

Evaluación de la resistencia de *Helicoverpa armigera* Hübner a distintos insecticidas utilizados en algodónero

C. AVILLA, J. E. GONZÁLEZ-ZAMORA, M. AVILÉS, J. M. DURÁN

Heliotis (*Helicoverpa armigera* Hübner) es una de las principales plagas del algodónero en Andalucía y para su control es necesario la realización de varios tratamientos químicos cada campaña. Se conoce que esta especie ya es resistente a numerosos insecticidas, fundamentalmente piretroides. El objetivo de este trabajo fue evaluar la posible resistencia de poblaciones de campo de heliotis a cuatro insecticidas utilizados habitualmente en algodón: endosulfán, metomilo, clorpirifos y λ -cihalotrin.

Para ello, se estableció una población a partir de larvas recogidas en campos de algodón de la provincia de Sevilla y que se comparó con otra población que había sido criada en laboratorio durante varias generaciones y que se consideró como población sensible. Los resultados indicaron que la población de campo no presentaba resistencia a los insecticidas clorpirifos (FR=x1,77) y λ -cihalotrin (x1,76), siendo baja para los insecticidas endosulfán (x3,68) y metomilo (x3,17).

C. AVILLA, J. E. GONZÁLEZ ZAMORA y M. AVILÉS: Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola. Universidad de Sevilla. Carretera de Utrera, km 1. 41013 – Sevilla.

J. M. DURÁN: Laboratorio de Sanidad Vegetal. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Apdo. 121, 41089 Montequinto (Sevilla).

Palabras clave: *Helicoverpa armigera*, resistencia, algodónero, insecticidas, endosulfán, metomilo, clorpirifos, λ -cihalotrin.

INTRODUCCIÓN

El algodón es un cultivo de gran importancia socioeconómica en Andalucía, especialmente en el valle del Guadalquivir. Con respecto a otros cultivos extensivos de regadío se caracteriza por: a) tener unos ingresos y costes muy altos, especialmente si se compara con otros países, b) generar una gran cantidad de mano de obra (más de un millón de jornales anuales) y c) dentro de los altos costes, destaca el coste de plaguicidas, principalmente insecticidas, que representan más de 20 ptas por kg de algodón producido (RODRÍGUEZ y ARRIAZA, 1997).

Es, por tanto, un cultivo que se ve afectado por numerosas plagas de insectos y que recibe por ello numerosos tratamientos químicos. Entre ellas, destaca heliotis (*Helicoverpa* (= *Heliothis*) *armigera* Hübner; Lepidoptera: Noctuidae), considerada actualmente como una de las plagas clave del algodónero en nuestras condiciones (DURÁN, 1999). Heliotis aparece en prácticamente todas las zonas algodóneras siendo necesarios varios tratamientos para su control. Se trata de una especie polífaga que en el algodón tiene tres generaciones al año, siendo la primera la menos numerosa, pero la más dañina. Esta generación afecta a los primeros boto-

nes florales, lo que puede provocar una disminución considerable de la producción. La segunda generación aparece cuando en el algodón hay botones, flores y cápsulas y la tercera con el algodón próximo a la apertura de las cápsulas y que va a repercutir poco en la producción final. Su control se basa en el seguimiento de las poblaciones, tanto de heliotis como de los enemigos naturales presentes, sobre todo del heteróptero *Orius*, y aplicación de tratamientos químicos (ALVARADO *et al.*, 1998).

El principal problema para el control químico de heliotis es la aparición de poblaciones resistentes a numerosos insecticidas, principalmente piretroides, que fueron los insecticidas más utilizados hasta hace unos años. Actualmente, en nuestra zona el producto recomendado es endosulfán, solo o mezclado con metomilo y utilizado exclusivamente cuando se superen los umbrales de tratamiento. La aplicación repetida de tratamientos con este producto puede provocar en el futuro la aparición de poblaciones de heliotis resistentes, lo que dificultaría mucho el control de esta plaga.

Existen numerosos trabajos en los que se ha estudiado la resistencia de heliotis a insecticidas. Se han detectado poblaciones resistentes a piretroides (GUNNIG *et al.*, 1984; AHMAD y McCAFFERY, 1988; FORRESTER *et al.*, 1993; AHMAD, 1994; GLENN *et al.*, 1994; HAN *et al.*, 1999; TORRES-VILA *et al.*, 2000), organoclorados (WILSON, 1974; KAY *et al.*, 1984; FORRESTER *et al.*, 1993; TORRES-VILA *et al.*, 1998; TORRES-VILA *et al.*, 2000); carbamatos (GUNNIG *et al.*, 1992; TORRES-VILA *et al.*, 1998; ; TORRES-VILA *et al.*, 2000; AHMAD *et al.*, 2001) y organofosforados (TORRES-VILA *et al.*, 1998; TORRES-VILA *et al.*, 2000). Los mecanismos de esta resistencia son bien conocidos en el caso de los piretroides, aunque poco se sabe del resto de los grupos citados (DALY, 1993).

Los objetivos de este trabajo han sido evaluar la susceptibilidad de una población de campo de *Helicoverpa armigera* a diferentes insecticidas autorizados en algodón y comparar esta población con otra que ha sido

criada en laboratorio durante varias generaciones, por lo que no se ha visto sometida a presión de selección por insecticidas. Estos estudios nos permitirán conocer la existencia o no de individuos resistentes en campo y conocer la susceptibilidad actual de heliotis frente a estos insecticidas para poder compararla en el futuro con poblaciones que sean sospechosas de haber desarrollado resistencia en campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Captura y cría en laboratorio de *Helicoverpa armigera*

Se recogieron larvas en cultivos de algodón durante junio de 1999 de varias localidades de la provincia de Sevilla. Esta población es la que se denomina población de "Campo", formada a partir de más de 200 ejemplares recogidos en Los Palacios, Alcalá del Río y Lebrija.

Esta población de campo se comparó con otra que ha sido mantenida en condiciones de laboratorio en el insectario de Entomología Agrícola y Forestal de la Universidad de Córdoba y que fue establecida a partir de larvas recogidas en cultivos de algodón de la provincia de Córdoba durante el verano de 1996 y que se denomina población de "Laboratorio" Los ejemplares de esta población fueron amablemente cedidos por el Profesor Enrique Vargas Osuna.

Para la cría de las poblaciones de *H. armigera* se siguió la metodología puesta a punto por OBALLE (1997). Esta cría se llevó a cabo en condiciones controladas de laboratorio con una temperatura de $26 \pm 1^\circ \text{C}$ y un fotoperiodo de 16:8 (luz:oscuridad). Estas condiciones se mantuvieron para todos los estados de desarrollo del insecto. Las larvas se desarrollaron sobre dieta artificial (OBALLE y VARGAS, 1998).

Después de la eclosión de los huevos, las larvas se mantenían agrupadas durante una semana y posteriormente se individualizaban en cajas de plástico cilíndricas de 4 cm

de diámetro en las que se había dispensado 8 ml de dieta. Al aparecer las pupas, se colocaban en cajas limpias y se sexaban a la lupa.

Al emerger, los adultos se introducían en cilindros de papel de filtro con una altura de 26 cm y un diámetro de 11 cm. En cada cilindro se introducían 4 machos y 3 hembras y siempre teniendo en cuenta que los machos y las hembras no tuvieran los mismos parentales, para evitar la consanguinidad (OBALLE *et al.*, 1998). La comida de los adultos se colocaba en una placa petri de 6 cm de diámetro y consistía en un algodón impregnado en miel diluida al 10%.

Método de bioensayo

En los ensayos se utilizaron productos comerciales de cinco insecticidas, representativos de los cuatro grupos más utilizados de insecticidas: endosulfán, metomilo, tiodicarb, clorpirifos y λ -cihalotrin.

Los insecticidas se evaluaron para la primera y segunda generación a partir de las larvas recogidas en campo. Los ensayos se realizaron siguiendo la metodología habitual en estos casos (ANÓNIMO, 1970). Los productos comerciales se disolvieron en acetona, excepto en el caso de tiodicarb y λ -cihalotrin, que se utilizó agua como disolvente, a la que se añadió agente mojanete a una dosis del 0,075%.

Los ensayos se llevaron a cabo aplicando 2 μ l de solución sobre el dorso de larvas de 3^{er} estadio de *Heliothis* utilizando una micropipeta. Se trataron 10 larvas en cada una de las 5 dosis de insecticida utilizadas y el ensayo se repitió 4 veces en la población de campo de Sevilla y 3 veces en la población de Laboratorio. Las larvas testigo se trataron con acetona o agua más agente mojanete, dependiendo de cada caso. En total, se trataron 240 larvas por cada insecticida en la población de Sevilla y 180 en la población de laboratorio.

Las larvas se trataron en cajas iguales utilizadas a la cría y se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales. La mortalidad

se evaluó a las 48 horas del tratamiento; las larvas se consideraron como muertas si no eran capaces de moverse coordinadamente al ser tocadas con un pincel.

Análisis de los resultados

La respuesta de la mortalidad a la dosis de insecticida se analizó utilizando el modelo Probit (FINNEY, 1971), con lo que se calcularon las dosis letal (DL) 50, así como sus límites fiduciales y los parámetros de la recta de regresión estimada. Este análisis se realizó utilizando el programa POLO (ROBERTSON y PREISLER, 1991).

El factor de resistencia de cada insecticida se calculó dividiendo la DL_{50} de la población de campo entre la DL_{50} de la población de laboratorio, considerada como población sensible a estos insecticidas por no haber sido sometida a procesos de selección durante varias generaciones. El establecimiento de la DL_{50} considerada como sensible es complicado, ya que no se disponen de datos para todos los insecticidas que permitan comparar, por lo que se tuvo que recurrir a esta población de laboratorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis probit para los insecticidas endosulfan, metomilo, clorpirifos y λ -cihalotrin se encuentran en la Tabla 1. En todos los casos, los resultados se ajustaron correctamente al modelo probit ($p < 0,05$). Los resultados obtenidos con el insecticida tiodicarb no fueron consistentes, por lo que se desecharon, a pesar de realizar un gran número de repeticiones. Al comparar los Límites Fiduciales al 95% de las dos poblaciones estudiadas para cada uno de los insecticidas, se comprueba que existen diferencias significativas en la DL_{50} en los insecticidas endosulfan, metomilo y clorpirifos, pero no en el caso de λ -cihalotrin, siendo en todos los casos la DL_{50} de la población de campo mayor que la de la población de Laboratorio.

Tabla 1.—Resultados del Análisis Probit de la mortalidad de larvas de *H. armigera* sometidas a diferentes dosis insecticidas suministrados por vía tópica

Materia activa	Población	Ordenada en origen	Pendiente \pm e.s.	DL ₅₀ μ g m.a./larva	L.F. (95%)	Factor de resistencia
Endosulfán	Campo	5,05 \pm 0,11	1,81 \pm 0,26	0,934 a	0,72-1,28	3,68
	Laboratorio	6,31 \pm 0,19	2,19 \pm 0,34	0,254 b	0,18-0,32	
Metomilo	Campo	6,14 \pm 0,20	1,92 \pm 0,27	0,257 a	0,19-0,33	3,17
	Laboratorio	6,57 \pm 0,31	1,43 \pm 0,28	0,081 b	0,05-0,12	
Clorpirifos	Campo	7,16 \pm 0,32	3,21 \pm 0,46	0,212 a	0,17-0,25	1,77
	Laboratorio	7,83 \pm 0,38	3,06 \pm 0,40	0,120 b	0,09-0,14	
λ -cihalotrin	Campo	7,12 \pm 0,42	1,40 \pm 0,25	0,030 a	0,02-0,04	1,76
	Laboratorio	7,88 \pm 0,50	1,63 \pm 0,28	0,017 a	0,00-0,03	

DL: Dosis Letal, L.F.: Límites Fiduciales al 95%.

Diferentes letras en la columna de la DL50 de cada insecticida indican diferencias significativas (intersección de los límites fiduciales, $p < 0,05$).

Respecto al factor de resistencia (cociente entre la DL₅₀ de las poblaciones de campo y laboratorio), éste fue muy bajo en el caso de clorpirifos (x1,77) y λ -cihalotrin (x1,76) y bajo en el caso de endosulfan (x3,68) y metomilo (x3,17). En ninguno de los casos, los resultados indican que la población de campo sea sensiblemente más resistente que la población de laboratorio.

El cálculo de la elección de una población que pueda considerarse como sensible es complicado y existen numerosas referencias donde se discute sobre la conveniencia de utilizar una población que haya sido criada durante generaciones en condiciones de laboratorio, donde la frecuencia de individuos resistentes disminuye (DALY, 1993), aunque hay que tener en cuenta que una cría continuada en laboratorio puede dar lugar a individuos menos vigorosos por lo que podríamos estar sobrestimando el factor de resistencia (STAETZ, 1985). En otros trabajos (TORRES-VILA *et al.*, 1998), se propone el cálculo de la DL₅₀ de la población sensible desde un punto de vista toxicológico técnico en función de la dosis máxima recomendada. Si calculamos el factor de resistencia en función de estos valores de DL₅₀, el resultado sería de x1,78 en el caso de endosulfan; x1,03 en metomilo; x1,77 en clorpirifos y x3 en el caso de λ -cihalotrin. Nuevamente, los valores del factor de resistencia se pueden considerar como muy bajos.

Las Figs. 1 a 4 representan las rectas probit de las 2 poblaciones estudiadas para los 4 insecticidas. En cada insecticida, se compararon las 2 rectas obtenidas, comprobándose en todos los casos que las rectas eran diferentes ($p < 0,05$), excepto en el caso de λ -cihalotrin donde se pueden considerar iguales, mientras que las pendientes no diferían significativamente, por lo que pueden considerarse como paralelas ($p > 0,05$).

Los valores de χ^2 de ajuste de las rectas probit y de las pruebas de igualdad de rectas e igualdad de pendientes entre poblaciones se encuentran en la Tabla 2.

Estos resultados contrastan con los obtenidos por otros autores en otras regiones del mundo, donde sí se han encontrado importantes resistencias de heliothis a insecticidas, como se ha indicado en la introducción. Si comparamos los valores de la DL₅₀, el valor más bajo encontrado en la bibliografía para el insecticida endosulfan fue de 2,3 mg de materia activa/larva en el caso de poblaciones de campo y de 1,2 en el caso de una población que había sido mantenida en condiciones de laboratorio durante 15 años (AHMAD y McCaffery, 1988), siendo ambos valores superiores a los obtenidos en las dos poblaciones evaluadas en nuestros ensayos. También se han comprobado elevadas resistencias a metomilo en poblaciones recogidas en Pakistán (AHMAD *et al.*, 2001). En España, la información es escasa, aunque sí se han hecho ensayos con poblaciones de helio-

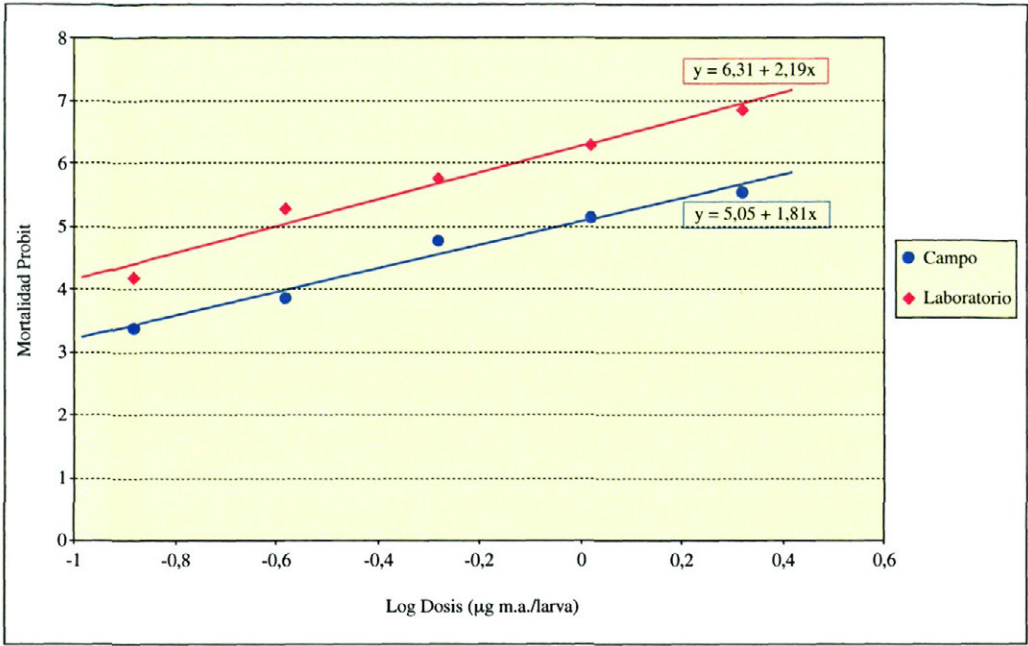


Fig. 1.—Recta Probit de mortalidad en larvas de *H. armigera* sometidas a diferentes dosis de endosulfan. Poblaciones de Campo y Laboratorio.

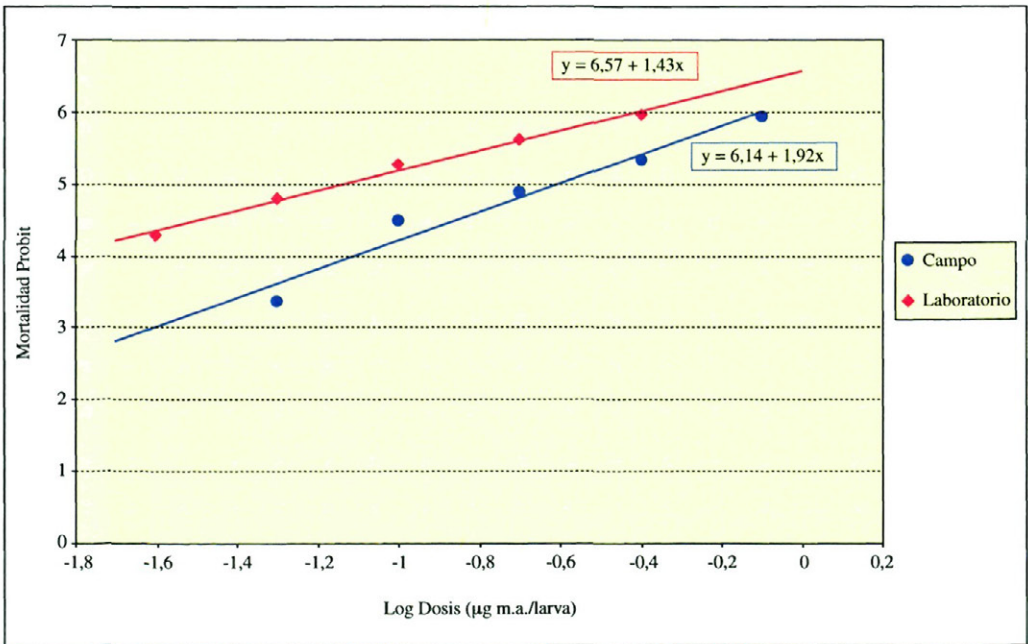


Fig. 2.—Recta Probit de mortalidad en larvas de *H. armigera* sometidas a diferentes dosis de metomilo. Poblaciones de Campo y Laboratorio.

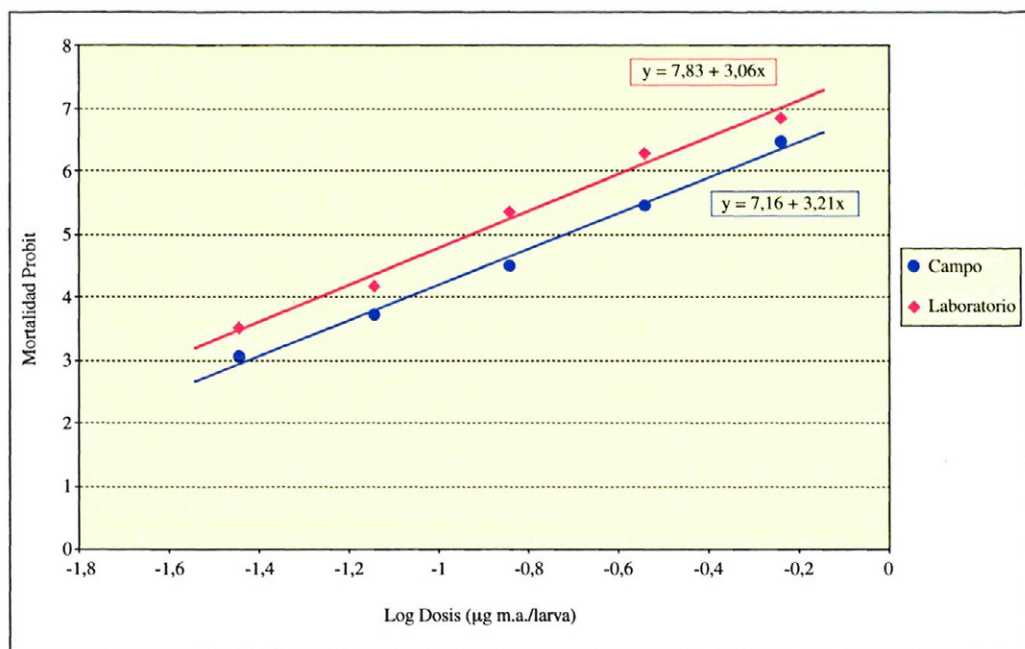


Fig. 3.—Recta Probit de mortalidad en larvas de *H. armigera* sometidas a diferentes dosis de clorpirifos. Poblaciones de Campo y Laboratorio.

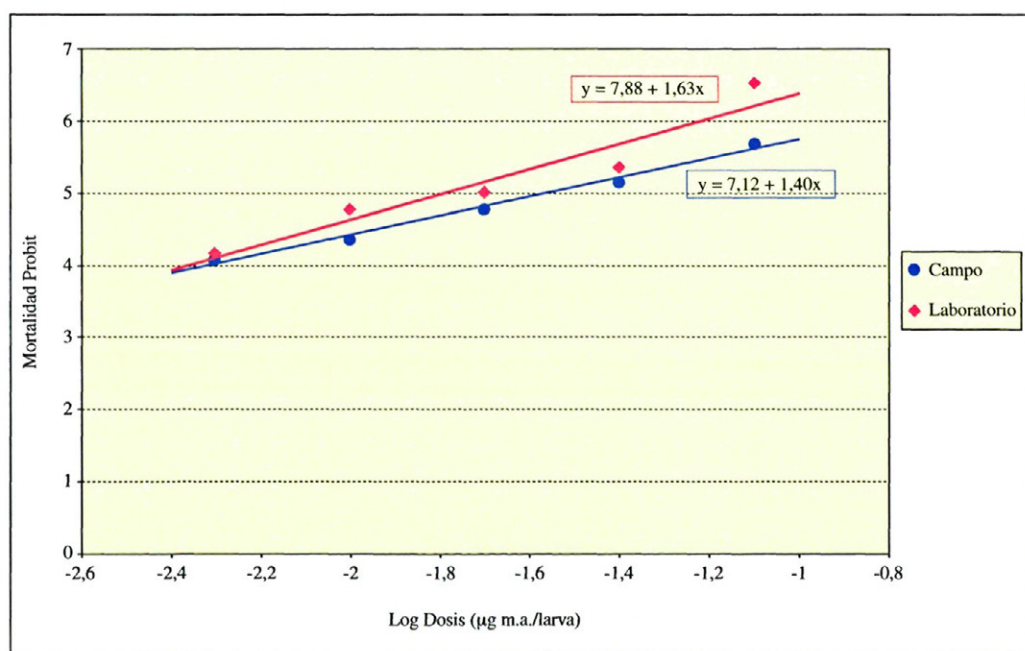


Fig. 4.—Recta Probit de mortalidad en larvas de *H. armigera* sometidas a diferentes dosis de λ-cihalotrin. Poblaciones de Campo y Laboratorio.

Tabla 2.—Valores del ajuste de rectas y de la comparación de rectas probit entre poblaciones

Insecticida	Ajuste de rectas			Comparación de rectas			
	Población	χ^2	g.l.		χ^2	g.l.	p
Endosulfan	Campo	1,83	3	rectas	50,21	2	p<0,001
	Laboratorio	1,81	3	pendientes	0,78	1	p=0,376
Metomilo	Campo	2,58	3	rectas	27,67	2	p<0,001
	Laboratorio	0,21	3	pendientes	1,56	1	p=0,211
Clorpirifos	Campo	0,16	3	rectas	17,65	2	p<0,001
	Laboratorio	1,14	3	pendientes	0,06	1	p=0,808
λ -cihalotrin	Campo	0,30	3	rectas	6,44	2	p=0,040
	Laboratorio	3,12	3	pendientes	0,37	1	p=0,541

tis de Extremadura y Murcia (TORRES-VILA *et al.*, 2000). Las DL_{50} obtenidas en este trabajo fueron superiores en todos los casos a las obtenidas en nuestro trabajo, debido probablemente a una mayor presión de insecticidas en los cultivos hortícolas donde se recogieron estas poblaciones, obteniendo factores de resistencia más altos, especialmente en los insecticidas endosulfán y λ -cihalotrin.

Este trabajo se planteó por la preocupación existente entre los agricultores al haberse producido fallos en el control de heliotes en campo, acentuada por el hecho de que actualmente este control se basa en el uso de dos únicos insecticidas, endosulfan y meto-

milo. A pesar de estas circunstancias, nuestros resultados indican que los fallos en el control son probablemente debidos a aplicaciones defectuosas del producto, ya que no se han detectado resistencias en la población de campo. Los individuos se recolectaron precisamente en las zonas donde se habían producido los fallos en el control y se mezclaron debido a los problemas de consanguinidad que tiene la cría de heliotes por lo que es necesario tener la mayor variabilidad genética posible. En cualquier caso, estos resultados pueden servir como línea base para futuros estudios en los que se vuelva a evaluar la susceptibilidad de poblaciones de campo de heliotes frente a estos insecticidas.

ABSTRACT

AVILLA, C., GONZÁLEZ-ZAMORA, J.E., AVILÉS, M., DURÁN, J.M. 2002. Resistance assessment of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to some insecticides used in cotton crops. *Bol. San. Veg. Plagas*, 28: 119-126.

Helicoverpa armigera is one of the most important pests in cotton and many insecticide applications are necessary every year. This species has developed resistance to many insecticides, specially pyrethroids. The goal of this paper has been to evaluate the resistance of *H. armigera* to four insecticides commonly used in cotton: endosulfan, methomyl, chlorpyrifos and λ -cihalotrin. A strain of *H. armigera* was obtained from three field collections. For comparison, a susceptible laboratory strain was used. Results show that field strain was not resistance to the insecticides clorpirifos (Resistance Factor= $\times 1,77$) and λ -cihalotrin (RF= $\times 1,76$) and low resistant to the insecticides endosulfan (RF= $\times 3,68$) and methomyl (RF= $\times 3,17$).

REFERENCIAS

- AHMAD, M., 1994. Analysis of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* in Thailand. FAO Plant Protection Bulletin 42/1-2: 63-69.
- AHMAD, M., McCAFFERY, A.R. 1988. Resistance to insecticides in a Thailand strain of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology 81(1): 45-48.
- AHMAD, M., ARIF, M.I., AHMAD, Z. 2001. Resistance to carbamate insecticides in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. Crop Protection 20: 427-432.
- ALVARADO, M., ARANDA, E., DURÁN, J.M., ORTIZ, E., PÁEZ, J.I., ROSA, A., SERRANO, A., VEGA, J.M. 1998. Plagas y enfermedades del algodón. Ed.: Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía.
- ANÓNIMO, 1970. Standard method for detection of insecticide resistance in *Heliothis zea* (Boddie) and *H. virescens* (F.). Bulletin Entomological Society of America 16: 147-153.
- DALY, J.C. 1993. Ecology and genetics of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera*: interactions between selection and gene flow. Genetica 90: 217-226.
- DURÁN, J.M. 1999. La producción integrada y el algodón en Andalucía. 6º Symposium Nacional de Agroquímicos, Sevilla.
- FINNEY, D.J. 1971. Probit Analysis 3rd ed. Ed. Cambridge University Press.
- FORRESTER, N.W., CAHILL, M., BIRD, L.J., LAYLAND, J.K. 1993. Management of pyrethroid and endosulfan resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. Bulletin Entomological Research 1 (Supp.): 1-132.
- GLENN, D.C., HOFFMANN, A.A., MCDONALD, G.M. 1994. Resistance to pyrethroids in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from corn: adult resistance, larval resistance, and fitness effects. Journal of Economic Entomology 87(5): 1165-1171.
- GUNNING, R.V., EASTON, C.S., GREENUP, L.R., EDGE, V.E. 1984. Pyrethroid resistance in *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. Journal of Economic Entomology 77: 1283-1287.
- GUNNING, R.V., BALFE, M.E., EASTON, C.S. 1992. Carbamate resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. Journal of Australian Entomological Society 31: 97-103.
- HAN, Z., WANG, Y., ZHANG, Q., LI, X., LI, G. 1999. Dynamics of pyrethroid resistance in a field population of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in China. Pesticide Science 55: 462-466.
- KAY, I.R., GREENUP, L.R., EASTON, C.S. 1984. Monitoring *Heliothis armigera* (Hübner) strains from Queensland for insecticide resistance. Qld. J. Agric. Anim. Sci.
- OBALLE, R. 1997. Selección de agentes bióticos autóctonos para el control biológico de las plagas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep., Noctuidae). Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- OBALLE, R., VARGAS-OSUNA, E. 1998. Influencia de la dieta en el desarrollo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) en laboratorio. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas 24: 451-456.
- OBALLE, R., ALDEBIS, H.K., SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., VARGAS-OSUNA, E. 1998. Influencia de las proporciones sexuales de adultos de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera, Noctuidae) sobre la reproducción de la especie en laboratorio. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas 24: 519-524.
- ROBERTSON, J.L., PREISLER, H.K. 1991. Pesticide bioassays with arthropods. Ed. CRC Press.
- RODRÍGUEZ, J., ARRIAZA, M. 1997. Economía del cultivo del algodón. I Jornadas Técnicas del Cultivo del Algodón, Córdoba.
- STAEITZ, C.A. 1985. Susceptibility of *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) to permethrin from across the cotton belt: a five years study. Journal of Economic Entomology 67: 256-258.
- TORRES-VILA, L.M., RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C., LACASA, A., PALO, E., MEJÍAS, M., GUERRERO, M. 1998. Susceptibilidad a 20 insecticidas de *Helicoverpa armigera* Hb. y *Spodoptera exigua* Hb. (Lepidoptera: Noctuidae) en las vegas del Guadiana (Extremadura). Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas 24: 353-362.
- TORRES-VILA, L.M., RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C., PALO, E., BIELZA, P., LACASA, A. 2000. La resistencia a insecticidas de *Helicoverpa armigera* Hübner en España: datos disponibles. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas 26: 493-501.
- WILSON, A.G.L. 1974. Resistance of *Heliothis armigera* to insecticides in the Ord irrigation area north western Australia. Journal of Economic Entomology 67: 256-258.

(Recepción: 2 enero 2002)

(Aceptación: 13 febrero 2002)