

EL BIOENSAYO EN ENTOMOLOGÍA

PRESENTACION GENERAL

El desarrollo de la resistencia a los plaguicidas en poblaciones de artrópodos es probablemente el obstáculo más grande que enfrenta el entomólogo dedicado al combate de plagas. Actualmente la resistencia a plaguicidas, en condiciones de campo, se ha documentado en 525 especies de artrópodos.

La detección oportuna y la medición precisa de la resistencia a estos agroquímicos son elementos indispensables para su manejo en campo. Razón por la cual la formación de los personales involucrados en la protección vegetal debe incluir un entrenamiento sólido tanto en el aspecto teórico como práctico que le permita detectar y medir la resistencia a plaguicidas.

En este problema especial se discutirán a fondo los aspectos relacionados con la detección y medición de la resistencia a plaguicidas en poblaciones de artrópodos. Las practicas de laboratorio reforzaran los conceptos teóricos y le permitirán tener una visión mas completa del fenómeno de la resistencia.

OBJETIVOS

1. Que el alumno comprenda los fundamentos estadísticos y biológicos del bioensayo con plaguicida en artrópodos.
2. Que el alumno adquiera destreza en la práctica del biensayo en la especie que sea de su interés.

PROGRAMA

1. Consideraciones sobre el muestreo de insectos para su estudio de la resistencia a insecticidas.

2. Aspectos cuarentenarios

3. Bioensayo

Definición

Componentes

Objetivos

Tipos de biensayos

Dosis Vs dosificación

Factores que afectan la cantidad de tóxicos que llega al sitio de acción

Características de los artrópodos a usar en el biensayo

Material técnico Vs material formulado

Preparación de las concentraciones de insecticidas

Métodos de exposición al toxico

Inyección

residual

Topical

Tamaño de muestra

Repeticiones

Criterio para determinar las concentraciones de toxico a usar

Uso de la formula de Abbott para corregir mortalidad

Respuesta sigmoide

Linearización de la respuesta dosis-mortalidad

Transformación de la dosis a su logaritmo

Transformación del porcentaje de mortalidad a unidades a unidades probit

Ecuación de regresión de la línea log dosis-probit

Ordenada al origen

Pendiente

Calculo de los limites de confianza de la DL_{50}

Prueba de bondad de ajuste

Uso del programa RAYMOND para realizar el análisis probit

Uso del programa ORIGIN 3.0 W para graficar las líneas log dosis-probit

3.2. El proceso de la selección de resistencia a insecticidas en laboratorio

3.3. Evaluación periódica del proceso de la evaluación de resistencia en laboratorio

SISTEMA DE ACREDITACION

Un examen teórico 20%

Un examen practico 20%

Presentación oral 20%

Participación en clase 40%

LITERATURA QUE SE UTILIZARA

Busvine, J. R. 1976. Critical review of the techniques for testing insecticides.
Commonwealth Agricultural Bureaux, London.

Finney, D. J. 1971. Probit Analysis. Cambridge University Press, Cambridge, England.

Hubert, J. J. 1989. Bioassay. Kendel/hunt Publishing Company, Iowa, USA.

Roberson, L. J. & K. H. Priester. 1991 Pesticide Bioassay With arthropods. CRC, Press, Boca Raton Fl.

Shepard, H. H. (Ed.) 1960. Methods for testing chemicals on insects II. Burgess Publishing, Minneapolis Company, Iowa, USA.

BIOENSAYO



Parcela

Al muestrear en un área reducida y localizada:

i) se pierden genes

ii) la probabilidad de que los insectos colectados procedan de los mismos padres es alta (una población endogámica es pobre en su adaptación al medio; pierde vigor a través de varias generaciones).

NOTA

De manera general para insectos, se considera que poblaciones alejadas por una distancia igual o mayor a 8 km, son diferentes.

B) Cría en laboratorio

Una vez tomada y llevada la muestra al laboratorio, se debe tener en cuarentena para evitar enfermedades que probablemente traiga del campo y para eliminar parásitoides.

C) Bioensayo

En los bioensayos se evalúan sustancias y químicas en base a la respuesta generada.

En el caso de insecticidas generalmente se utiliza material técnico, aunque también se usa material comercial.

NOTA

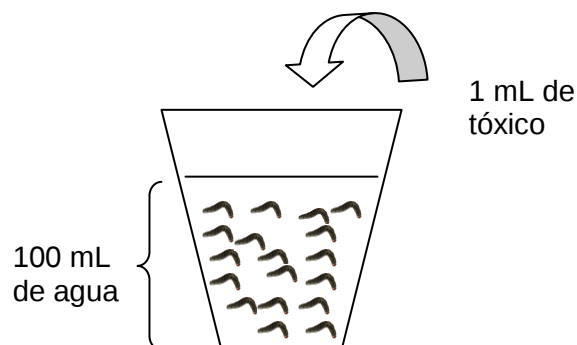
El material técnico tiene una concentración mayor al 90%.

Se preparan dosis decrecientes logarítmicamente (exploratorias), para determinar un rango de 100 a 0% de mortalidad (ventana biológica).

NOTA

Deben de manejarse un mínimo de 5 dosis.

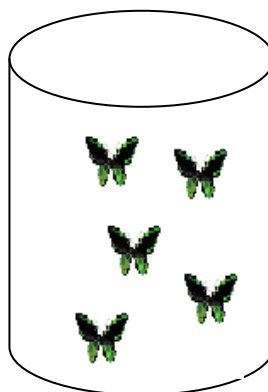
Para bioensayo con larvas de mosquitos, se utilizan 20 larvas por dosis; estas larvas son depositadas en un recipiente que contiene 100 mL de agua, y en el cual se vierte 1 mL de la solución de toxico a concentración conocida. Las larvas que se exponen al toxico son de 4° instar temprano. La dosis se expresa en ppm.



En bioensayo con gusano cogollero se utilizan 10 larvas de 45 mg por dosis; se deposita 1ml de solución del toxico a concentración conocida. Se utiliza el método de paliación tópica localizada. La dosis se expresa en $\mu\text{g/g}$ de larva.



Existen otros métodos en los cuales se sumerge un disco de hoja en una solución de tóxico y sobre este se pone a los insectos, o se impregna una superficie con el insecticida y se pone en contacto con esta.



Las dosis se expresan en ppm, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

INDIVIDUOS A UTILIZAR

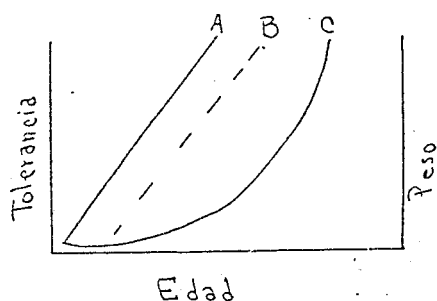
Los individuos a utilizar deben ser homogéneos:

- i) Peso; por ejemplo 45 mg
- ii) Edad; 4 a 5 días (sería mejor utilizar UC)
- iii) Fase biológica; por ejemplo 4° instar temprano (no en proceso de muda).
- iv) Sexo; La hembra tiene mayor peso, mayor tejido graso, es mas agresiva y mas tolerante a insecticidas. En varios casos la hembra es la que causa daño. La dosis que mata una hembra generalmente mata un macho.

NOTA

Es más correcto registrar o expresar la dosis como mg/larva de x gramos o mg.

La expresión mg/g de larva, hace referencia a una larva hipotética de 1g, que en muchos casos no existe y este dato es resultado de un calculo aritmético a partir de mg/larva de x mg.



A y B, relación aritmética teórica
C, fenómeno real.

Calculo aritmético:

Ejemplo, 50 μg de toxico – 45 μg (peso de la larva)

X μg de toxico – 1000 μg

X= 1111.1 $\mu\text{g/g}$ de larva

La expresión $\mu\text{g/g}$ de larva establece una relación lineal y aumento aritmético de la relación Edad-Tolerancia-Peso.

Comúnmente la dosis se expresa (DL_{50} o CL_{50}) como: $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, %, ppm, UI, mg/kg, $\mu\text{g/g}$ de larva, etc., pero no quiere decir que sean las mas adecuadas.

CONCENTRACION.- Se habla de lo que hay en el recipiente y se expresa en % .

DOSIS Y DOSIFICACION.- ppm, $\mu\text{g/g}$ de la larva, etc.

Botella (%)DOSIS (ppm)

100%

1000,000 ppm



0%



0

Permite expresar cantidades más pequeñas con precisión

CONVERSION DE CONCENTRACION A DOSIS (% a ppm o mg/larva, etc).

En *Plutella xylostella* con inmersión de hoja:

Concentración	Dosis (ppm)
1	10 000
0.1	1000
0.05	500
0.01	100

En mosquitos:

100 mL de agua mas 20 larvas mas toxico; el toxico se diluye 100 veces, por lo que las partes por millón se diluyen 100 veces, entonces tenemos.

Concentración	Dosis (ppm)
1	100
0.1	10
0.05	5
0.01	1

En gusano cogollero, con *Bacillus thuringiensis*:

30 g de dieta mas 6 mL de toxico; esta cantidad de dieta se distribuye en 30 vasitos de tal manera que cada vaso tiene 1 g de dieta mas el toxico.

Concentración	Dosis (ppm)
1	2000
0.1	200
0.05	100
0.01	20

6mL en 30 g = 1 mL en 5 g lo que indica que el toxico se esta diluyendo 5 veces y entonces: 1% = 10, 000/5 = 2000 ppm = 2000mg L¹

Para ppm la equivalencia va a depender del tipo de bioensayo o problema, no hay una equivalencia única, ya que utilizando la ecuación para el caso de cogollero:

6 ml	(10000 ppm) =	60000 mlppm
30 gr	(0 ppm) =	0 ml ppm
36 gr	(1666 ppm) =	60 000 mlppm

antes calculado	2000 ppm
-	1666 ppm
diferencia de	334 ppm

Para mosquito

(10000 ppm)	antes calculado	100 ppm
1ml =		
100 ml (0 ppm) =		99 ppm
101 ml (99 ppm) =	diferencia de	1 ppm

NOTA.

Las transformaciones de las dosis se hacen antes de meter los datos a la computadora.

En aplicación localizada la dosis se expresa como: mg/larva, mg/insecto

CONCENTRACION

1 % --- 10 g de toxico --- 1000 mL de acetona

1 % --- 10,000 mg de toxico --- 1000 mL de acetona

1 % --- 10,000,000 μg de toxico --- 1000, 000 μl de acetona

1 % --- 10 μg de toxico --- 1 μl de acetona

1 % = 10 μg de toxico/1 μl de acetona/insecto; la acetona se evapora y entonces 1% = 10 μg de toxico/insecto. Por lo tanto las concentraciones (%), se multiplican por 10 para obtener la dosis (μg), cuando se aplica 1 μl al insecto.

Concentraciones (%)	Dosis (μg /insecto)	Dosis (μg /g de insecto)
1	10	222
0.08	0.8	17.7
0.05	0.5	11.1
0.03	0.3	6.66
0.01	0.1	2.22
0.007	0.07	1.55

* Cuando se expresa la dosis en μg /g de insecto, se hace la conservación del valor de la dosis, considerando el peso de la larva tratada.

Dosis Peso de la larva

10 μg --- 45 mg
 x --- 1000 mg
 x = 222 μg

8 μg -- 45 mg
 x -- 1000 mg
 x = 17.7 μg

0.5 μg -- 45 mg
 x -- 1000 mg
 x = 11.1 μg

0.3 μg -- 45 mg
 x -- 1000 mg
 x = 6.66 μg

Dosis Peso de la larva

0.1 μg --- 45 mg
 x --- 1000 mg
 x = 2.22 μg

0.07 μg --- 45 mg
 x --- 1000 mg
 x = 1.55 μg

Cuando se tira menos o más de 1 μl con el microaplicador: A medida que baja la cantidad de μl se debe verificar la funcionalidad del solvente (cetona, agua, acetona, xilol; con menor punto de evaporación o tensión de vapor). Cuando las fases del solvente se separan deben usarse emulsionante en solución.

Cuando el insecticida no penetra se hacen varias aplicaciones completando la dosis (la no penetración puede deberse a que la velocidad de penetración es muy lenta), o bien mezclar el insecticida con aceite de oliva o linaza.

CALIBRACION DEL MICROAPLICADOR

Para calibra el microaplicador se dan 100 avances y se divide entre la cantidad aplicada; se hace por lo menos tres veces y se saca un promedio.

NOTA: Si se cambia la jeringa o microaplicador se tiene que volver a calibrar.

Por ejemplo:

Cuando se aplica 1.2 μ l, se está aplicando 20% más de lo estimado (1 μ l), entonces en la transformación a μ g/insecto o μ g /g de insecto, se considera un aumento del 20%. Entonces la columna de % se multiplica por 1.2.

Un microaplicador y jeringa de 500 μ l aproximadamente tiran 1 μ l en cada golpe

Un microaplicador y jeringa de 250 μ l aproximadamente tiran 0.5 μ l en cada golpe

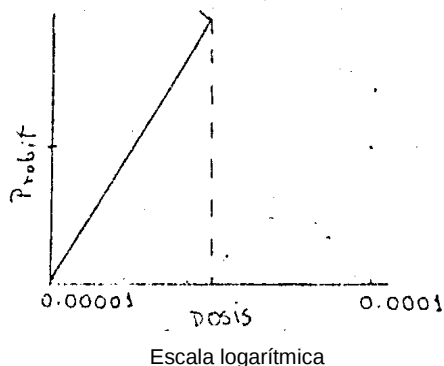
La gota debe caer en el pronoto y no en la capsula cefálica o en el sustrato; es conveniente confirmar esto bajo el microscopio.

NOTA

Las columnas de mis concentraciones debo multiplicarlas por 4.1, ya que el microaplicador libera 0.41 μ l en cada golpe.

DOSIS INTERMEDIA

Caso A

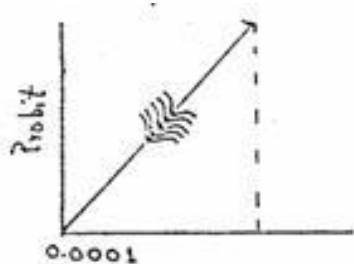


La pendiente abarca medio ciclo.

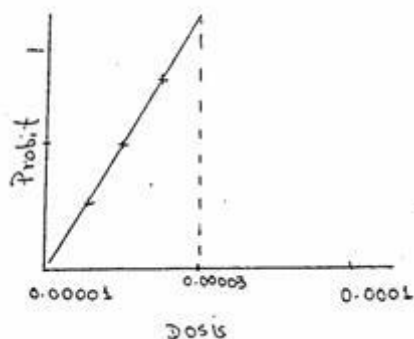
El área ocupada por la línea, se divide en partes iguales, procurando cubrir las áreas cercanas a la DL50; el mayor número de dosis deben perfectamente cubrir las zonas cercanas a la DL50 y no colocarlas en los extremos de la línea, cuidando que las dosis del bioensayo generen una respuesta del 0 al 10 % (en las gráficas probit-log dosis solo se representa del 5 al 95 % de mortalidad).

Debe tenerse cuidado de no incluir o manejar un número muy grande de dosis (se recomienda cinco cuando menos). En donde los puntos de la recta quedan muy juntos, ya que cada punto tiene una distribución normal y si estos se traslapan también habrá un traslape en los resultados, lo que podría conducirnos a error.

Caso A



Los traslapes de dosis generan una fuente muy grande de varianza; se traslapan los resultados de las dosis que están muy juntas



Dosis
0.00001
0.000015
0.00002
0.000025
0.00003

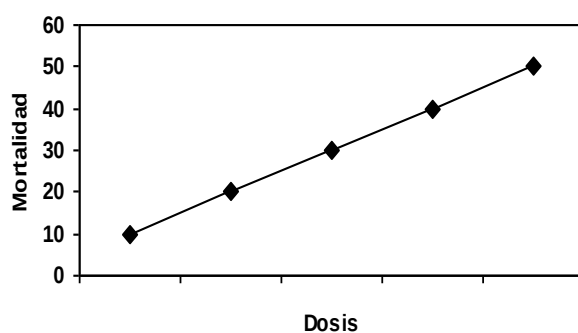
Buena selección de dosis intermedias (ver gráfica A)

CRITERIOS PARA DOSIS INTERMEDIAS

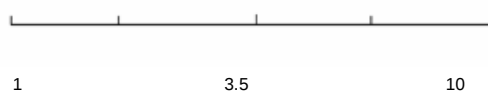
A) Inicialmente los puntos deben quedar homogéneamente espaciados en el rango de dosis que causan del 5 al 95% de mortalidad.

B) El número total de dosis va a estar en función de la pendiente; utilizando muchas dosis se detectan mesetas, cuando las hay.

El número de dosis normalmente es de 5 a 8 y se consideran suficientes



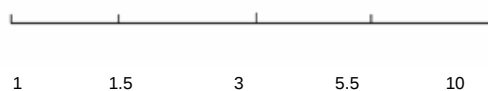
En un ciclo logarítmico (1 – 10). Una dosis intermedia sería igual a 3.5.



En un ciclo logarítmico (1 – 10) dos dosis intermedias serían 2 y 5



En este caso se tienen que variar las distancias entre las dosis, cargándolas siempre la DL_{50} , nunca hacia los extremos de la línea y tratando de cubrir los espacios que sean más grandes.



NOTA:

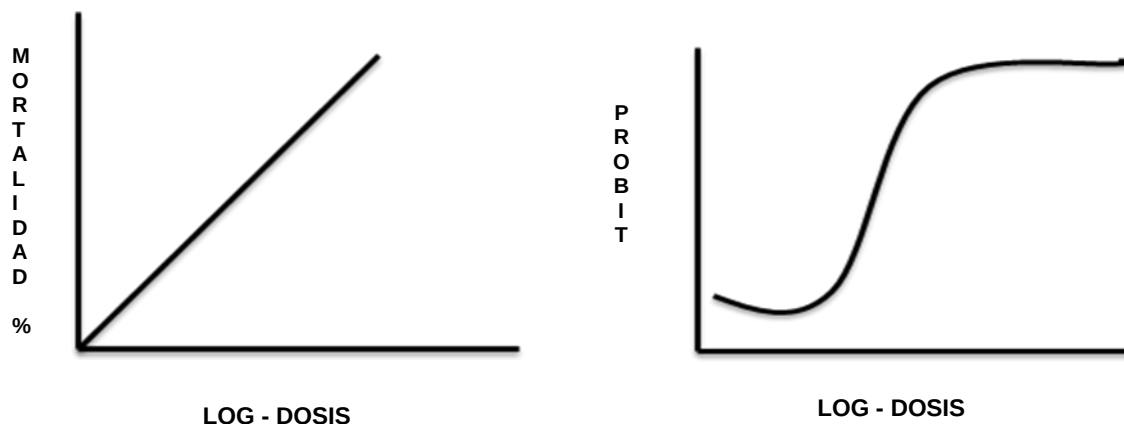
- ❖ Para la ventana biológica puede hacerse una repetición; en caso de que los datos se tomen a las 24 horas, no es necesario hacer repeticiones. Cuando la toma de datos tarda mucho tiempo (7 a 12 días en el caso de Bt.) si deben hacerse repeticiones.
- ❖ Cuando se tiene una mortalidad mayor al 12% en el testigo, ya hay problemas con el bioensayo; en ácaros se acepta hasta un 20%.

Este valor en parte depende del manejo y características del insecto, así como su variación natural. Es importante distinguir entre fenómenos biológicos del insecto y errores del investigador. Nunca deben usarse menos de 30 insectos por dosis, mínimo diez por repetición.

LINEARIZACION DE RESPUESTAS

En los bioensayos los resultados obtenidos para cada una de las dosis (μg a ppm) experimentales, están expresadas en % de mortalidad.

Para establecer una relación lineal entre el estímulo (dosis de toxico aplicado) y su efecto (% de mortalidad), es necesario transformar la dosis a su logaritmo y la mortalidad a valores probit, ya que si graficamos los porcentajes de mortalidad contra logaritmo de la dosis, obtenemos una curva sigmoidea. En cambio cuando graficamos logaritmos dosis contra unidades probit, obtenemos una línea recta.



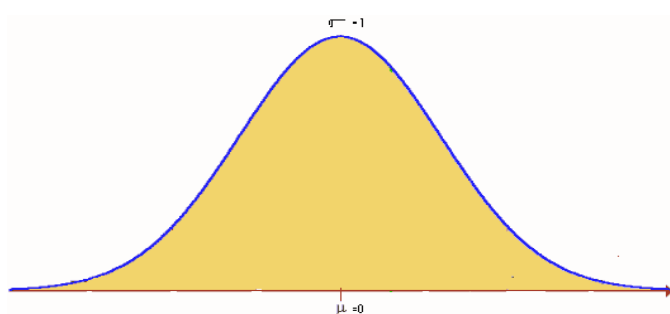
a) Conversión de dosis a logaritmo:

Para que no salgan números negativos, se multiplica por 100 cada dosis y al producto se le saca su logaritmo.

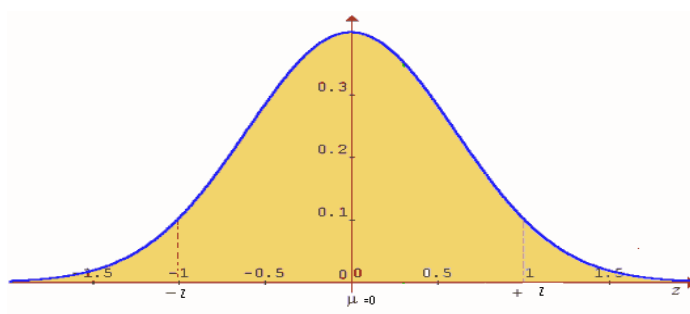
El logaritmo puede ser de base 10, e (2.71); generalmente se usa el logaritmo en base 10 y es este el que utilizaremos.

$X_i = \text{Dosis}$	$X_i = \log(100 d)$	Tratados	Muertos	% de Muertos
0.1	1	47	8	17.0212766
0.15	1.17609126	53	14	26.4150943
0.2	1.30103	55	24	43.6363636
0.3	1.47712125	52	32	61.5384615
0.5	1.69897	46	38	82.6086957
0.7	1.84509804	54	50	92.5925926
0.95	1.97772361	52	50	96.1538462

b) Conversión de mortalidad (%) a unidades probit.



- ✓ Toda el área bajo la curva tiene valor de 1 = 100 y una media igual a cero.



- ✓ El área bajo la curva hacia la izquierda del cero o media tiene un valor negativo; a cada punto bajo la curva le corresponde un valor negativo ($-Z$).
- ✓ El área bajo la curva hacia la derecha del cero o media tiene valor positivo; a cada punto bajo la curva le corresponde un valor positivo ($+Z$).

Para evitar los números negativos a cada valor de la normal estándar se le suma 5, entonces, tenemos que el valor probit de y_i será igual al valor de Z más 5 .

$$\text{Probit } y_i = Z + 5$$

Donde:

Z = valor del punto bajo la curva; % buscado o proporcionado con respecto a 1.

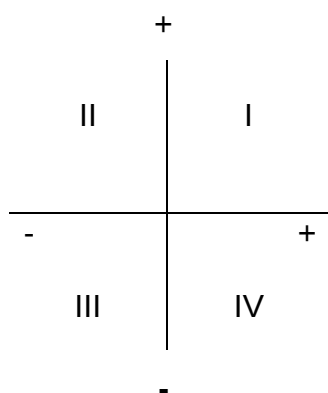
Ejemplo:

A una probabilidad de Z de 0.67% en tabla de Z , le corresponde un valor de 0.44 y el valor probit correspondiente es:

$$\text{Probit } y_i = 0.44 + 5 = 5.44$$

En tablas de probit a un valor de 67% de mortalidad le corresponde un probit de 5.44.

NOTA: Cuadrante cartesiano



- ✓ En el cuadrante I ambos ejes son positivos.
- ✓ En el cuadrante II un eje es positivo y el otro negativo.
- ✓ En el cuadrante III ambos ejes son negativos.
- ✓ En el cuadrante IV un eje es negativo y el otro positivo.

Entonces:

El cuadrante más cómodo y usual es el Primero (I).

*Probit y_i	% de Muertos	No Tratados	No Muertos
4.0459	17.0212766	47	8
4.36927	26.4150943	53	14
4.83921	43.6363636	55	24
5.29194	61.5384615	52	32
5.93839	82.6086957	46	38
6.4398	92.5925926	54	50
6.7628	96.1538462	52	50

NOTA:

* y_i = Probit

El % de mortalidad se calcula a partir del número de tratados y número de muertos

ECUACIÓN DE REGRESIÓN

Para la recta se necesita un orden al origen (α o a) que es el valor de y cuando x_i vale cero, y la pendiente que indica el grado de inclinación de la recta (β o b)

Variable independiente = Log_{10} dosis = x_i

Variable dependiente = Probit = y_i

La ecuación $y_i = \alpha + \beta x_i$ describe una recta poblacional.

Donde:

y_i = Probit

α = intercepto al origen

β = Pendiente

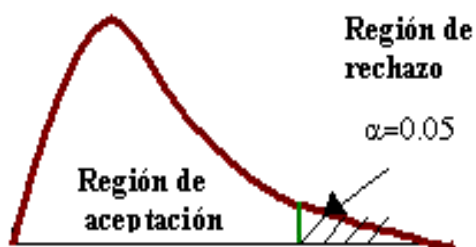
x_i = Log_{10} dosis

Pero como se toma una muestra para inferir la recta, entonces:

$$y_i = \hat{\alpha} + \hat{\beta} x_i + \varepsilon_i$$

Donde: $\hat{\alpha}$ = Alfa estimado
 $\hat{\beta}$ = Beta estimado
 x_i = Log- dosis
 ε_i = Error estimado
 y_i = Probit

Naturaleza del investigador (ε_i). El error estimado se acepta en el testigo y se refleja en la χ^2 (ji cuadrada), la cual normalmente trabaja al 0.05 ($\alpha = 0.05$ nivel de significancia) cuando el problema es muy complejo y variable se trabaja con un alfa de 0.01; por ejemplo en ácaros.



Acepta menos error o variación que un alfa= 0.01



Acepta más variación (usado para ácaros y trabajos de radiaciones).

Generalmente se trabaja con $\alpha = 0.05$

NOTA: El error del investigador se debe eliminar al mínimo.

ECUACION DE REGRESION.

$$y_i = \hat{\alpha} + \hat{\beta} x_i \quad \text{ésta es igual } y_i = a + bx$$

Donde

$\hat{\alpha} = a$ = Intercepto al origen

$\hat{\beta} = b$ = Pendiente

$x_i = x$ = Log dosis

y_i = Unidades Probit

Ordenada al origen.- La ordenada al origen es el valor de y cuando x_i Vale "0" cero, y su valor nos sirve para distinguir a una recta de otras.

$$\hat{\alpha} = \frac{\sum y_i - \hat{\beta} \sum x_i}{n}$$

$$\hat{\beta} = \frac{\sum x_i \cdot y_i - \left[\frac{\sum x_i \cdot \sum y_i}{n} \right]}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}$$

DATOS:

Observaciones	x_i log (100 d)	Probit y_i	$x_i \cdot y_i$	x_i^2
1	1	4.0459	4.0459	1
2	1.17609126	4.36927	5.13866026	1.38319065
3	1.30103	4.83921	6.29595737	1.69267905
4	1.47712125	5.29194	7.81683705	2.1818872
5	1.69897	5.93839	10.0891465	2.88649908
6	1.84509804	6.4398	11.8820624	3.40438678
7	1.97772361	6.7628	13.3749492	3.91139066
$\Sigma = 7$	$\Sigma = 10.4760342$	$\Sigma = 37.68731$	$\Sigma = 58.6435127$	$\Sigma = 16.4600334$

$$\beta = \frac{58.6435127 - \frac{(10.4760342)(37.68731)}{7}}{16.4600334 - \frac{(10.4760342)^2}{7}} = \frac{58.6435127 - \frac{394.813547}{7}}{16.4600334 - \frac{109.747292}{7}}$$

$$\beta = \frac{58.6435127 - 56.4019353}{16.4600334 - 15.6781845} = \frac{2.241577439}{0.781848883}$$

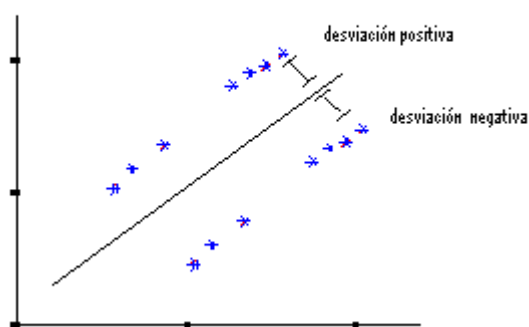
$$\beta = \frac{58.6435127 - 56.4019353}{16.4600334 - 15.6781845} = \frac{2.241577439}{0.781848883} = 2.86702135$$

$$\alpha = \frac{37.68731 - 2.86702135(10.4760342)}{7} = \frac{37.68731 - 30.0350136}{7} = \frac{7.65229643}{7}$$

$$\alpha = 1.0931852$$

Entonces:

$$y_i = 1.0931852 + 2.86702135 = 3.96020655$$



La suma de las desviaciones positivas más las negativas dan cero, lo tanto es el mayor ajuste.

$x_i = DL_{50}$ pero expresada como $\log(100 d)$

$$x_i = \frac{y_i - \alpha}{\beta} = \frac{5 - 1.0931852}{2.86702135} = \frac{3.9068148}{2.86702135} = 1.36267377m$$

Como $x_i = \log(100 \text{ dosis})$, entonces se debe sacar su antilogaritmo y el resultado dividirlo entre 100 para obtener la DL_{50} en su valor original.

$$\frac{\text{Anti log } x_i}{100} = \frac{\text{Anti log } 1.36267377}{100} = \frac{23.050147}{100} = 0.23050147$$

$$DL_{50} = 0.23050147$$

DL_{50} es la cantidad de toxico necesario para matar el 50% de la muestra o individuos bajo prueba, que estiman la población.

$$DL_{50} \text{ Calculado} = 0.23050147$$

$$DL_{50} \text{ Computadora} = 0.232$$

Ecuación de regresión.

$$\text{Calculado } y_i = 1.0931852 + 2.86702135 x_i$$

$$\text{Computadora } y_i = 6.825 + 2.875 x_i$$

El intercepto al origen es diferente por los dos métodos por lo que los datos originales de las dosis se multiplican por 100 en el método manual, cambiando todos los valores de la recta y moviendo a esta en su intercepción con el eje de las y_i . Pero las DL_{50} calculados por ambos métodos son las mismas.

Para transformar la $\hat{\alpha}$ calculada a partir de $x_i \log(100 d)$ se despeja:

$$\hat{\alpha} = y_i - \hat{\beta} x_i \quad \text{donde } x_i = \log DL_{50}$$

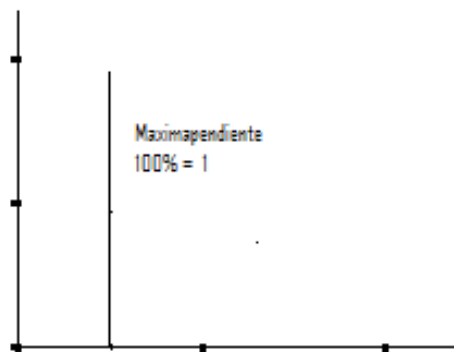
$$\hat{\alpha} = 5 - 2.86702135 (-0.6373263) = 6.82722811$$

$$y_i = 6.82722811 + 2.86702135 x_i$$

ESTIMACIÓN DE LA VARIANZA.

$$\sigma^2 = \frac{1}{\hat{\beta}}$$

$$S^2 = \frac{1}{\hat{\beta}} = \frac{1}{2.86702135} = 0.34879405$$



$$S^2 = 1 / 1 = 1$$

A medida que la línea se inclina, la pendiente es mayor y la varianza es mayor.

$$S = \sqrt{0.348794054} = 0.590587889$$

PRUEBA DE AJUSTE de la línea Probit

Para evaluar si nuestro modelo es correcto, se utiliza la prueba de “ji cuadrada” χ^2 , con las siguientes hipótesis:

(Ho).- Hipótesis nula; los datos modelan una línea probit

(Ha).- Hipótesis alternativa; los datos no modelan una línea probit

$$\chi^2 = \sum \frac{(r - nP)^2}{nP(1-P)}$$

DATOS:

X_i	y'	n	r	P	nP	r-nP	$(r-nP)^2$	nP(1-P)	$\frac{(r - nP)^2}{nP(1 - P)}$
log(100d)	Probit calculado	No. de insectos tratados	No. de insectos muertos	Mortalidad esperada					
1.000	3.957	47	8	0.1484	6.97	+1.03	1.0600	5.935	0.1806
1.176	4.463	53	14	0.2958	15.68	-1.68	2.7880	11.034	0.2556
1.301	4.823	55	24	0.4300	23.65	+0.35	0.1220	13.48	0.009
1.477	5.329	52	32	0.6180	32.14	-0.14	0.0256	12.285	0.002
1.699	5.968	46	38	0.8338	38.35	-0.35	0.1225	6.373	0.0202
1.845	6.388	54	50	0.9177	49.56	+0.45	0.2025	4.077	0.0486
1.978	6.771	52	50	0.9627	50.06	-0.06	0.0036	1.867	0.002
$\Sigma = 10.476$									$\Sigma = 0.518$

Entonces: $\chi^2 = \sum \frac{(r - nP)^2}{nP(1-P)} = 0.518$

y'_i = probit calculado; se obtiene con la ecuación de regresión sustituyendo en esta cada una de las dosis, donde χ^2_1

$$y'_1 = 1.081 + 2.878 (1) = 3.958$$

$$y'_2 = 1.081 + 2.878 (1.176) = 4.464$$

$$y'_3 = 1.081 + 2.878 (1.301) = 4.823$$

$$y'_4 = 1.081 + 2.878 (1.477) = 5.330$$

$$y'_5 = 1.081 + 2.878 (1.699) = 5.969$$

$$y'_6 = 1.081 + 2.878 (1.845) = 6.389$$

$$y_7' = 1.081 + 2.878 (1.978) = 6.771$$

La mortalidad esperada se saca directamente de la gráfica de SAS o se interpreta en tablas probit

Por ejemplo:

$$14.8 \quad \underline{\text{Mortalidad \%}} \quad 14.9$$

$$0.1 = 100\%$$

---Distancia---

Mortalidad esperada en tablas probit $y_i' = 3.957$

$$3.9549 \quad \underline{100\%} \quad 3.959$$

$$\text{-----}0.0004\text{-----}$$

Unidades de distancia

$$3.9549 \quad \underline{3.957} \quad 3.959$$

$$\text{-----}4.72\%\text{-----}$$

0.0021 unidades de distancia

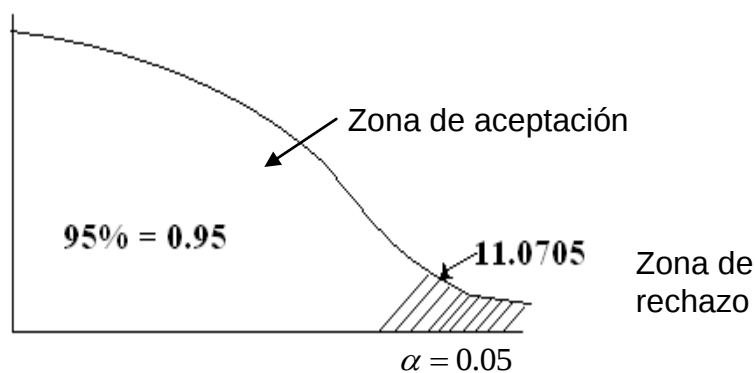
$$0.0044 = 100\%$$

$$0.0021 = x$$

$$x = 47.72\%$$

Entonces se multiplica $0.1(0.4772) + 14.8 = 14.847$

$$\frac{14.847}{100} = 0.14847$$



$\chi^2_c = 0.518$ cae en el área de aceptación ($0.518 = 0.52\%$)

$$\chi^2_t = (\alpha)n - 2gl = (0.05) 5 gl = 11.0705$$

Entonces

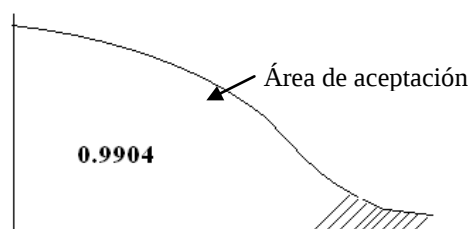
Ho, se acepta

HOJA DE CALCULADORA (SAS)

Si $PR > CHI = SQ = 0.05$ el modelo se acepta

Si $PR < CHI = SQ = 0.04$ o menos, se rechaza

$PR > CHI = SQ = 0.9904$ indica el área bajo la curva



Indica que necesito 0.9904 de área de rechazo para que mi modelo no sea valido.

CALCULO DE LOS LIMITES DE CONFIANZA DE LA DL₅₀

DATOS:

Observaciones	X_i	n	y_i	w	nw	nw X_i	nw X_i^2	X_i^2
1	1,000	47	3,956	0,4218	19,8246	19,8246	19,825	1,000
2	1,176	53	4,463	0,5722	30,3266	35,6641	41,941	1,383
3	1,301	55	4,823	0,6292	34,606	45,0224	58,574	1,693
4	1,477	52	5,33	0,6119	31,8188	46,9964	69,413	2,181
5	1,699	46	5,97	0,4486	20,6356	35,0599	59,567	2,886
6	1,845	54	6,39	0,3053	16,4862	30,4170	56,119	3,404
7	1,978	52	6,774	0,1881	9,7812	19,3472	38,269	3,912
					$\Sigma = 163,479$	$\Sigma = 232,3316$	$\Sigma = 343,708$	

x_i = dosis transformada

n = número de tratados

y_i = probit de tablas

W = coeficiente de peso para probit

Ecuaciones:

$$Sm = \frac{1}{\hat{\beta}} \sqrt{\frac{1}{\sum n\omega}} + \frac{(m - \bar{\chi})^2}{\sum n\omega(\chi - \bar{\chi})^2}$$

$$\bar{\chi} = \frac{\sum n\omega\chi}{\sum n\omega} = \frac{232.331}{163.491} = 1.421$$

$$\sum n\omega(\chi - \bar{\chi})^2 = \sum n\omega\chi^2 - \frac{(\sum n\omega\chi)^2}{\sum n\omega}$$

$$\sum n\omega(\chi - \bar{\chi})^2 = 343.708 - \frac{(232.331)^2}{330.181} = 13.527$$

$$Sm = \frac{1}{2.881} \sqrt{\frac{1}{163.479} + \frac{(1.362 - 1.421)^2}{13.527}}$$

$$Sm = 0.347 \sqrt{0.006 + \frac{0.0035}{13.527}}$$

$$Sm = 0.347 \sqrt{0.006 + 0.0026}$$

$$Sm = 0.347 \sqrt{0.00626}$$

$$Sm = 0.347(0.079)$$

$$Sm = 0.0274$$

Limites de confianza al 95%

$$i.e = m + -1.96Sm$$

Donde:

$$m = 1.362 = \log DL_{50}$$

$$\text{Limite superior} = 1.362 + [1.96(0.0274)] = 1.416$$

$$\text{Limite inferior} = 1.362 - [1.96(0.0274)] = 1.3082$$

Para convertir los limites fiduciales a valores originales

$$\frac{\text{Anti log de } 1.416}{100} = \frac{26.061}{100} = 0.260$$

$$\frac{\text{Anti log de } 1.3082}{100} = \frac{20.323}{100} = 0.203$$

NOTA: Entre más variación haya en los resultados, se debe bajar el nivel de significancia de 0.05 a 0.01; por ejemplo para trabajar con ácaros el nivel de significancia es de 0.01.

ANALISIS DE MEZCLAS

$$MEZCLA \left\{ \begin{array}{c} Insectida A \\ + \\ Insectida B \end{array} \right. \\ (M)$$

Requisitos básicos

Debe haber potenciación; toxicidad de M mayor a la suma de la toxicidad de A y B por separado.

$$DL_{50}A + DL_{50}B = DL_{95}M \Rightarrow \text{potenciación}$$

$$DL_{50}A + DL_{50}B = DL_{10}M \Rightarrow \text{antagonismo}$$

$$DL_{50}A + DL_{50}B = DL_{55}M \Rightarrow \text{Acción similar o efecto aditivo; hay independencia en la mortalidad causada por A y la mortalidad causada por B.}$$

NOTA: la potenciación es un efecto poco usual o común.

Todos los componentes de la mezcla deben servir por separado.

ANALISIS

a) Bioensayo con A y bioensayo con B por separado.

Normalmente se hace en poblaciones susceptibles para evitar enmascaramiento de efectos.

b) Bioensayo de A + B

-----En este caso hacer sólo 3 repeticiones

BIOENSAYO

Con gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*

1.- Obtener la línea log dosis - mortalidad al insecticida A

A = Paratión metílico

Observaciones	Dosis ($\mu\text{g/g}$ larva)	Mortalidad (%)
1	0.175	0.2
2	0.250	4.0
3	1.0	10.0
4	2.5	42.0
5	5.0	68.0
6	10.0	90.0
7	17.5	92.0
8	25.0	94.0
9	50.0	99.8

$$DL_{50} = 3.0 \mu\text{g/g larva}$$

$$DL_{95} = 20 \mu\text{g/g larva}$$

ECUACIÓN DE REGRESIÓN
 $y = 4.01 + 2.0x$

2.- Obtener la línea log dosis – mortalidad, para el insecticida B.

B = DDT

Observaciones	Dosis ($\mu\text{g/g}$ larva)	Mortalidad (%)
1	10	2
2	25	6
3	100	40
4	250	54
5	1000	88
6	2500	96

$$DL_{50} = 3187.5 \mu\text{g/g larva}$$

$$DL_{95} = 2,020 \mu\text{g/g larva}$$

ECUACIÓN DE REGRESIÓN
 $y = 1.38 + 1.59x$

3.- Mezclar A + B

La mezcla se debe hacer en proporción a las DL_{50} obtenidas con los productos por separado; toxicidad % de A = toxicidad % B.

3.1.- Las dosis DL_{50} de A y de B se deben pasar a porcentaje:

a) $DL_{50} A = 30\mu g/g$ se debe pasar a $\mu g/larva$

Entonces; si se utilizó una larva de 420 mg

$3.0 \mu g$ ____ 1000 mg de larva

X ____ 420 mg de larva

$$X = 0.12 \mu g$$

b) $DL_{50} = 0.12\mu g/larva$ se debe pasar a %

Entonces:

$DL_{50} 0.12\mu g$ se divide entre 10 (cuando se aplica 1 μl de tóxico)

$$DL_{50} = \frac{0.12\mu g}{10} = 0.012\mu g / larva$$

c) $DL_{50} B = 187.5 \mu g/g$ pasarlo a $\mu g/larva$

$187.5\mu g$ ____ 1000 mg de larva

X ____ 420 mg

$$X = 7.5 \mu g$$

d) $DL_{50} B = 7.5\mu g$ pasarlo a %

$$DL_{50} B = \frac{7.5\mu g}{10} = 0.75\%$$

Entonces tenemos:

$$DL_{50} A = 0.012\%$$

$$DL_{50} B = 0.75\%$$

3.2.- Hay que mezclar 0.012 % A + 0.75 % B para tener 1 equivalente toxicológico, que indica que los dos insecticidas están en igualdad.

$$0.012 \% A + 0.75 \% B = 1 \text{ ET}$$

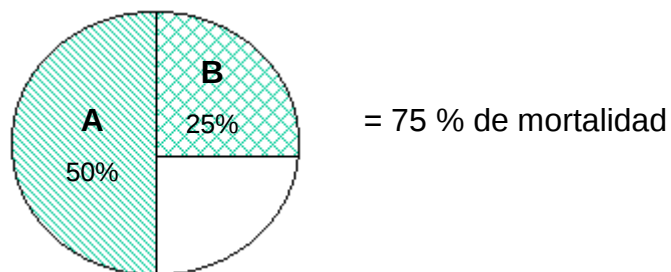
Se desea preparar 5 mL que contengan 10 equivalentes toxicológicos

$$1 \text{ ET} = 0.75\% \text{ DDT} + 0.012\% \text{ PM}$$

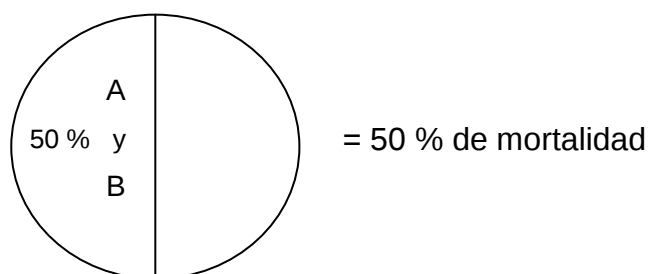
$$10 \text{ ET} = 10 \times 0.75\% \text{ DDT} + 10 \times 0.012\% \text{ PM}$$

Con 1 ET no se mata el 100% de los individuos, ya que:

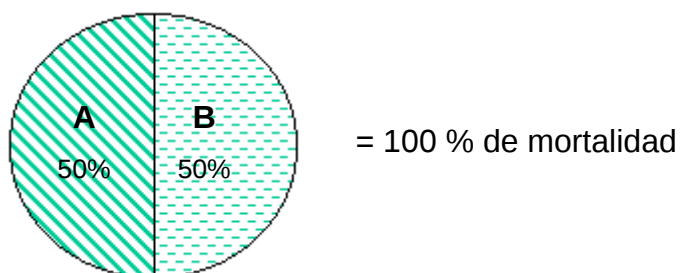
A puede matar el 50 % y B el 50% de lo que quedo



El caso más común es que A mate el 50% y B el mismo 50%



El caso menos común es que cada insecticida mate un 50% diferente



Por lo tanto se hace una mezcla a 10 ET, a partir de ahí se hacen diluciones para obtener del 0 al 100% de mortalidad.

$$10\text{ET} = 7.5\% \text{ DDT} + 0.12\% \text{ P.M}$$

NOTA: Si no son suficientes 10 ET, se puede preparar una mezcla con mayor ET.

Si necesito 5 mL que tengan 7.5% DDT + 0.12% P.M = 10 ET:

0.6 mL P.M	(*1%) = 0.6 mL % P.M
3.75 mL DDT	(**10% DDT) = 37.5 mL % DDT
Acetona 0.65 mL	(0%) = 0 mL %
5mL Mezcla	(7.5% DDT + 0.12% PM) = 37.5 mL % DDT + 0.6 mL % PM

** Solución madre DDT = 10%

* Solución madre PM = 1%

En un frasco se agregan 0.6 mL de P.M al 1% mas 3.75 mL de DDT al 10% mas 0.65 mL de acetona pura = 5 mL de mezcla con 10 ET.

Diluciones:

2 mL (10 ET)	= 20 mL ET
3 mL (0 ET)	= 0 mL ET
5 mL (4 ET)	= 20 mL ET

4.- Bioensayo con la mezcla

Observaciones	Dosis (ET)	Mortalidad (%)
1	0.1	2
2	0.2	4
3	0.4	24
4	0.7	76
5	1.0	96
6	4.0	99.8

$$DL_{50} (\text{DDT} + \text{PM}) = 0.49 \text{ ET}$$

$$DL_{95} (\text{DDT} + \text{PM}) = 1.17 \text{ ET}$$

Ecuación de Regresión:

$$y = 6.34 + 4.39 x \quad \text{donde:}$$

$$x = \log_{10} \text{ ET}$$

5.- Análisis de Resultados

5.1.- Análisis de acción conjunta, utilizando el método de Sun y Jonson.

i) Datos necesarios.

$$DL_{50} \text{ PM} = 3 \mu\text{g} / \text{g}$$

$$DL_{50} \text{ DDT} = 187.15 \mu\text{g} / \text{g}$$

$$DL_{50} \text{ M (DDT + PM)} = 0.49 \text{ ET}$$

a) Calcular el índice tóxico de A; donde A es el insecticida más tóxico.

$$ITA = \frac{DL_{50} A}{DL_{50} A} \times 100$$

$$ITA = \frac{3 \mu\text{g} / \text{g}}{3 \mu\text{g} / \text{g}} \times 100$$

$$ITA = 100\%$$

b) Calcular el índice tóxico de B

$$ITB = \frac{DL_{50} A}{DL_{50} B} \times 100$$

$$ITB = \frac{3 \mu\text{g} / \text{g}}{187.5 \mu\text{g} / \text{g}} \times 100$$

$$ITB = 1.6\%$$

c) Obtenga el valor de la DL_{50} de M expresado en $\mu\text{g} / \text{g}$ de larva

$$1 \text{ ET} = 3 \mu\text{g} / \text{g} \text{ PM} + 187.5 \mu\text{g} / \text{g} \text{ DDT}$$

$$0.49 \text{ ET} = (3 \mu\text{g} / \text{g} \text{ PM} + 187.15 \mu\text{g} / \text{g} \text{ DDT}) \times 0.49$$

ya que sí:

$$\begin{array}{rcl} 3 \mu\text{g} / \text{g} + 187.5 \mu\text{g} / \text{g} & \text{---} & 1 \text{ ET} = 100\% \\ \times & & \text{---} 49 \% \end{array}$$

Solo deben multiplicarse $3 \mu\text{g} / \text{g}$ y $187.5 \mu\text{g} / \text{g}$ por 0.49

$$0.49 \text{ ET} = 1.47 \mu\text{g} / \text{g} \text{ PM} + 91.875 \mu\text{g} / \text{g} \text{ DDT} = 93.35 \mu\text{g} / \text{g}$$

$$DL_{50} \text{ M} = 93.35 \mu\text{g} / \text{g}$$

d) Calcule el índice tóxico de la mezcla

$$ITM = \frac{DL_{50}A}{DL_{50}M} \times 100$$

$$ITM = \frac{3 \mu g / g}{93.35 \mu g / g} \times 100$$

$$ITM = 3.2 \mu g / g \text{ de larva}$$

e) Calcule la toxicidad esperada de la mezcla

$$TEM = ITA (\text{proporción de A en M}) + ITB (\text{proporción de B en M})$$

Proporción de A en M:

$$3 \mu g / g \text{ A} + 187.5 \mu g / g \text{ B} = 100\% \text{ de la mezcla}$$

Entonces:

$$190.5 \mu g / g = 100\% = 1$$

$$3 \mu g / g \text{ A} = X$$

$$X = 1.57 \% = 0.0157 \text{ proporción de A en M}$$

$$190.5 \mu g / g = 100\% = 1$$

$$187.5 \mu g / g \text{ B} = X$$

$$X = 98.43 \% = 0.9843 \text{ proporción de B en M}$$

$$TEM = 100 (0.0157) + 1.6 (0.9843)$$

$$TEM = 1.57 + 1.57 = 3.14$$

$$TEM = 3.14$$

f) Calcule el coeficiente de cotoxicidad

$$CCT = \frac{ITM}{TEM} \times 100$$

$$CCT = \frac{3.2 \mu g / g}{3.14} \times 100$$

$$CCT = 101.9$$

REGLAS DE COTOXICIDAD

Si CCT es menor de 85, entonces hay ANTAGONISMO

Si CCT esta entre 85 y 115, entonces hay ACCION SIMILAR

Si CCT esta entre 115 y 200, entonces hay LIGERA POTENCIACION

Si CCT es mayor de 200, entonces hay POTENCIACION

Se concluye de acuerdo a las reglas de cotoxicidad que la mezcla de Paration metílico (A) + DDT (B), a nivel de la DL_{50} presenta ACCION SIMILAR.

5.2.- Método gráfico de Wadley

Este método nos dice que tipo de acción conjunta se presenta a lo largo de toda la línea; desde DL_5 hasta DL_{95} .

- a) Partiendo del hecho de que ya se hizo la mezcla y se hizo el bioensayo, nuestros datos base son los siguientes:

Insecticida	DL_{50}	DL_{95}	Ecuación de Regresión
P.M (A)	3.0 $\mu\text{g/g}$	20 $\mu\text{g/g}$	$y = 4.01 + 2.0 x$
DDT (B)	187.5 $\mu\text{g/g}$	2020 $\mu\text{g/g}$	$y = 1.38 + 1.59 x$
Mezcla (PM + DDT)	0.49 ET	1.17 ET	$y = 6.34 + 4.39 x$

b) Mezcla

Observaciones	Dosis (ET)	Dosis ($\mu\text{g/g}$)	Mortalidad obtenida (%)	Mortalidad corregida (%)
1	0.1	0.3 + 18.75	2	0.1
2	0.2	0.6 + 37.5	4	4.2
3	0.4	1.2 + 75	24	34.2
4	0.7	2.1 + 131.25	76	74.5
5	1.0	3.0 + 187.5	96	91
6	4.0	12.0 + 750.0	99.8	99.9

Para obtener la mortalidad corregida se utiliza la ecuación de regresión de la mezcla.

$$y = 6.34 + 4.39 (\log 0.1 \text{ ET})$$

$$y = 6.34 + 4.39 (-1)$$

$$y = 1.95 \text{ probit} = 0.1 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_2 = 6.34 + 4.39 (\log 0.2 \text{ ET})$$

$$y_2 = 6.34 + 4.39 (-0.698)$$

$$y_2 = 3.271 \text{ probit} = 4.2 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_3 = 6.34 + 4.39 (\log 0.4 \text{ ET})$$

$$y_3 = 6.34 + 4.39 (-0.3979)$$

$$y_3 = 4.593 \text{ probit} = 34.2 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_4 = 6.34 + 4.39 (\log 0.7 \text{ ET})$$

$$y_4 = 6.34 + 4.39 (-0.1549)$$

$$y_4 = 5.659 \text{ probit} = 74.5 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_5 = 6.34 + 4.39 (\log 1.0 \text{ ET})$$

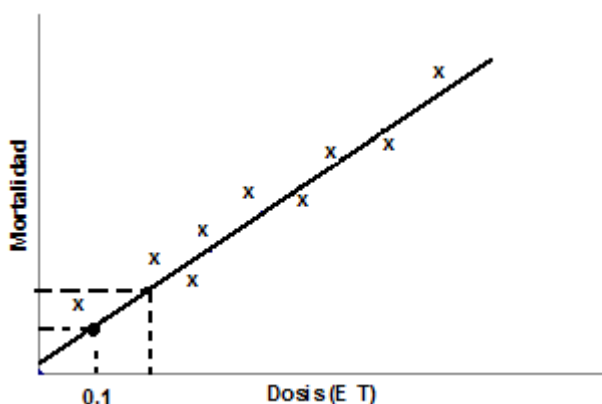
$$y_5 = 6.34 + 4.39 (0)$$

$$y_5 = 6.34 \text{ probit} = 91 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_6 = 6.34 + 4.39 (\log 4.0 \text{ ET})$$

$$y_6 = 6.34 + 4.39 (0.6020)$$

$$y_6 = 8.89 \text{ probit} = 99.9 \% \text{ mortalidad}$$



x= Mortalidad observada
 ●= Mortalidad esperada que corresponde a la línea de mayor ajuste

c) Obtener el radio tóxico (RT)

$$RT = \frac{\frac{DL_{50}A}{DL_{50}B} + \frac{DL_{95}A}{DL_{95}B}}{2}$$

$$RT = \frac{\frac{3\mu g / g}{187.5\mu g / g} + \frac{20\mu g / g}{2020\mu g / g}}{2}$$

$$RT = \frac{0.016 + 0.0099}{2}$$

$$RT = 0.01295$$

d) Obtener el equivalente de mezcla (EM)

$$EM = \frac{DL_{50}B}{DL_{50}A}$$

$$EM = \frac{187.5\mu g / g}{3\mu g / g}$$

$$EM = 62.5$$

e) Obtener el equivalente toxicológico calculado (ETC)

$$ETC = DL_x A + [DL_x A (EM)] RT$$

$$ETC = Dosis A + [Dosis A (EM)] RT$$

$$ETC = 0.3 + [0.3 (62.5)] 0.01295$$

$$\text{ETC} = 0.5428$$

$$\text{ETC} = 0.6 + [0.6 (62.5)] 0.01295$$

$$\text{ETC} = 1.0856$$

$$\text{ETC} = 1.2 + [1.2 (62.5)] 0.01295$$

$$\text{ETC} = 2.1712$$

$$\text{ETC} = 2.1 + [2.1 (62.5)] 0.01295$$

$$\text{ETC} = 3.7996$$

$$\text{ETC} = 3.0 + [3.0 (62.5)] 0.01295$$

$$\text{ETC} = 5.4281$$

$$\text{ETC} = 120 + [120 (62.5)] 0.01295$$

$$\text{ETC} = 21.7125$$

f) Obtener la mortalidad esperada

Se utiliza la ecuación de regresión del insecticida más tóxico (A), y donde

$x = \text{ETC}$

$$\text{P.M} \rightarrow y_i = 4.01 + 2.0 x$$

$$y_1 = 4.01 + 2.0 (\log 0.5428)$$

$$y_1 = 3.4792 \text{ probit} = 6.4 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_2 = 4.01 + 2.0 (\log 1.0856)$$

$$y_2 = 4.0813 \text{ probit} = 18 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_3 = 4.01 + 2.0 (\log 2.1712)$$

$$y_3 = 4.6833 \text{ probit} = 38 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_4 = 4.01 + 2.0 (\log 3.7996)$$

$$y_4 = 5.1694 \text{ probit} = 57 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_5 = 4.01 + 2.0 (\log 5.4281)$$

$$y_5 = 5.4792 \text{ probit} = 69 \% \text{ mortalidad}$$

$$y_6 = 4.01 + 2.0 (\log 21.712)$$

$$y_6 = 6.6834 \text{ probit} = 95.4 \% \text{ mortalidad}$$

ETC ($\mu\text{g/g}$)	Mortalidad esperada (%)	Mortalidad observada (%)
0.5428	6.4	2
1.0856	18	4
2.1712	38	24
3.7996	57	76
5.4281	69	96
21.7125	95.4	99.3

LIMITES FIDUCIALES

$$DL_{50} \text{ P.M} = 3 \mu\text{g} / \text{g} (2.5 \mu\text{g} / \text{g} , 3.75 \mu\text{g} / \text{g})$$

Los limites fiduciales se pasan a porcentaje, considerando a 3 $\mu\text{g/g}$ como el 100%.

$$3 \mu\text{g} / \text{g} = 100\%$$

$$3.75 \mu\text{g} / \text{g} = x$$

$$x = 125 \% \rightarrow \text{Límite superior}$$

$$3 \mu\text{g} / \text{g} = 100\%$$

$$2.5 \mu\text{g} / \text{g} = x$$

$$x = 83.33 \% \rightarrow \text{Limite inferior}$$

Entonces:

$$DL_{50} \text{ P.M} = 3 \mu\text{g/g}(83.33 \% , 125 \%)$$

DL_{50} esperada (M esperada) = 1.7 (83.33 %, 125 %); valor tomado de la:

$$DL_{50} \text{ esperada} = 1.7 \mu\text{g} / \text{g} (1.416 \mu\text{g} / \text{g} , 2.125 \mu\text{g} / \text{g})$$

DL_{50} mezcla (M observada) = 0.49 ET (0.26 ET, 0.86 ET)

Donde: Se considera que cada ET tiene 3 μg del insecticida más tóxico (P. M)

$$1 \text{ ET} = 3 \mu\text{g/g}$$

$$0.49 \text{ ET} = x$$

$$x = 1.47 \mu\text{g/g}$$

DL_{50} mezcla = 1.7 $\mu\text{g} / \text{g}$ (0.26 ET, 0.86 ET); deben pasarse los limites fiduciales a $\mu\text{g/g}$, para lo cual primero deben pasarse a % con respecto a 0.49.

$$0.49 \text{ ET} = 100\%$$

$$0.26 \text{ ET} = x$$

$$x = 53\%$$

$$0.49 \text{ ET} = 100\%$$

$$0.86 \text{ ET} = x$$

$$x = 175.51 \%$$

DL₅₀ Mezcla = 1.47 µg /g (53 %, 175 %); pasar a µg/g los limites fiduciales utilizando la regla de tres.

$$\text{DL}_{50} \text{ Mezcla} = 1.47 \text{ µg /g (0.78 µg/g , 2.58 µg/g)}$$

Comparación de la DL₅₀ esperada y la DL₅₀ observada de la Mezcla

$$\text{DL}_{50} \text{ M esperada} = 1.7 \text{ µg /g (1.41 µg /g , 2.125 µg /g)}$$

$$\text{DL}_{50} \text{ M observada} = 1.47 \text{ µg /g (0.78 µg /g , 2.58 µg /g)}$$

Los límites se traslapan, entonces hay ACCION SIMILAR a NIVEL de la DL₅₀ (gráfica de mezclas).

A NIVEL DE LA DL₉₅ :

$$\text{DL}_{95} \text{ P. M} = 20.5911 \text{ (14.918, 31.654 µg /g)}$$

$$20.5911 \text{ µg /g} = 100\%$$

$$14.918 \text{ µg /g} = x$$

$$x = 72.45 \%$$

$$20.5911 \text{ µg /g} = 100\%$$

$$31.654 \text{ µg /g} = x$$

$$x = 153.72 \%$$

Entonces:

$$DL_{95} \text{ P. M} = 20.5911 (72.45 \%, 153.72 \%)$$

$$DL_{95} \text{ esperada (M esperada)} = *12.0 \mu\text{g /g} (72.45 \%, 153.72 \%);$$

* valor tomado de la grafica.

$$\begin{aligned} 12.0 \mu\text{g /g} &= 100\% \\ x &= 72.45\% \\ x &= 8.694 \mu\text{g /g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 12.0 \mu\text{g /g} &= 100\% \\ x &= 153.72\% \\ x &= 18.446 \mu\text{g /g} \end{aligned}$$

$$DL_{95} \text{ esperada} = 12.0 \mu\text{g /g} (8.694 \mu\text{g /g}, 18.446 \mu\text{g /g})$$

$DL_{95} \text{ MEZCLA (M observada)} = 1.1706 \text{ ET} (0.724 \text{ ET}, 13.88 \text{ ET})$; los ET que expresan la DL_{95} deben pasarse a $\mu\text{g /g}$, considerando que 1 ET tiene 3 $\mu\text{g /g}$ del insecticida más tóxico (P. M)

$$\begin{aligned} 1 \text{ ET} &= 3 \mu\text{g /g} \\ 1.1706 \text{ ET} &= x \\ x &= 3.5118 \mu\text{g /g} \end{aligned}$$

$DL_{50} \text{ MEZCLA} = 3.5118 \mu\text{g /g} (0.7249 \text{ ET}, 13.88 \text{ ET})$; ahora los limites fiduciales deben pasarse a %, considerando 1.1706 ET como el 100%

$$\begin{aligned} 1.1706 \text{ ET} &= 100\% \\ 0.7249 \text{ ET} &= x \\ x &= 61.925 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 1.1706 \text{ ET} &= 100\% \\ 13.88 \text{ ET} &= x \\ x &= 1185.71 \% \end{aligned}$$

DL₉₅ MEZCLA = 3.5118 µg /g (61.925 %, 1185.71 %); ahora los limites fiduciales deben pasarse a µg /g.

$$\begin{aligned} 3.5118 \text{ µg /g} &= 100\% \\ x &= 61.925 \% \\ x &= 2.1746 \text{ µg /g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3.5118 \text{ µg /g} &= 100\% \\ x &= 1185.71 \\ x &= 41.639 \text{ µg /g} \end{aligned}$$

$$\text{DL}_{95} \text{ MEZCLA} = 3.5118 \text{ µg /g} (2.1746 \text{ µg /g}, 41.639 \text{ µg /g})$$

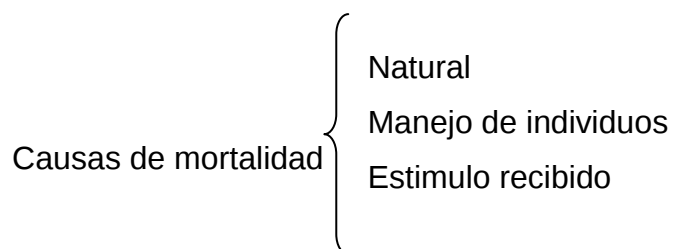
Comparación de DL50 esperada y observada de la mezcla:

$$\text{DL}_{95} \text{ esperada} = 12.0 \text{ µg /g} (8.694 \text{ µg /g}, 18.446 \text{ µg /g})$$

$$\text{DL}_{95} \text{ observada} = 3.5118 \text{ µg /g} (2.1746 \text{ µg /g}, 41.639 \text{ µg /g})$$

Los límites fiduciales se traslapan y por lo tanto se considera que hay acción similar (gráficas de M observada y M esperada).

ECUACIÓN DE ABBOTT



RAZONAMIENTO

La proporción de insectos muertos en un tratamiento de insecticidas (M trat.), es igual a la proporción de insectos (mueren) sin recibir él estímulo (M testigo), mas la proporción de insectos que murieron a causa del estímulo recibido (M corregida)

$$M \text{ tratamiento} = M \text{ testigo} + M \text{ corregida}$$

Pero ¿qué pasa con los insectos que recibieron él estímulo para morir y que de todas maneras morirían sin haberlo recibido? Estos se están contando dos veces, por lo tanto se deben restar.

$$M \text{ tratamiento} = M \text{ testigo} + M \text{ corregida} - [(M \text{ testigo}) (M \text{ corregida})]$$

Esta expresión se puede simplificar a la siguiente:

$$M \text{ tratamiento} = M \text{ testigo} + M \text{ corregida} (1 - M \text{ testigo})$$

Ahora se debe despejar la mortalidad corregida (MC)

$$MC = \frac{M_{\text{tratamiento}} - M_{\text{testigo}}}{1 - M_{\text{testigo}}} \times 100$$

lo que nos da un resultado expresado en proporción

Entonces para pasarlo a porcentaje se multiplica cada uno de los términos por 100.

$$\%MC = \frac{\%M_{tratamiento} - \%M_{testigo}}{100 - \%M_{testigo}} \times 100$$

$$\%MC = \frac{M_{tratamiento} - M_{testigo}}{100 - M_{testigo}} \times 100$$

; al realizar la división se elimina el % y para poder expresar el resultado en por ciento, este debe multiplicarse por 100.

Ejemplo:

Dosis	Tratados	Muertos	% Mortalidad	% Mortalidad valor redondeado
1%	45	40	88.8	89
0.50%	70	32	45.71	46
Testigo		2/20	10	10

$$MC = \frac{89 - 10}{100 - 10} \times 100 = 88\%$$

$$MC = \frac{46 - 10}{100 - 10} \times 100 = 40\%$$

NOTA: Cuando la mortalidad en el testigo es > 20 % se invalida la repetición.

SINERGISTAS

1. Se hace el bioensayo con el insecticida solo
2. Se hace el bioensayo con el sinergista solo (B. P); se encuentra la dosis máxima de sinergista que mata el 0% y esa es la que se usa en combinación con el insecticida.

Existen dos formas de aplicar:

- a) Mezclando en insecticida más el sinergista
- b) Aplicar primero el sinergista y 5 min. después (tiempo aproximado en el que el sinergista ya ha penetrado) se aplica el insecticida.