70

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

SUSCEPTIBILIDAD DE *Culex pipens quinquefasciatus* Say (Diptera: Culícidae) A LARVICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y EFECTO DE DOSIS - SUBLETALES SOBRE EL POTENCIAL REPRODUCTIVO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA

PRESENTA

Raúl Torres Zapata

MONTERREY, NUEVO LEON JULIO DE 1993

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

SUSCEPTIBILIDAD DE *Culex pipens quinquefasciatus* Say (Diptera: Culícidae) A LARVICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y EFECTO DE DOSIS - SUBLETALES SOBRE EL POTENCIAL REPRODUCTIVO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA

PRESENTA

Raúl Torres Zapata

MONTERREY, NUEVO LEON JULIO DE 1993

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

SUSCEPTIBLIDAD DE **Culex pipiens quinquefaciatus** Say A LARVICIDAS SELECCIONADOS Y SU EFECTO DE DOSIS SUBLETALES SOBRE EL POTENCIAL REPRODUCTIVO

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE MAESTRIA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN **ENTOMOLOGIA MEDICA**

PRESENTA

RAUL TORRES ZAPATA

COMISION DE TESIS

M. H. Badii

DR. M.H. BADII

PRESIDENTE

M.C. HUMBERTO QUIROZ MARTINEZ

SECRETARIO
(Codirector)

M.C. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ

VOCAL

MONTERREY, NUEVO LEON JULIO DE 1993

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. MOHAMMAD H. BADII, por su valiosa asesoría para la realización de esta investigación, por su amistad y críticas constructivas no solamente al trabajo de esta tesis, sino a otras actividades del diario quehacer académico, mil gracias.

Al M. en C. Humberto Quiroz Martínez, por la revisión del reporte de este estudio, su colaboración y asesorías en algunos aspectos relativos a temas académicos y de investigación.

Con respeto, cordialidad y afecto vaya mi agradecimiento al M. en C. Roberto Mercado Hernández, como reconocimiento a su siempre presta disposición para asesorar en cualquier detalle que uno le solicite, y desde luego, por su colaboración del presente trabajo.

A mis compañeros de Generación: Juan Manuel Arredondo Cantú, Benito David Mata, María de la Paz Tijerina, Miguel Angel Torres Ramírez, Alberto Ramírez Guedea y el compañero Máximino Reyna de León que además de su compañerismo me brindaron su amistad. De igual forma a mis compañeros de Maestría: María Luisa Rodríguez Tovar, Carlos Solís Rojas, Alfredo del Toro González, Adriana E. Flores, Biól. Juan Arredondo, Nancy Treviño y Alfonso Flores, quienes además de compañeros en muchas ocasiones de alguna forma me han proporcionado artículos ó inclusive asesoría. A la Srita. Isabel Capetillo por su valiosa ayuda en mecanografía del escrito.

También quiero aprovechar este espacio para hacer patente mi reconocimiento como maestro y amigo de todos mis alumnos de Licenciatura que además de cumplir en forma muy afectiva con la materia que yo imparto, me han manifestado su agradecimiento y no en pocas ocaciones su amistad. Faltaría espacio para nombrarlos a todos aquí, pero voy a mencionar solo algunos de los más recientes, de antemano pido disculpas a los que no pueda señalar: Silvia, Irasema, Abdel, Lupita, Evangelina, Elizabeth, Nerla, Many, Verónica, Ma. Martina y Judith Lewis.

DEDICATORIA

Con enorme agratitud y cariño a quienes me han dado la vida SR. ANDRES TORRES RICO que además de su relación como Padre ha sido un ejemplo para con todos sus hijos, y como todo Padre simpre antepone el bienestar de nosotros al suyo propio. A mi Madre JUANA ZAPATA MENDOZA que se ha sabido ganar un lugar muy especial en mi, gracias a su abnegada pasión por su familia, que sin pedir nada a cambio siempre procuró lo mejor para nosotros, sus hijos.

A todos mis hermanos con mucho afecto:

CATA, MARIA, MARGARITA, NICASIA, FRANCISCO,
JOSE, MARIA SANTOS, IMELDA, MARIA ISABEL,
DOMINGO Y ROSALVA.

A todos mis tíos, abuelitos y sobrinos.

CONTENIDO

PAGINA

INDICE DE GRAFICAS Y TABLAS..... i

RESUMEN..... ii

INTRODUCCION..... 1

HIPOTESIS Y OBJETIVOS..... 3

ANTECEDENTES..... 4

- Comportamiento alimenticio de oviposición..... 4

- Control químico de los mosquitos y problemas de resistencia..... 6

- Consecuencias de la resistencia..... 7

- Estado actual de la resistencia..... 9

- Mecanismos de la resistencia..... 9

- Dinámica de la resistencia..... 10

- Frecuencia de generaciones por unidad de tiempo, movilidad de la población, persistencia de residuos y factores operacionales..... 11

- Bases genéticas de la resistencia..... 13

- Bases bioquímicas de la resistencia..... 15

- Disminución de la sensibilidad del sistema nervioso... 17

- Disminución de la reactividad de la acetil colinesterasa..... 19

- Monitoreo de la resistencia..... 20

- Bioensayos para determinar susceptibilidad ó resistencia..... 22

- Medidas para contrarestar la resistencia..... 27

- Efectos de dosis subletales de insecticidas sobre el -- potencial biótico del insecto..... 29

MATERIAL Y METODOS..... 33

- Larvicidas, Insectos, Bioensayos..... 33

- Procedimientos para los bioensayos con dosis subletales..... 34

RESULTADOS Y DISCUSIONES..... 37

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... 41

LITERATURA CITADA..... 42

ANEXO..... 63

GRAFICA No. 5. Curva de superviviencia de **Culex** - -- **pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con temefós..... 57

GRAFICA No. 6. Curva de reproducción de edad estable de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con paratión metílico..... 58

GRAFICA No. 7. Curva de reproducción de edad estable de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con fenitrotión..... 59

GRAFICA No. 8. Curva de reproducción de edad estable de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con Malatión..... 60

GRAFICA No. 9. Curva de reproducción de edad estable de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con Fention..... 61

GRAFICA No. 10. Curva de reproducción de edad estable de **Culex pipiens quinquefaciatus** Say, tratrados con Temefós..... 62

LISTA DE TABLAS Y GRAFICAS DE RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

PAGINA

TABLA No. 1. Valores de los CL50 y CL90 obtenidos en base a las mortalidad larvales de **Culex pipiens quiquefasciatus** Say a las 24 horas para los larvicidas que se indican..... 48

TABLA No. 2. Tabla de fecundidad para **Culex pipiens quiquefasciatus** Say, tratados con dosis subletales de los insecticidas que se indican..... 49

TABLA No. 3. Promedio de huevecillos / barquilla / hembra de **Culex pipiens quiquefasciatus** Say tratados a nivel cuarto estadio larval con una dosis subletal de cada insecticida que se indica..... 50

TABLA No. 4. Comparación de los CL50 y CL90s de los larvicidas que se indican probados sobre algunas especies de **Culex** con varios estudios y el que - se reporta aquí..... 51

TABLA No. 5. Comparación gráfica de las variaciones - de fecundidad y tiempo de desarrollo ocurridas - por efecto de dosis subletales en **Culex**..... 52

GRAFICA No. 1. Curva de superviviencia de Culex - -- **pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con paratión metílico..... 53

GRAFICA No. 2. Curva de superviviencia de Culex - -- **pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con fenitrotión..... 54

GRAFICA No. 3. Curva de superviviencia de Culex - -- **pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con malatión..... 55

GRAFICA No. 4. Curva de superviviencia de Culex - -- **pipiens quinquefasciatus** Say, tratados con fentión..... 56

RESUMEN

Las CL50s y CL90s (ppm) y efecto de dosis subletales sobre el potencial reproductivo y tiempo de desarrollo de **Culex quinquefasciatus** Say de cinco larvicidas organofosforados(paratión metílico ®, temefós, fenitrotión, fention y malatión ®) fueron investigados. Comparando los niveles de susceptibilidad estimados por varios autores y publicados por la OMS (1981) y los estudiados aquí, el larvicida mas potente fué paratión metílico, seguido en orden decreciente por malatión, fentión, fenitrotión y temefós. Las diferencias de las CL50s de dichos valores son pequeñas (razón de resistencia menor de 2) excepto en temefós, el cual es de 4.7 por lo que la actividad de los insecticidas probados aquí es aceptable para controlar el insecto utilizado en las pruebas. En casi todos los casos, la variabilidad de la resistencia del mosquito fué relativamente baja (X^2 no significativa, $p<0.5$). Las tasas de crecimiento y tiempo de desarrollo, obtenidos mediante la contrucción de tablas de vida-fertilidad, indican en términos generales, diferencias entre los tratamientos y controles para cada uno de los parámetros Ro, rm, lamda y Tc. Los menores valores del potencial reproductivo se obtuvieron para los tratamientos, excepto con fenitrotión, con el cual hubo incremento en comparación con el control. Efecto contrario muestran los Tc, excepto con fentión. Al analizar los datos del número de huevos puestos por hembra, con una prueba de t para dos muestras al 95% de confianza para cada larvicida, comparando tratamiento y control, solo se obtiene diferencia significativa en malatión y fentión.

INTRODUCCION

La tasa de fecundidad de los mosquitos, puede alterarse debido al contacto de los insectos con los insecticidas (Kilpatrik y Kolkaila 1956, Ouye y Knuson 1957, Grantz 1960, Walt 1969, Georghiou 1968, citados por Brown 1972). Con la hipótesis denominada **hormoligosis**, la cual propone que las dosis pequeñas de elementos estresantes, entre ellos los insecticidas, provocan respuestas de adaptabilidad en los organismos, alterando su potencial reproductivo, Luckey (1968), investigó algunas dosis de varios insecticidas en el grillo doméstico **Achaeta domesticus** (L.), encontró efectos estimulatorios en la biología del insecto, para concentraciones específicas de cada tóxico. Aunado a lo anterior, el fenómeno de la resistencia de las plagas mas comunes, dificulta mas su control. Se han realizado actividades de considerable importancia, tanto en la detección de resistencia como en la revisión de los efectos de las dosis subletales. La Organización Mundial de la Salud (1970, 1976 y 1980) citado por Georghiou y Mellon (1983), ha publicado algunas técnicas estandarizadas para insectos de interés médico-veterinario, entre los cuales incluye a los mosquitos hematófagos de los géneros **Culex, Aedes y Anopheles.**

En dichos géneros Suterland y Colaboradores (1967), citados por Brown (1971), han publicado resultados de investigaciones relacionadas con disturbios en el potencial biótico de **Aedes aegypti** (L.), por efecto de dosis subletales. Asi mismo, Brown (1971), citó que en investigaciones cada uno

por separado, Thomas (1962), Zogloul y Brown (1968), en **Culex** sp. obtienen un patrón similar en el mosquito. Este trabajo fué realizado para contribuir al conocimiento de los niveles de resistencia o susceptibilidad y efecto de dosis subletales en **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, por algunos insecticidas organofosforados (Paratión, metílico ®, Malatión ®, Fention, Fenitrotión y Temefós).

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Bajo los supuestos de que, las CL50 y CL90 varían con cada insecticida y condiciones generales del desarrollo de Culex pipiens quinquefasciatus Say y que al aplicar dosis subletales (LC50) de paratión metil ®, (malatión) toxitión ®, fentión, fenitrotión y temefós, provocan alteraciones en algunos parámetros poblaciones de esta especie de mosquito. Se plantearon los siguientes objetivos

1.- Obtener las CL50 y CL90 de los insecticidas arriba citados, en Culex pipiens quinquefasciatus Say.

2.- Determinar los efectos de las CL50 de dichos larvicidas (insecticidas) en la fecundidad y longevidad del mosquito.

ANTECEDENTES
GENERALIDADES DEL MOSQUTO
Datos taxonómicos

Al mosquito del género **Culex** se le incluye dentro de la tribu Culicini, subfamilia Culicinae, familia Culicidae y orden Diptera. **Culex pipiens** L., mosquito doméstico del Norte, se distribuye arriba del paralelo 36. Mientras que **Cx. pipiens quinquefasciatus** Say, mosquito doméstico del Sur, se ubica abajo del paralelo 39 (excepto en las costas de California) (Barr 1957, citado por James, 1972).

Comportamiento alimenticio y de oviposición

Las especies de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, es común que se alimenten de sangre de las aves, aunque la especificidad no es tan alta, a menudo abordan otros vertabrados, incluyendo al hombre (James et al, 1972; Lapage, 1981).

La oviposición de **Cx. pipiens quinquefasciatus** Say fué determinada fundamentalmente por previa ingestión de sangre del vertebrado. Los huevos son colocados sobre la superficie de agua estancada en grupos de 100 ó mas huevos. El número de éstos por cada barquilla es variable, depende de la raza, hospedero del mosquito, si es colonia de laboratorio, depende también de la adaptabilidad del mosquito a estas condiciones (Mellion et al, 1964; citado por AMCA 1970).

El número de huevos por barquilla es cercano a 175, según Gerberg et al (1969). La eclosión ocurre 30 hs. después de la oviposición en 26 a 27 °C (80 °F). Una hembra puede ovipositar

hasta 5 barquillas en su vida (Mellion y Thomas 1966, citados por AMCA 1970). La presencia de heno y bacterias fluorescentes en el agua, emiten sustancias químicas volátiles que actuan como fuertes atrayentes de oviposición a las hembras grávidas de **Culex quinquefasciatus** (Hazard et al 1967, citado por Baumgartner 1987).

Control químico de los mosquitos y problemas de resistencia

Las medidas de control de los mosquitos y otros artrópodos son: control químico, biológico, mecánico y cultural, entre otras, pero el control químico es el más comunmente utilizado, aunque rara vez proporciona solución permanente al problema, pues a menudo es afectado por el fenómeno de la resistencia (Gahan et al, citado por Hunter et al, 1966).

Desde la introducción de los potentes insecticidas sintéticos, el problema más difícil de resolver, en los programas de salud pública, relacionados con el control de vectores de patógenos, ha sido el desarrollo de resistencia a dichos productos químicos, cuyo incremento ha sido constante a través del tiempo (Brown y Pall 1971).

El término resitencia se ha venido aplicando a cualquier población sin especies susceptibles comunmente a un insecticida específico, por lo que no puede haber control por éste, en un área determinada a dicha población. En otras palabras, resistencia es un atributo desarrollado por una población de insectos, como consecuencia de una continua presión selectiva del insecticida hacia el artrópodo (Brown 1957), citado por Brow (1971).

Consecuencias de la resistencia

Un reporte reciente al congreso de los Estados Unidos por el Departamento de Agricultura, enfatizó cuatro importantes consecuencias debido a la resistencia (USDA, 1986, cita Georghiou, 1987):

1.- Incremento en el costo del control de plagas debido a la mayor frecuencia de aplicaciones, necesidad de cambio de alternativas y el incremento en el costo de los químicos.

2.- El abandono de la producción de los cultivos afectados por falta de alternativas de nuevos insecticidas.

3.- Mayor costo en la investigación en el descubrimiento de nuevos insecticidas.

4.- Mayor consumo e incremento en el costo.

Los costos exactos de la resistencia, en términos financieros, son difíciles de calcular por sus consecuencias indirectas en el medio ambiente. Estimaciones realizadas por Pimentel et al (1979); sugieren que los costos directos de la resistencia en los Estados Unidos son de por lo menos $ 133 millones de dólares (Georghiou, 1986). El costo indirecto pude ser grave, especialmente en términos del desarrollo de la investigación de los pesticidas al no redituar el esfuerzo y la inversión para nuevos productos.

Estado actual de la resistencia

Reportes sobre la resistencia en insectos y ácaros han sido publicados por Georghiou (1983), quien afirma que hasta 1980 el número y distribución de especies afectadas era como sigue: número total de especies resistentes 428, de éstas 260(60.7%), fueron plagas agrícolas y 168(29.3%), fueron de interés médico-veterinario. En una publicación posterior (1990) el mismo autor, señala cifras mayores de especies resistentes, cuya relación ha cambiado con sustanciales incrementos. Ahora hay un total de 504 especies, de las cuales 283 son de interés agrícola, 198 de importancia médico-veterinario y 23 son especies benéficas (Tabla No.1).

Los datos de la tabla No.2, muestran que dicha relación de incremento de la resistencia, varía sustancialmente en cada década. Situación que obedece en primer lugar a la frecuencia en el porcentaje de uso de los plaguicidas y en segundo lugar a la extensión de la resistencia múltiple que en los nuevos y antiguos plaguicidas han originado en especies que ya habían sido registradas. De allí que en la última década aparezca disminución aparente.

La participación de los diferentes grupos químicos de insecticidas en la resistencia, la cual indica mayor número de especies para organoclorados, seguidos de los organofosforados, carbamatos y el menor número para los piretroides, Figura 1. Adicionalmente se incluye el número de especies y porcentajes en la tabla No.2, (Georghiou, 1990).

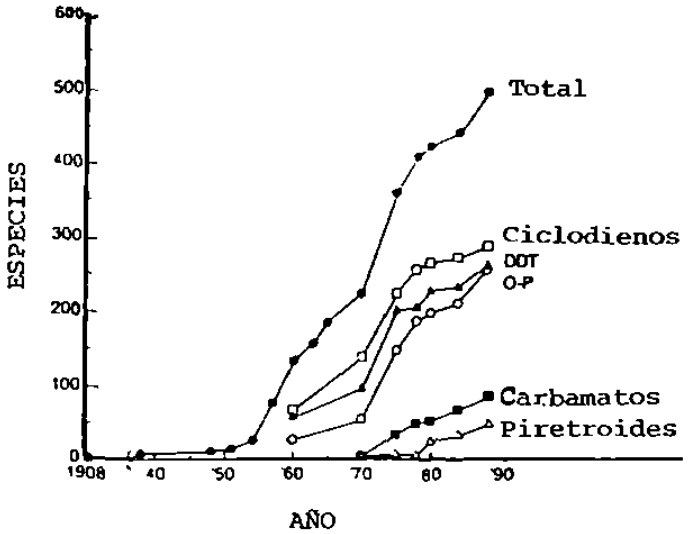


Fig.1. Incremento cronológico del número de insectos y ácaros para al menos un tipo de insecticidas (total), y especies resistentes a cada uno de los principales 5 grupos de insecticidas (Georghiou, 1990).

Tabla No.1* Especies de Insectos y Acaros Resistentes de acuerdo a su importancia Económica.

Importancia Económica	Número de especies	Porcentajes
Plagas Agrícolas	283	56.1
P. Médico-Veterinario	198	39.3
Insectos y Acaros Benéficos	23	4.6

* (Datos de Georghiou, 1990).

Tabla No.2* Relación de Resistencia en Insectos y Acaros de Acuerdo al Grupo Químico.

Grupo Químico	Número de especies	Porcentajes del total
Ciclodienos	291	57.7
DDT	263	52.2
Organofosforados	260	51.6
Carbamatos	85	16.9
Piretroides	48	9.5
Fumigantes	12	2.4
Otros	40	7.9

*(Georghiou, 1990).

Mecanismo de la Resistencia

Georghiou (1965), citado por Lagunes (1977) clasificó la resistencia como sigue: i) Resistencia por comportamiento, ii) Resistencia fisiológica iii) Resistencia morfológica, en base a los mecanismos que la determinan, sugirió que la segunda es la más importante, pues involucra elementos enzimáticos que desactivan el tóxico y solo contribuyen en menor grado los dos restantes.

Dinámica de la resistencia

Georghiou (1980) señaló que durante los últimos años han sido publicados varios artículos sobre la dinámica de la resistencia, basados principalmente en operaciones simuladas hechas en computadora. En Estado Unidos de Norteamérica, cita a Georghiou y Taylor (1976 a y b), Taylor y Headley (1975); en Inglaterra, Curts et al (1978), Comins (1977, 1978), Wood y Cook (1978); quienes ha contribuído en forma importante al conocimiento del proceso de la selección. Como ejemplo de ello ahora se consideran tres tipos de factores que influyen en la evolución de la resistencia: **Genéticos, Biológicos y Operacionales** (tabla No.3). Los dos primeros son inherentes con las características de la especie y no puede el hombre modificarlos, pero si puede hacerlo con los operacionales. La propuesta y discusión de tales factores ha sido publicada por Georghiou y Taylor (1976 a y b).

De especial interés son aquellos que tienen más relevancia bajo condiciones típicas de campo, los cuales incluyen, la dominancia de los R-alelos, dosaje de los insecticidas,

frecuencia de generaciones por unidad de tiempo, movilidad de la población y persistencia de los residuos. Con modelos de computadoras, se han obtenido estimaciones cuantitativas para cada parámetro. Con dicho modelo, se pueden calcular los cambios de frecuencia de los R-genes y crecimiento de la población en generaciones sucesivas, basados en la sobrevivencia relativa y potencial reproductivo de los insectos con los tres genotipos, SS, SR y RR (Georghiou, 1980).

Dominancia de los R-alelos y dosis de los insecticidas.

Georghiou, (1980) señaló que, las poblaciones resistentes adquieren rápidamente esta característica, si tienen un gen dominante, pero relativamente mas lenta si éste es recesivo (Curtis et al, 1978; Taylor y Georghiou, 1979b cita de Georghiou, 1980).

Las línea de regresión (Fig.2), indican la respuesta de 3 genotipos de **Culex quinquefasciatus** (SS, RS y RR) al piretroide (IR) cis-permetrin, cuando se aplica una pequeña dosis (Dp), sobreviven los heterocigotes (RS), por lo que el alelo de resistencia es funcionalmente dominante.

Bajo estas condiciones la resistencia se adquiere relativamente rápido. En cambio, si la dosis es grande (Dg), los heterocigotes mueren, por lo que el alelo de resistencia es funcionalmente recesivo y la resistencia en este caso, se adquiere más lentamente (fig.2).

Frecuencia de generaciones por unidad de tiempo.

Una población que tiene varias generaciones por año adquiere más rápidamente resistencia que las que tienen 1 ó menos, cuando están expuestas a una misma presión selectiva, Ejemplo: **Hylemya spp.**, la cual tiene 3-4 generaciones al año, adquiere resistencia en solo 5 años de exposición, mientras **Diabrotica longicornis**, con una generación cada año tarda de 8-10 generaciones en adquirirla (Lagunes, 1991; Georghiou, 1980).

Movilidad de la población. Si una población no migra, adquiere mas rápidamente resistencia, pero una población que migra, la adquiere mas lenta, debido a que esta menos expuesta al insecticida (Lagunes, 1991).

Persistencia de residuos. Un insecticida con mayor persistencia produce mayor resistencia, porque ejerce mas presión selectiva sobre el insecto (Lagunes, 1991).

Factores operacionales. La mayor oportunidad para contener o retrazar el fenómeno de la resistencia consiste en ejercer nuestra capacidad para limitar el grado de presión selectiva de la población blanco. Esto puede lograrse si se consideran los factores que influyen en la evolución de la resistencia (Tabla 3). Teoricamente la resistencia debe ser retrazada ó evitarse por completo si se siguen ciertas recomendaciones (Georghiou, 1980).

Tabla No. 3. Factores propuestos que influyen en la selección de la resistencia a los insecticidas en poblaciones de campo.*

A. GENETICOS

1. Frecuencia de R alelos
2. Número de R alelos
3. Dominancia de R alelos
4. Penetración; expresividad e interacción de R alelos
5. Pasado selectivo de otros insecticidas
6. Extensión de la integración de R genómas con los factores adaptativos.

B. BIOLOGICOS

a) Bióticos

1. Frecuencia de generaciones por unidad de tiempo
2. No. de hijos por generación
3. Monogamia/poligamia; partenogénesis

b) Comportamiento

1. Aislamiento; movilidad; migración
2. Monofagia/polifagia
3. Sobrevivencia ocasional; refugio

C. OPERACIONALES

a) Químicos

1. Naturaleza química del pesticida
2. Relación con los químicos usados anteriormente
3. Presencia de residuos y formulación

b) Aplicación

1. Nivel ó umbral de aplicación
2. Selección de dicho umbral
3. Estado de vida del insecto seleccionado
4. Modo de aplicación
5. Límites del espacio seleccionado
6. Variaciones de la selección

---

* Adaptada de Georghiou y Taylor (1977b).

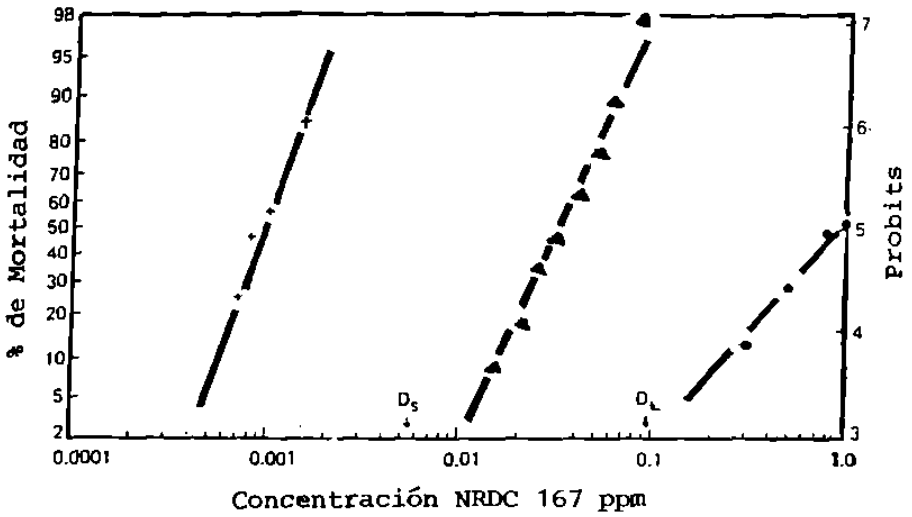


Fig. 2. Linea dosis respuesta para larvas de **Culex quinquefasciatus** Say probados con (IR) cis-permetrin (NRDC 167): +, susceptibles (SS); ^ heterocigotes (RS); o resistentes (RR). La dominancia depende de la dosis: con dosis pequeñas (Dp) la resistencia es funcionalmente dominante, mientras que con una dosis grande (Dg), ella es funcionalmente recesiva. (Adaptada de Priester y Georghiou, 1978).

Bases genéticas de la resistencia

Crow (1957), citado por Lagunes (1977) propone dos teorías sobre el papel de los insecticidas en el desarrollo de la resistencia. La primera habla de la **Resistencia Preadaptativa** y la segunda trata de la **Resistencia Postadaptativa** fundamentadas en base a la relación contacto-tiempo del insecto con el insecticida. La postadaptativa supone que es necesario el contacto previo del tóxico con el insecto para que dicha característica se induzca. En cambio la preadaptativa dice que no necesita tal condición, solo supone que basta el contacto del insecticida con la plaga para ejercer una selección de los individuos que tienen genes susceptibles de los que poseen genes de resistencia.

Actualmente casi todos los investigadores que hablan de resistencia, coinciden en aceptar la hipótesis de la resistencia preadaptativa, lo cual significa que los plaguicidas por si mismos no producen resistencia, pues lo que hacen es simplemente seleccionar individuos resistentes ya presentes en la población natural de la plaga (Cremlyn, 1982), los cuales adquieren tal condición genética, probablemente, debido a factores ambientales y no por el efecto de los insecticidas. Así los individuos tolerantes, confieren resistencia a sus progenitores através de los genes, por lo que las generaciones subsiguientes del insecto, serán resistentes también al insecticida.

La resistencia varía genotipicamente de acuerdo al número de genes que la determinan. Si solo participa un par de genes, se habla de resistencia **monofactorial** y **polifactorial** si participan más de dos pares (Brown, 1953; Crow, 1957 y Milani 1960, citados por Lagunes 1977). Dichos genes pueden ser además, **dominantes, recesivos, ligados al sexo, somáticos, heterocigotes, u homocigotes**, de acuerdo a la combinación que adquieren.

Existen diferencias en cuanto a la naturaleza y número de genes que determinan una resistencia específica a un insecticida determinado. Por ejemplo, para una variedad de **Culex quinquefasciatus** de Rangun, resistente X7 al fention obedecía principalmente a la acción de un gen ligeramente

recesivo, mientras que la resistencia que la misma especie de mosquito de Hanfor, CA, EUA, resistente al cis(+) y trans-(+) de permetrina, depende de varios genes que en los gráficos de dosis respuesta, elaborados con datos de retrocruzamiento, no corresponden a los esperados, de acuerdo a la hipótesis de la herencia gobernada por un solo gen (OMS, 1980).

Bases bioquímicas de la resistencia

Los principales mecanismos de resistencia identificados hasta la fecha sin contar los específicos a organoclorados, incluyen:

1) Aceleración del metabolismo del agentes tóxico por medio de: oxidasas de función mixta (OFM), hidrolasas, esterasas y transferasas dependientes del glutatión.

2) Reducción de la susceptibilidad en el sitio de acción por; insensibilidad nerviosa y falta de reactividad de la acetil colinesterasa.

3) Escasa penetración en el sitio activo (OMS, 1980).

Las oxidasas existen en muchos organismos, pueden metabolizar agentes químicos de muy diversas clases. Son mas frecuentes que las esterasas (aunque a menudo en cantidades insuficientes que nos son capaces de degradar el tóxico). A pesar de que se sabe que las OFM intervienen activamente en la resistencia a moscas, lepidopteros y otros insectos, no se ha

definido con presición su participación en la resistencia en los mosquitos.

En estudios donde se han empleado agentes sinergistas en mosquitos junto con los insecticidas a los que estos insectos han mostrado resistencia, no se ha logrado efecto de inhibición de la resistencia, como habría de esperarse, a dicha mezcla, lo que prueba la no participación de la enzima (OFM), pues el butoxido de piperonilo, empleado como agente sinergista, normalmente es un inhibidor de la oxidasas (OMS, 1980, Cremlyn 1982).

Hidrolasas, Esterasas y Transferasas dependientes del glutatión. Las hidrolasas forforotriestéricas y las S-transferasas del glutatión (STG) forman parte de los mecanismos determinantes de la resistencia en ciertas especies y variedades de insectos a los insecticidas organofosforados. Al parecer, intervienen en grado importante en el desarrollo de resistencia en mosquitos. La importancia de tales enzimas, depende a su vez de: i) la estructura del insecticida, ii) su concentración, iii) y probablemente, la etapa de desarrollo del insecto (OMS, 1980).

En la hidrólisis de los insecticidas organofosforados actúan como medidores varias enzimas que causan la degredación de ester fosfórico ó del enlace del anhídrido, el resultado es la detoxificación del compuesto original (Cremlyn 1982, OMS, 1980).

Existen diversas formas de STG, pero aún no se ha determinado su número exacto, ni sus características

específicas. Al parecer, su papel biológico es doble; en primer lugar, la conjugación de los electrofilos lesivos con el glutatión nucleofilo endógeno, protege las macromoléculas contra las posibles consecuencias tóxicas de una reacción covalente. En segundo lugar, las STG, aportan un medio efectivo de excretar tales electrofilos, mediante la formación de un compuesto soluble en agua (OMS, 1980).

Se cree que la actividad inespecífica de la esterasa, que en la electroforesis se manifiesta por la hidrólisis de la alfa-naftil acetato, esté estrechamente ligada con la STG en la resistencia de varios insectos a los insecticidas organosforados. Esta clase de relaciones genéticas, se han observado en mosquitos con resistencia a los organofosforados, incluyendo: **Culex quinquefasciatus** Say y **C. tarsalis** en California; **C. pipiens** en el Sur de Francia; **C. quinquefasciatus** en Africa Oriental, **C. pallens**, **C. quinquefasciatus**, **C. tritaeniorhynchus** y **Aedes aegypti** en Japón. Cuando la resistencia de organofosforados, depende de esterasas, se suprime con el uso del sinergista DEF, útil para detectar este mecanismo. Pero falta aún mucho por descubrir en este campo (OMS, 1980).

Disminución de la sensibilidad del sistema nervioso

Usando principalemente moscas y mosquitos con estudios de electroforesis, sobre este particular se ha encontrado lo siguiente:

1) En las formas larvarias de **Culex quinquefasciatus** y adultos de **A. stephensi** y **M. doméstica**, las terminaciones motrices de los nervios son afectados durante la intoxicación por estos compuestos.

2) En las sinapsis el sitio de acción muestra requerimientos estereoquímicos semejantes a los del sitio donde se produce el efecto tóxico.

3) Este sitio de sinapsis es menos susceptible en las variedades de insectos resistentes.

4) Este sitio también es afectado por el DDT, que según se cree, actúa en los mismos lugares que son afectados por los piretroides.

5) El sitio de acción correspondiente a la sinpsis y en el que ocurre el efecto tóxico, tienen un coeficiente de acción de temperatura negativo y reversibilidad térmica. Estos estudios se han realizado especialmente en insecticidas piretroides y organoclorados (OMS, 1980).

El mecanismo de acción de insensibilidad nerviosa en los piretroides, parece ser que está determinado por un solo factor genético (el gen Kdr) por un medio desconocido que quizas sea el alelismo. Este gen es pricipalmente recesivo y solo da un grado limitado de protección a los heterocigotes, por lo que

puede esperarse que el proceso de selección sea lento, especialmente en poblaciones de insectos en que otros loci (correspondientes a los OFM ó las esterasas) pueden soportar mayor protección en el estado heterocigotico. Por lo tanto, la actividad relativamente intensa de los piretroides que se observa sobre las poblaciones de insectos silvestres, resistentes al DDT, se puede atribuir a una frecuencia relativamente escasa del gen Kdr (en comparación con la dehidroclorinasa y los OFM) en tales poblaciones. Se sabe que la resistencia del gen Kdr en el estado homocigotico proporciona una protección mas alla del alcance de las dosis prácticas de algunos nuevos piretroides (OMS, 1980).

Disminución de la reactividad de la acetilcolinesterasa

La resistencia de los inhibidores de la colinesterasa (en organofosforados y carbámicos), deriva de una **disminución de la reactividad** de la Acetil-colinesterasa, es analoga a la resistencia que obedece a la disminución de la sensibilidad del sistema nervioso, descrita arriba. En ambos casos, parece que el origen viene de presiones selectivas extremadamente intensas y sostenidas. Estudios in vitro han puesto en evidencia importantes diferencias en el grado de inhibición de la enzima por el paraxón y el propoxur en dos variedades resitentes y dos susceptibles de **A. albimanus**. En promedio, la enzima de las variedades resistentes ha sido aproximadamente X500 menos reactiva a paraxón y X15300 menor al propoxur, que la Acetil-

colinesterasa de las variedades susceptibles. De modo similar, los valores comparativos de las Km y Vmax de la enzima, también exhiben diferencias comparando los resistentes con los susceptibles. Estos resultados indican que hay diferencia en las variedades de insectos resistentes con los susceptibles, lo cual, concuerda con datos biológicos de los ensayos realizados in vitro (OMS, 1980).

Monitoreo de la resistencia

Algunos investigadores preocupados por la agudeza del problema de la resistencia, han orientado sus investigaciones, hacia la búsqueda de causas, factores y mecanismos involucrados en ello, como consecuencia, varias publicaciones, (Georghiou 1990, Lee et al 1990, Georghiou et al 1980, 1987, Brown et al 1971, Lagunes 1991, 1977, OMS, 1980, Brown y Pal 1971, Brown 1958, 1971) y otros, han contribuído al conocimiento del tema, con lo cual además de fomentar e incentivar la búsqueda de nuevos conocimientos, también estimula la evaluación de técnicas encaminadas a detectar y cuantificar la resistencia. Georghiou (1980) sugiere la idea de que: i) se deben desarrollar, por parte de los toxicólogos, entomólogos y/o profesionales relacionados con la salud del hombre, la capacidad de cuantificar el riesgo de resistencia de una plaga en una situación determinada y ii) perfeccionar las especificaciones de manejo de los insecticidas, tales como, umbral de la plaga para los tratamientos, formulación y selección del insecticida, entre otros.

Actividades de considerable importancia, en la detección de la resistencia, se han desarrollado, estandarizando métodos de pruebas para los diversos tipos de plagas.

Georghiou y Mellon (1983), citaron a la OMS quienes en (1970, 1972 y 1976), ha publicado los procedimientos y equipo, para detectarla en casi todas las plagas de interés médico-veterinario.

Veintitres métodos estandarizados para unas 36 especies de insectos de importancia agrícola, han sido también publicados por la FAO (Busvine 1980, citado por Georghiou, 1983). Un número menor, por la Sociedad Americana de Entomología.

Basicamente, dos formas generales son las utilizadas para la detección de la resistencia, 1) Establecimiento de una línea base de susceptibilidad de una población normal de la plaga y 2) subsecuentes chequeos rutinarios para establecer "dosis diagnósticas" de resistencia en una población bajo presión selectiva por insecticidas. Dichas pruebas se basan en los registros de mortalidad de la plaga después del contacto con el insecticida, determinando los dosis o concentraciones que matan el 50 ó 99% de mortalidad; en el 1er. caso, usando varias dosis y una sola en el caso de las dosis diagnósticas.

Más recientemente, se han probado procedimientos bioquímicos mediante los cuales, se pueden detectar esterasas involucrada en la degradación del insecticidas organofosforados y carbamatos, sin necesidad de determinar la relación dosis-mortalidad como se hace en los bioensayos (Georghiou, 1980).

Bioensayos para determinar susceptibilidad o resistencia

En la determinación de la resistencia de los insectos a los insecticidas en el laboratorio, existen diversos procedimientos, pero cada uno de ellos se adapta más ó menos a determinada plaga, en función de la especie, hábitat, estado biológico, etc. (Reynolds, 1962). Uno de los factores que mayormente influye en la selección del bioensayo es la entrada del tóxico al insecto, através de exoesqueleto y sus partes asociadas, tracto digestivo y sistema respiratorio.

En las técnicas de los bioensayos las mortalidades se determinan en uno o varios individuos que fueron sometidos al insecticida después de un determinado período de exposición. Los bioensayos más utilizados para este propósito son:

1.- Técnica de aplicación tópica, que consiste en la aplicación de un determinado volumen de la sustancia que contiene el tóxico, vía dorsal del insecto, entre el 2° y 3° segmentos toráxicos, como método comunmente usado para obtener las LD50 y LD90, con más exactitud que otros métodos. Esta técnica requiere equipo especial y se aplica individualmente a cada insecto de prueba (Hoskings y Gordon, 1956).

2.- **Métodos de película residual para venenos de contacto:**

a) Papel filtro impregnado con un volumen y concentración determinadas del ingrediente activo.- con discos de papel que son introducidos internamente en frascos con 2.0 pulgadas de diámetro y 5.0 de largo, de plástico ó vidrio en los cuales son

expuestos los insectos de prueba, para que al posarse en las paredes de dichos pomos se pongan en contacto con el plaguicida. Los mosquitos transmisores de patógenos (virus, protozooarios, nematodos, etc.), son los que mas comunmente se someten a este tipo de pruebas. Pero también lo recomiendan para otros insectos de interés médico-veterinario, símulidos, mosca de los arenales; además en pulgas y chinches, pero en cilindros mas delgados, estas últimas. Este método ha sido adaptado por la OMS, (Busvine y Nash, 1953) citados por Busvine (1971). Asi mismo el método se usa también para bioensayos en moscas del ganado **Hylemya brassicae** e **H. antigua** y para garrapatas del ganado **Boophilus microplus**, en Australia, procedimiento adoptado principalmente por la FAO como método estandar (Busvine, 1971).

b) Usando vidrio como superficie para la película residual.-Usando esta superficie es para determinar la resistencia ó susceptibilidad en cucarachas, principalmente: En función del tiempo letal cincuenta (TL50). Para ello el insecticida se disuelve en un disolvente volátil, se aplica un volumen determinado a la superficie interna del frasco y se deja que el solvente se volatilice para luego introducirse los insectos y determinar la mortalidad a diferentes intervalos de tiempo. Esta técnica también se ha usado en otras plagas, pero la desconfianza por la impredecible formación de cristales del insecticida ha originado la tendencia a usar aplicaciones tópicas ó papel impregnado, sobre todo en plagas diferentes a

las cucarachas (Busvine, 1971).

c) Residuos sobre tela.- Método estandar de la OMS, que consiste en impregnar superficies de tela con un polvo insecticida, para luego exponer al insecto de prueba al tóxico que se desea probar (comunmente piojos picadores del hombre). Sin embargo, en los E.U., publicaciones anteriores han mostrado otro método común para el mismo propósito usando DDT, el cual consiste básicamente en la impregnación de una tela con una solución del insecticida de contacto con diferentes dosis. Se dejan secar las telas y se agregan los insectos, manteniendo temperatura constante y se checa mortalidad de los piojos al siguiente día (24 horas después de la exposición). Busvine, (1971).

d) Venenos estomacales usados como residuo en hojas ó follaje para insectos masticadores.- Busvine (1971) describió el método, el cual está basado en el uso de hojas tratadas con el insecticida en forma de polvo, por diferencia de pesos de la hojas tratadas antes ó después de la aplicación del insecticida, considerando también la parte de tejido ingerida por el insecto, es como se determina la dosis real que origina los niveles de mortalidad que se checan. El tratamiento de las hojas puede hacerse por aspersión, inmersión ó espolvoreo.

Existen otras técnicas, pero los descritos arriba son los mas usuales que han sido adoptados por la OMS, FAO y otras instituciones relacionadas en alguna forma con el control de plagas.

Otros métodos en los que no se considera la dosis-mortalidad como elemento básico para medir la respuesta del insecto al insecticida.

1.- **Uso de sustancias antirresistentes.** Cuando la resistencia a los insecticidas depende de enzimas tipo esterasas, es posible nulificar el efecto degradativo de éstas en el insecto resistente, añadiendo una sustancia que se le ha denominado antirresistente, Ejemplo. el compuesto sinergista DER®; ó butoxido de piperonilo a los piretroides, si la enzima degradativa clave es la OFM. Contra insectos resistentes al DDT, en los que la DDT-hidroclorinasa es la principal fuente de degradación, se usa el antirresistente WARF®. (Cremlin, 1982, OMS, 1980).

2.- **Detección ó medición de la actividad de esterasas.-** Un método relativamente novedoso para la detección de resistencia de un insecto a un determinado insecticida es la detección de la enzima y su actividad. Lee, (1990) utiliza el método de ELISA para detectar la actividad de la esterasa B_1, responsable de resistencia de mosquitos del género **Culex** a organofosforados. La ventaja del procedimiento en cuestión, es que en forma mas rápida y menor número de insectos, es factible realizar la prueba.

La OMS (1980) en el Anexo 2, Quinto Informe del Comité de Expertos, incluye una referencia de dosis diagnósticas para algunos mosquitos de interés en salud pública, la cual se muestra en la tabla 4. Este método se basa en las

concentraciones mínimas del insecticida, que es una larga serie de ensayos de laboratorio y campo hayan causado la muerte de todos los integrantes de diversas poblaciones de vectores susceptibles, esto es, la dosis diagnóstica es aquella que mata solo los insectos normalmente susceptibles, cuyo dosis está entre los límites de confianza de LC99. Este método ha sido recomendado para detección de resistencia a Mosquitos Anopheles, Culex y Aedes, por la OMS (Georghiou, 1983).

Tabla No. 4 Dosis diagnósticas para bioensayos en larvas de mosquitos (mg/L.).

Insecticida	Anofelinos	Culex quinquefasciatus	Aedes aegypti
DDT	2.5	-	0.05
Dieldrin	0.1	-	0.1
Malatión	3.125	1.0	1.0
Fenitrotión	0.125	0.125	0.6
Fentión	0.05	0.05	0.05
Temefos	0.25	0.02	0.02
Cloropirifós	0.025	0.01	0.01

OMS/VBC/81 Y 83.8655

En los métodos establecidos por la OMS, citados arriba, no solo se obtiene información del nivel de resistencia a determinado insecticida, sino que se puede descubrir la resistencia cruzada, hasta es posible la detección de agregación genética, necesaria para descubrir los genes involucrados en forma individual. Además, se determinan los niveles de susceptibilidad y es posible caracterizar la

resistencia de homocigotes susceptibles. Asi mismo, se pueden posteriormente, identificar los fenotipos a nivel de campo (Brown, 1972).

De acuerdo a Busvine (1960), un reporte para la OMS no publicado, citado por Brown (1971), las características de los métodos estandares para el estudio de la resistencia deben ser, sencillos, precisos y confiables.

Desde 1960, la OMS inicia un programa tendiente a evaluar productos insecticidas potencialmente útiles contra insectos de importancia en salud pública. En ese programa no se incluyen los de uso antiguo (DDT, HCH, Dieldrin, Malatión, Fenitrotión, Fention, Propoxur y Temefós, sino un grupo de adulticidas y larvicidas relativamente nuevos, Ejm. Landrin, Clorofoxim, Pirimifos metil, Permetrina, Decametrina, Bendiocarb, Cloropirifos, Jodenfos, y reguladores de crecimiento, Metopreno, Diflubenzurón. Cuyos resultados de toxicidad y estabilidad han sido satisfactorios en las pruebas preliminares, (OMS, 1980).

Medidas para contrarestar la resistencia

Georghiou (1987) propone algunas ideas para el manejo de la resistencia cuyo objetivo es retrazar en lo posible su avance. El resumen de esta idea, puede agruparse en tres clases principales de manejo: 1) Manejo de la resistencia por "moderación", 2) manejo por "saturación" y 3) manejo por

"ataque múltiple". Para el primer caso, se maneja el concepto de que los genes susceptibles son recursos valiosos que pueden ser conservados, mientras se está usando el control químico, mediante una serie de medidas propuestas: como baja dosis que produzca menos del 100% de muertes en los individuos con gene susceptibles, aplicaciones menos frecuentes, aplicaciones localizadas o limitadas, preservación de "refugio", dejar algunas generaciones sin tratar y uso de químicos poco persistentes. El segundo caso, se basa en el concepto de que se deben eliminar las ventajas selectivas de los fenotipos resistentes, mediante la "saturación" de los mecanismos de defensa; ello se puede lograr suministrando genes de resistencia, "funcionalmente" resecivos, suprimiendo enzimas degradativas con altas dosis sobre la "Población Blanco" puede favorecer lo anterior debido a que RS=SS. También sinergistas apropiados, pueden eliminar efecto degradativo de enzimas específicas, suprimiendo la capacidad de resistencia de los genes RS y RR. Para el tercer caso, se recomienda el uso de mezclas de insecticidas de aplicaciones rotativas de los químicos y plaguicidas con multisitios de acción.

Lagunes (1991), recomienda una serie de medidas específicas:

1) Uso de insecticidas no residuales.
2) El plaguicida a usarse no debe estar relacionado con otro usado anteriormente, con respecto al mecanismo de resistencia.
3) La formulación no debe ser de liberación prolongada en el

medio ambiente.

4) Las aplicaciones deben hacerse cuando las poblaciones alcancen relativamente altos niveles de densidad, para evitar mayor número de aplicaciones.

5) El porcentaje de selección debe ser solo suficiente para mantener la población por debajo del umbral económico.

6) Seleccionar de preferencia adultos.

7) Hacer aplicaciones localizadas, en vez de cubrimientos totales.

8) Deben dejarse algunas generaciones sin seleccionar.

EFECTOS DE DOSIS SUBLETALES DE INSECTICIDAS SOBRE EL POTENCIAL BIOTICO DEL INSECTO

Hormoligosis

La hipótesis de hormoligosis, corcerniente a que dosis pequeñas de productos estresantes, entre ellos, los insecticidas puede incluir efectos estimulantes sobre el potencial biótico de los insectos tratados, fué probada por Luckey (1968). Al someter a prueba el grillo doméstico, **Achaeta domesticus** (L.) con varios insecticidas. Encontrando que concentraciones específicas para cada tóxico probado produjeron los efectos esperados en la biología del insecto, como respuesta a condiciones adversas del tóxico.

La mayoría de los estudios publicados sobre hormoligosis con insectos y ácaros que han sido tratados con pesticidas, fueron relacionados con los efectos en la fecundidad del artrópodo (Morse y Zareh, 1991).

Ball et al (1979), escribió firma que Bartlett (1968) citó a numerosos autores, quienes presentan evidencias de efectos estimulatorios de insecticidas organoclorados sobre la fecundidad de ácaros.

Influencia de condición genética en efectos de dosis subletales.

Brown (1971) en su monografía Insecticide Resistance in Arthropods, citó varios ejemplos de investigadores que han estudiado el efecto de dosis subletales de varios insecticidas, haciendo énfasis en la condición génetica que pudiera influir en el incremento ó reducción de la fertilidad ó fecundidad del insecto tratado. A continuación se seleccionan algunos ejemplos:

TABLA No. 5 * que muestra los efectos de dosis subletales de varios insecticidas en la fecundidad y longevidad de los insectos que se indican.

INSECTICIDA	EFECTO	CARACTERISTICAS DE LAS ESPECIES	ESPECIES	INVESTIGADOR (ES)
Malatión	Incremento en la fecundidad	Insectos seleccionados con malatión	**M. domestica**	Ouye y Knuson, (1957).
DDT	Incremento del 9% en folículos.	-	**Aedes aegypti**	Suterland, Beam y Gupta, (1967).
DDT	No redujo la fecundidad	Exposición sucesiva por 7 generaciones en línea susceptible.	**Aedes aegypti**	Havertz y Curtin, (1967).
DDT	Incremento de folículos en un 16-19%	Línea susceptible	**Culex pipiens**	Zaghloul y Brown, (1968).
DDT y Diazinón	Redujeron oviposición, prole y sobrevivientes larvales.	Líneas resistentes	**M. domestica y Culex sp.**	Zaghloul, Brown, Hunter y Kutkom (1968) y Kolkaila, (1958).
DDT	Redujo 50% fecundidad y retraso oviposición.	Línea seleccionada con DDT	**Culex sp.**	Lineava y Thomas, (1962).

* Datos resumidos de la monografía de Brown, 1971, citada arriba.

Otros casos relacionados con alteraciones en el potencial biótico.

No obstante, que la tendencia de reducción en la fecundidad parece ser, en las razas de insectos resistentes (Brown, 1971), en un estudio publicado por Ferrari et al (1981), no encontró diferencia a dicha reducción entre razas de **Culex quinquefasciatus** Say, RR (resistentes), SS (susceptibles) y SR (parcialmente resistentes), a niveles de dosis de CL50 y menores.

Definición e Interpretación del término Dosis Subletales.

Sutherland et al (1967), en un estudio con mosquito **Aedes aegypti** (L.), expuestos a dosis subletales de DDT, Dieldrin y Malatión, dice que el término "subletal" puede ser usado para una dosis del insecticida que no causa mortalidad en el insecto. Pero agrega que debe haber una unidad de medición para expresar dosis subletales y propone el símbolo SL max (subletal máxima), como la expresión más apropiada y la define como la concentración "Máxima en la cual ocurre mortalidad no mayor al 0.1% comparada con la que ocurre en la población usada como control". Con esta base, los niveles menores a esta, pueden ser expresados, como una fracción de la SL max, Ejemplo: 0.5% de SL max.

Variaciones en las respuestas.

De los efectos para las dosis subletales, numerosos ejemplos de respuestas contradictorias sobre la fecundidad y longevidad de insectos, asi como de ácaros, han sido publicados

por diversos investigadores. Saini y Cutkom (1966), Sutherland et al (1967), Ball y Su (1979), Maggi y Leigh (1983), notaron incrementos en el potencial Biótico; pero Ferrari y Georghiou (1981), Smirle et al (1983), Chou-Ling et al (1989), Hamilton y Schol (1990), así como Appel y Abd-Elghafar (1990), señalaron reducción de fecundidad y longevidad en varios artrópodos sobrevivientes de la exposición a dosis subletales de diversos insecticidas.

MATERIAL Y METODOS

Larvicidas. El paratión metílico CE-50® y malatión ® (toxitión CE-50) fueron obtenidos de centros comerciales de Monterrey, N.L. Fention, temefós y fenitrotión, fueron preparaciones estandarizadas aportadas por la OMS.

Insectos. Larvas del cuarto estadío temprano provenientes de huevos colectados en el Rio Pesquería, Escobedo, N.L. fueron usadas para los bioensayos del mosquito **Culex pipiens quinquefasciatus** Say.

Condiciones de laboratorio. 25 + 4 C°, 70% de HR, alimento cuyos componentes fueron una mezcla de cereal, levadura y alimento para perro marca "Apican", en relación 2:2:1, suministrándola a las larvas. Sangre de pollo, azúcar al 15% y agua para los adultos.

Bioensayos. Se efectuaron bioensayos con cuatro repeticiones por prueba de acuerdo al procedimiento propuesto por la OMS (1981) con algunas modificaciones. Los valores de las CL50 y CL90 (ppm) se obtuvieron de poblaciones larvales, las cuales fueron colocadas en charolas de peltre de 15x12x6 cm para su desarrollo. Se separaron 20 lotes de 25 individuos cada uno, en vasitos pequeños con 25 ml. de agua declorada. Por separado, en 225 ml de agua (también declorada), se prepararon cuatro concentraciones de cada larvicida por cuadruplicado, obteniéndose un total de 16 por insecticida, otro número igual, pero sin larvicida (solo con el disolvente del ingrediente activo) fué preparado también para usarlo en los insectos control. Después de 15 a 20 minutos posteriores a la

preparación de las diluciones y previa agitación de éstas por espacio de no menos de 30 segundos, se procedió a la introducción de las larvas a los vasos preparados para la prueba en sus respectivas concentraciones.

El período de exposición fué de 24 horas, al cabo del cual, los conteos de mortalidad fueron realizados. Después de algunos bioensayos preliminares se consiguieron las concentraciones definitivas para cada larvicida, en consecuencia, se ajustaron los límites de mortalidad larval, de tal forma, que la mayor no rebasara el 90% y la menor el 10% (W.H.O. 1981). Durante los bioensayos, la temperatura del agua en las diluciones se mantuvo alrededor de 25 C°. Cuando la metamorfósis de las larvas rebasaba el 10% en los testigos, se deshechaban los experimentos. Las CL50 y Cl90 se calcularon por medio de análisis probit (Finney, 1970).

Procedimiento para los bioensayos con dosis a nivel de CL50:
Los insectos usados para este estudio fueron colectados en estado larval de criaderos naturales del Río Pesquería, Escobedo, Nuevo León. Para que continuasen su desarrollo, fueron puestas en charolas de peltre de 20x12x6 cm. y alimentadas con una mezcla de alimento para perro mas una cantidad igual de cereal enriquecida con levadura de cerveza. Los adultos se confinaron a jaulas de 40x40x35 cm las hembras fueron alimentadas con sangre de pollo y los machos con una solución azucarada al 15%.

De la generación F1 se obtuvieron los huevos, que habrían

de tratarse con cada larvicida para los bioensayos, cuya relación entre el número de éstos y cada larvicida fué como sigue: 400 huevos fueron expuestos al Paratión, 500 al fenitrotión y 1000 a los larvicidas restantes (Malatión, Temefós y Fentión). Por duplicado se colocaron en charolas de plástico de 26x19x8 cm a temperatura de 25 + 5 °C y 70% + 5% de H.R., incluyendo sus respectivos controles.

En lo sucesivo, en los que sobrevivieron a las dosis subletales LC50s, se registró diariamente, mortalidad y sobrevivencia larval. Los insectos que alcanzaron el estado adulto, se distribuyeron equitativamente, machos y hembras, en jaulas construídas con madera y tela mosquitera, de 20x20x20 cm. Se alimentaron cada tercer día con sangre de pollo y solución azucarada, se colocaron recipientes con agua declorada dentro de cada jaula, tanto en los tratamientos como en los controles para la oviposición de las hembras.

Durante la vida del insecto se registraron también diariamente, número de sobrevivientes, número de muertos y total de huevos para cada jaula, hasta que murió el último insecto.

Con los registros así obtenidos de los insectos tratados y la construcción de tablas de vida-fecundidad, se calcularon los parámetros (Ro, rc, rm, Lamda, Tc). (Lotka, 1909; Dublin y Lotka, 1925; Andrewartha y Birch, 1974) citados por Martínez (1992).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Nivel de Resistencia

Los valores de las CL50 y CL90 obtenidos en larvas de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say para malatión ®, paratión metílico ®, temefós, fentión y fenitrotión, fueron: 0.031 y 0.066, 0.001 y 0.003, 0.0016 y 0.0091, 0.003 y 0.006, 0.007 y 0.033 ppm. respectivamente para ambos niveles de susceptibilidad. Estos resultados indican que el grado de resistencia de **Culex** fué bajo. Sin embargo, un análisis mas detallado para cada larvicida nos dará una mejor idea de esta situación.

Comparando las CL50s entre cada uno de los larvicidas de esta investigación, encontramos que el de mayor potencia tóxica resultó ser el paratión metílico ®, seguido muy de cerca por el temefós, luego fention, fenitrotión y finalmente malatión ®. Los extremos los ocuparon paratión ® y malatión ®, mayor y menor toxicidad respectivamente; ubicándose en sitio intermedio fentión y fenitrotión.

Pero, considerando los valores de CL50s publicados por la OMS (1981). Además de otras investigaciones (Tabla No. 4), la relación de toxicidad, arriba señalada fué diferente, por ejemplo: el temefós resultó 4.7 veces menor que el referido por la OMS, malatión ® fué similar, es decir solamente 0.886 menor. Paratión metílico ® 0.0625 veces menor, fentión 1.5 y fenitrotión 1.7 veces menor.

Por lo que para el orden de tal relación, el paratión metílico ® queda ahora en primer sitio, seguido de malatión ®,

fentión, fenitrotión y finalmente temefós. Así mismo, resultados mayores, 0.0016 y 0.0054 en Paratión; 0.042 y 0.14 en Malatión) para las LC50s LC90s respectivamente, probados en **Culex** sp. fueron reportados por Lagunes et al (1982).

La tabla 1 muestra que las X^2 de valores calculados, casi en todos los insecticidas fueron menores a los de las X^2 de tablas, con un 0.05 de probabilidad característica indicativa de homogenidad de las larvas usadas en la investigación.

Por los resultados anteriores, se puede deducir que la susceptibilidad del mosquito usado en las pruebas es aceptable, desde el punto de vista de aplicación práctica, ya que casi todos los larvicidas tienen un valor de razón de resistencia menor de 2 unidades, excepto el temefós, el cual tiene 4.7.

No obstante, ninguno rebasa el límite de las 10 unidades, criterio aplicable a los estados larvales de los culícidos, para que sean considerados en la categoría de resistencia (Brown y Pall 1971).

Efecto de LC50, sobre parámetros de desarrollo.

Los parámetros de crecimiento (Ro, r_m, lamda) y T_c tiempo de cohorte, obtenidos construyendo tablas de vida-fertilidad, bajo la influencia de dosis subletales de los insecticidas, arriba señalados, en los mosquitos que sobrevivieron a los tratamientos, indican una reducción de la fecudidad comparados con los no tratados (controles), excepto los tratados con fenitrotión, los cuales, la incrementaron. En todos los casos, el tiempo de desarrollo, registraron valores contrarios a los parámetros de crecimiento, a excepción con fentión (Tabla 1).

Así mismo, un análisis estadístico de comparación de medias con una prueba de t para dos muestras de a p = 5%, muestró que solo con malatión® y fentión se obtuvo diferencia significativa entre el tratamiento y control, (Tabla 3); respecto al número de huevos producidos por las hembras usadas en esta investigación.

Esta misma situación se puede apreciar con mas detalle en las gráficas de curva de reproducción de edad específica, en las cuales, los tratamientos de ambos insecticidas señalados arriba (malatión y fentión) presentaron picos más altos que sus respectivos controles. En cambio, en los 3 insecticidas restantes, no se aprecia marcada diferencia, aunque en fenitrotión los períodos de oviposición de ambas poblaciones (tratamiento y control) no coinciden como en el resto de los insecticidas.

En cuanto al tiempo, las curvas de supervivencia en general, muestran una mayor mortalidad del mosquito en los primeros 20 días de su ciclo de vida, siendo mas notoria esta tendencia en las poblaciones utilizadas como tratamiento, pero mas drasticamente en los tratamientos con fenitrotión, lo que concuerda con los valores de Tc de la tabla No. 2

En términos generales, se obtuvo lo que se esperaba en la fecundidad de los mosquitos tratados, es decir, hubo variaciones en la fecundidad de las hembras, pero estas no sucedieron en el mismo sentido, como ya se dijo, anteriormente, porque si bien en cuatro de los cinco insecticidas investigados se redujo la fecundidad, esta no sucedió con fenitrotión.

Algo que llama la atención en relación a los índices de crecimiento y el tiempo de desarrollo del insecto investigado es el sentido de crecimiento o reducción que ocurre entre estos dos parámetros, ya que mientras la fecundidad tiende a reducirse en los tratamientos el tiempo se incrementa.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Los insecticidas probados en **Culex pipiens quinquefasciatus** Say, resultaron aún efectivos contra esta plaga, desde el punto de vista de las aplicaciones prácticas para su control, a excepción del temefós, para el que persiste duda de si el alto valor de la CL50= 0.0016 ppm con 4.7 mayor respecto al valor reportado por la OMS (1980).

- En cuanto a los efectos de las dosis a nivel de CL50 en el potencial biótico, fecundidad y longevidad, hubo alteración en estos parámetros; lo cual concuerda con otras investigaciones (Sainini y Kutkom, 1966; Sutherland et al 1967; Ball y Su, 1979; Maggi y Leich, 1983; Ferrari y Georghiou, 1983; Chou-Ling et al, 1989; Hamilton y Schol, 1990) quienes publicaron resultados de incremento o decremento en los parámetros poblacionales, arriba señalados, por lo que aún no se encontraron patrones definitivos de la dirección en dichos cambios. Aún faltan estudios que contemplen otros factores que pudieran ejercer su influencia en ello.

BIBLIOGRAFIA CITADA

AMCA. 1970. Manual for Mosquito Rearing an Experimental Tecniques. Boletin No. 5 pp. 72-73.

Andrewartha, H.G. and L.C. Birch. 1974. The distribution and abundance of Animals.

Appel, A.G. and S.F. Abd-Elghafar. 1990. Toxicity, Sublethal Effects, and Performance of Sufluaramid Against The German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). J. Econ. Entomol. 83 (4): 1409-1414.

Ball H.J. and P. Su. 1979. Effect of Sublethal Dosages of Carbofuran and Carbaryl on Fecundity and Longevity of The Female Western Corn Rootworm. J. Econ. Entomol. 72 (6): 873-876.

Birch, L.G. 1948. The Intrisic rate of Natural Increase of an Insect Population. J. Anim. Ecol. 17: 15-26.

Brown, A.W.A. and R. Pall. 1971.
Insecticide Resistence in Arthropods. WHO Monogr. Ser. No. 38:9, 53-57 pp.

Browm, A.W.A. 1958. The World Heath Organization Test Kit For Detection of Resistence in Mosquitoe Larvae. Articles Mosquito News. 18 (2): 128-129.

Bumgartner. 1987. Importance of Contruction sities as Faci for Urban Culex in Illinois. J. of American Mosquito Association 3 (1): 26-34.

Busvine J.R. 1971.
A Critical Review of the Tecniques for Testine Insecticides, C.A.B. pp. 126, 127, 128.

Chou-Ling, H., F. Chang, H.F. Mower, L.J. Goves and L. Jurd. 1989. Effect of Orally Administered 5-Ethoxy-6 [14-Metoxiphenyl] Metyl-1-3-Benzodioxole on Reproduction of Mediterranean Fruit Fly (Diptera:Tephritidae). J. Econ. Entomol. 82 (4):1046-1053.

Cremlin, R. 1982. Plaguicidas Modernos y su acción Bioquímica. Ed. Limusa. pp. 141, 143, 146.

Curtis, C.F., L.M. Cook y R.J. Wood 1978. Selection for and against insecticide resistence and possible methods of inhibitiong the evolution of resistence in Mosquitoes, Ecol. Entomol. 30-273.

Ferrari, J.A. and G.P. Georghiou. 1981. Effects of Insecticidial Selection and Treatment of Reproductive Potential of Resistant, Susceptible, and Heterozygous Strins of the Southern House Mosquito. J. Econ. Entomol. 74 (3): 323-327.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. pp. 335

Gerberg E.J., T.M. Hopkins and J.W., Centry 1969. Mass rearing of **Culex pipiens** L. Mosq. News. 29: 382-385.

Georghiou G.P. 1980.
Insecticides Resistance and Prospects for its management. Residue Reviews, Vol. 76 pp. 136.

Georghiou, G.P. 1990. Managing Resistence to Agrochemicals from Fundamental Research to Practical Strategies ACS Symposium Series 421, pp. 19-21.

Georghiou, G.P. 1986.
The Magnitude of The Resistance Problem. In Peslicide Resistance: Strategies and Tactics for Management. Proc. Symposium on Management of Resistance of Pesticide to Pesticide. National Acad. Sci., Whashington, D.C. pp. 14-43.

Georghiou G.P. 1987. Manangement fo Resistance. "Insecticides and Pest Resistence: The Consequence and Abuse" 36th Annual Faculty Research Lecture. pp. 16-23.

Georghiou, G.P. and C.E. Taylor. 1977a.
Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticide Resistence. Journal of Econ. Entomol. 70 (3): 319-323.

Georghiou, G.P. and C.E. Taylor. 1977b. Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticides Resistence. J. Econ. Entomol. pp. 70-319.

Georghiou, G.P. and R.B. Mellon. 1983. Pesticides Resistence in Time and Spasce. 46 pp.

Georghiou, G.P. and N. Pasteur. 1980. Organophosphorate Resistence and Esterase Pattern in a Natural Population of the Southern House Mosquito form California. Journal of Econ. Entomol. 73 (3): 489-492.

Hamilton, R.L. and C. Schol. 1990. Sublethal Effects of Cloropiryphos-Metil on Reproduction in Female German Cockroach (Dictyoptera:Blatellidae). J. of Econ. Entomol. 83 (3): 441-443.

Hunter G., Werye W.N. Zwartzweider. S.C. 1973. Manual de Medican Tropical. 1a. Edition. La Prensa Médica Mexicana. pp.1072.

Hoskings, W.M. y H.T. Gordon. 1956. Arthropoda Resistence to chemicals. Ann. Rev. Ent. 1,89-122.

James, M. and Harvood R. 1972. Medican Entomology, 7th Edition, Mac. Millan-Publishings. Co. Inc. pp.484

Lagunes, T.A. 1977. Resistence Deferencial a Insecticidas en Eliotha sp. (Lepidoptera:Nocticidae) en algodón, tomate y maíz en México. Tesis de Maestría. pp. 10,13.

Lagunes, T.A. 1991. Notas del Curso de Toxicología y Manejo de Insecticidas. Centro de Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados pp. 170-171.

Lee, G.J., N. Pasteur and G.P. Georghiou 1990. Preliminary Results of An Elisa Test for Detection of Organophosphate Resistence in Culex Population Due to Incresed Detoxification by Esterasa.

Luckey, T.D. 1968. Insecticides Hormoligosis Journal of Econ. Entomol. 61 (1): 7-12.

Maggi V.L. and T.F. Leigh. 1983. Fecundity Response of the Twospotted Spider Mite'to Cotton Treated With Methyl Paration of Phosforic acid. J. Econ. Entomol. 76 (1): 20-25.

Martínez, H. M. A. 1992. Biología y Tablas de vida de **Oligonychus pratensis** Banks (Acari:Tetranychidae) bajo condiciones de Laboratorio con algunas observaciones de campo. Tesis de Licenciatura. pp. 29.

Morse, J.G. and N. Zareh. 1991. Pesticide Induced Hormoligosis of Citrus Thrips (Thysonaptera:Thripidae) Fecundity. J. Econ. Entomol. 84 (4): 1169-1174.

Nieto, J. P. 1984. Bioestadística. Editorial CECSA. pp. 111.

OMS/BVA. 1980. Resistencia de los Vectores de Enfermedades a los Plaguicidas. 5° Informe No. 655. 55, 44, 46, 56 y 57 pp.

Reynolds, H.T. 1962. Standardized Laboratory Detection Methods for Resistance Delection in Agricultural Arthropds Pests. Ball. Entomol. Soc. Amer. 8: 9-14.

Saini, R.S. and L.K. Cutkom. 1966. The effects of DDT and Sublethal Doses of Dicofol on Reproduction fo the two Sptted Spides Mite. J. Econ. Entomol. 59 (2): 249-252.

Smirle M.J., M.L. Wiston and Woodwardo 1984. Devclopet of sensitive Broassy for Evaluating Sublethal Pesticide Effects on the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. 77(1): 63-67.

Sokal, R.R. y F.J. Roholf. 1969. "Biometría, Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica". pp. 409-414.

Sutherland D., F.D. Beam, and A.P. Gupta. 1967. The effects on Mosquitoes of Sublethal Exposure to insecticides I. DDT, Dieldrin, Malathión and The Bassal Follicles of **Aedes aegypti** (L). Mosquito News. 27(3): 316-323.

W.H.O. 1981.
Procedimiento para determinar la susceptibilidad ó resistencia de larvas de mosquitos a los compuestos organofosforados y cambamatos. Anexo 2B en Instructions for Determining Susceptibility or resistence of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.807.

INDICE
DE
TABLAS Y GRAFICAS

TABLA No. 1

Valores de los CL50 y CL90 obtenidos en base a las mortalidades larvales @ de **Culex piepiens quinquefasciatus** Say a las 24hs. de exposición para los larvicidas que se indican.

LARVICIDA	CL50 (ppm)	I.C.* L.S.	I.C.* L.I.	X^2 CALCULADA	CL90	ECUACION DE REGRESION
PARATION ® METILICO	0.001	0.001	0.001	0.661	0.003	Y=7.5 + 2.63X
MALATION ® (TOXITION)	0.031	0.034	0.028	3.074	0.066	Y=3.96 + 2.63X
TEMEFOS (ABATE)	0.0016	0.0023	0.0011	0.90	0.0091	Y=2.91 + 1.73X
FENITROTION**	0.007	0.009	0.006	5.284	0.033	Y=5.28 + 1.97X
FENTION**	0.003	0.003	0.002	6.594	0.006	Y=3.98 + 7.33X

* Intervalo de confianza con 95% de confianza.

** Larvicidas proporcionados por la OMS (Organización Mundial de la Salud).

@ Los insectos utilizados en las pruebas fueron larvas del cuarto estadío larval temprano ó tercero avanzado.

NOTA: Los valores de las X^2 de tablas fueron en la mayoría de los bioensayos de 5.991.

TABLA No. 2

Tabla de fecundidad para Cx. pipiens quinquefasciatus Say tratados con dosis* subletales de los insecticidas que se indican.

LARVICIDA	BIOENSAYO	PARAMETROS CALCULADOS			
		Ro	Tc	rm	Lamda
PARATION ® METILICO	TRATAMIENTO	2.853	24.660	0.0426	1.043
	CONTROL	4.229	24.517	0.0592	1.061
FENITROTION	TRATAMIENTO	1.930	28.119	0.0237	1.024
	CONTROL	1.105	32.405	0.0031	1.003
MALATION (TOXITION ®)	TRATAMIENTO	4.126	23.659	0.0592	1.061
	CONTROL	4.245	22.050	0.0661	1.068
FENTION	TRATAMIENTO	3.381	22.279	0.0554	1.057
	CONTROL	5.604	22.371	0.0781	1.081
TEMEFOS (ABATE)	TRATAMIENTO	3.411	22.645	0.0549	1.056
	CONTROL	7.640	21.344	0.0974	1.102

* Se usaron dosis a nivel de CL50.

** Paratión metílico y malatión fueron obtenidos como formulaciones comerciales. Temefós, fentión y fenitrotión, fueron donados por la OMS.

TABLA No. 3

Promedio de huevecillos/barquilla/hembra de **Culex pipiens quinquefasciatus** Say tratados a nivel de larva con una dosis subletal* de cada insecticida que se indica y analizados con una prueba estadística de t para dos muestras.

INSECTICIDA	BIOENSAYO	PARAMETROS a/				
		$\sum_{i=1} X$	$\bar{X}$	S^2	t_c	t_{05}
PARATION ® METILICO	TRATAMIENTO	106.992	17.832	20.250	1.593	NS 2.306
	CONTROL	108.840	27.210	114.215		
FENITROTION	TRATAMIENTO	128.224	21.370	87.335	1.099	NS 5.72
	CONTROL	151.910	37.977	854.45		
MALATION ®	TRATAMIENTO	169.207	14.00	17.297	3.402	S 2.206
	CONTROL	104.007	9.455	3.873		
FENTION	TRATAMIENTO	177.975	13.690	27.726	2.314	S 2.175
	CONTROL	139.051	9.932	7.046		
TEMEFOS	TRATAMIENTO	238.037	17.027	17.899	1.695	NS 2.53
	CONTROL	235.342	15.689	30.337		

* Dosis usadas para estudiar los efectos de dosis subletales a nivel de LC50.

S Significativo (P = 0.05)

NS No significativo. ® Productos adquiridos del medio comercial.

a/ Cálculos en base a Nieto (1984), Reyes (1987), Sokal y James (1969)

TABLA No. 4

Comparación de LC50 y LC90 s. de los larvicidas que se indican, probados sobre algunas sp. de **Culex**, con varios estudios y el que se reporta aquí.

LARVICIDA	NIVEL DE TOXICIDAD** CL50	CL90	REFERENCIAS	ESPECIES	VALOR COMPARATIVO*
PARATION METILICO	0.001	0.003	Raúl T. Z. et al.,(1991)	**Culex pipiens q.**	0.0625
	0.016	0.054	Lagunes y et al.,(1982)	**Culex sp.**	
	0.025	0.036	Hamon, J. y Sales,(1967)	**Culex fatigans**	
FENTION	0.003	0.006	Raúl T.Z. y et al.,(1991)	**Culex pipiens q.**	1.5
	0.002	0.0057	Angeles, S. (1989)	**Culex pipiens q.**	
	0.0023	0.0048	Kuhlow, F. (1964)	**Culex pipiens**	
FENITROTION	0.007	0.033	Raúl T.Z. y et al.,(1991)	**Culex pipiens q.**	1.7
	0.0041	0.01	Keppler, W.J. et al.,(1965)	**Culex pipiens**	
TEMEFOS (ABATE)	0.0016	0.0091	Raúl T.Z. y et al.,(1991)	**Culex pipiens q.**	4.7
	0.00039	0.0007	Mouchet, J. (1966)	**Culex fatigans**	
	0.00034	0.00056	Angeles, S. (1989)	**Culex pipiens q.**	
MALATION (TOXITION)	0.031	0.066	Raúl T.Z. y et al.,(1991)	**Culex pipiens q.**	0.886
	0.026[a]	0.076	Leza, M. y et al.,(1990)	**Culex pipiens q.**	
	0.035	0.073	Kurihara, T. (1965)	**Culex pipiens**	

* Valores de CL50 para los insecticidas que se indican publicados por varios investigadores separadamente y los de esta investigación.

** N°. de veces el valor de las CL50 para los insecticidas de esta investigación comparadas con los de otras publicaciones.

TABLA No. 5
VARIACIONES EN LA MAGNITUD DE LOS PARAMETROS DE CRECIMINETO Y TIEMPO DE DESARROLLO DE Culex pipiens quinquefasciatus Say POR EFECTO DE DOSIS SUBLETALES DE LOS INSECTICIDAS QUE SE INDICAN.

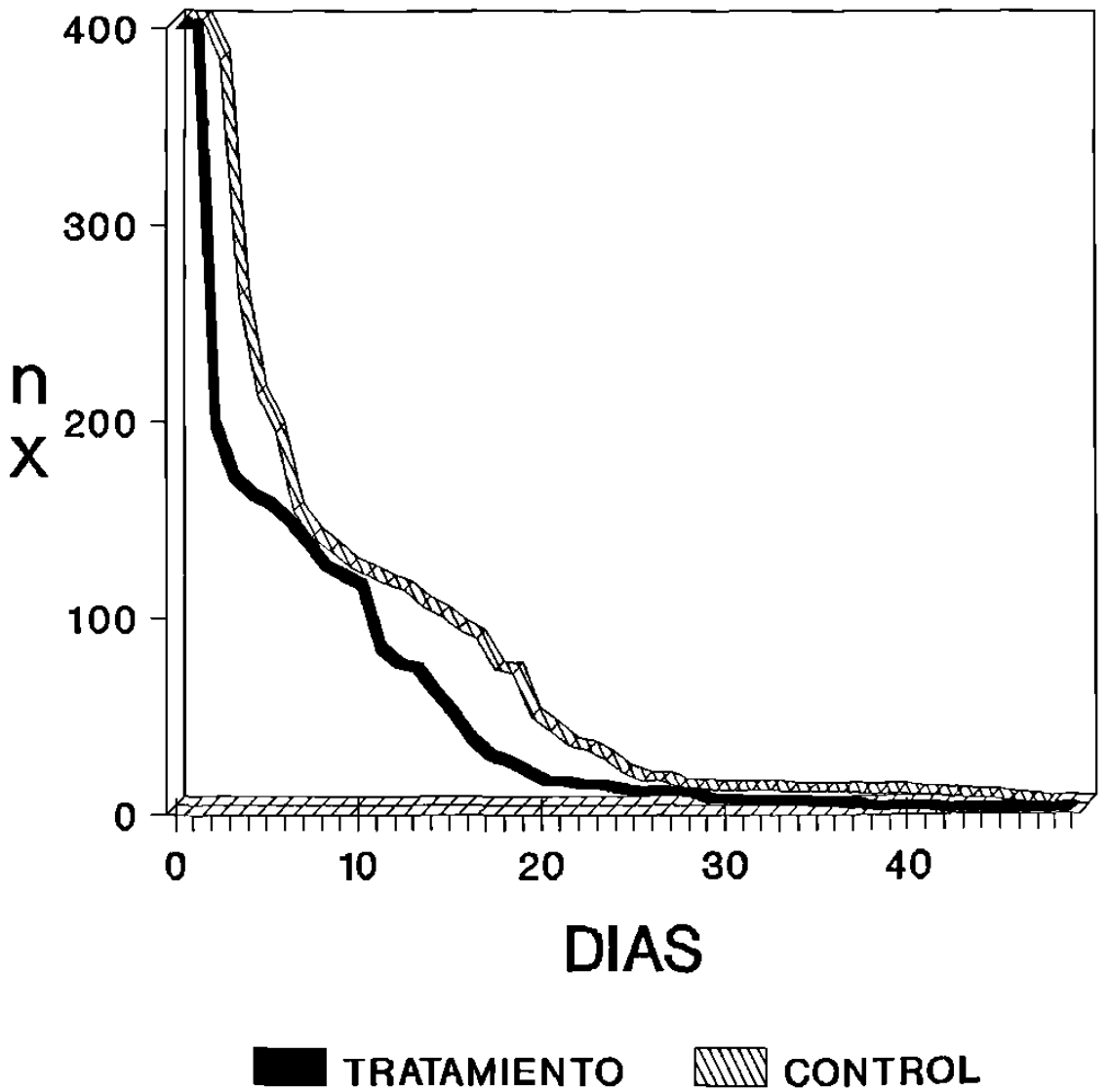
INSECTICIDA	BIOENSAYO	Ro	Tc	r_m	lamda
PARATION ® METILICO	TRATAMIENTO	>	>	<	<
	CONTROL	<	<	>	>
FENITROTION	TRATAMIENTO	>	<	>	>
	CONTROL	<	>	<	<
TOXITION ® (Malation)	TRATAMIENTO	<	>	<	<
	CONTROL	>	<	>	>
FENTION	TRATAMIENTO	<	<	<	<
	CONTROL	>	>	>	>
TEMEFOS	TRATAMIENTO	<	>	<	<
	CONTROL	>	<	>	>

> Indica **mayor** valor del parámetro en las poblaciones tratadas en relación al control.

< Indica lo contrario del simbolo anterior, es decir, **menor** valor del parámetro de los insectos usados en el tratamiento.

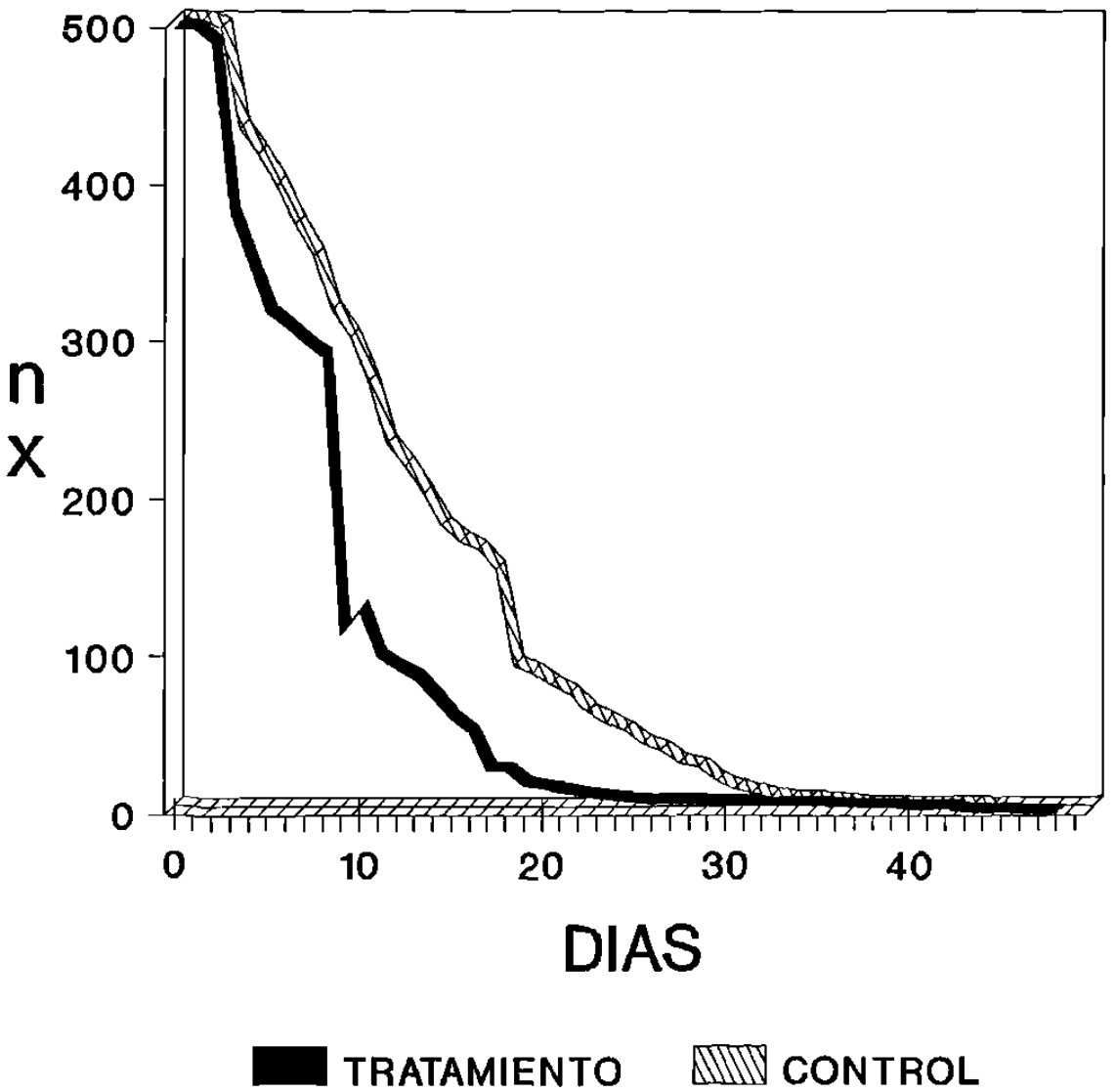
CURVA DE SUPERVIVENCIA

de Culex pipiens quinquefasciatus Say. tratados con paration metilico



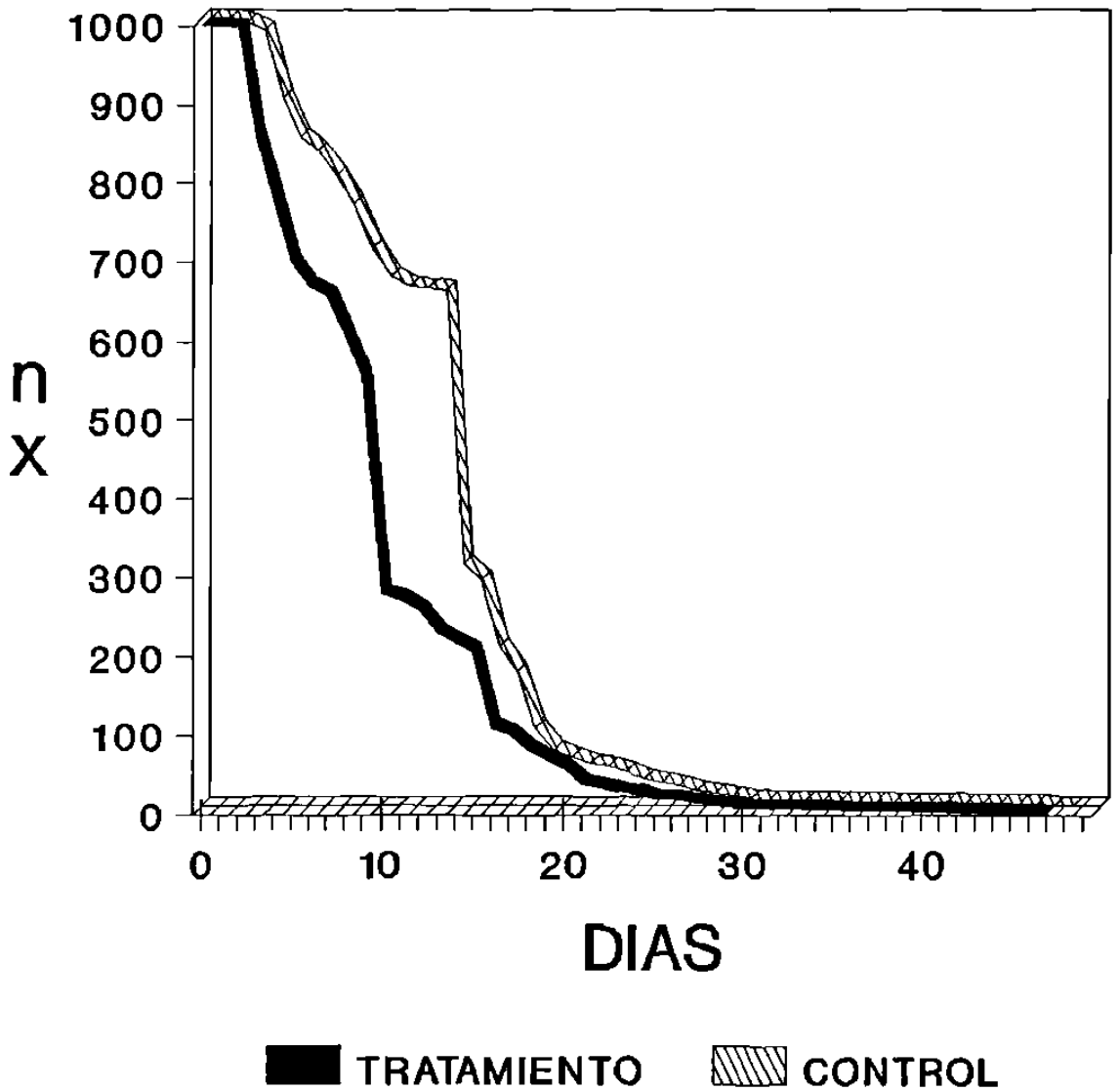
Grafica 1

CURVA DE SUPERVIVENCIA
de Culex pipiens quinquefasciatus Say. tratados con Fenitrotion



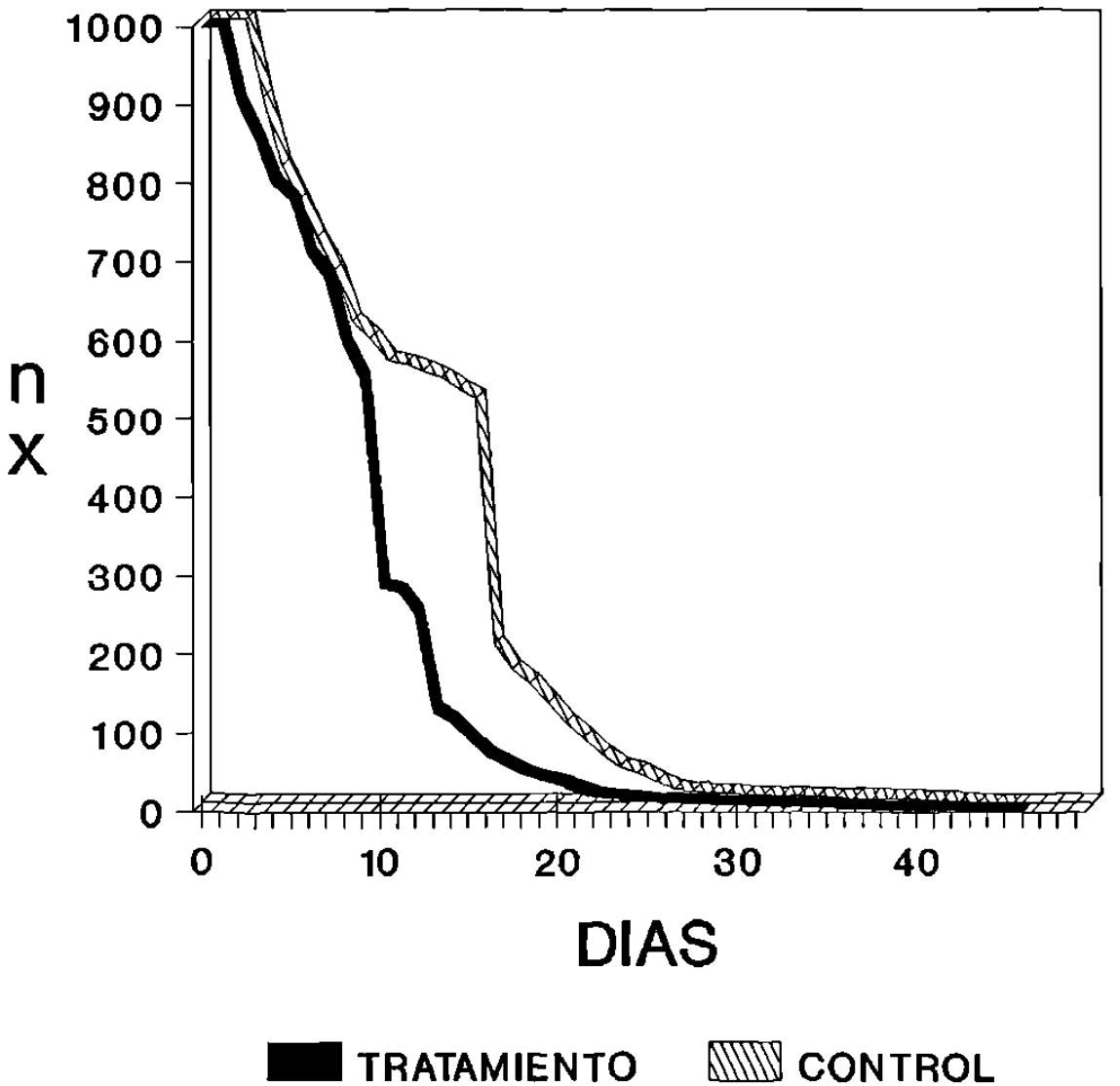
Grafica 2

CURVA DE SUPERVIVENCIA
de Culex pipiens quinquefasciatus Say. tratados con Malation



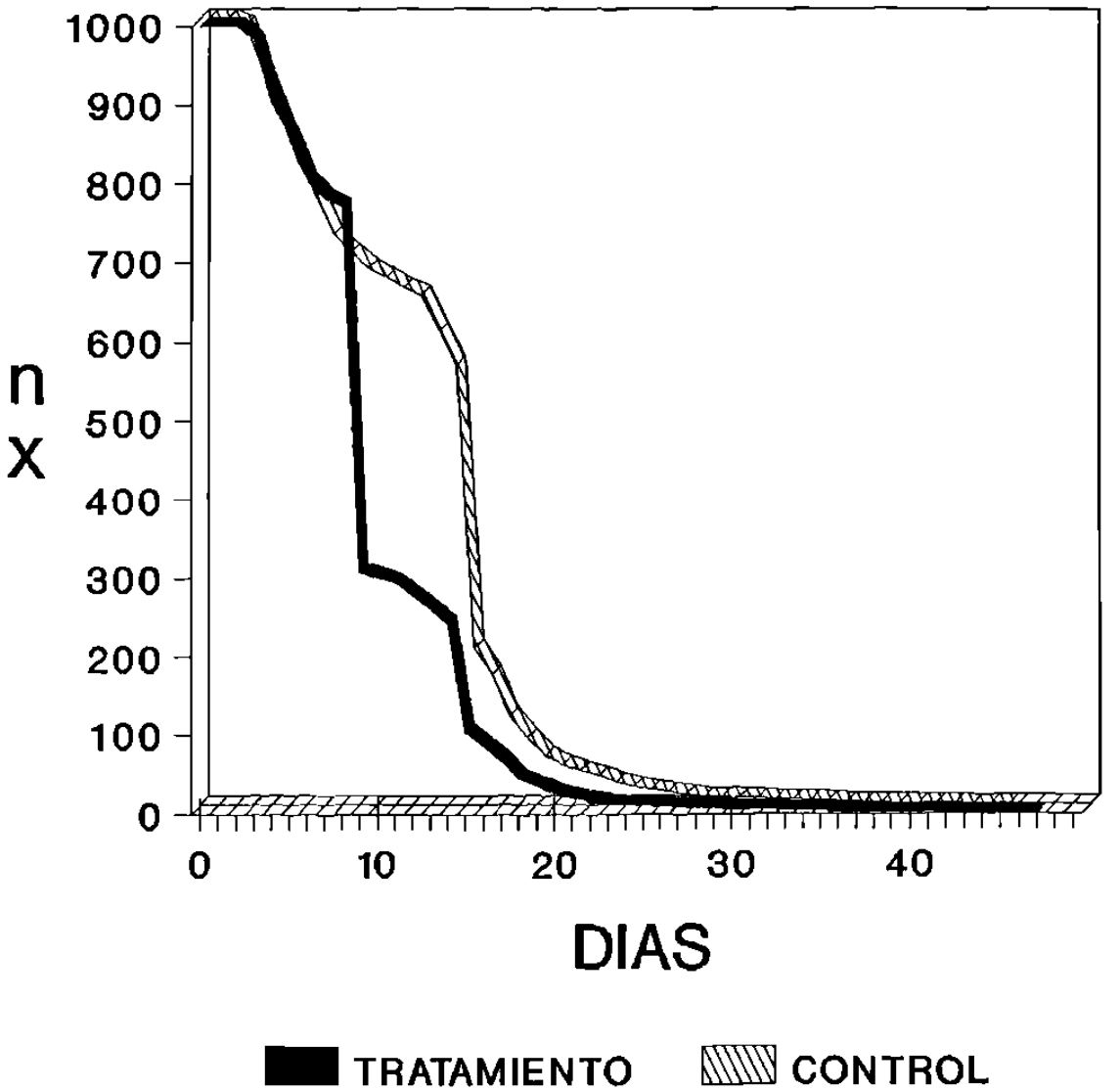
Grafica 3

CURVA DE SUPERVIVENCIA
de Culex pipiens quinquefasciatus Say. tratados con Fention



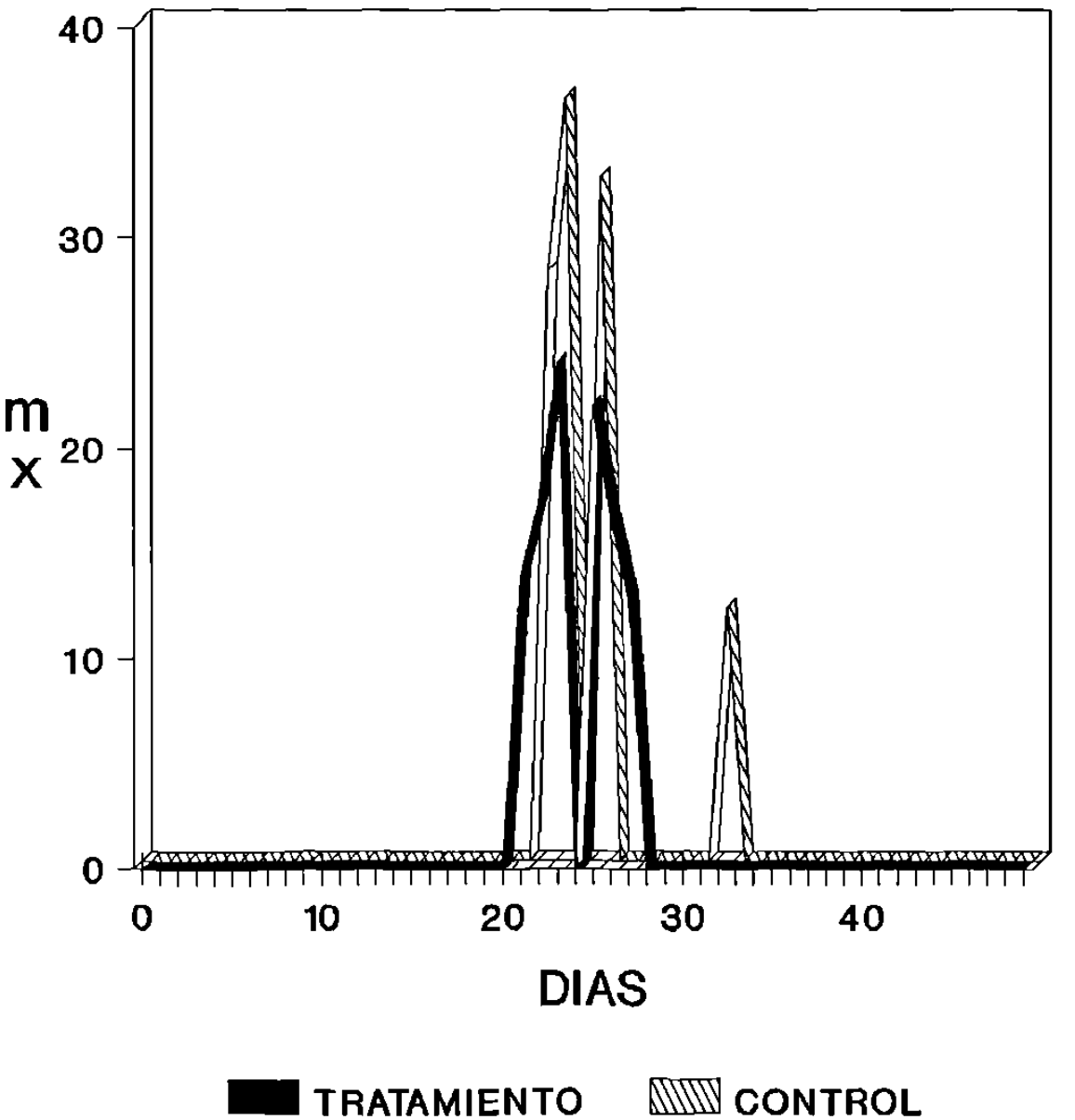
Grafica 4

CURVA DE SUPERVIVENCIA
de Culex pipiens quinquefasciatus Say. tratados con TEMEFOS (ABATE)



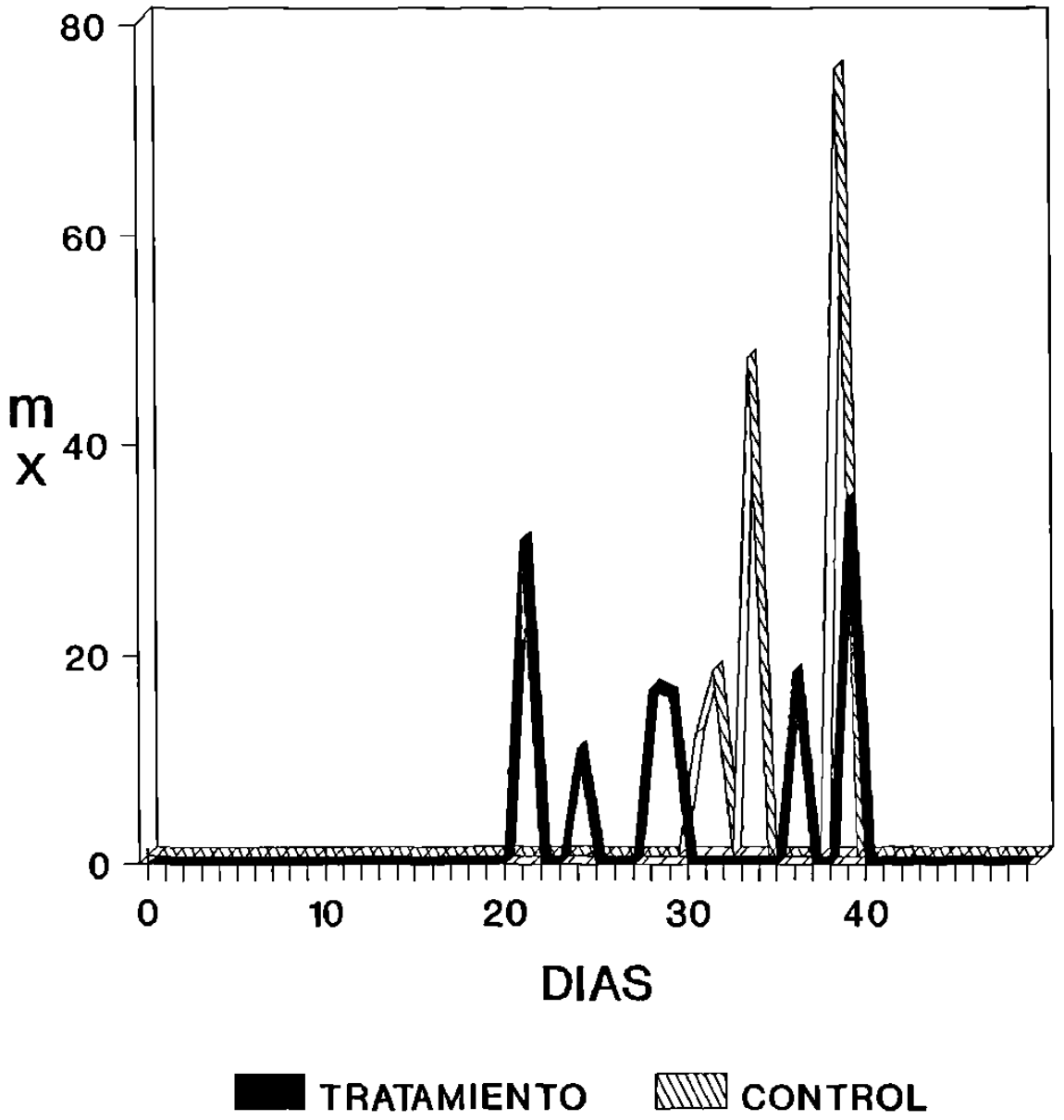
Grafica 5

CURVA DE REPRODUCCION DE EDAD ESPECIFICA para Culex pipiens quinquefasciatus Say. tratados con paration metilico.



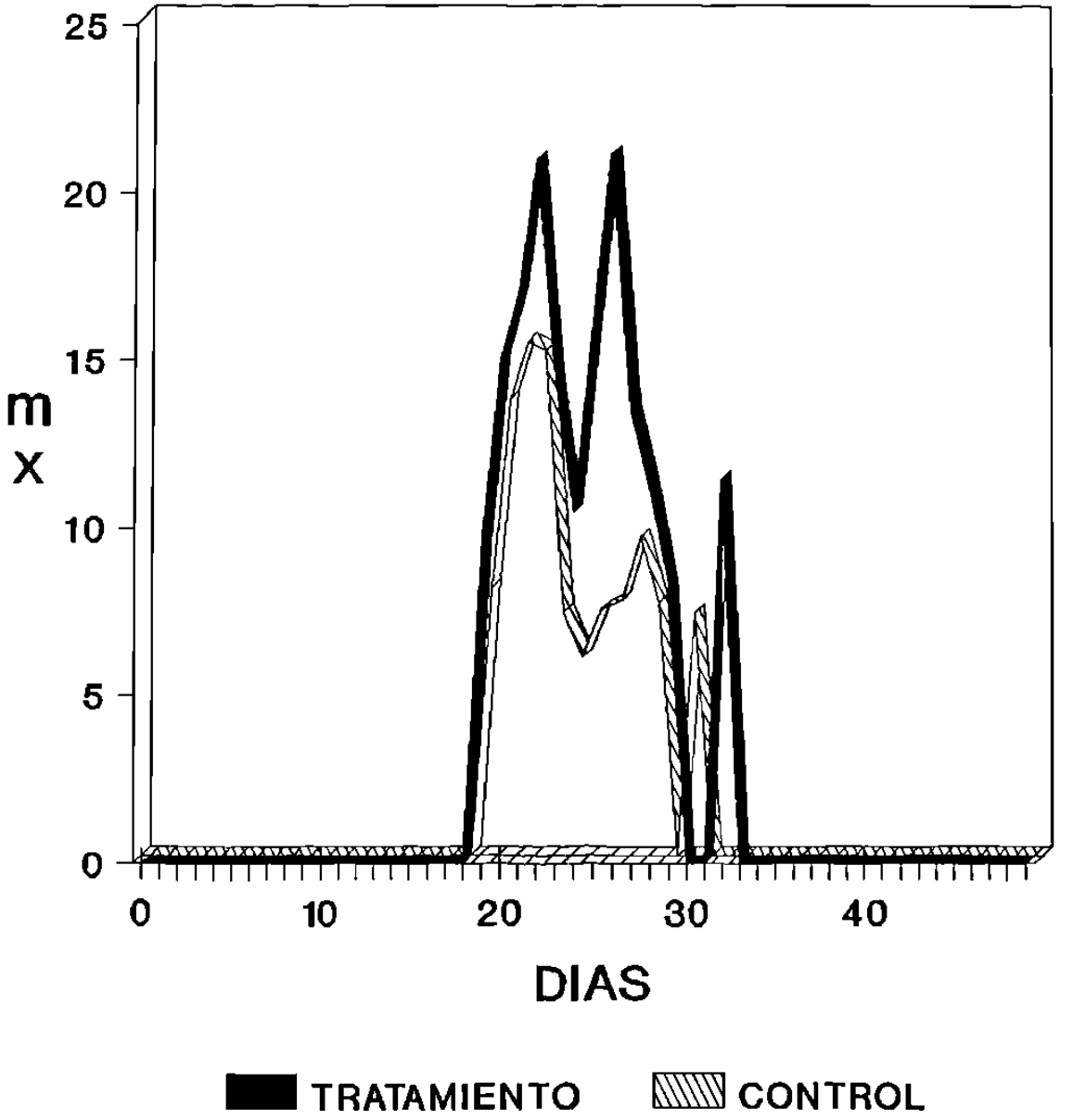
Grafica 6. mx= prom. huev./hembra

CURVA DE REPRODUCCION DE EDAD ESPECIFICA
para Culex pipiens quinquefasciatus Say
tratados con fenitrotion.



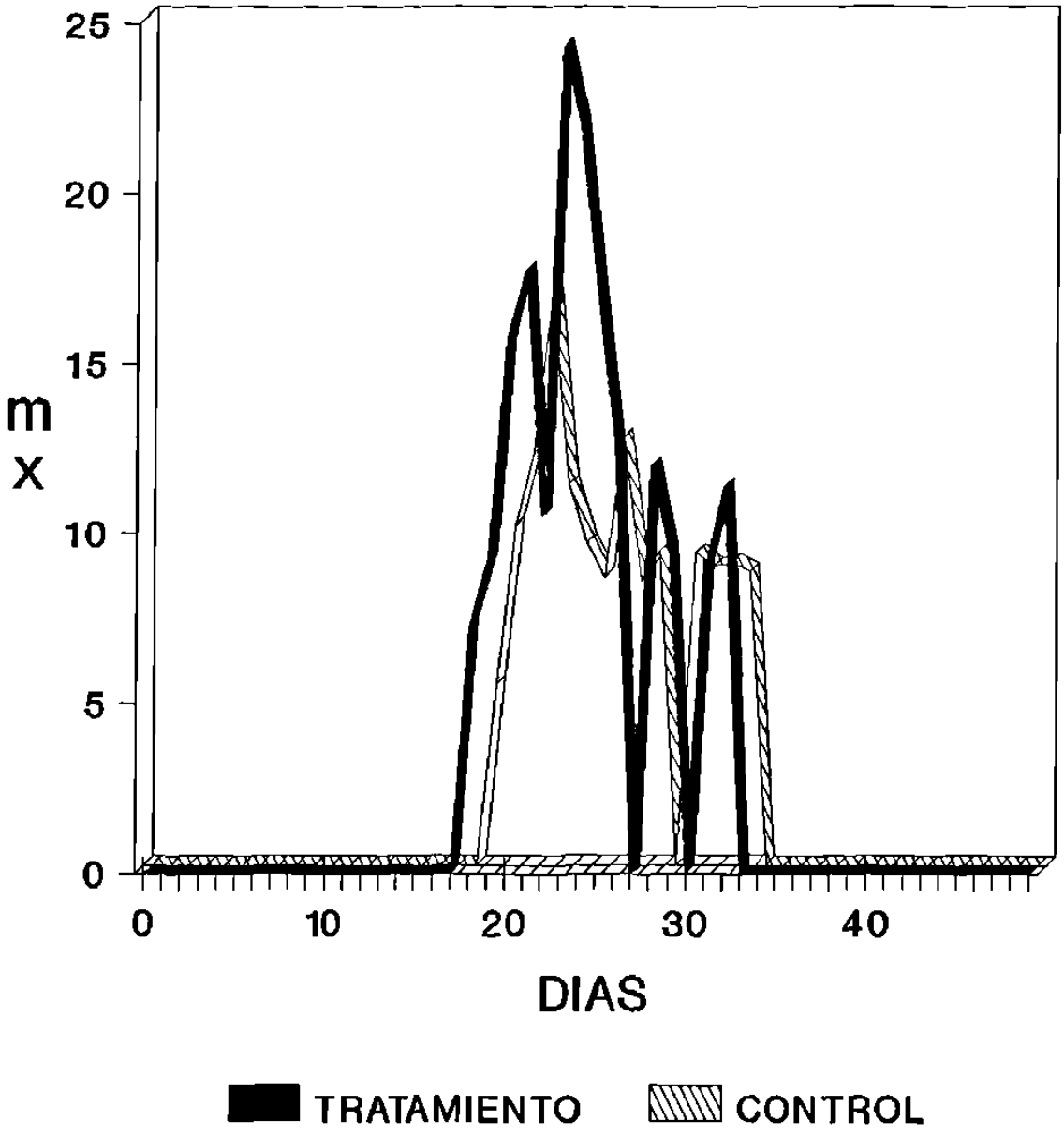
Grafica 7 mx= prom. huev/hembra

CURVA DE REPRODUCCION DE EDAD ESPECIFICA
para Culex pipiens quinquefasciatus Say.
tratados con malation.



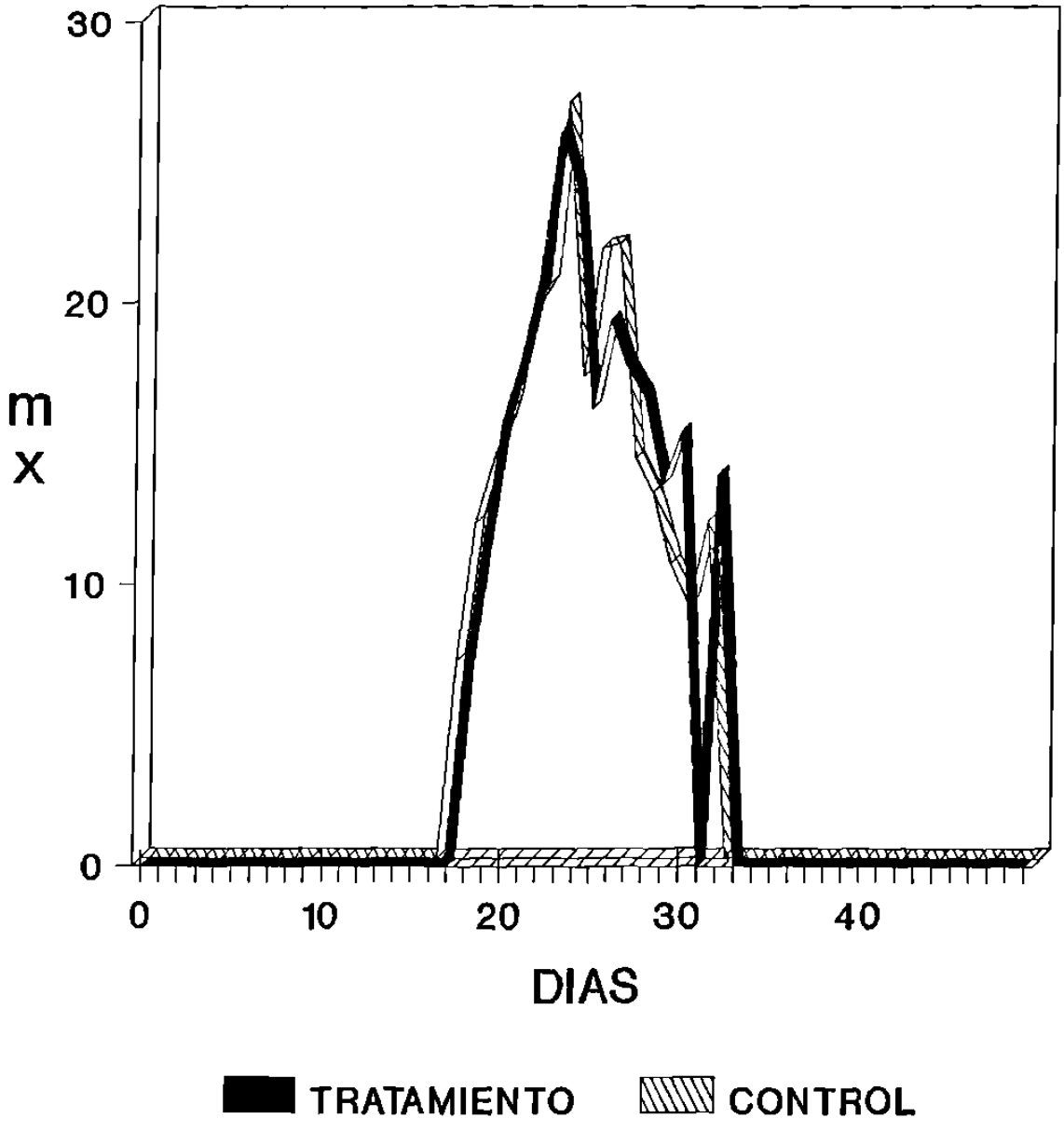
Grafica 8. mx= prom. huev./hembra

CURVA DE REPRODUCCION DE EDAD ESPECIFICA
para Culex pipiens quinquefasciatus Say.
tratados con fention.



Grafica 9. mx= prom. huev./hembra

CURVA DE REPRODUCCION DE EDAD ESPECIFICA
para Culex pipiens quinquefasciatus Say
tratados con temefos



Grafica 10 mx=prom. huev./hembra

ANEXO

PARATION METILICO (TESTIGO)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	400	1	0	0	0	$\sum$ lx.mx
1	400	1	0	0	0	
2	380	.950	0	0	0	Ro =
3	260	.650	0	0	0	4.2292
4	210	.525	0	0	0	
5	190	.475	0	0	0	$\sum$ lx.mx.x
6	150	.375	0	0	0	103.6904
7	137	.342	0	0	0	
8	130	.325	0	0	0	
9	122	.305	0	0	0	
10	118	.295	0	0	0	Tc=
11	113	.282	0	0	0	$\sum \frac{lx.mx.x}{Ro}$
12	110	.275	0	0	0	
13	102	.255	0	0	0	
14	97	.242	0	0	0	
15	90	.225	0	0	0	Tc=
16	85	.212	0	0	0	$\frac{103.6904}{4.2292}$
17	69	.172	0	0	0	
18	68	.170	0	0	0	
19	45	.112	0	0	0	
20	38	.095	0	0	0	Tc=
21	30	.075	0	0	0	24.5177
22	28	.070	0	0	0	
23	23	.057	28.04	1.5983	36.7604	
24	16	.040	36.30	1.4520	34.8480	$r_c = \frac{\ln Ro}{Tc}$
25	12	.030	00.00	0.0000	00.0000	
26	12	.030	32.50	0.9750	25.3500	
27	9	.022	00.00	0.0000	00.0000	
28	9	.022	00.00	0.0000	00.0000	r_c =
29	8	.020	00.00	0.0000	00.0000	0.058815
30	8	.020	00.00	0.0000	00.0000	
31	8	.020	00.00	0.0000	00.0000	
32	8	.020	00.00	0.0000	00.0000	r_m =
33	7	.017	12.00	0.2040	06.7320	0.0592
34	7	.017	00.00	0.0000	00.0000	
35	7	.017	00.00	0.0000	00.0000	
36	7	.017				$\lambda = e^{r_m}$ =
37	6	.015				1.061
38	6	.015				
39	6	.015				
40	5	.012				
41	5	.012				
42	4	.010				
43	3	.007				
44	3	.007				
45	2	.005				
46	1	.002				
47	0	.000				

PARATION METILICO (PROBLEMA)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
						Σlx.mx.x
0	400	400/400=1	0	0	0	70.37622
1	400	400/400=1	0	0	0	
2	197	.492	0	0	0	
3	170	.425	0	0	0	Σ lx.mx =
4	161	.402	0	0	0	Ro =
5	156	.390	0	0	0	2.85379
6	148	.370	0	0	0	
7	137	.342	0	0	0	Tc =
8	125	.312	0	0	0	$\frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
9	120	.300	0	0	0	
10	115	.287	0	0	0	
11	83	.207	0	0	0	$= \frac{70.37622}{2.85379}$
12	75	.187	0	0	0	
13	73	.182	0	0	0	
14	61	.152	0	0	0	Tc =
15	50	.125	0	0	0	24.660616
16	36	.090	0	0	0	
17	28	.070	0	0	0	r_c =
18	25	.062	0	0	0	$\frac{\ln Ro}{Tc}$ =
19	20	.050	0	0	0	
20	15	.037	0	0	0	
21	15	.037	0	0	0	0.04252
22	13	.032	13.8461	.44307	9.74754	
23	13	.032	17.4384	.55803	12.83470	r_m=
24	11	.027	24.1636	.65242	15.65810	0.04263805
25	10	.025	00.0000	.00000	00.00000	
26	10	.025	22.1000	.55250	14.36500	$\lambda = e^{r_m}$=
27	9	.022	16.6666	.36666	9.89982	1.04356
28	9	.022	12.7777	.38111	7.87106	
29	6	.015	00.0000	.00000	0.00000	
30	6	.015	00.0000	.00000	0.00000	
31	5	.012				
32	5	.012				
33	5	.012				
34	5	.012				
35	4	.010				
36	4	.010				
37	3	.007				
38	2	.005				
39	2	.005				
40	2	.005				
41	2	.005				
42	1	.002				
43	1	.002				
44	1	.002				
45	1	.002				
46	1	.002				
47	1	.002				
48	1	.002				
49	1	.002				
50	0	.000				

MALATION (TESTIGO)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	1000	1.0	0	0	0	
1	1000	1.0	0	0	0	Σ lx.mx.x =
2	995	.995	0	0	0	93.606863
3	985	.985	0	0	0	
4	900	.900	0	0	0	Σ lx.mx.x =
5	850	.850	0	0	0	Ro =
6	832	.832	0	0	0	4.2450988
7	801	.801	0	0	0	
8	764	.764	0	0	0	$T_c = \frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
9	708	.708	0	0	0	
10	673	.673	0	0	0	
11	660	.660	0	0	0	= 22.05057
12	658	.658	0	0	0	
13	655	.655	0	0	0	
14	307	.307	0	0	0	$r_c = \frac{\ln Ro}{Tc}$
15	285	.285	0	0	0	
16	202	.202	0	0	0	
17	170	.170	0	0	0	= 0.0655658
18	98	.098	0	0	0	
19	70	.070	7.971	.55797	10.60143	
20	61	.061	13.560	.82716	16.54320	r_m =
21	53	.053	15.302	.811006	17.03113	0.0661699
22	50	.050	15.000	.750000	16.50000	
23	43	.043	7.209	.309987	7.129701	$\lambda = e^{r_m}$ =
24	34	.034	5.882	.199988	4.799712	1.068408
25	30	.030	7.333	.219990	5.49975	
26	26	.026	7.5769	.1969994	5.121984	
27	19	.019	9.4736	.1799984	4.859956	
28	16	.016	7.5000	.1200000	3.360000	
29	13	.013	0.0000	.0000000	0.000000	
30	10	.010	7.2000	.0720000	2.160000	
31	9	.009	0.0000	.0000000	0.000000	
32	9	.009				
33	8	.008				
34	8	.008				
35	7	.007				
36	6	.006				
37	6	.006				
38	5	.005				
39	5	.005				
40	5	.005				
41	5	.005				
42	4	.004				
43	4	.004				
44	4	.004				
45	3	.003				
46	3	.003				
47	1	.001				
48	0	.000				

MALATION (PROBLEMA)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	1000	1	0	0	0	
1	1000	1	0	0	0	$\sum$ lx.mx.x =
2	1000	1	0	0	0	97.622778
3	861	.861	0	0	0	
4	780	.780	0	0	0	$\sum$ lx.mx =
5	700	.700	0	0	0	Ro =
6	671	.620	0	0	0	4.126096
7	660	.561	0	0	0	
8	609	.539	0	0	0	
9	555	.494	0	0	0	$Tc=\frac{\sum lx.mx.x}{Ro}$
10	280	.458	0	0	0	
11	273	.431	0	0	0	
12	260	.390	0	0	0	= 23.659842
13	230	.367	0	0	0	
14	218	.333	0	0	0	
15	207	.298	0	0	0	$rc = \frac{Ln\ Ro}{Tc}$
16	110	.135	0	0	0	
17	102	.102	0	0	0	
18	83	.083	0	0	0	=0.05990453
19	70	.070	0	0	0	
20	58	.058	9.823	.56973	11.3946	
21	40	.040	15.075	.60300	12.663	r_m=
22	35	.035	17.000	.59500	13.09	0.05923945
23	30	.030	21.000	.63000	14.49	
24	27	.027	14.444	.38998	9.3595	$\lambda = e^{r_m}$=
25	20	.020	10.500	.21000	5.25	1.061029
26	20	.020	15.750	.31500	8.19	
27	17	.017	21.176	.35999	9.71973	
28	13	.013	13.461	.17499	4.9972	
29	11	.011	11.220	.12342	3.57918	
30	9	.009	8.333	.07499	2.2497	
31	9	.009	0.000	0	0	
32	8	.008	0.000	0	0	
33	7	.007	11.428	.079996	2.639868	
34	7	.007	0	0	0	
35	7	.007	0	0	0	
36	6	.006	0	0	0	
37	6	.006	0	0	0	
38	6	.006	0	0	0	
39	5	.005	0	0	0	
40	4	.004	0	0	0	
41	4	.004	0	0	0	
42	3	.003	0	0	0	
43	3	.003	0	0	0	
44	2	.002	0	0	0	
45	1	.001	0	0	0	
46	1	.001	0	0	0	
47	1	.001	0	0	0	

FENITROTION (TESTIGO)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	500	1	2.6989	0	0	
1	500	1	2.6989	0	0	Σ lx.mx.x =
2	495	.9900	2.6946	0	0	
3	439	.8780	2.6424	0	0	35.83806
4	415	.8300	2.6180	0	0	
5	395	.7900	2.5965	0	0	Σ lx.mx =
6	370	.7400	2.5682	0	0	Ro=1.10594
7	350	.7000	2.5440	0	0	
8	315	.630	2.4983	0	0	$Tc=\frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
9	298	.596	2.4742	0	0	
10	270	.540	2.4313	0	0	
11	231	.462	2.3636	0	0	
12	217	.434	2.3364	0	0	$\frac{35.83806(10)}{1.10594\ (10)}$
13	199	.398	2.2988	0	0	
14	179	.358	2.2528	0	0	
15	168	.336	2.2253	0	0	
16	163	.326	2.2121	0	0	Tc=
17	150	.300	2.1761	0	0	32.405067
18	90	.180	1.9542	0	0	
19	85	.170	1.9294	0	0	$r_c = \frac{Ln\ Ro}{Tc}$
20	77	.154	1.8864	0	0	
21	71	.142	1.8512	0	0	
22	60	.120	1.7781	0	0	$\frac{Ln\ 1.10594}{32.405067}$
23	53	.106	1.7242	0	0	
24	48	.096	1.6812	0	0	
25	39	.078	1.59106	0	0	r_m=
26	35	.070	1.5440	0	0	0.0030856
27	27	.054	1.4313	0	0	
28	25	.050	1.3979	0	0	$\lambda = e^{r_m}$=
29	16	.032	1.2041	0	0	1.00309036
30	11	.022	1.0413	.25608	7.68240	
31	9	.018	0.9542	.31986	9.91566	
32	6	.012	0.7781	0	0	
33	4	.008	0.6020	.38000	12.540	
34	4	.008	0.6020	0	0	
35	3	.006	0.4771	0	0	
36	2	.004	0.3010	0	0	
37	1	.002	0	0	0	
38	1	.002	0	.1500	5.70000	
39	1	.002	0	0	0	
40	1	.002	0	0	0	
41	1	.002	0	0	0	
42	1	.002	0	0	0	
43	1	.002	0	0	0	
44	0	0.000	0	0	0	

FENITROTION (PROBLEMA)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	500	500/500=1	0	0	0	
1	500	1	0	0	0	Σ lx.mx.x =
2	490	.980	0	0	0	
3	382	.764	0	0	0	54.27718
4	350	.700	0	0	0	
5	319	.638	0	0	0	
6	310	.620	0	0	0	Ro = 1.9302
7	300	.600	0	0	0	
8	291	.582	0	0	0	
9	151	.302	0	0	0	Tc=$\frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
10	130	.260	0	0	0	
11	100	.200	0	0	0	
12	93	.186	0	0	0	= $\frac{54.27718}{1.9302}$
13	87	.174	0	0	0	
14	75	.150	0	0	0	
15	61	.122	0	0	0	Tc=
16	52	.104	0	0	0	28.11997
17	28	.056	0	0	0	
18	28	.050	0	0	0	rc= $\frac{Ln\ Ro}{Tc}$
19	19	.038	0	0	0	
20	17	.034	0	0	0	
21	15	.030	0	0	0	
22	13	.026	31.0770	0.808002	17.776044	= $\frac{1.9302}{28.11997}$ =
23	11	.022	0.0000	0.000000	0.000000	
24	10	.020	0.0000	0.000000	0.000000	
25	9	.018	11.0833	0.199499	4.987470	
26	8	.016	0.0000	0.000000	0.000000	rc=
27	8	.016	0.0000	0.000000	0.000000	0.0233863
28	8	.016	0.0000	0.000000	0.000000	
29	7	.014	16.8850	0.236390	6.855310	rm=
30	7	.014	16.0000	0.224000	6.720000	0.0237974
31	7	.014	0	0.	0	
32	6	.012	0	0	0	
33	6	.012	0	0	0	$\lambda = e^{rm} =$
34	6	.012	0	0	0	1.02408
35	6	.012	0	0	0	
36	5	.010	0	0	0	
37	5	.010	18.4280	0.184280	6.818360	
38	5	.010	0	0	0	
39	5	.010	0	0	0	
40	4	.008	34.7500	0.278000	11.120000	
41	4	.008	0	0	0	
42	4	.008	0	0	0	
43	2	.004	0	0	0	
44	2	.004	0	0	0	
45	2	.004	0	0	0	
46	1	.002	0	0	0	
47	1	.002	0	0	0	
48	1	.002	0	0	0	

FENTION (TESTIGO)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	1000	0	0	0	0	
1	1000	0	0	0	0	$\sum$ lx.mx.x =
2	1000	0	0	0	0	
3	900	0	0	0	0	125.37756
4	813	0	0	0	0	
5	770	0	0	0	0	
6	720	0	0	0	0	$\sum$ lx.mx.x =
7	681	0	0	0	0	Ro=
8	615	0	0	0	0	5.60426
9	595	0	0	0	0	
10	565	0	0	0	0	
11	561	0	0	0	0	$Tc=\frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
12	552	0	0	0	0	
13	543	0	0	0	0	
14	522	0	0	0	0	
15	516	0	0	0	0	$=\frac{125.37756}{5.60426}$
16	201	0	0	0	0	
17	170	0	0	0	0	
18	152	0	0	0	0	
19	128	0.128	5.3125	0.68000	12.92000	Tc=22.37183
20	102	0.102	10.0000	1.02000	20.40000	
21	83	0.083	12.1600	1.00928	21.19488	
22	61	0.061	16.7540	1.02199	22.48386	$r_c = \frac{Ln\ Ro}{Tc}$
23	45	0.045	11.2222	0.50499	11.61497	
24	38	0.038	9.4736	0.35999	8.63992	
25	26	0.026	8.4615	0.21999	5.49997	= 0.07704
26	17	0.017	12.5882	0.21399	5.56398	
27	15	0.015	8.3333	0.12499	3.37498	
28	13	0.013	9.2307	0.11999	3.35999	r_m
29	13	0.013	0.0000	0.00000	0.00000	=0.0781907
30	10	0.010	9.2000	0.09200	2.76000	
31	10	0.010	8.8000	0.08800	2.72800	
32	9	0.009	8.8888	0.07999	2.55997	$\lambda = e^{r_m} =$
33	8	0.008	8.6250	0.06900	2.27700	1.08133
34	8					
35	7					
36	6					
37	6					
38	5					
39	5					
40	3					
41	3					
42	2					
43	1					
44	1					
45	1					

TEMEFOS (ABATE ^{R}) (TESTIGO)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	1000	1	0	0	0	
1	1000	1	0	0	0	Σ lx.mx.x =
2	990	.990	0	0	0	163.09102
3	930	.930	0	0	0	
4	870	.870	0	0	0	
5	813	.813	0	0	0	Σ lx.mx =
6	773	.773	0	0	0	Ro=7.64078
7	725	.725	0	0	0	
8	701	.701	0	0	0	
9	682	.682	0	0	0	$Tc=\frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
10	669	.669	0	0	0	
11	657	.657	0	0	0	
12	648	.648	0	0	0	$=\frac{163.09102}{7.64078}$
13	602	.602	0	0	0	
14	560	.560	0	0	0	
15	200	.200	0	0	0	
16	167	.167	0	0	0	$r_c=\frac{Ln\ Ro}{Tc}$
17	113	.113	7.00000	.79100	13.44700	
18	85	.085	11.88200	1.00997	18.17946	
19	63	.063	14.28500	.89995	17.09914	= 0.09527
20	51	.051	16.07800	.81997	16.39956	
21	43	.043	19.32500	.83097	17.45047	
22	37	.037	20.40500	.75498	16.60967	r_m =
23	29	.029	26.89600	.77998	17.93963	0.09748969
24	23	.023	17.13000	.39399	9.45576	
25	19	.019	21.73600	.41298	10.32460	
26	16	.016	21.87500	.35000	9.10000	$\lambda=e^{r_m}$ =
27	13	.013	14.23000	.18499	4.99473	0.09748969
28	10	.010	13.00000	.13000	3.64000	
29	10	.010	10.50000	.10500	3.04500	
30	9	.009	9.00000	.08100	2.43000	λ = 1.1024
31	8	.008	12.00000	.09600	2.97600	
32	7	.007				
33	7	.007				
34	6	.006				
35	5	.005				
36	4	.004				
37	4	.004				
38	4	.004				
39	3	.003				
40	2	.002				
41	2	.002				
42	2	.002				
43	1	.001				
44	1	.001				
45	1	.001				

FENTION (PROBLEMA)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx.	lx.Mx.X	Cálculo de Parámetros
0	1000	1	0	0	0	
1	1000	1	0	0	0	$\sum$lx.mx.x =
2	903	.903	0	0	0	75.34629
3	860	.860	0	0	0	
4	801	.801	0	0	0	
5	780	.780	0	0	0	$\sum$lx.mx. =
6	710	.710	0	0	0	Ro=3.38190
7	680	.680	0	0	0	
8	595	.595	0	0	0	Tc=$\frac{\Sigma lx.mx.x}{Ro}$
9	550	.550	0	0	0	
10	285	.285	0	0	0	
11	280	.280	0	0	0	
12	250	.250	0	0	0	= $\frac{75.34629}{3.38190}$
13	127	.127	0	0	0	
14	115	.115	0	0	0	
15	93	.093	0	0	0	
16	71	.071	0	0	0	Tc=22.27928
17	60	.060	0	0	0	
18	48	.048	7.29166	.35000	6.29999	
19	41	.041	9.26829	.37999	7.21981	r_c =$\frac{Ln\ Ro}{Tc}$
20	35	.035	15.00000	.52500	10.50000	
21	27	.027	17.77777	.47999	10.07996	
22	19	.019	10.52630	.20000	4.40000	
23	17	.017	24.35294	.41399	9.52199	= $\frac{3.38190Ln}{22.27928}$
24	15	.015	22.00000	.33000	7.92000	
25	12	.012	17.16666	.20599	5.14975	
26	11	.011	12.72727	.13999	3.63974	r_c =0.05469
27	10	.010	0.00000	0.00000	0.00000	
28	10	.010	12.00000	.12000	3.36000	
29	9	.009	9.44444	.08499	2.46497	
30	9	.009	0.00000	0.00000	0.00000	r_m =
31	8	.008	9.00000	.07200	2.23200	0.05544262
32	7	.007	11.42000	.07994	2.55808	
33	6	.006	0	0	0	
34	6	.006	0	0	0	$\lambda = e^{r_m}$ =
35	5	.005	0	0	0	1.05701
36	4	.004	0	0	0	
37	4	.004	0	0	0	
38	3	.003	0	0	0	
39	3	.003	0	0	0	
40	3	.003	0	0	0	
41	2	.002	0	0	0	
42	2	.002	0	0	0	
43	1	.001	0	0	0	
44	1	.001	0	0	0	
45	1	.001	0	0	0	
46	0	.000	0	0	0	

TEMEFOS (ABATE R) (PROBLEMA)

X (días)	Nx	lx	Mx	lx.Mx	lx.Mx.X	Cálculo de Párametros
0	1000	1	0	0	0	
1	1000	1	0	0	0	$\sum$ lx.mx.x
2	1000	1	0	0	0	77.26316
3	983	.983	0	0	0	
4	901	.901	0	0	0	
5	858	.858	0	0	0	$\sum$ lx.mx =
6	805	.805	0	0	0	Ro=3.41182
7	781	.781	0	0	0	
8	770	.770	0	0	0	
9	307	.307	0	0	0	$Tc=\frac{\sum lx.mx.x}{Ro}$
10	300	.300	0	0	0	
11	293	.293	0	0	0	
12	277	.277	0	0	0	
13	259	.259	0	0	0	$= \frac{77.26316}{3.41182}$
14	240	.240	0	0	0	
15	103	.103	0	0	0	
16	85	.085	0	0	0	= 22.64573
17	67	.067	0	0	0	
18	44	.044	7.00000	.30800	5.54400	
19	35	.035	11.71428	.41000	7.79000	$r_c = \frac{Ln\ Ro}{Tc}$
20	27	.027	15.92592	.43000	8.60000	
21	21	.021	18.80095	.39482	8.29122	
22	16	.016	20.93750	.33500	7.37000	= 0.05419
23	13	.013	26.15380	.34000	7.81999	
24	12	.012	24.16666	.29000	6.95998	
25	10	.010	16.30000	.16300	4.07500	r_m=
26	9	.009	19.44444	.17500	4.54999	0.0549498
27	9	.009	17.77777	.16000	4.31998	
28	8	.008	16.75000	.13400	3.75200	
29	8	.008	13.62500	.10900	3.16100	$\lambda = e^{r_m}$=
30	6	.006	15.55555	.09300	2.79000	1.05649
31	5	.005	0.00000	0.00000	0.00000	
32	5	.005	14.00000	.07000	2.24000	
33	4	.004				
34	4	.004				
35	4	.004				
36	3	.003				
37	3	.003				
38	3	.003				
39	2	.002				
40	2	.002				
41	2	.002				
42	1	.001				
43	1	.001				
44	1	.001				
45	1	.001				
46	1	.001				
47	0	.000				