huevos del testigo. Como el dato de eclosión máxima¹⁷ se obtiene a las 48 horas después de la siembra, se asumió que los huevos que permanecen sobre el trozo de tela de “lycra”¹⁸, después de este tiempo, son huevos infértiles o no viables. Por esta razón, en este trabajo se consideró la posibilidad de un efecto ovicida, únicamente, a las 48 horas después de la siembra, lo cual puede apreciarse en las gráficas siguientes.

2.1 Bioensayo 23.3.05

En la gráfica 2.1 puede observarse que se incrementa el porcentaje de mortalidad de huevos en proporción directa a la concentración.



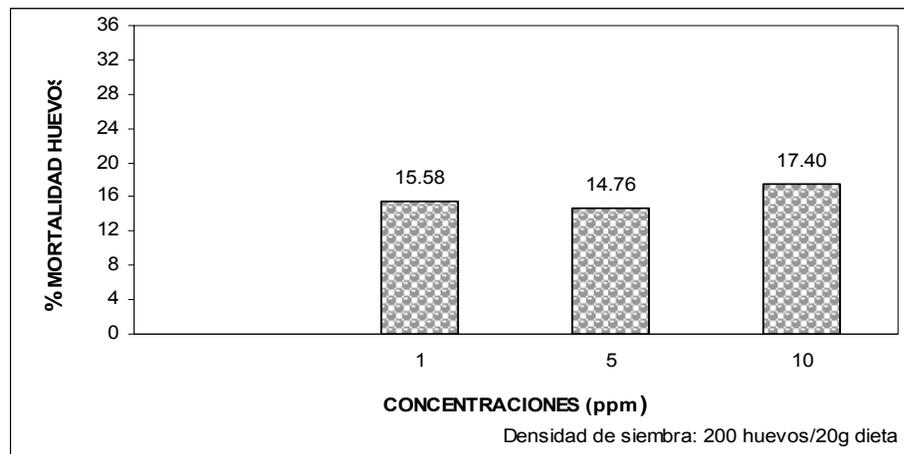
Gráfica 2.1 Efecto ovicida de malatión en *Ceratitís capitata* (Wied.), 48 horas después de la siembra, en dieta de olote de maíz. Bioensayo 23.3.05.

¹⁷ Al momento de obtener esta lectura los huevos tiene cuatro días de haberse colectado.

¹⁸ El trozo de tela de “lycra” se coloca sobre el sustrato de dieta, en cada réplica que se siembra.

2.2 Bioensayo 12.4.05

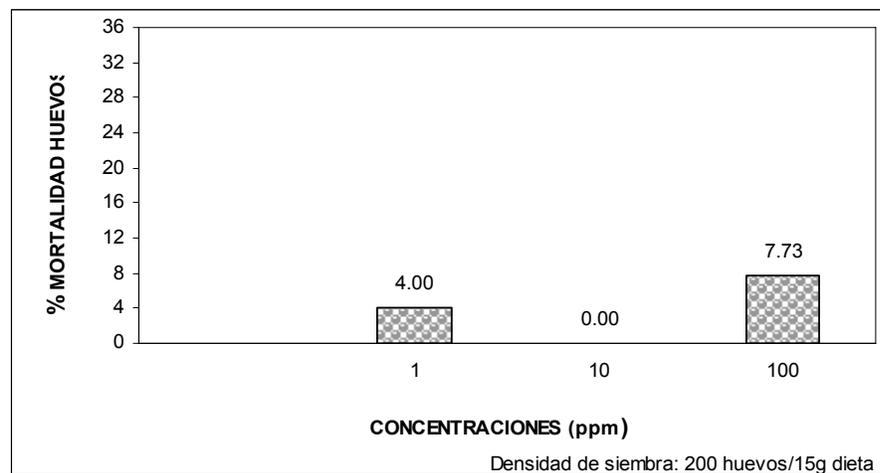
La gráfica 2.2 muestra, en general, un leve incremento del porcentaje de mortalidad de huevos en proporción directa a la concentración, a excepción del tratamiento 5 ppm, que desciende 0.82% con relación al tratamiento 1 ppm.



Gráfica 2.2 Efecto ovicida de malatión en *Ceratitis capitata* (Wied.), 48 horas después de la siembra en dieta de olote de maíz. Bioensayo 12.4.05.

2.3 Bioensayo 13.6.05

En la gráfica 2.3 puede observarse un leve incremento de 3.73% del porcentaje de mortalidad de huevos entre los tratamientos 1 y 100 ppm. No obstante, el tratamiento 10 ppm, presenta 0% de mortalidad.



Gráfica 2.3 Efecto ovicida de malatión en *Ceratitis capitata* (Wied.), 48 horas después de la siembra, dieta mix. Bioensayo 13.6.05

Discusión

Los resultados obtenidos, al impregnar dieta de olote de maíz con malatión muestran, en general, una relación directa entre concentración y mortalidad de huevos de *Ceratitis capitata* (Wied.). De la población total de huevos sembrados (200-300), un porcentaje comprendido entre 84 - 94% toleraron una concentración de 1 ppm, entre 85 - 93% toleraron 5 ppm y entre 68 - 83% toleraron 10 ppm.

En contraste con estos resultados, cuando se impregnó dieta mix con malatión, del total de huevos sembrados (200), el 96% toleraron 1 ppm, el 100% toleraron 10 ppm y el 92% toleraron 100 ppm. Aparentemente, en este caso, no existe una relación entre concentración y mortalidad de huevos. No obstante, si se comparan estos resultados con los obtenidos en la variable recuperación larval (ver Pág. 41), es evidente el efecto casi 100% letal de malatión en larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.) cuando se impregna dieta mix con la dosis 100 ppm. El bajo porcentaje de mortalidad de huevos obtenido a esta concentración, podría deberse a: 1) Al contabilizar los huevos que permanecen sobre el trozo de tela de "lycra", al momento de la lectura de eclosión máxima, se consideran huevos "vivos" los huevos enteros que al examen visual se observan blancos y brillantes. Sin embargo, no existe un parámetro cualitativo para determinar, mediante esta evaluación visual, la viabilidad de los huevos. Esto significa que es probable que el malatión, aplicado a la dieta mix a una concentración de 100 ppm, no haya afectado la apariencia del huevo y que por eso se presenta aparentemente "normal" al examen visual. Sin embargo, al considerar los resultados obtenidos en recuperación larval, se evidencia un efecto ovicida. 2) Debido a la proporción de olote que incluye la dieta mix como vehículo de impregnación (7.5%), en relación a la proporción que incluye la dieta de olote (15%), las concentraciones aplicadas se diluyeron a la mitad y como consecuencia de ello, no se evidencia en los resultados obtenidos un efecto ovicida. También hay que tomar en cuenta la variabilidad entre réplicas del mismo tratamiento.

Adicionalmente, hay que considerar que los huevos fueron sembrados sobre un trozo de tela de "lycra"¹⁹ colocada, a su vez, sobre el sustrato de dieta. De todos los ingredientes que constituyen la dieta, únicamente el olote de maíz fue impregnado directamente y los demás se impregnaron indirectamente por medio del mezclado. Es decir, que también la exposición del huevo al insecticida fue indirecta; tomando en cuenta que esto es lo que sucedería en realidad, en el supuesto caso de que en el Laboratorio "El Pino" se aceptase un lote de olote de maíz que llegara contaminado con alguna de las concentraciones probadas en este estudio y, posteriormente, al preparar la dieta en la forma habitual, los huevos y larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.) entrarían en contacto indirecto con el

¹⁹ La tela de "lycra" tiene una apertura de poro que permite el paso de la larva recién eclosionada a la dieta y además, permite hacer el recuento de huevos no eclosionados, para obtener el cálculo de mortalidad larval.

insecticida y no en forma directa como ocurrió en el experimento llevado a cabo por Aguilar Zárate, MA. y Briceño Lobo, RD. (1992) (23) de la Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Ambientales, Heredia, Costa Rica, quienes realizaron un estudio de la tolerancia de huevos de *Ceratitis capitata* (Wied.) a malatión. En su ensayo los huevos fueron colocados sobre papel filtro negro con 4ml. de malatión a las concentraciones de 0.1, 10 y 100 ppm, contando los huevos eclosionados 5 días después. Esto significa que los huevos quedaron en contacto directo con la solución de malatión. Los resultados mostraron una relación significativa entre el porcentaje de mortalidad y la concentración del insecticida. La DL50 fue 9.77 ppm. Un total de 15.6% de la población de huevos toleraron una concentración de 100 ppm, el 17.73% toleraron 10 ppm y el 86.9% toleraron 0.1 ppm. Además se obtuvieron diferencias altamente significativas entre la mortalidad de los huevos expuestos a concentraciones de malatión de 0.1 contra 10 ppm y a 0.1 contra 100 ppm. Por lo tanto, se concluyó que existió una relación directa entre concentración y mortalidad (Ibid ítem).

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que, el mayor efecto dañino del insecticida se observa en la larva y en menor grado, de manera indirecta, en el huevo.

Habrá que profundizar, en otras investigaciones, el efecto ovicida de malatión, ya que éste no fue el objetivo fundamental del presente trabajo.

Fase 2

3. Recuperación larval

La recuperación larval es un parámetro muy importante en el proceso de producción de insectos estériles a gran escala. Pues permite cuantificar, al inicio del proceso, el rendimiento de la producción. El volumen de larva obtenido representa la población potencial de adultos que se ha proyectado obtener.

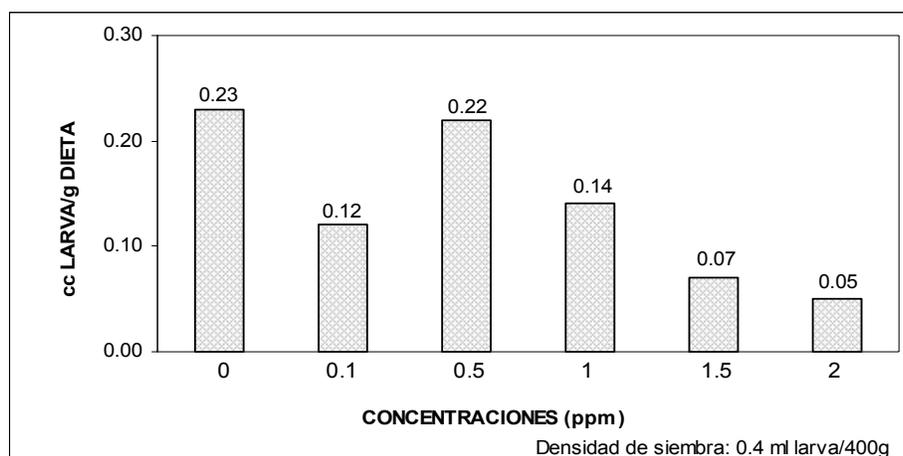
La recuperación larval está directamente relacionada con la densidad de siembra, es decir, con el volumen inicial de huevos que se siembran sobre una cantidad específica de dieta. En este trabajo se tomó como dato base la densidad actual de siembra de colonias (4cc huevo/5 Kg. de dieta), para calcular, proporcionalmente, la densidad de siembra en cada bioensayo.

La recuperación larval se obtiene dividiendo el volumen de larvas recuperado en cinco colectas entre los gramos de dieta que contiene cada réplica sembrada. Se considera satisfactoria la producción de colonias, cuando se obtiene una recuperación larval de 0.1L larva/Kg. de dieta (equivalente a 0.1cc larva/g de dieta; comunicación personal con el Dr. Pedro Rendón, Desarrollo Métodos, Comisión MOSCAMED, 2005).

A continuación se presentan los resultados obtenidos en esta variable en los cuatro bioensayos realizados; ya que el bioensayo del 23.3.05 y el del 12.4.05 se destinaron exclusivamente, para determinar el efecto agudo del insecticida (efecto letal), mientras que en los restantes cuatro (ver apartado 7.4.1 de Métodos, Pág. 14 y cuadro resumen del diseño experimental, Anexo V) se determinó el efecto crónico o residual de malatión, mediante la evaluación de los parámetros de calidad del insecto.

3.1 Bioensayo 2.5.05

La gráfica 3.1 muestra una tendencia general al descenso de la recuperación larval a medida que se incrementan las concentraciones, a excepción del tratamiento 0.1 ppm, que presenta un descenso de 0.10cc larva/g de dieta, con relación al de 0.5 ppm, cuyo rendimiento fue de 0.22cc larva/g de dieta²⁰.



Gráfica 3.1 Recuperación larval de *Ceratitís capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión, en dieta de olote de maíz. Bioensayo 2.5.05

La tabla 3.1 indica que hay diferencia significativa entre el tratamiento 2 ppm con respecto a los tratamientos 0.5 ppm y testigo.

Tabla 3.1 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE RECUPERACION LARVAL DE *Ceratitís capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 2.5.05

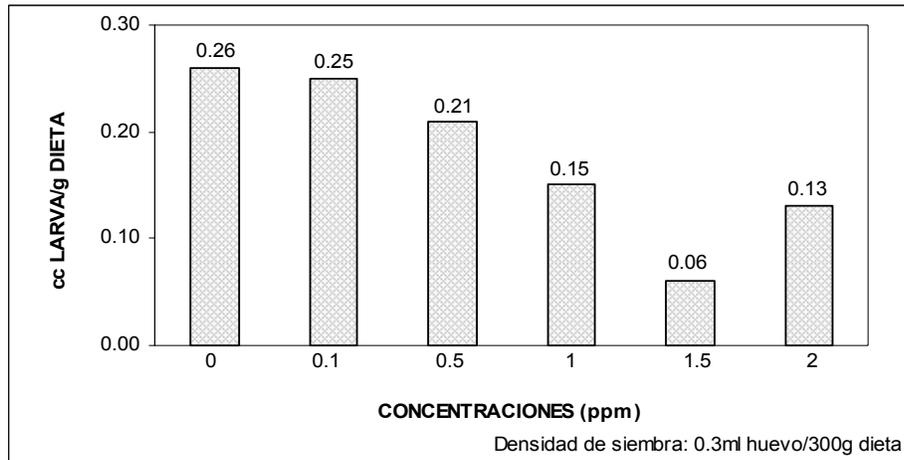
VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
RECUPERACION LARVAL	0.23 (A)	0.12 (AB)	0.22 (A)	0.14 (AB)	0.07 (AB)	0.05 (B)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes

²⁰ Se estima que el número de huevos de *Ceratitís capitata* (Wied.) en 1cc es de aproximadamente 25,000 a 30,000 (Fuente: Laboratorio de Control de Proceso, Planta "El Pino").

3.2 Bioensayo 23.5.05

La gráfica 3.2 muestra una tendencia general al descenso de la recuperación larval en proporción inversa la concentración, a excepción del tratamiento 2 ppm, en el que se observa un ascenso de 0.07cc de larva/g dieta, con relación al tratamiento de 1.5 ppm, cuyo rendimiento fue de 0.06cc.



Gráfica 3.2 Recuperación larval de *Ceratitís capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión, en dieta de olote de maíz. Bioensayo 23.5.05

La tabla 3.2 indica que hay diferencia significativa entre la dosis 1.5 ppm y los tratamientos 0.1 ppm y testigo.

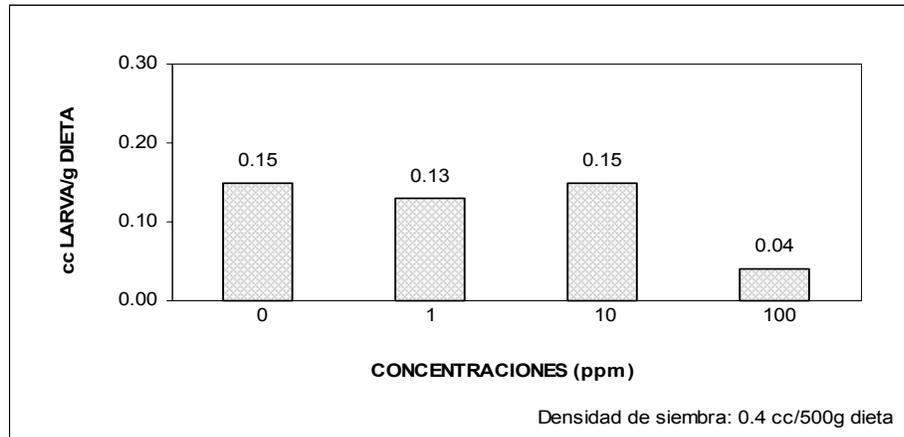
Tabla 3.2 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE RECUPERACION LARVAL DE *Ceratitís capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 23.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
RECUPERACION LARVAL	0.26 (A)	0.25 (A)	0.21 (AB)	0.15 (AB)	0.06 (B)	0.13 (AB)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

3.3 Bioensayo 13.6.05

A diferencia del comportamiento observado en los dos casos anteriores, la gráfica 3.3 muestra que, cuando se impregna la dieta mix con malatión, el volumen de larva recuperado es muy similar en los tratamientos 0, 1 y 10 ppm; mientras que en el tratamiento 100 ppm, la recuperación larval es casi 0.



Gráfica 3.3 Recuperación larval de *Ceratitits capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión en dieta mix. Bioensayo 13.6.05.

La tabla 3.3 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos.

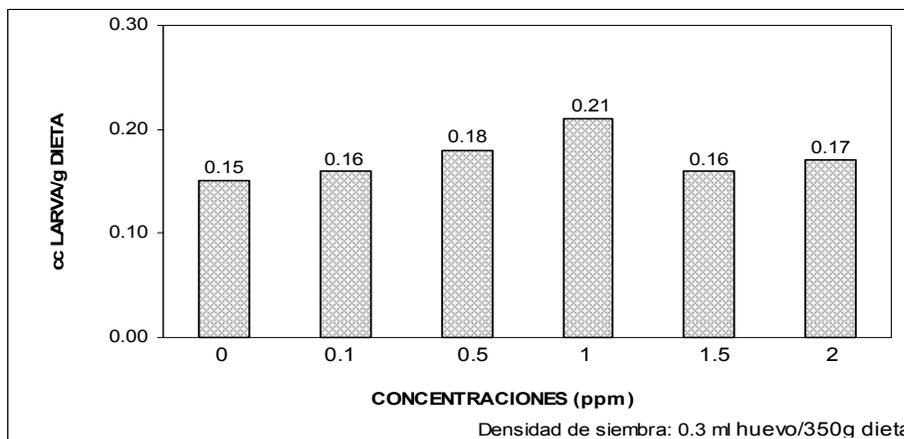
Tabla 3.3 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE RECUPERACION LARVAL DE *Ceratitits capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 13.6.05

VARIABLE	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
RECUPERACION LARVAL	0.15 (A)	0.13 (A)	0.15 (A)	0.04 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

3.4 Bioensayo 4.7.05

La gráfica 3.4 muestra tendencia al incremento de la recuperación larval en relación directa a la concentración, hasta el tratamiento 1 ppm. En los tratamientos 1.5 y 2 ppm se observan leves descensos en la recuperación larval de 0.05 y 0.04cc. larva/g dieta, respectivamente, con relación al tratamiento 1 ppm, cuyo rendimiento fue de 0.21cc. larva/g. dieta En general, se manifiesta un comportamiento similar entre tratamientos.



Gráfica 3.4 Recuperación larval de *Ceratitits capitata* (Wied.) con diferentes concentraciones de malatión en dieta mix. Bioensayo 4.7.05.

La tabla 3.4 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla 3.4 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE RECUPERACION LARVAL DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha=0.05$) Bioensayo 4.7.05

VARIABLE	0	0,1	0,5	1	1,5	2
RECUPERACION LARVAL	0.15 (A)	0.16 (A)	0.18 (A)	0.21 (A)	0.16 (A)	0.17 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

Discusión

Cuando se impregna la dieta de olote de maíz con dosis menores de 2 ppm de malatión, se observa tendencia general al descenso de la recuperación larval a medida que se incrementan las concentraciones, salvo leves ascensos y/o descensos en el volumen de larva recuperado, en los tratamientos antes indicados. A diferencia de este comportamiento, al aplicar malatión a las mismas dosis pero en dieta mix, la tendencia general muestra un incremento de la recuperación larval en proporción directa a la concentración, hasta la dosis 1 ppm. No obstante, esta diferencia no es estadísticamente significativa y podría atribuirse a un error experimental, o bien, a que las concentraciones se diluyeron aproximadamente a la mitad de la concentración de la dieta de olote, obteniendo una recuperación larval en proporción directa a la concentración, hasta 1 ppm. Es decir que, al aplicar malatión a la dieta mix en dosis menores de 1 ppm (equivalente a 0.5 ppm en la dieta de olote, debido a la dilución de la dieta mix), el insecticida tiene un efecto “estimulante” en la recuperación larval. Este efecto se denomina “*hormesis*” y se manifiesta más adelante, en algunas variables de calidad del insecto (emergencia y habilidad de vuelo en machos, ver Págs. 52, 53, 57 y 58). Al aplicar la dosis 100 ppm, el malatión tiene un efecto casi 100% letal en larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.) criadas en condiciones de laboratorio ($21 \pm 2^\circ\text{C}$; 70-100% HR. y fotoperíodo 12:12) y, en consecuencia, la recuperación larval es casi 0.

4. Porcentaje de Pupa Blanca

Debido al tamaño reducido de los experimentos (300 – 500g de dieta/réplica), el volumen de pupa colectado fue mínimo y esto limitó el tamaño de la muestra utilizada para el montaje de las pruebas de calidad del insecto (porcentaje de pupa blanca, peso de la pupa, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad). A continuación se presentan los resultados obtenidos en cada una de estas variables.

En el proceso de producción de insectos estériles a gran escala que se lleva a cabo en el Laboratorio “El Pino”, este parámetro se aplica a la cepa “TSL” y específicamente a las colonias de “Iniciación, Inyección y Liberación”, con el objeto de saber cuanta pupa blanca

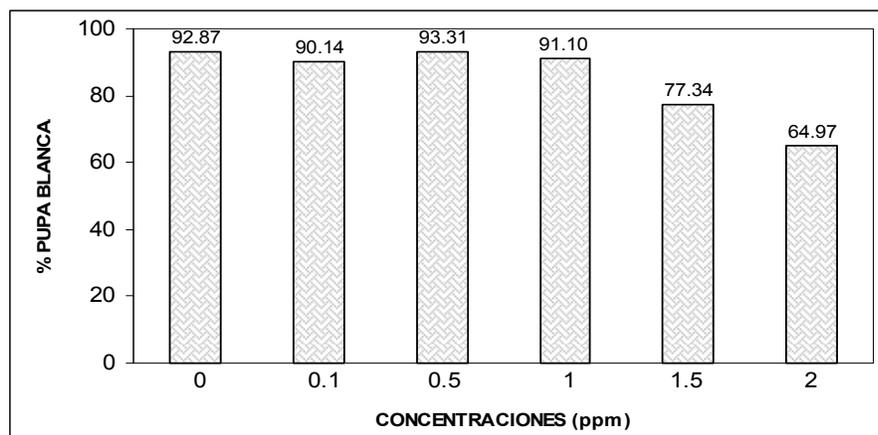
y en consecuencia hembras²¹, existen en cada colecta para proceder a su cargado en las jaulas de reproductores (ver nota al pie de la página 12).

Del volumen total de pupa obtenido de las cuartas, quintas y sextas colectas (que usualmente son las últimas), el mayor porcentaje corresponde a pupa blanca, es decir, hembras.

Normalmente, en el proceso de producción del laboratorio “El Pino”, se considera aceptable un porcentaje de pupa blanca entre 75 – 90%, obtenido entre las cuartas y sextas colectas (Comunicación personal con el Ing. Amílcar Gutiérrez, Desarrollo Métodos, Comisión MOSCAMED). En este trabajo se obtuvieron cinco colectas larvales y, en consecuencia, cinco colectas de pupa. Por esta razón, los resultados que se presentan a continuación, representan los promedios de los porcentajes obtenidos entre las cuartas y quintas colectas por cada tratamiento aplicado.

4.1 Bioensayo 2.5.05

En la gráfica 4.1 puede observarse que, cuando se impregna la dieta de olote de maíz con malatión, aplicando concentraciones menores de 2 ppm, se observa un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida. El porcentaje de pupa blanca obtenido oscila entre 65 – 93%. Se observa un descenso entre 14 – 26% en el porcentaje obtenido en los dos últimos tratamientos con relación al obtenido en las dosis anteriores.



Gráfica 4.1 Porcentaje de pupa blanca de *Ceratitidis capitata* (Wied.), obtenido con diferentes concentraciones de malatión en dieta larval de olote de maíz. Bioensayo 2.5.05.

La tabla 4.1 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos.

²¹ Para separar la pupa de la cepa “TSL”, en ambos sexos, se utiliza el color de la misma. Normalmente la pupa blanca corresponde a las hembras y la pupa café corresponde a los machos.

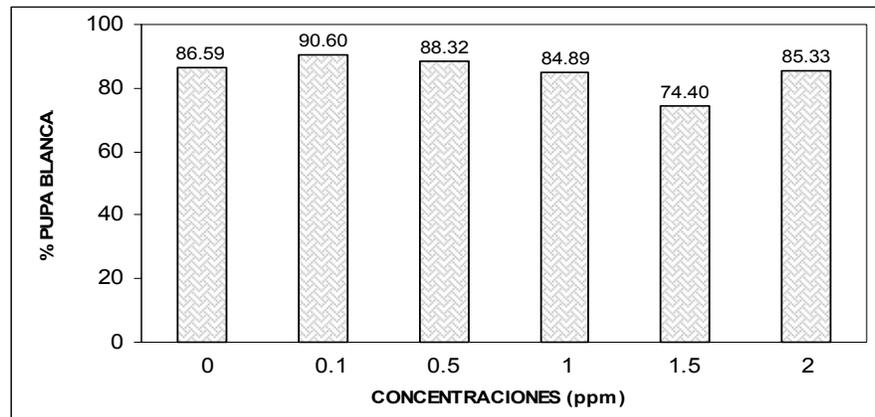
Tabla 4.1 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PORCENTAJE PUPA BLANCA DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 2.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
% Pupa Blanca	92.87(A)	90.14(A)	93.31(A)	91.10(A)	77.34(A)	64.97(A)

*Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

4.2 Bioensayo 23.5.05

En la gráfica 4.2 puede observarse nuevamente que, cuando se impregna la dieta de olote de maíz con concentraciones menores de 2 ppm de malatión, los resultados obtenidos indican un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida. Obsérvese que el porcentaje de pupa blanca obtenido se mantiene constante, ya que éste oscila entre 74.40 – 90.60%.



Gráfica 4.2 Porcentaje de pupa blanca de *Ceratitis capitata* (Wied.), obtenido con diferentes concentraciones de malatión en dieta larval de olote de maíz. Bioensayo 23.5.05

La tabla 4.2 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos.

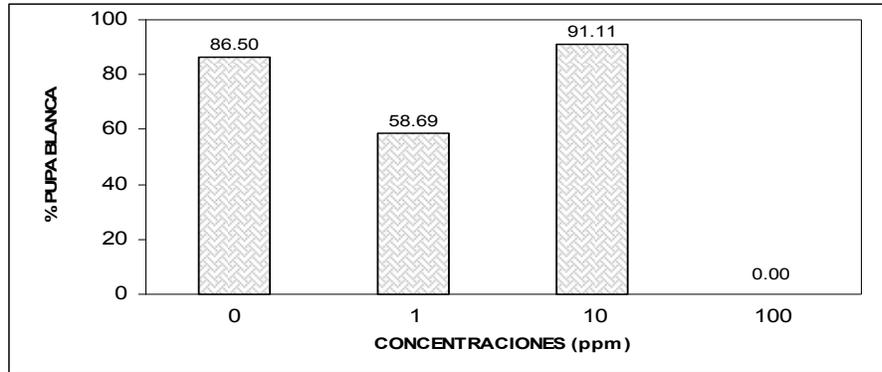
Tabla 4.2 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PORCENTAJE PUPA BLANCA DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 23.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
% Pupa Blanca	86.59(A)	90.60(A)	88.32(A)	84.89(A)	74.40(A)	85.33(A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

4.3 Bioensayo 13.6.05

La gráfica 4.3 muestra un comportamiento diferente entre tratamientos, sin tendencia definida. Se observa una diferencia de 27.81% de pupa blanca entre el testigo y la dosis 1 ppm y de 4.61% entre el testigo y la dosis 10ppm. Entre la dosis 1 ppm y la dosis 10 ppm, la diferencia es de 32.42%. Al aplicar la dosis 100 ppm, el porcentaje de pupa blanca obtenido fue 0.



Gráfica 4.3 Porcentaje de pupa blanca de *Ceratitits capitata* (Wied.), obtenido con diferentes concentraciones de malatión en dieta larval mix. Bioensayo 13.6.05.

La tabla 4.3 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos.

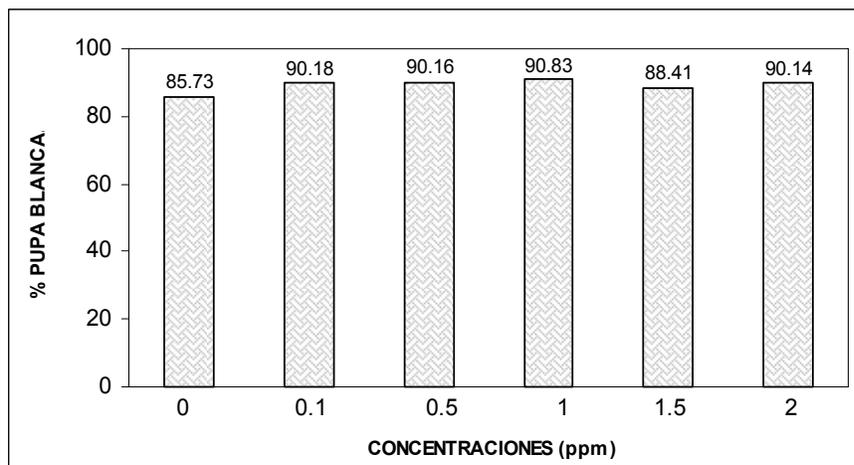
Tabla 4.3 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PORCENTAJE PUPA BLANCA DE *Ceratitits capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 13.6.05

VARIABLE	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
% Pupa Blanca	86.50 (A)	58.69 (A)	91.11 (A)	0.00 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

4.4 Bioensayo 4.7.05

La gráfica 4.4 muestra que cuando se impregna la dieta mix con dosis menores de 2 ppm de malatión puede observarse un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida. Los porcentajes de pupa blanca obtenidos oscilan entre 85.73 – 90.83, es decir, que las diferencias de porcentaje entre tratamientos son aún menores que las observadas en los bioensayos con dieta de olote de maíz aplicando las mismas concentraciones.



Gráfica 4.4 Porcentaje de pupa blanca de *Ceratitits capitata* (Wied.), obtenido con diferentes concentraciones de malatión en dieta larval mix. Bioensayo 4.7.05.

La tabla 4.4 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla 4.4 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PORCENTAJE PUPA BLANCA DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 4.7.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
%Pupa Blanca	85.73 (A)	90.18 (A)	90.16 (A)	90.83 (A)	88.41 (A)	90.14 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que, cuando se aplica malatión en dosis menores de 2 ppm a la dieta de olote de maíz no hay diferencia significativa entre tratamientos, en cuanto al porcentaje de pupa blanca obtenido. Lo mismo ocurre, aplicando las mismas concentraciones en dieta mix, pero en este caso, las diferencias de porcentaje de pupa blanca entre tratamientos, son menores que las observadas en los bioensayos con dieta de olote de maíz. No obstante, cuando se aplica malatión en dieta mix, a las dosis de 1, 10 y 100 ppm, se puede observar un descenso del porcentaje de pupa blanca obtenido en la dosis 1 ppm, con relación al porcentaje obtenido en el testigo y la dosis 10 ppm. Pero como la prueba de Kruskal-Wallis indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos, este descenso puede atribuirse a la variabilidad entre réplicas del mismo tratamiento, así como a la variabilidad entre tratamientos. Además, el 4.61% adicional (con relación al testigo), obtenido en la dosis 10 ppm (equivalente a 5 ppm en la dieta de olote, debido a la dilución), podría ser consecuencia del efecto “**hormesis**” (que se analizará más adelante). A la dosis de 100 ppm el insecticida tiene un efecto 100% letal en hembras de la cepa “TSL” de *Ceratitis capitata* (Wied.). Lo que sugiere que las hembras son más susceptibles al efecto agudo de malatión.

5. Peso Pupa

En el Laboratorio “El Pino” este parámetro se determina dos días antes de la emergencia, ya que generalmente la pupa es irradiada y empacada para envío alrededor de este día. Para pesarla se divide en lotes de 100 pupas (se utiliza como alternativa volumétrica 2cc. de pupa equivalente a 100 pupas).

La edad es un factor crítico al momento de efectuar el peso; pues la pupa pierde agua con la edad y, en consecuencia, peso. Antes de pesarla, se separa la pupa de los sustratos de pupación²² para obtener únicamente el peso de la pupa. El número de lotes que se requiere dependerá del nivel de precisión deseado y de la variabilidad en peso entre lotes. A su vez, la variabilidad entre lotes depende del método de colecta larval, de la consistencia en el manejo durante todo el proceso y del método de muestreo empleado en esta prueba. De acuerdo al Manual Internacional de Producción de Mosca del

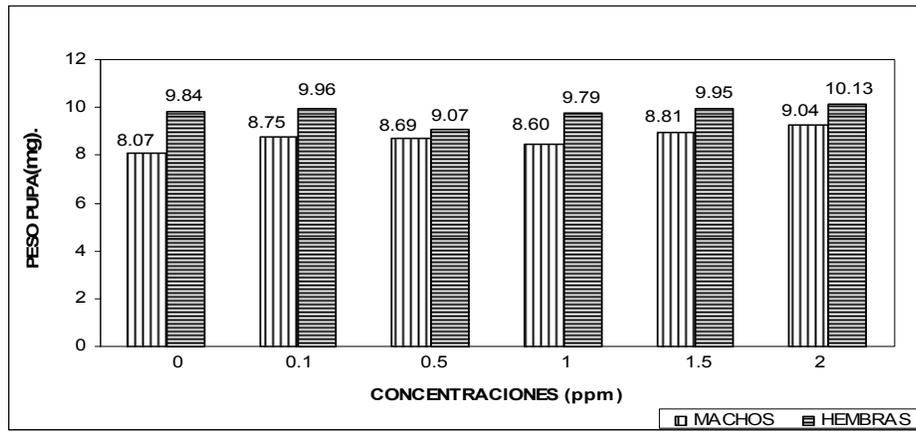
²² Vermiculita, aserrín.

Mediterráneo, 2003 (15), se considera aceptable para la cepa "TSL" de *Ceratitis capitata* un peso promedio de 7.5 mg.

A continuación se presentan los resultados obtenidos en este trabajo.

5.1 Bioensayo 2.5.05

La gráfica 5.1 muestra un comportamiento similar entre tratamientos, sin tendencia definida, tanto en machos como en hembras. Los pesos obtenidos en los diferentes tratamientos, oscilan entre 8.07–9.04mg en machos y entre 9.07–10.13mg en hembras.



Gráfica 5.1 Peso de la pupa (mg) de *Ceratitis capitata* (Wied.) obtenido con diferentes concentraciones de malatión, en dieta larval de olote de maíz. Bioensayo 2.5.05.

En la tabla 5.1 puede observarse que en el peso de los machos hay una diferencia significativa de 0.97mg entre el testigo y el tratamiento 2 ppm. En las hembras, no hay diferencia significativa entre tratamientos.

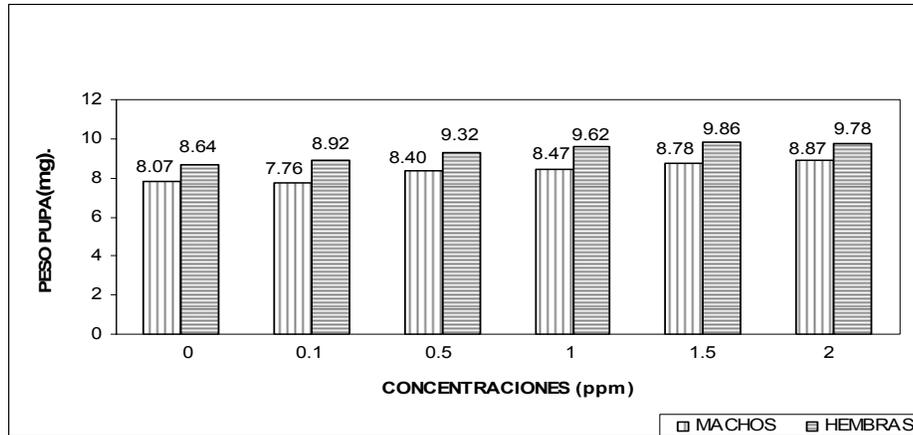
Tabla 5.1 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PESO PUPA DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 2.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
PESO MACHOS	8.07 (B)	8.75 (AB)	8.69 (AB)	8.60 (AB)	8.81 (AB)	9.04 (A)
PESO HEMBRAS	9.84 (A)	9.96 (A)	9.07 (A)	9.79 (A)	9.95 (A)	10.13 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

5.2 Bioensayo 23.5.05

La gráfica 5.2 muestra un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida, tanto en machos como en hembras. Los pesos obtenidos oscilan entre 7.76 – 8.87mg en machos y entre 8.64 – 9.86mg en hembras.



Gráfica 5.2 Peso de la pupa (mg) de *Ceratitís capitata* (Wied.) obtenido con diferentes concentraciones de malatión, en dieta larval de olote de maíz. Bioensayo 23.5.05.

La tabla 5.2 muestra una diferencia significativa de 1.11mg de peso entre los tratamientos 0.1 y 2 ppm en machos; no obstante, no hay diferencia significativa entre éstos y el testigo. En las hembras hay una diferencia significativa de 1.14mg entre el testigo y los tratamientos 1.5 y 2 ppm.

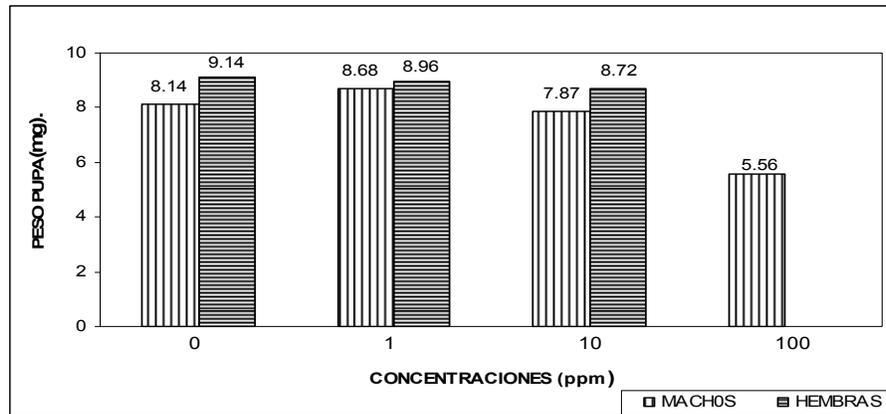
Tabla 5.2 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PESO PUPA DE *Ceratitís capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 23.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
PESO MACHOS	8.07 (AB)	7.76 (B)	8.40 (AB)	8.47 (AB)	8.78 (A)	8.87 (A)
PESO HEMBRAS	8.64 (B)	8.92 (AB)	9.32 (AB)	9.62 (AB)	9.86 (A)	9.78 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

5.3 Bioensayo 13.6.05

En la gráfica 5.3 puede observarse un comportamiento similar entre tratamientos, tanto en machos como en hembras, al aplicar malatión a la dieta mix hasta 10 ppm; observándose en esta última una leve reducción con relación al testigo de 0.81mg en el peso de los machos y de 0.42mg en el peso de las hembras. En la dosis 100 ppm, el único peso que se registra es de 5.56mg correspondiente al mínimo volumen de larva obtenido en la recuperación larval (ver Pág.41) y pertenece a los machos.



Gráfica 5.3 Peso de la pupa (mg) de *Ceratitiss capitata* (Wied.) obtenido con diferentes concentraciones de malatión, en dieta mix larval. Bioensayo 13.6.05.

La tabla 5.3 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos en el peso de los machos. En hembras hay diferencia significativa únicamente, entre el testigo y la dosis 10 ppm. En la concentración 100 ppm no se registra dato.

Tabla 5.3 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PESO PUPA DE *Ceratitiss capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 13.6.05

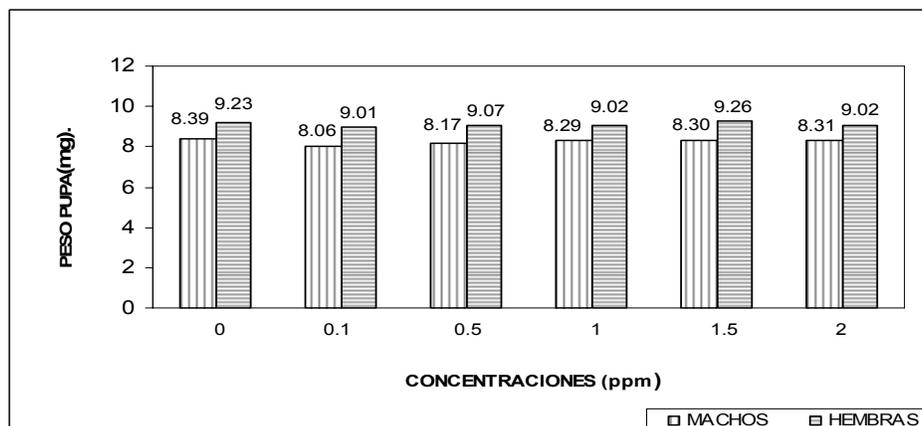
VARIABLE	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
PESO MACHOS	8.14 (A)	8.68 (A)	7.87 (A)	5.56 (A)
PESO HEMBRAS	9.14 (A)	8.96 (AB)	8.72 (B)	SD

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

* SD: sin dato.

5.4 Bioensayo 4.7.05

La gráfica 5.4 muestra nuevamente que, aplicando dosis menores de 2 ppm de malatión en dieta mix se manifiesta un comportamiento similar entre tratamientos en cuanto a peso de la pupa, tanto en machos como en hembras. Los pesos obtenidos oscilan entre 8.06 – 8.39 mg. en machos y entre 9.01 – 9.23 mg. en hembras.



Gráfica 5.4 Peso de la pupa (mg) de *Ceratitiss capitata* (Wied.) obtenido con diferentes concentraciones de malatión, en dieta larval mix. Bioensayo 4.7.05.

En la tabla 5.4 puede observarse que no hay diferencia significativa entre tratamientos, tanto en machos como en hembras.

Tabla 5.4 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE PESO PUPA DE *Ceratitidis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 4.7.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
Peso machos	8.39(A)	8.06 (A)	8.17(A)	8.29 (A)	8.30 (A)	8.31 (A)
Peso hembras	9.23(A)	9.01 (A)	9.07(A)	9.02 (A)	9.26 (A)	9.02 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

Discusión

Al aplicar dosis menores de 2 ppm de malatión en ambas dietas, los resultados obtenidos muestran un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida, tanto en machos como en hembras, en cuanto al peso de la pupa. Lo que indica que a dosis bajas del insecticida, el peso de la pupa no se ve disminuido pero si se incrementa; debido a que al mermar la población, como consecuencia directa del incremento de las dosis de malatión, las larvas sobrevivientes se desarrollan en condiciones más favorables (mayor cantidad de alimento disponible, más oxígeno, menos desechos orgánicos provenientes del metabolismo) y esto, lógicamente, se refleja en un incremento del peso. Este incremento aunque con ligeras diferencias, siempre fue mayor en las hembras, debido a que éstas son más lentas en su desarrollo que los machos y, en consecuencia, permanecen más tiempo en las bandejas de cría consumiendo alimento. Es probable que esta característica les confiera menor susceptibilidad a efectos crónicos del malatión.

Al impregnar la dieta mix con 10 ppm de malatión, no obstante la dilución de las concentraciones, a la mitad de su concentración teórica inicial, el insecticida causa una ligera disminución en el peso total de las pupas, tanto en machos como en hembras.

Como se recordará, al aplicar la dosis 100 ppm en dieta mix, el ingrediente activo tiene un efecto casi 100% letal en larvas de la cepa "Viena 7-Tolimán 99-TSL" de *Ceratitidis capitata* (Wied.), y en consecuencia, el mínimo volumen de pupas obtenido se pesó obteniendo un único dato de peso que corresponde a machos. Esto probablemente tiene su explicación en el hecho de que, la mayor cantidad de pupas cafés (machos) se obtienen en su mayoría, en las primeras dos colectas, mientras que las hembras se obtienen en su mayoría en las cuartas y quintas colectas, debido a que, fisiológicamente, las hembras son más lentas en su desarrollo que los machos. Esto probablemente, sea una consecuencia de que el gen del color de pupa y el gen letalmente sensible a la temperatura se encuentran juntos en el brazo derecho del cromosoma 5 de la cepa "TSL" de *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Comunicación personal con el Dr. Pedro Rendón, Desarrollo Métodos, Comisión

MOSCAMED, 2005). Estos genes otorgan a los machos un color de pupa café y resistencia a la temperatura, mientras que a las hembras les confiere un color de pupa blanco y sensibilidad térmica, que llega a ser letal a los 34°C. Pero además, como el efecto tóxico del insecticida se incrementa con el tiempo de exposición al mismo (ver gráfica 1.3A, Pág. 31), esto significa que, al permanecer más tiempo las hembras en la bandeja de cría se obtiene un efecto aditivo del ingrediente activo, y como consecuencia del mismo, una respuesta de sensibilidad al efecto agudo de malatión, mayor que la de los machos.

En general, los pesos obtenidos en este trabajo presentan valores altos si se comparan con los obtenidos en las colonias del laboratorio “El Pino”. Como se anotó en la introducción a esta variable, el Manual Internacional de Producción de Mosca del Mediterráneo 2003 (15), considera aceptable un peso de 7.5 mg; pues las pupas con pesos altos se reflejan posteriormente, en adultos con menor habilidad de vuelo y esto a su vez, se traduce en desventaja competitiva frente a sus congéneres silvestres.

6. Emergencia

El porcentaje de insectos adultos totalmente emergidos²³ es un parámetro que se relaciona con la proporción de machos y hembras obtenidos en el proceso de producción a gran escala, porque del volumen total de pupa blanca obtenida (hembras) y del volumen total de pupa café obtenida (machos), suelen emerger una proporción de adultos recombinantes. Es decir, que no todas las pupas blancas son hembras y no todas las pupas café son machos.

Este parámetro se utiliza para medir la uniformidad de edad entre un mismo lote de pupa. Una desviación significativa en la proporción de machos y hembras, puede ser indicativo de problemas en la crianza. Estos problemas pueden ser genéticos, en la naturaleza, o consecuencia del manejo en el procedimiento de producción. El monitoreo constante de la producción de machos y hembras es especialmente crítico, cuando se trabaja con la cepa de sexado genético (“TSL”) porque la razón de machos y hembras cambia con la recombinación genética (Manual Internacional de Producción de Mosca del Mediterráneo, 2003) (15).

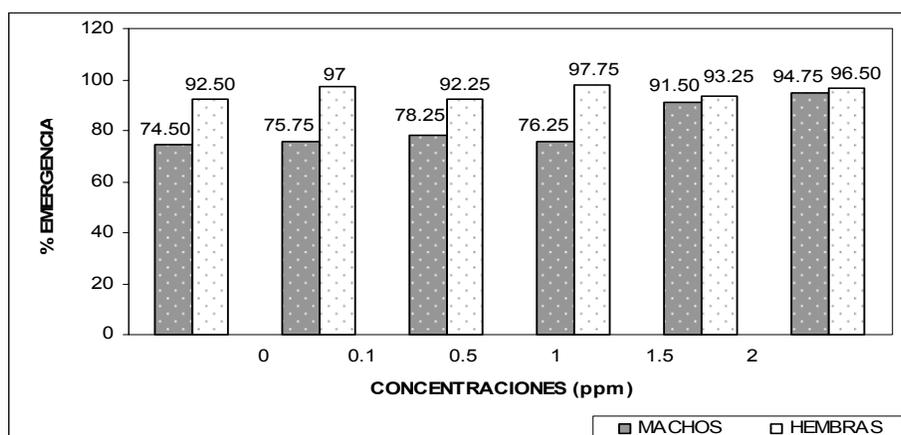
El objetivo de esta prueba es obtener un estimado del porcentaje de la pupa que producirá adultos voladores. De acuerdo al Manual Internacional de Producción de Mosca del Mediterráneo, 2003, se considera aceptable, para la cepa de sexado genético (“TSL”) de

²³ En la prueba de emergencia se reportan, normalmente, las moscas parcialmente emergidas y las deformes.

Ceratitis capitata (Wied.), un 70% de emergencia (Ibid ítem). A continuación se presentan los resultados obtenidos en este trabajo.

6.1 Bioensayo 2.5.05

En la gráfica 6.1 puede observarse en machos, una tendencia general al incremento del porcentaje de emergencia en relación directa a la concentración. Los porcentajes de emergencia oscilan entre 74.50 – 94.75%. En hembras, se observa un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida. Los porcentajes de emergencia oscilan entre 92.25 – 97.75%.



Gráfica 6.1 Emergencia de adultos de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval de olote de maíz impregnada con diferentes concentraciones de malatión. Bioensayo 2.5.05.

En la tabla 6.1 puede observarse que no hay diferencia significativa entre tratamientos en la emergencia de hembras. En machos hay diferencia significativa entre el testigo y el tratamiento 2 ppm, que presenta 20.25% más de emergencia.

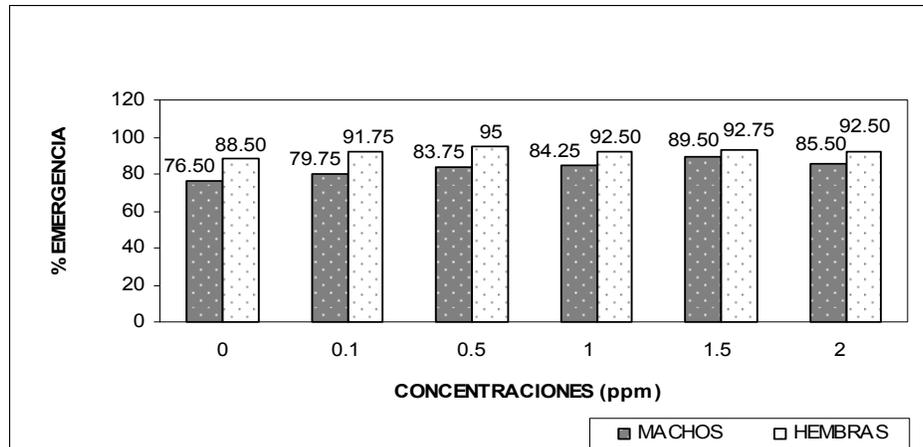
Tabla 6.1 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE EMERGENCIA ADULTOS DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 2.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
EMERGENCIA MACHOS	74,5 (B)	75,75 (AB)	78,25 (AB)	76,25 (AB)	91,50 (AB)	94,75 (A)
EMERGENCIA HEMBRAS	92,50 (A)	97 (A)	97,25 (A)	97,75 (A)	93,25 (A)	96,5 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

6.2 Bioensayo 23.5.05

La gráfica 6.2 muestra tendencia general al incremento del porcentaje de emergencia de machos conforme se incrementan las concentraciones, salvo un leve descenso de 4% en la emergencia observada en la dosis 2 ppm. Los porcentajes de emergencia oscilan entre 76.50 – 89.50%. En hembras hay un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia definida. Los porcentajes de emergencia oscilan entre 88.50 – 95%.



Gráfica 6.2 Emergencia de adultos de *Ceratitits capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval de olote de maíz impregnada con diferentes concentraciones de malatión. Bioensayo 23.5.05.

La tabla 6.2 indica que, en la emergencia de machos hay diferencia significativa entre el testigo y la dosis 0.1 ppm con relación al tratamiento 1.5 ppm. En hembras no hay diferencia significativa entre tratamientos.

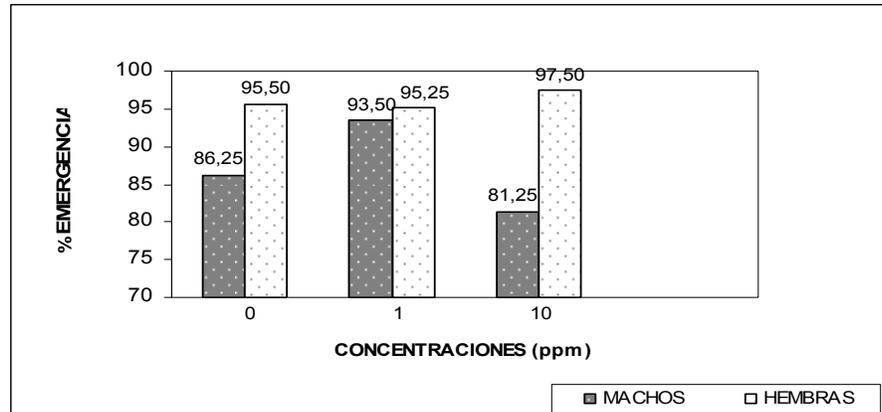
Tabla 6.2 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE EMERGENCIA ADULTOS DE *Ceratitits capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo23.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
EMERGENCIA MACHOS	76,5(B)	79.75 (B)	83.75 (AB)	84.25 (AB)	89.50 (A)	85.5 (AB)
EMERGENCIA HEMBRAS	88.50 (A)	91.75 (A)	95 (A)	92.50 (A)	92.75 (A)	92.50 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

6.3 Bioensayo 13.6.05

En la gráfica 6.3 puede observarse que, cuando se aplican dosis menores de 10 ppm de malatión en dieta mix, no se manifiesta una tendencia específica en cuanto al porcentaje de emergencia de machos. No obstante, se observa un incremento de 7.25%, con relación al testigo, en la dosis 1 ppm, y luego, un descenso de 12.25% en la dosis 10 ppm, con relación al tratamiento inmediato anterior (1ppm). En hembras tampoco se manifiesta una tendencia definida, observándose un comportamiento similar entre tratamientos. En la dosis 100 ppm, debido a que se obtuvo una mortalidad larval de casi 100%, no se registran datos.



Gráfica 6.3 Emergencia de adultos de *Ceratitís capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval mix impregnada con diferentes concentraciones de malatión. Bioensayo 13.6.05.

En la tabla 6.3 puede observarse que, en la emergencia de machos, hay diferencia significativa entre los tratamientos 1 y 10 ppm. En hembras no hay diferencia significativa entre éstos tratamientos. En la dosis 100 ppm no se registran datos.

Tabla 6.3 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE EMERGENCIA DE ADULTOS DE *Ceratitís capitata* (Wied.) Bioensayo 13.6.05

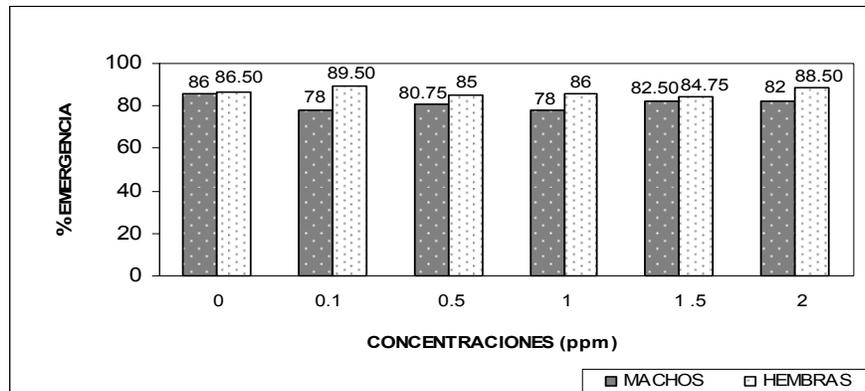
VARIABLE	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
EMERGENCIA MACHOS	86.25 (AB)	93.50 (A)	81.25 (B)	SD
EMERGENCIA HEMBRAS	95.50 (A)	95.25 (A)	97.50 (A)	SD

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

*SD: sin dato.

6.4 Bioensayo 4.7.05

En la gráfica 6.4 puede observarse que, cuando se aplican dosis menores de 2 ppm de malatión en dieta mix, no se manifiesta una tendencia específica en cuanto al porcentaje de emergencia tanto en machos como en hembras; observándose un comportamiento similar entre tratamientos. Los porcentajes de emergencia obtenidos oscilan entre 78 – 86% en machos y entre 84.75 – 89.50% en hembras.



Gráfica 6.4 Emergencia de adultos de *Ceratitits capitata* (Wied.) alimentados con dietalarval mix impregnada con malatión. Bioensayo 4.7.05.

La tabla 6.4 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos, tanto en machos como en hembras.

Tabla 6.4 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE EMERGENCIA ADULTOS DE *Ceratitits capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 4.7.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
EMERGENCIA MACHOS	86 (A)	78 (A)	80.75 (A)	78 (A)	82.50 (A)	82 (A)
EMERGENCIA HEMBRAS	86.50 (A)	89.50 (A)	85 (A)	86 (A)	84.75 (A)	88.50 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que, cuando se aplica malatión a la dieta de olote de maíz en dosis menores de 2 ppm, hay una tendencia general en machos, al incremento del porcentaje de emergencia en proporción directa a la concentración; mientras que en las hembras se observa un comportamiento similar entre tratamientos sin tendencia específica. Los porcentajes obtenidos en machos oscilan entre 75 – 95% y en hembras, entre 88 – 98%.

Cuando se aplicó malatión, en dieta mix, en dosis menores de 10 ppm, en general, los resultados no muestran una tendencia específica en cuanto al porcentaje de emergencia, tanto en machos como en hembras; observándose un comportamiento similar entre tratamientos, aunque más homogéneo en hembras que en machos. Los porcentajes de emergencia obtenidos oscilan entre 78 – 94% en machos y entre 85 – 98% en hembras.

Cuando se aplicó el producto en dieta mix a 100 ppm, la respuesta observada fue una mortalidad larval de casi 100% y, en consecuencia, no fue factible determinar ninguno de los parámetros de calidad del insecto, excepto el peso y, únicamente de machos.

La respuesta obtenida, al aplicar malatión a ambas dietas, en dosis menores de 2 ppm, indica tendencia general al estímulo de la emergencia de machos, en relación directa con la concentración. En las hembras se observaron porcentajes de emergencia más altos que en los machos. Esto podría atribuirse a que, fisiológicamente, las hembras son más lentas en su desarrollo que los machos, condición que favorece que las hembras permanezcan más tiempo en las bandejas de cría consumiendo más alimento que los machos, lo que se traduce en porcentajes de emergencia más altos. El efecto estimulante de la emergencia observado en machos, puede tener su explicación en la manifestación de un fenómeno, denominado en toxicología, **hormesis** (del griego hormain, que significa “estimular”), “término que designa la forma bifásica en que ciertos agentes químicos y físicos afectan a los seres vivos: dosis bajas provocan efectos favorables, dosis altas provocan efectos adversos. Cada agente tóxico produce un efecto específico en los organismos; cuanto mayor es la dosis, mayor es el efecto. Esta afirmación es válida para sustancias de origen natural (arsénico, plomo, mercurio), sintético (plaguicidas, conservantes de alimentos) y agentes físicos ((rayos X, radiactividad). Hasta las sustancias indispensables para la vida (vitaminas, azúcares, oxígeno) son tóxicas a partir de ciertas dosis...” (Calabrese, EJ & Baldwin, LA, 1988; citados por Alzogaray, RA, 2004) (24).

“La investigación toxicológica se basa principalmente en dos modelos de dosis respuesta: el de umbral y el lineal. El modelo de umbral se aplica a sustancias no cancerígenas y permite asignar un umbral a cada agente tóxico. Las dosis superiores al umbral producen efectos adversos, las dosis inferiores no producen efectos. Esto, a su vez, permite definir Niveles de Efectos Adversos no Observados (conocidos internacionalmente por sus siglas en inglés **NOAELs**. El **NOAEL** es la dosis máxima a la que puede estar expuesto un organismo sin que se observen efectos adversos...” (Alzogaray, RA, 2004) (25).

De acuerdo al Manual Internacional de Producción de Mosca del Mediterráneo, 2003 (15), el porcentaje de emergencia aceptable en la crianza masiva de *Ceratitits capitata* para la cepa de sexado genético²⁴ (“TSL”) es de 75%. Si se compara este valor con los promedios de los porcentajes de emergencia obtenidos en este trabajo, éstos últimos fueron superiores tanto en machos como en hembras, en todos los casos observados.

7. Habilidad de vuelo

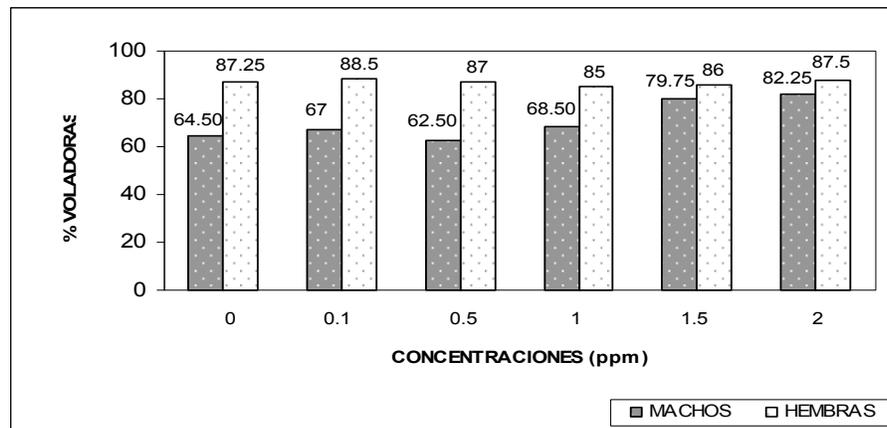
El objetivo fundamental de esta prueba es obtener un estimado del porcentaje de la pupa que producirá adultos con una básica capacidad para volar. Al igual que la prueba de emergencia, ésta se efectúa pre y post irradiación. De acuerdo al Manual Internacional de Producción de Mosca del Mediterráneo, 2003 (15), se considera aceptable, para la cepa de

²⁴ Se refiere a la pupa de la cepa “TSL” que, luego de ser obtenida en el proceso de producción, se somete a las pruebas de control de calidad, antes y después de la irradiación, por medio de la cual se le esteriliza para ser liberada, después, en el campo.

sexado genético ("TSL") de *Ceratitis capitata* (Wied.), un 60% de voladoras. A continuación se presentan los resultados obtenidos en el presente trabajo.

7.1 Bioensayo 2.5.05

En la gráfica 7.1 puede observarse que no hay una tendencia específica en la habilidad de vuelo de las hembras; manifestándose un comportamiento similar entre tratamientos. En machos, hay una tendencia general al incremento de la habilidad de vuelo en relación directa a la concentración, excepto en la dosis 0.5 ppm, donde se observa un descenso del 4.5% con relación al tratamiento 0.1 ppm. Es decir, que la tendencia manifestada es similar a la observada, en este mismo bioensayo, en el caso de la emergencia de adultos de *Ceratitis capitata* (Wied.).



Gráfica 7.1 Porcentaje de voladoras de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentadas con dieta larval de olote de maíz impregnada con malatión. Bioensayo 2.5.05.

La tabla 7.1 indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos en cuanto a la habilidad de vuelo de las hembras. En machos hay tres grupos: grupo 1 (2 ppm), grupo 2 (0.5 ppm) y grupo 3 (los demás tratamientos). No obstante, hay diferencia significativa, únicamente, entre los tratamientos 0.5 y 2 ppm y entre 0.5 y 1.5 ppm, lo cual indica que los insectos tratados con 2 ppm presentan mayor habilidad de vuelo comparados con los del testigo y la dosis 0.5 ppm. Esto, probablemente, sea una respuesta de supervivencia del insecto al efecto tóxico de malatión (Comunicación personal con el Ing. Amílcar Gutiérrez, Desarrollo Métodos, Comisión MOSCAMED, 2005).

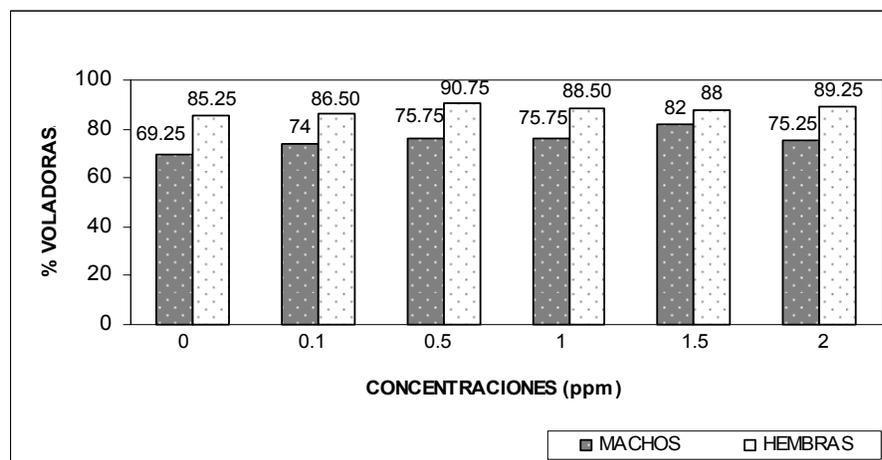
Tabla 7.1 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE HABILIDAD DE VUELO DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 2.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
VOLADORES MACHOS	64.5 (BC)	67 (ABC)	62.5 (C)	68.5 (ABC)	79.75 (AB)	82.25 (A)
VOLADORAS HEMBRAS	87.25 (A)	88.5 (A)	87 (A)	85 (A)	86 (A)	87.5 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

7.2 Bioensayo 23.5.05

La gráfica 7.2 muestra que no hay una tendencia específica en cuanto a la habilidad de vuelo de las hembras; manifestándose un comportamiento similar entre tratamientos. En machos, hay una tendencia general al incremento de la habilidad de vuelo en relación directa con la concentración, a excepción de la dosis 2 ppm, que presenta un descenso de 6.75% con relación al tratamiento 1.5 ppm. El comportamiento observado, en este caso, es muy similar al observado en cuanto al porcentaje de emergencia de adultos, en este mismo bioensayo.



Gráfica 7.2 Porcentaje de voladoras de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentadas con dieta larval de olote de maíz impregnada con malatión. Bioensayo 23.5.05

La tabla 7.2 indica que hay diferencia significativa en la habilidad de vuelo de los machos entre el testigo y el tratamiento 1.5 ppm, que presenta 12.75% más de habilidad de vuelo que el testigo. En hembras, no hay diferencia significativa entre tratamientos.

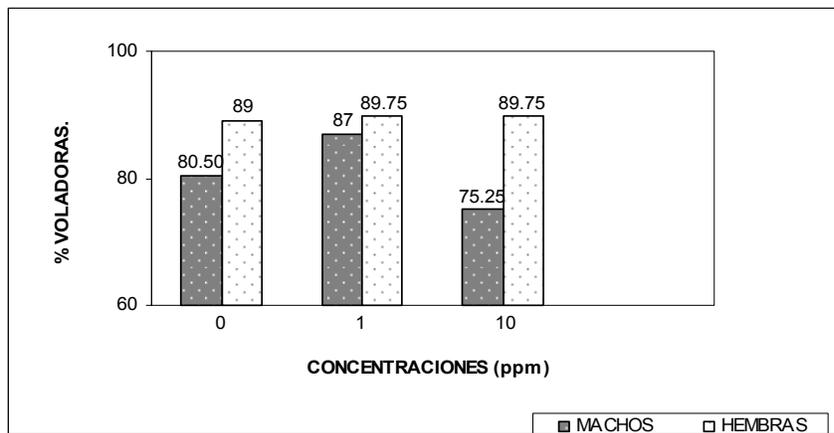
Tabla 7.2 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE HABILIDAD DE VUELO DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 23.5.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
VOLADORES MACHOS	69.25 (B)	74 (AB)	75.75 (AB)	75.75 (AB)	82 (A)	75.25 (AB)
VOLADORAS HEMBRAS	85.25 (A)	86.50 (A)	90.75 (A)	88.50 (A)	88 (A)	89.25 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

7.3 Bioensayo 13.6.05

En la gráfica 7.3 puede observarse que, cuando se aplicaron dosis menores de 10 ppm de malatión en dieta mix, no se manifiesta una tendencia específica, en cuanto al porcentaje de voladoras; tanto en machos como en hembras, manifestándose un comportamiento similar entre tratamientos. Cuando se aplicó la dosis 100 ppm en dieta mix, no hay sobrevivientes para evaluar este parámetro. En general, el comportamiento manifestado es similar al observado, en este mismo bioensayo, en cuanto a la emergencia.



Gráfica 7.3 Porcentaje de voladoras de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentadas con dieta larval mix impregnada con malatión. Bioensayo 13.6.05.

En la tabla 7.3 puede observarse que no hay diferencia significativa entre tratamientos, tanto en machos como en hembras. En la dosis 100 ppm no se registran datos.

Tabla 7.3 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE HABILIDAD DE VUELO DE *Ceratitis capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 13.6.05

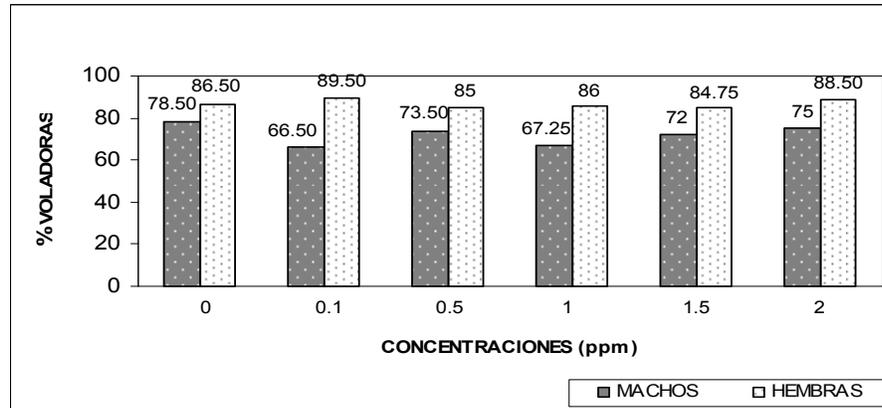
VARIABLE	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
VOLADORES MACHOS	80.50 (A)	87 (A)	75.25 (A)	SD
VOLADORAS HEMBRAS	89 (A)	89.75 (A)	89.75 (A)	SD

*Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

*SD: Sin dato

7.4 Bioensayo 4.7.05

En la gráfica 7.4 se observa un comportamiento similar entre tratamientos, tanto en machos como en hembras. No obstante, puede apreciarse un comportamiento más homogéneo en las hembras que en los machos. Los porcentajes de insectos voladores oscilan entre 66.50 – 78.50% en machos y entre 84.75 – 89.50% en hembras. En general, la tendencia manifestada es similar a la observada, en este mismo bioensayo, en cuanto a la emergencia.



Gráfica 7.4 Porcentaje de voladoras de *Ceratitits capitata* (Wied.) alimentadas con dieta larval mix impregnada con malatión. Bioensayo 4.7.05.

En la tabla 7.4 puede observarse que hay diferencia significativa, en la habilidad de vuelo de los machos, entre el testigo y la dosis 0.1 ppm. En hembras, no hay diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla 7.4 COMPARACION DE MEDIAS DE LA VARIABLE HABILIDAD DE VUELO DE *Ceratitits capitata* (Wied.) Prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) Bioensayo 4.7.05

VARIABLE	0	0.1	0.5	1	1.5	2
VOLADORES MACHOS	78.50 (A)	66.50 (B)	73.50 (AB)	67.25 (AB)	72 (AB)	75 (AB)
VOLADORAS HEMBRAS	86.50 (A)	89.50 (A)	85 (A)	86 (A)	84.75 (A)	88.50 (A)

* Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

Discusión

Los resultados obtenidos, en ambas dietas, con dosis menores de 2 ppm, son similares. En general no se manifiesta una tendencia definida; tanto en machos como en hembras, se observa un comportamiento similar entre tratamientos que se sostiene hasta la dosis 10 ppm en dieta mix. No obstante, se observa mayor variabilidad en machos que en hembras.

En dieta de olote de maíz, los porcentajes de machos voladores oscilan entre 64 – 82% y los de hembras, entre 84 – 91%. En dieta mix, los porcentajes de machos voladores oscilan entre 69 – 88% y los de hembras, entre 65 – 89%. Al igual que en la emergencia, a la dosis de 100 ppm, no hubo sobrevivientes para evaluar la habilidad de vuelo.

Se puede concluir que la habilidad de vuelo no se ve afectada por concentraciones menores de 2 ppm en dieta de olote de maíz y hasta 10 ppm en dieta mix.

8. Longevidad

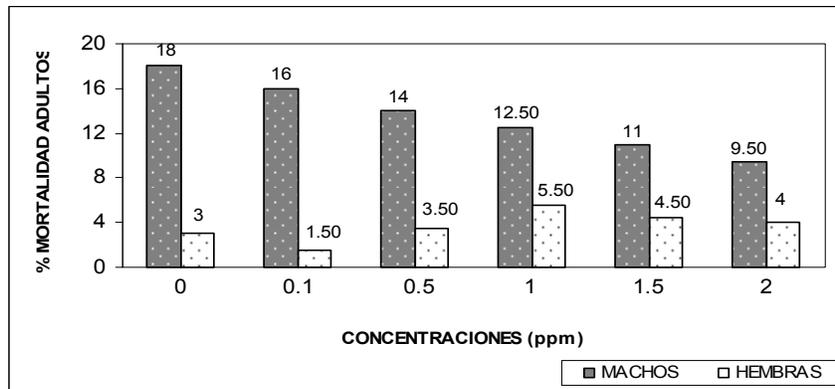
La prueba de longevidad se realiza con el objetivo de obtener un dato cuantitativo de la reserva de nutrientes disponibles al tiempo de la emergencia. Se lleva a cabo bajo condiciones de estrés (sin agua, sin alimento y en oscuridad total), porque proporciona una medida de la calidad de vuelo de los insectos adultos.

Este parámetro es un indicador de todos los elementos asociados con el proceso de crianza larval, contenido nutricional de la dieta, control ambiental y otros factores que pueden afectar la habilidad del insecto para guardar reservas de grasa, a través de los estadios de larva y pupa y sostener la longevidad del adulto volador. De acuerdo al Manual Internacional de Control de Calidad, 2003 (15), para la cepa "TSL" de *Ceratitis capitata* (Wied.), se requiere una supervivencia mínima del 50% de la población sometida a ensayo y se reporta, normalmente, a las 48 horas de iniciada la prueba.

La prueba requiere de 200 insectos de cada sexo. De modo que en este trabajo, se hubiera necesitado esta cantidad de insectos por tratamiento y por réplica trabajada; pero debido a la poca cantidad de pupa obtenida en cada tratamiento, fue necesario trabajar con una muestra compuesta del material obtenido de la segunda a la quinta colecta, considerando las cuatro réplicas de cada tratamiento. En consecuencia, no fue posible obtener el número de insectos requeridos para trabajar con réplicas, como en las variables anteriores, por lo que, los resultados obtenidos son una aproximación que habrá que confirmar en pruebas posteriores. Por esta razón, no pudieron ser analizados estadísticamente y se presentan en las gráficas siguientes.

8.1 Bioensayo 2.5.05

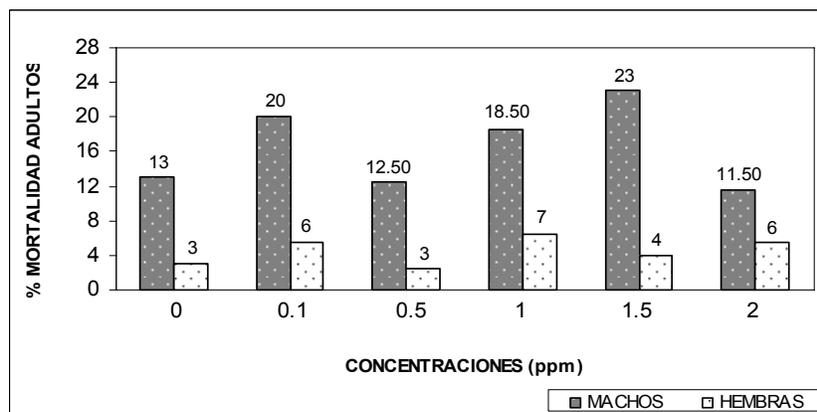
En la gráfica 8.1 puede observarse tendencia al descenso de la mortalidad de machos adultos en relación directa a la concentración. Los porcentajes de mortalidad de machos oscilan entre 9.50 – 18 % y, por lo tanto, el porcentaje de supervivencia en machos oscila entre 82 – 90%. En hembras no hay una tendencia definida, manifestándose un comportamiento similar entre tratamientos, con valores de mortalidad entre 1.50 – 5.50% y, en consecuencia, una supervivencia que oscila entre 94 – 98%. Es decir, que la capacidad de resistencia (reserva nutricional) del insecto volador, se ve estimulada por las diferentes concentraciones de malatión aplicadas a la dieta. Obsérvese que los porcentajes de mortalidad son más altos en machos que en hembras.



Gráfica 8.1 Longevidad de adultos de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval de olote de maíz impregnada con malatión. Bioensayo 2.5.05.

8.2 Bioensayo 23.5.05

En la gráfica 8.2 no se manifiesta una tendencia específica en cuanto a la mortalidad de insectos adultos; tanto en machos como en hembras, se observa un comportamiento similar entre tratamientos. Los porcentajes de mortalidad de machos oscilan entre 11.50 – 23% y, por lo tanto, los porcentajes de supervivencia en machos oscilan entre 77 – 88%; mientras que en hembras, los porcentajes de mortalidad oscilan entre 2.50 – 6.50% y, en consecuencia, los porcentajes de supervivencia oscilan entre 93 – 97%. Al igual que en el bioensayo anterior, los porcentajes de mortalidad de machos son más altos que los de hembras. En general, hay consistencia en los niveles de mortalidad, tanto de machos como de hembras, para ambas repeticiones en el tiempo (2.5.05 y 23.5.05).

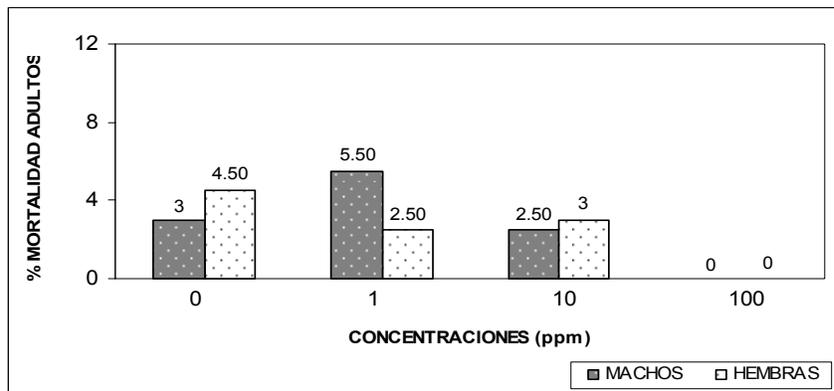


Gráfica 8.2 Longevidad de adultos de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval de olote de maíz impregnada con malatión. Bioensayo 23.5.05.

8.3 Bioensayo 13.6.05

En la gráfica 8.3 puede observarse que, cuando el malatión se aplica en dieta mix, en dosis de 1 y 10 ppm se observa un comportamiento similar entre tratamientos, sin tendencia específica, tanto en machos como en hembras. Al igual que ocurrió con las dos variables

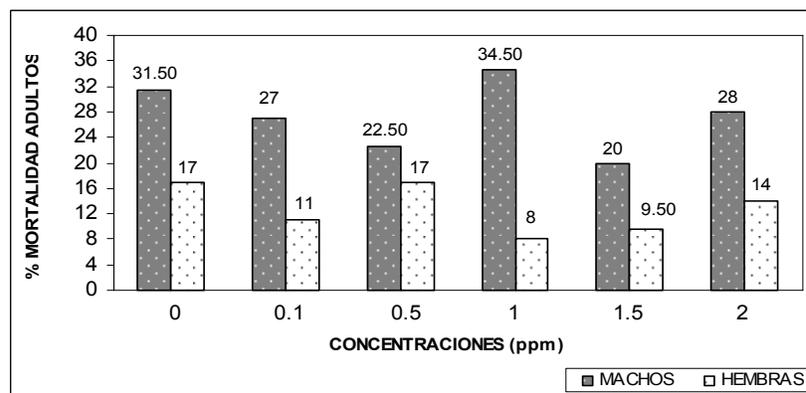
anteriores, cuando el malatión se aplica en dosis de 100 ppm, no hay sobrevivientes para evaluar este parámetro.



Gráfica 8.3 Longevidad de adultos de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval mix impregnada con malatión. Bioensayo 13.6.05.

8.4 Bioensayo 4.7.05

En la gráfica 8.4 puede observarse que, cuando el malatión se aplica en dieta mix, en dosis menores de 2 ppm, no se manifiesta una tendencia específica, en cuanto a porcentaje de mortalidad de adultos; tanto en machos como en hembras se observa un comportamiento similar entre tratamientos. Los porcentajes de mortalidad, en machos, oscilan entre 20 – 34.50% y, por lo tanto, los porcentajes de supervivencia oscilan entre 65 - 80%; mientras que, en hembras, los porcentajes de mortalidad oscilan entre 8 – 17% y, en consecuencia, se observa un porcentaje de supervivencia que oscila entre 83 – 92%. Una vez más, la mortalidad de machos es mayor que la de hembras.



Gráfica 8.4 Longevidad de adultos de *Ceratitis capitata* (Wied.) alimentados con dieta larval mix impregnada con malatión. Bioensayo 4.7.05.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que, cuando el malatión se aplica en dieta de olote de maíz, en dosis menores de 2 ppm, se manifiestan dos tendencias diferentes: En la primera prueba, se observa tendencia al incremento de la longevidad de machos adultos en relación directa con la concentración; en este caso, hay una relación directamente proporcional entre longevidad y concentración. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que los insectos sometidos a esta prueba, presentaban mayor peso, a consecuencia de la poca cantidad de sobrevivientes obtenidos. En la segunda prueba, no se manifiesta una tendencia definida; tanto en machos como en hembras, se observa un comportamiento similar entre tratamientos.

Cuando el malatión se aplica en dieta mix, en dosis de 1 y 10 ppm, no se manifiesta una tendencia definida en cuanto a longevidad; tanto en machos como en hembras se observa un comportamiento similar entre tratamientos. Lo mismo sucede cuando el ingrediente activo se aplica en dieta mix, en dosis menores de 2 ppm.

Cuando el malatión se aplica en dieta mix, en dosis de 100 ppm, no hay sobrevivientes para evaluar este parámetro. La dosis del insecticida que podría afectar significativamente la mortalidad del insecto adulto se encuentra entre 10 – 100 ppm, en dieta mix y, por deducción, entre 5 – 50 ppm, en dieta de olote de maíz.

Esto significa que las dosis menores de 5 ppm (en dieta de olote de maíz) y menores de 10 ppm (en dieta mix) no tienen efectos crónicos que se reflejen en los parámetros de calidad del insecto (peso, emergencia, habilidad de vuelo y longevidad). No obstante, la evidencia en cuanto a porcentajes de mortalidad más elevados en machos que en hembras, sugiere que éstos son más susceptibles a efectos crónicos de malatión. Así mismo, el escaso volumen de machos recuperados, en contraste con el 100% de mortalidad de hembras obtenido, al aplicar la dosis 100 ppm, sugiere que las hembras son más susceptibles al efecto agudo del ingrediente activo.

Como se recordará, las hembras obtuvieron pesos más altos que los machos, por lo que es probable que exista una relación directa entre peso (reserva nutricional) y longevidad (calidad de vuelo del insecto adulto).

9. CONCLUSIONES

- ✚ Cuando se aplica malatión en dosis de 5 y 10 ppm, en dieta de olote de maíz, existe una tendencia al incremento de la mortalidad larval en el tiempo y en proporción directa a la concentración. Pero cuando se aplica malatión en la dieta mix, a las mismas dosis, hay tendencia general al descenso de la mortalidad larval en el tiempo y a medida que se incrementan las concentraciones, aunque las diferencias observadas no son significativas.
- ✚ Los resultados del análisis "Probit" indican que, en dieta de olote de maíz, la dosis letal necesaria para eliminar el 1% de la población larval (DL₁) oscila entre 0.035 – 0.069 ppm. Por lo que **el límite máximo permisible de residuos de malatión en el olote, sería recomendable que estuviese por debajo de este rango; ya que, considerando que la producción actual del Laboratorio "El Pino" asciende a 2,000.000.000 (dos mil millones) de moscas semanales, el 1% de mortalidad larval, representa 20.000,000 (veinte millones) de insectos de pérdida semanal. En la dieta mix, la DL₁ es 0.14 ppm, aproximadamente el doble del límite superior del intervalo de la DL₁ obtenido en dieta de olote de maíz.**
- ✚ La DL₅₀ obtenida en dieta de olote de maíz fue 6.8 ppm y 16.7 ppm en dieta mix; por lo que puede concluirse que se requiere, aproximadamente, el 50% más de ingrediente activo en dieta mix para obtener la misma mortalidad larval.
- ✚ Cuando se aplicó el producto en dieta mix, a 100 ppm, la respuesta observada fue una mortalidad larval de casi 100%.
- ✚ Los resultados obtenidos, al impregnar dieta de olote de maíz con malatión muestran que, de la población total de huevos sembrados (200-300), un porcentaje comprendido entre 84 - 94% toleraron una concentración de 1 ppm, entre 85 - 93% toleraron 5 ppm y entre 68 - 83% toleraron 10 ppm. Cuando se impregnó la dieta mix con malatión, del total de huevos sembrados (200), el 96% toleraron 1 ppm, el 100% toleraron 10 ppm y el 92% toleraron 100 ppm.
- ✚ Cuando se aplica malatión en dosis menores de 2 ppm a la dieta de olote de maíz, no hay diferencia significativa en cuanto a porcentaje de pupa blanca obtenido. Lo mismo ocurre, en dieta mix, pero en este caso, las diferencias de porcentaje de pupa blanca entre tratamientos, son menores.

- ✚ El comportamiento observado, en ambas dietas, al aplicar malatión en dosis menores de 2 ppm, indica que, a esas concentraciones del insecticida, el peso de la pupa no se ve afectado. A la dosis de 10 ppm, en dieta mix, el malatión causa una ligera disminución en el peso de la pupa, tanto en machos como en hembras.

- ✚ Tanto en la emergencia, como en la habilidad de vuelo, se observa en machos, un leve estímulo de dichas variables, al incrementarse gradualmente las dosis del insecticida; no obstante, no hubo diferencias significativas. En hembras no se observó diferencia significativa entre tratamientos. Por lo que puede concluirse que las dosis menores de 5 ppm (en dieta de olote de maíz) y menores de 10 ppm (en dieta mix) de malatión, no tienen efectos crónicos que se reflejen en la emergencia y en la habilidad de vuelo.

- ✚ En general, bajo las condiciones de este ensayo, la longevidad no se vio afectada por las diferentes concentraciones del insecticida. El porcentaje de mortalidad de hembras, alimentadas con cualquiera de las dietas larvales, siempre fue menor que el de machos.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda, en base a los resultados obtenidos en este trabajo, un límite de aceptación de residuos de malatión, en los ingredientes de dieta (especialmente el olote de maíz), por debajo de 0.03 ppm. Se sugiere considerar la tabla siguiente en donde se presentan las pérdidas estimadas de pupa y su valor anual en US \$, a partir del valor DL1 (Probit).

CONCENTRACIONES DE MALATION, DOSIS LETALES Y PERDIDA EN CANTIDAD DE INSECTOS Y EN VALOR

DL	CONCENTRACION (ppm)	PERDIDA PUPA/ SEMANA	COSTO APROXIMADO DE US \$/AÑO ²⁶
1	0.03	20.000,000	364,000.00
0.1	0.003	2.000,000	36,400.00
0.01	0.0003	200,000	3,640.00

²⁶ Costo estimado de un millón de pupa en el Laboratorio “El Pino”, Guatemala = USA \$350.00

11. REFERENCIAS

1. Liquido, NJ., LA. Shimoda & Cunnigham, R. 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly: an annotated world review. Misc. Public. Ent. Soc. Am. P.1-52. In García, EA. 1998. Evaluación de la Competitividad Sexual entre Dos Cepas de Mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wied.). Villa Canales, Guatemala. Tesis Lic. Ing. Agr. URL. p. 1-8.
2. García, EA. 1998. Evaluación de la Competitividad Sexual entre Dos Cepas de Mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wied.). Villa Canales, Guatemala. Tesis Lic. Ing. Agr. p. 1-8.
3. Villaseñor et al. 2000. Current Progress in the Med fly Program Mexico-Guatemala. In Area Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests, ed. KH. Tan. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang. 2000. p. 361-365.
4. Metcalf, RL. and A. Kelman. 1980. Plant protection, pp. 313 – 344. In Klassen, W. 2000. Tropical Research and Education Center, IFAS, University of Florida Homestead, Fl. 330131, USA. In Area Wide Control of Fruit and Other Insect Pests, Ed. K H. Tan. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang, 2000. p.22-35.
5. Klassen, W. 2000. Tropical Research and Education Center, IFAS, University of Florida Homestead, Fl. 330131, USA. In Area Wide Control of Fruit and Other Insect Pests, Ed. K H. Tan. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang, 2000. p.22-35).
6. López, R. 1979. Folia Entomológica Mexicana. XIII Congreso Nacional de Entomología. México, DF. 42: p. 5-58.
7. León, R. 1977. Evaluaciones de insecticidas contra larvas de *Heliothis virescens* en laboratorio. CIANO, INIA, SARH. México.
8. Higgins, R. 1987. Management of Stored Grain Insect. Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. Part Facts of Life, Kansas State University. USA.
9. Koren, B., A. Yawetz & S. Perry. 1984. Biochemical Properties Characterizing The Development of Tolerance to Malathion in *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 77: 864-867.
10. Mota, D., A. Lagunes y J. Concepción. 1990. Estudios toxicológicos en mosca de fruta y Susceptibilidad a insecticidas de dos colonias de laboratorio de mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). En: Memorias IV Curso Internacional sobre la mosca de la fruta. Módulo IV. Metapa de Domínguez, Chiapas, México, p. 19-21.
11. Wood, RJ. 1987. Laboratory studies on insecticides resistance, alcohol tolerance and sex ratio distortion by meiotic drive in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.) Department of Environmental Biology. Manchester, United Kingdom. **Genética 72**: p. 173-188.
12. González, E., J.Deibis y Casares. 1997. Susceptibilidad de Poblaciones Adultas, Machos y Hembras, de *Anastrepha striata* Schiner al Insecticida Malatión, Usando Técnicas de Aplicaciones Tópicas y Consumo de Cebos Tóxicos. Aragua, Venezuela: Bol. Entomol. Venez. N.S.12 (I): p. 51-57.
13. Arana, BF. 1977. Evaluación de atrayentes alimenticios para moscas de la fruta con la trampa brillante en dos localidades del Departamento de Suchitepéquez, Guatemala. Tesis Lic. Ing. Agr. URL. p. 6-23.

14. Manual de Procedimientos para la Producción de Machos Térmicos. s.f. Planta de Producción MOSCAMED, "El Pino". Barberena, Santa Rosa, Guatemala.
15. Product Quality Control and Shipping Procedures for Sterile Mass-Reared Tephritid Fruit Flies. Version 5.0 2003. IAEA, Viena, Austria. p.t. 3-1.
16. Manual de Procedimientos para la Producción de Colonias. s.f. Planta de Producción MOSCAMED, El Pino. Barberena, Santa Rosa, Guatemala.
17. Finney, D.J. 1971. Probit analysis. 3ed. University Pres. Cambridge, Great Britain. 57p.
18. Gil, S. y LC. Calderón. 1980. Manual de Análisis Probit. Colegio de Postgraduados. Centro de Estadística y Cálculo. Chapingo, México. 106 p.
19. Statistix 8. 1985-2003. User's Manual-Analytical Software. Tallahassee FL.
20. Montenegro, RA. 2001. Informe sobre los riesgos sanitarios y ambientales del malathion. (En línea).UY. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina. Consultado 28/8/2005. Disponible en [file:///C:/Users/control de la resistencia_files/Informe Malatión 2.htm](file:///C:/Users/control%20de%20la%20resistencia_files/Informe%20Malatión%20.htm).
21. Bisset, JA. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Revista Cubana Medicina Tropical. Consultado 28/8/2005. Disponible en [file:///C:/Users/control de la resistencia_files/control de la resistencia.htm](file:///C:/Users/control%20de%20la%20resistencia_files/control%20de%20la%20resistencia.htm).
22. Reporte interno de análisis de residuos de malatión, efectuado por INLASA. 2002. Laboratorio de Control de Proceso, MOSCAMED, El Pino. Barberena, Santa Rosa, Guatemala. p.2.
23. Aguilar Z., MA. y MA. Briceño. 1992. Tolerance of eggs of the Mediterranean fruit fly *Ceratitís capitata* (Wied.) to the insecticide malathion. Revista de Biología Tropical. Heredia, Costa Rica. v. 40(2): p. 227-230.
24. Calabrese, EJ. and Baldwin, LA. 2003. "The hormetic dose-response model is more common than the threshold model in toxicology", Toxicological Sciences, 71: 246-250. In Alzogaray, RA. 2004. Un poquito de veneno estimula y sienta bien (en línea). Buenos Aires, AR.
25. Alzogaray, RA. 2004. Un poquito de veneno estimula y sienta bien (en línea). Buenos Aires, AR. CITEFA/CONICET. Consultado sep. 2005. Disponible en <http://www.argenpress.info/nota.asp?num=012480>.

12. ANEXOS

I. Ilustraciones



1A

Ilustración 1A y 1B. Anaqueles utilizados para distribuir aleatoriamente las bandejas de cría larval.



1B



Ilustración 2. Tambor de rotación y bomba de aspersión utilizados para impregnar olote con malatión.



Ilustración 3. Mezcladora utilizada para preparar la dieta.



Ilustración 4. Aparatos utilizados para climatizar las salas de cría larval.



Ilustración 5. La fotografía muestra la forma en que se realizó la técnica de inmersión.



Ilustración 6. Técnica de aspersión.



Ilustración 7. Técnica para extraer las larvas de la dieta.



Ilustración 8. La fotografía muestra larvas de 144 horas de edad.

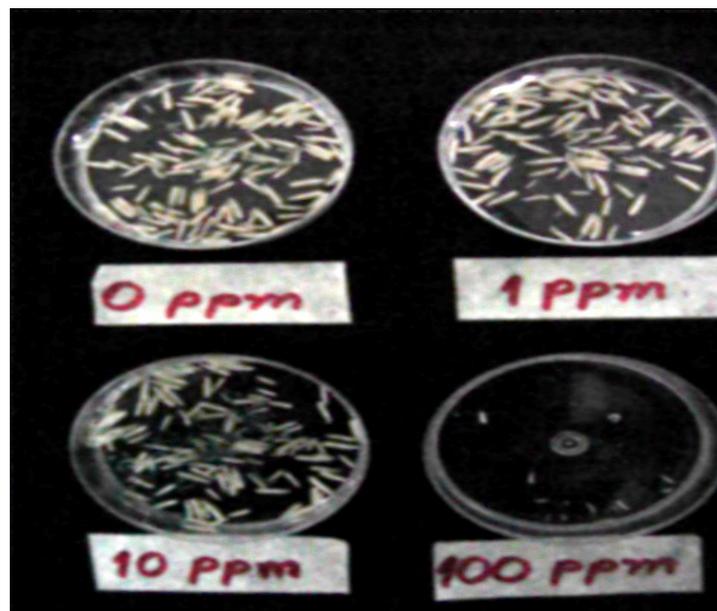


Ilustración 9. La fotografía muestra el tamaño y cantidad de larva obtenida en los diferentes tratamientos.

III. Base de Datos para Cálculo de Mortalidad Larval cada 24 Horas

MORTALIDAD LARVAL POR EFECTO DEL PRODUCTO

HUEVOS ENTEROS
Viernes 25.3.05 (48 hrs. Después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	103	110	98	167
II	109	111	120	112
III	96	104	106	126
PROM.	103	108	108	135
DS	6.51	3.79	11.14	28.58

HUEVOS ECLOSIONADOS
CUADRO RESUMEN 48 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	197	190	202	133
II	191	189	180	188
III	204	196	194	174
PROM.	197	192	192	165
DS	6.51	3.79	11.14	28.58

LARVAS VIVAS
Viernes 25.3.05 (48 hrs. Después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	167	201	116	135
II	138	197	168	164
III	192	129	176	120
PROM.	166	176	153	140
DS	27.02	40.46	32.58	22.37

LARVAS POTENCIALES
CUADRO RESUMEN 48 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	167	161	171	113
II	138	137	130	136
III	192	184	183	164
PROM.	166	161	161	137
DS	27.02	23.96	27.64	25.55

% MORTALIDAD LARVAL ASOCIADA AL PRODUCTO
CUADRO RESUMEN 48 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	0	32.26	0
II	0	0	0	0
III	0	30.07	3.61	26.72
PROM.	0	10	12	9
DS	0.00	17.36	17.68	15.43

HUEVOS ENTEROS
Sábado 26.3.05 (72 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	80	75	82	88
II	89	85	94	81
III	85	96	94	91
PROM.	85	85	90	87
DS	4.51	10.50	6.93	5.13

HUEVOS ECLOSIONADOS
CUADRO RESUMEN 72 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	220	225	218	212
II	211	215	206	219
III	215	204	206	209
PROM.	215	215	210	213
DS	4.51	10.50	6.93	5.13

LARVAS VIVAS
Sábado 26.3.05 (72 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	189	190	160	130
II	146	192	139	118
III	181	151	164	105
PROM.	172	178	154	118
DS	22.87	23.12	13.43	12.50

LARVAS POTENCIALES
CUADRO RESUMEN 72 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	189	193	187	182
II	146	149	143	152
III	181	172	173	176
PROM.	172	171	168	170
DS	22.87	22.27	22.90	16.18

% MORTALIDAD LARVAL ASOCIADA AL PRODUCTO
CUADRO RESUMEN 72 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	1.70	14.57	28.62
II	0	0	2.48	22.13
III	0	12.08	5.43	40.32
PROM.	0	5	7	30
DS	0.00	6.54	6.30	9.22

HUEVOS ENTEROS
Domingo 27.3.05 (96 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	92	87	102	72
II	95	80	82	96
III	94	71	104	67
PROM.	94	79	96	78
DS	1.53	8.02	12.17	15.50

HUEVOS ECLOSIONADOS
CUADRO RESUMEN 96 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	208	213	198	228
II	205	220	218	204
III	206	229	196	233
PROM.	206	221	204	222
DS	1.53	8.02	12.17	15.50

LARVAS VIVAS
Domingo 27.3.05 (96 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	160	163	143	89
II	146	144	128	75
III	157	148	134	73
PROM.	154	152	135	79
DS	7.37	10.02	7.55	8.72

LARVAS POTENCIALES
CUADRO RESUMEN 96 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	160	164	152	175
II	146	157	155	145
III	157	175	149	178
PROM.	154	165	152	166
DS	7.37	8.98	2.94	18.04

% MORTALIDAD LARVAL ASOCIADA AL PRODUCTO
CUADRO RESUMEN 96 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	0.52	6.11	48.25
II	0	8.08	17.56	48.38
III	0	0.00	0.00	58.89
PROM.	0	3	8	52
DS	0.00	4.53	8.91	5.83

HUEVOS ENTEROS
Lunes 28.3.05 (120 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	79	93	95	74
II	89	87	90	80
III	79	80	88	85
PROM.	82	87	91	80
DS	5.77	6.51	3.61	5.51

HUEVOS ECLOSIONADOS
CUADRO RESUMEN 120 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	221	207	205	226
II	211	213	210	220
III	221	220	212	215
PROM.	218	213	209	220
DS	5.77	6.51	3.61	5.51

LARVAS VIVAS
Lunes 28.3.05 (120 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	150	148	118	35
II	120	171	92	24
III	149	124	94	20
PROM.	140	148	101	26
DS	17.04	23.50	14.47	7.77

LARVAS POTENCIALES
CUADRO RESUMEN 120 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	150	140	139	153
II	120	121	119	125
III	149	148	143	145
PROM.	140	137	134	141
DS	17.04	14.00	12.62	14.52

% MORTALIDAD LARVAL ASOCIADA AL PRODUCTO
CUADRO RESUMEN 120 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	0	15.19	77.18
II	0	0	22.97	80.82
III	0	16.40	34.23	86.20
PROM.	0	5	24	81
DS	0.00	9.47	9.57	4.54

HUEVOS ENTEROS
Martes 29.3.05 (144 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	88	82	78	87
II	69	73	74	80
III	73	96	78	89
PROM.	77	84	77	85
DS	10.02	11.59	2.31	4.73

HUEVOS ECLOSIONADOS
CUADRO RESUMEN 144 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	212	218	222	213
II	231	227	226	220
III	227	204	222	211
PROM.	223	216	223	215
DS	10.02	11.59	2.31	4.73

LARVAS VIVAS
Martes 29.3.05 (144 hrs. después siembra)

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	173	167	122	27
II	178	178	109	21
III	179	170	122	18
PROM.	177	172	118	22
DS	3.21	5.69	7.51	4.58

LARVAS POTENCIALES
CUADRO RESUMEN 144 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	173	178	181	174
II	178	175	174	170
III	179	161	175	166
PROM.	177	171	177	170
DS	3.21	9.10	3.81	3.73

% MORTALIDAD LARVAL ASOCIADA AL PRODUCTO
CUADRO RESUMEN 144 HRS DESPUES.

TRATAMIENTOS				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	6.13	32.66	84.47
II	0	0	37.41	87.61
III	0	0	30.31	89.18
PROM.	0	2	33	87
DS	0.00	3.54	3.62	2.40

DS = Desviación standard
Nota: Se alinearon 300 huevos, considerando 55 % de eclosión y 30% de eficiencia.

CUADRO RESUMEN
PORCENTAJE PROMEDIO DE MORTALIDAD LARVAL

Tratamientos	H O R A S			
	48	72	96	120
0 ppm	0.00	0.00	0.00	0.00
1 ppm	10.02	4.59	2.87	5.47
5 ppm	11.96	7.49	7.89	24.13
10 ppm	8.91	30.36	52.17	81.40

IV. Base de Datos para Cálculo del Efecto Ovicida del Malatión

EFFECTO OVICIDA DE MALATION

HUEVOS ENTEROS
Viernes 25.3.05 (48 hrs. Después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	103	110	98	167
II	109	111	120	112
III	96	104	106	126
PROM.	103	108	108	135
DS	6.51	3.79	11.14	28.58

PORCENTAJE DE NO ECLOSION
Viernes 25.3.05 (48 hrs. Después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	34.33	36.67	32.67	55.67
II	36.33	37.00	40.00	37.33
III	32.00	34.67	35.33	42.00
PROM.	34	36	36	45
DS	2.17	1.26	3.71	9.53

EFFECTO OVICIDA
Viernes 25.3.05 (48 hrs. Después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	6.80	0.00	62.14
II	0	1.83	10.09	2.75
III	0	8.33	10.42	31.25
PROM.	0	6	7	32
DS	0.00	3.40	5.92	29.70

HUEVOS ENTEROS
Sábado 26.3.05 (72 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	80	75	82	88
II	89	85	94	81
III	85	96	94	91
PROM.	84.67	85.33	90.00	86.67
DS	4.51	10.50	6.93	5.13

PORCENTAJE DE NO ECLOSION
Sábado 26.3.05 (72 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	26.67	25.00	27.33	29.33
II	29.67	28.33	31.33	27.00
III	28.33	32.00	31.33	30.33
PROM.	28.22	28.44	30.00	28.89
DS	1.50	3.60	2.31	1.71

EFFECTO OVICIDA
Sábado 26.3.05 (72 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	0	2.50	10.00
II	0	0	5.62	0
III	0	12.94	10.59	7.06
PROM.	0.00	4.31	6.24	5.69
DS	0.00	7.47	4.08	5.14

HUEVOS ENTEROS
Domingo 27.3.05 (96 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	92	87	102	72
II	95	80	82	96
III	94	71	104	67
PROM.	93.67	79.33	96.00	78.33
DS	1.53	8.02	12.17	15.50

PORCENTAJE DE NO ECLOSION
Domingo 27.3.05 (96 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	30.67	29.00	34.00	24.00
II	31.67	26.67	27.33	32.00
III	31.33	23.67	34.67	22.33
PROM.	31.22	26.44	32.00	26.11
DS	0.51	2.67	4.06	5.17

EFFECTO OVICIDA
Domingo 27.3.05 (96 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	0	10.67	0
II	0	0	0	1.05
III	0	0	10.64	0
PROM.	0.00	0.00	7.17	0.35
DS	0.00	0.00	6.21	0.61

HUEVOS ENTEROS
Lunes 28.3.05 (120 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	79	93	95	74
II	89	87	90	80
III	79	80	88	85
PROM.	82.33	86.67	91.00	79.67
DS	5.77	6.51	3.61	5.51

PORCENTAJE DE NO ECLOSION
Lunes 28.3.05 (120 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	26.33	31.00	31.67	24.67
II	29.67	29.00	30.00	26.67
III	26.33	26.67	29.33	28.33
PROM.	27.44	28.89	30.33	26.56
DS	1.92	2.17	1.20	1.84

EFFECTO OVICIDA
Lunes 28.3.05 (120 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	17.72	20.25	0
II	0	0	1.12	0
III	0	1.27	11.39	7.59
PROM.	0.00	6.33	10.92	2.53
DS	0.00	9.89	9.57	4.38

HUEVOS ENTEROS
Martes 29.3.05 (144 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	88	82	79	87
II	69	73	74	80
III	73	96	78	89
PROM.	76.67	83.67	76.67	85.33
DS	10.02	11.59	2.31	4.73

PORCENTAJE DE NO ECLOSION
Martes 29.3.05 (144 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	29.33	27.33	26.00	29.00
II	23.00	24.33	24.67	26.67
III	24.33	32.00	25.00	28.67
PROM.	25.56	27.89	25.56	28.44
DS	3.34	3.86	0.77	1.58

EFFECTO OVICIDA
Martes 29.3.05 (144 hrs. después siembra)

T R A T A M I E N T O S				
Replicas	0 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
I	0	0	0	0
II	0	5.80	7.25	15.94
III	0	31.51	6.85	21.92
PROM.	0.00	12.43	4.70	12.62
DS	0.00	16.77	4.07	11.33

CUADRO RESUMEN EFFECTO OVICIDA PROMEDIO

	H O R A S				
Tratamientos	48	72	96	120	144
0 ppm	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1 ppm	5.65	4.31	0.00	6.33	12.43
5 ppm	6.84	6.24	7.17	10.92	4.70
10 ppm	22.05	5.69	0.35	2.53	12.62

V. Análisis Probit

ESTIMADORES ANALISIS PROBIT

D_i = Dosis

Π_i = insectos tratados

r_i = insectos muertos

$X_i = \text{Log}(10) D_i$

α, β, σ y μ = estimadores de máxima verosimilitud.

El programa **SAS** aporta los valores de α, β, σ y μ

\hat{y}_i = Probit estimado para una proporción P_i de respuestas; donde $\hat{y}_i = \alpha + \beta X_i$; $i = 1, 2, \dots, k$

P_i = Proporción (desconocida) de individuos que son susceptibles a la dosis "exima"; $P_i = r_i / \Pi_i$

$Q_i = 1 - P_i$

Z_i = Área de distribución entre $-\infty$ y Z de la distribución normal con media cero y varianza uno;
 $Z_i = (X_i - \mu) / \sigma$

$\Phi(Z_i)$ = Ordenadas correspondientes a un valor Z_i en la función normal estándar de probabilidades; este valor lo aportan las tablas de distribución normal estándar.

$\bar{X} = \sum(X_i n_i W_i) / \sum n_i W_i$

S^2 = Varianza estimada de μ ; $S^2 = 1/\beta^2 \{1/\sum \Pi_i W_i + (\mu - \bar{x})^2 / \sum \Pi_i W_i (X_i - \bar{X})^2\}$

t = Distribución de student con f grados de libertad; **este valor lo aporta SAS**

LC = Límites del intervalo de confianza al 95% para el logaritmo de la DL 50; **L.C.** = $\mu \pm tS\hat{\mu}$

Base de datos para análisis probit de mortalidad larval de *Ceratitis capitata* (Wied.)
criadas con dieta de otote de maíz impregnada con malatión
Bioensayo 23.3.05

Dosis	I ¹	I ²	X _i	Y ¹	Z _i	P _i	Q _i	(PQ) _i	Φ(Z _i)	W _i	(nW) _i	(XnW) _i	X	(X _i X) _i	nW(X _i X)	β ²	(β ² X) _i	S ²
1	211	47	0	-0.84	-0.84	0.22	0.78	0.17	0.28	0.45	95.28	0.00	0.63	0.40	37.94	1.03	0.04	0.06
5	208	75	0.70	-0.13	-0.13	0.36	0.64	0.23	0.40	0.68	141.04	98.58	0.63	0.00	0.65	1.03	0.04	0.06
10	207	130	1	0.17	0.17	0.63	0.37	0.23	0.39	0.66	136.99	136.99	0.63	0.14	18.65	1.03	0.04	0.06
$\Sigma = 373.31 \quad 235.57$																		
															57.24			

LC = $\mu \pm 1\sigma$

Logaritmos dosis		antilogaritmos		
Intervalo Confianza		Límites de Confianza		
		Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura
95%	1.08 0.59	11.98	3.85	8.13
99%	1.56 0.10	36.31	1.27	35.04

Base de datos para análisis probit de mortalidad larval de *Ceratitis capitata* (Wied.)
criadas con dieta de otote de maíz impregnada con malatión
Bioensayo 12.4.05

Dosis	I ¹	I ²	X _i	Y ¹	Z _i	P _i	Q _i	(PQ) _i	Φ(Z _i)	W _i	(nW) _i	(XnW) _i	X	(X _i X) _i	nW(X _i X)	β ²	(β ² X) _i	S ²
1	139	81	0	-1.05	-1.05	0.44	0.56	0.25	0.23	0.22	30.07	0.00	0.73	0.53	15.83	1.22	0.05	0.08
5	138	62	0.70	-0.27	-0.27	0.45	0.55	0.25	0.38	0.60	82.41	57.60	0.73	0.00	0.06	1.22	0.05	0.08
10	137	63	1	0.06	0.06	0.46	0.54	0.25	0.40	0.64	87.50	87.50	0.73	0.08	6.59	1.22	0.05	0.08
$\Sigma = 199.98 \quad 145.11$																		
															22.48			

LC = $\mu \pm 1\sigma$

Logaritmos dosis		antilogaritmos		
Intervalo Confianza		Límites de Confianza		
		Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura
95%	1.28 0.62	18.88	4.14	14.74
99%	1.92	63.18	0.94	82.24

Base de datos para análisis probit de mortalidad larval de *Ceratitis capitata* (Wied.)
criadas con dieta mix impregnada con malatión
Bioensayo 13.6.05

Dosis	I ¹	I ²	X _i	Y ¹	Z _i	P _i	Q _i	(PQ) _i	Φ(Z _i)	W _i	(nW) _i	(XnW) _i	X	(X _i X) _i	nW(X _i X)	β ²	(β ² X) _i	S ²
1	149	51	0	-1.37	-1.37	0.34	0.66	0.23	0.28	0.35	51.78	0.00	1.09	1.19	61.41	1.25	0.02	0.06
10	148	52	1	-0.25	-0.37	0.35	0.65	0.23	0.37	0.61	90.25	90.25	1.09	0.01	0.72	1.25	0.02	0.06
100	149	51	2	0.87	0.63	0.34	0.66	0.23	0.33	0.47	70.73	141.46	1.09	0.83	58.69	1.25	0.02	0.06
$\Sigma = 212.76 \quad 231.71$																		
															120.82			

LC = $\mu \pm 1\sigma$

Logaritmos dosis		antilogaritmos		
Intervalo Confianza		Límites de Confianza		
		Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura
95%	1.49 0.95	30.92	0.01	21.90
99%	2.01 0.43	103.09	2.70	100.38

BIOENSAYO 23.3.05

INTERVALOS DE CONFIANZA

	DL1	DL10	DL20	DL30	DL40	DL50	DL60	DL70
95%	-1.22	-1.71	-0.19	-0.68	0.25	-0.24	0.56	0.07
	0.83	0.34	1.08	0.59	1.33	0.83	1.60	1.10

LIMITES DE CONFIANZA

	DL1	DL10	DL20	DL30	DL40	DL50	DL60	DL70
	Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura	Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura	Lim. Sup.	Lim. inf.
95%	0.06	0.02	0.04	0.65	0.21	0.44	1.77	0.57
	1.20	3.64	1.17	2.47	6.74	2.16	4.57	11.97
	3.85	8.13	21.28	6.84	14.44	39.38	12.65	26.73

BIOENSAYO 12.4.05

INTERVALOS DE CONFIANZA

	DL1	DL10	DL20	DL30	DL40	DL50	DL60	DL70
95%	-0.83	-1.49	0.12	-0.54	0.51	-0.14	0.75	0.09
	1.05	0.39	1.28	0.62	1.51	0.85	1.75	1.09

LIMITES DE CONFIANZA

	DL1	DL10	DL20	DL30	DL40	DL50	DL60	DL70
	Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura	Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura	Lim. Sup.	Lim. inf.
95%	0.15	0.03	0.12	1.31	0.29	1.02	3.27	0.72
	2.56	5.85	1.24	4.41	11.14	2.44	8.70	18.88
	4.14	14.74	32.00	7.01	24.98	56.26	12.33	43.93

BIOENSAYO 13.6.05

INTERVALOS DE CONFIANZA

	DL1	DL10	DL20	DL30	DL40	DL50	DL60	DL70
95%	-0.59	-1.12	0.35	-0.19	0.74	0.20	1.02	0.49
	1.26	0.73	1.49	0.95	1.72	1.18	1.96	1.42

LIMITES DE CONFIANZA

	DL1	DL10	DL20	DL30	DL40	DL50	DL60	DL70
	Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura	Lim. Sup.	Lim. inf.	Anchura	Lim. Sup.	Lim. inf.
95%	0.26	0.08	0.18	2.21	0.65	1.57	5.47	1.60
	10.51	3.06	7.45	18.36	5.35	13.01	30.92	9.01
	15.18	36.89	90.96	26.52	64.44			

VI. REPETICIONES, VARIABLES DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES PARA CADA FASE EXPERIMENTAL

FASES DEL EXPERIMENTO	CANTIDAD DE HUEVOS	VOLUMEN TOTAL DE HUEVOS EN cc.	TIPO DE DIETA	VARIABLES DEPENDIENTES		VARIABLES INDEPENDIENTES
				[CONC] ppm	REPLICAS	
FASE IA	(300 x 60)	18,000 = 0.72	OLOTE DE MAIZ	0,1.5,10	3	MORTALIDAD LARVAL
			"	"	"	EFFECTO OVICIDA
FASE IB	(200 X 60)	12000 = 0.48	OLOTE DE MAIZ	0,1.5,10	3	MORTALIDAD LARVAL
			"	"	"	EFFECTO OVICIDA
FASE IIA	(0.4 cc x 24)	9.6	OLOTE DE MAIZ	0,0.1,0.5,1,1.5,2	4	RECUPERACION LARVAL
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE PUPA BLANCA
	"	"	"	"	"	PESO PUPA
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE DE EMERGENCIA
	"	"	"	"	"	HABILIDAD DE VUELO
	"	"	"	"	"	INDICE DE LONGEVIDAD
FASE IIB	(0.3 cc x 24)	7.2	OLOTE DE MAIZ	0,0.1,0.5,1,1.5,2	4	RECUPERACION LARVAL
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE PUPA BLANCA
	"	"	"	"	"	PESO PUPA
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE DE EMERGENCIA
	"	"	"	"	"	HABILIDAD DE VUELO
	"	"	"	"	"	INDICE DE LONGEVIDAD
FASE I	(200 X 60)	12,000 = 0.48	DIETA MIX	0,1,10,100	3	MORTALIDAD LARVAL
	"	"	"	"	"	EFFECTO OVICIDA
	"	"	"	"	"	RECUPERACION LARVAL
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE PUPA BLANCA
	"	"	"	"	"	PESO PUPA
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE DE EMERGENCIA
	"	"	"	"	"	HABILIDAD DE VUELO
	"	"	"	"	"	INDICE DE LONGEVIDAD
FASE II	(0.3cc X 24)	7.2	DIETA MIX	0,0.1,0.5,1,1.5,2	4	RECUPERACION LARVAL
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE PUPA BLANCA
	"	"	"	"	"	PESO PUPA
	"	"	"	"	"	PORCENTAJE DE EMERGENCIA
	"	"	"	"	"	HABILIDAD DE VUELO
	"	"	"	"	"	INDICE DE LONGEVIDAD

