

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



CARACTERIZACIÓN GENÉTICA Y ENZIMÁTICA EN POBLACIONES DE *Plutella*  
*xylostella* L. EN RELACIÓN A LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN EL ESTADO DE  
GUANAJUATO

T e s i s

Que presenta JOSÉ FRANCISCO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ  
Como requisito parcial para obtener el grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila.

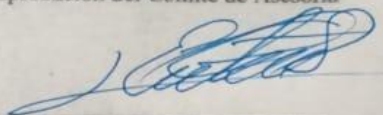
Diciembre de 2020



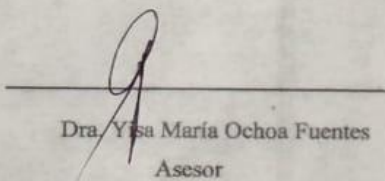
Caracterización genética y enzimática en poblaciones de *Plutella xylostella* L. en relación a la resistencia a insecticidas en el estado de Guanajuato

Tesis

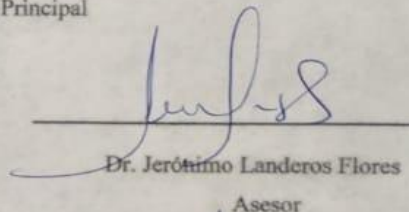
Elaborada por JOSÉ FRANCISCO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Ernesto Cerna Chávez  
Asesor Principal



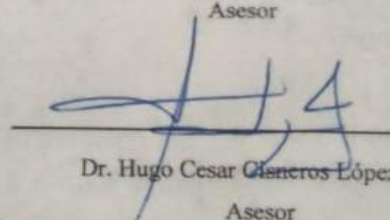
Dra. Yisa María Ochoa Fuentes  
Asesor



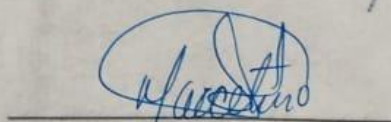
Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Asesor



Dra. Mariana Beltrán Beache  
Asesor



Dr. Hugo Cesar Cisneros López  
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente  
Subdirector de Postgrado  
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2020

## **Agradecimientos**

### **A DIOS:**

*A ese personaje tan importante al cual de debo mi ser, gracias por permitirme haber terminado mis estudios profesionales. Gracias por haberme ayudado a superar todos los obstáculos que se presentaron a lo largo de mi formación y así poder ser una persona de bien.*

### **A LA UAAAN:**

*Por abrirme sus puertas y brindarme las herramientas necesarias para mi formación como profesionista. Gracias a todo el personal de la universidad los cuales de una forma u otra aportaron para mi formación. Gracias a los catedraticos por haberme transmitido el aprendizaje necesario y sus consejos para hacer de mi un buen profesionista.*

### **A MI DIRECTOR Y ASESORES:**

*Gracias a mi director de tesis el Dr. Ernesto Cerna Chávez por permitirme realizar mi investigación de tesis, bajo sus asesorías, enseñanzas, su apoyo y sus consejos en lo académico. Así como al resto de mis asesores: Dra. Yisa María Ochoa Fuentes, Dr. Jeronimo Landeros Flores, Dr. Luis Alberto Uribe Aguirre, Dr. Luis Patricio Guevara Acevedo y el Dr. Francisco Cervantes Ortiz, gracias a todos ellos por ser parte de mi formación profesional.*

### **A MIS AMIGOS:**

*Gracias a mis amigos con los que conviví a lo largo de estos 24 años que formaron parte importante de mi vida. Gracias a todos aquellos que me ayudaron y me apoyaron a lo largo de mi proyecto de investigación, ya que fueron parte importante para poderlo realizar.*

## **Dedicatorias**

### **A MIS PADRES:**

*A mi mamá Esperanza Rodríguez Rodríguez y a mi papá Francisco Rodríguez Terán, por brindarme todo su apoyo moral y económico, por su cariño y comprensión, sin ustedes no hubiera podido concluir esta etapa de mi vida como profesional; siempre estaré agradecido, gracias a ustedes soy la persona que soy y tengo lo que tengo.*

### **A MIS HERMANAS Y SOBRINOS:**

*A mis hermanas Margarita Rodríguez y Marissa Rodríguez.*

*A mis sobrinos Fernando Rodríguez, Alonso Rodríguez, Sofía López, y Emiliano López.*

***“Gracias a ellos he podido salir adelante y su recuerdo siempre estará presente en mi mente”***

Nova Scientia Tasks 0 English View Site yisa8a

Nova Scientia

Submissions

### Submissions

My Queue 1 Archives Help

#### My Assigned

Search New Submission

2539	<b>Rodríguez Rodríguez et al.</b> Selección de Resistencia y Efectos Subletales de Cipermetrina en la Palomilla Dorso de Diamante (Plutella xylostella L.)	Copyediting	1
------	---	-------------	---

Platform & workflow by OJS / PKP

Submissions

My Queue Archives

Help

My Assigned

Search

New Submission

10657	José Francisco Rodríguez Rodríguez, Ernesto Cerna Chàvez, YISA MARIA Ochoa... Sublethal effects and costs of resistance to abamectin in diamondback moth (Plut...	Review	2/4	1	▼
-------	--	--------	-----	---	---

1 of 1 submissions





## INTRODUCCIÓN

El brócoli es una de las hortalizas más importantes en México ya que un 80 % de su producción esta destina a exportación, su principal destino de las ventas internacionales es el mercado de Estados Unidos, ya que ahí se exporta 85 % de la producción. El resto de las exportaciones se dividen en países como Canadá, Japón, Alemania y Australia (SIAP, 2017), por lo que este cultivo representan una importante fuente de divisas y significativos beneficios para los productores (Bujanos *et al.*, 2013). Los principales estados productores de brócoli en el país son: Guanajuato, Jalisco, Michoacán y Puebla con un 90% de la producción total en el país, mientras que el estado de Guanajuato se produce un 63 % de la producción total (SIAP, 2017). La principal plaga de importancia económica en las crucíferas es la Palomilla Dorso de Diamante (*Plutella xylostela*), que afecta la calidad del producto debido a la contaminación por huevos, larvas y pupas que ocasionan que sea rechazado para su exportación (INIFAP, 2013), también causa graves daños, desprestigiando el producto, al interferir en el crecimiento de las plantas e incluso causar la muerte y pérdida total del mismo (Da Silva, 2008). En todas las regiones productoras de crucíferas esta plaga se ha convertido en un tema de investigación, con el fin de obtener medidas de control técnicamente apropiadas, económicamente satisfactorias y respetuosas al medio ambiente (Thüler, 2006), ya que sociedad demanda la evaluación de las prácticas agrícolas potencialmente peligrosas, como el uso excesivo de insecticidas (Roberts, 2004). Exigiendo inspecciones estrictas del impacto de dichas prácticas, así como la búsqueda de alternativas para manejar adecuadamente las plagas dentro de un contexto económico, social y ecológico (Barrera *et al.*, 2006) *P. xylostella* es considerada como una de las plagas más difíciles de controlar y hasta ahora los insecticidas son el principal método para su manejo, siendo las diamidas, avermectinas, piretrinas, y Bt los grupos principales de insecticidas utilizados para erradicar esta plaga (Xia *et al.*, 2014). Así como las consecuencias para el medio ambiente, la eliminación de enemigos naturales, el surgimiento de plagas secundarias y el aumento del riesgo tanto de presencia de residuos en el producto comestible como para el personal de campo (Bujanos, 2013), el uso inadecuado y continuo de las mismas materias activas ha generado poblaciones de *P. xylostella* resistentes a los insecticidas (Attique *et al.*, 2006, Khaliq *et*

*al.*, 2007). En muchos países *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a casi todos los insecticidas utilizados en contra de ella, (Furlong *et al.*, 2013). De acuerdo con la Arthropod Pesticide Resistance Data base (APRD), para el año 2020, la Palomilla Dorso de Diamante había desarrollado resistencia a aproximadamente 97 compuestos con diferentes modos de acción, incluyendo organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, análogos de nereistoxina, benzoilureas, *Bacillus thuringiensis*, avermectinas, espinosinas, fenilpirazoles, indoxacarb, diacilhidrazinas y diamidas (APRD, 2020).

El aspecto más importante en el manejo de resistencia a los insecticidas es la comprensión de los mecanismos que conducen a la resistencia de las plagas a los insecticidas. Investigaciones previas indican que los mecanismos de resistencia de insectos a los insecticidas involucra mutaciones de aminoácidos de destino, la sobre-expresión o mutaciones de desintoxicación, enzimas detoxificativas, resistencia a la penetración y resistencia de comportamiento (Ahmad *et al.*, 2006; Bass *et al.*, 2015). Sin embargo, la mayor parte de mecanismos de resistencia en común es la resistencia metabólica, con un aumento en las actividades de esterasas, glutatión-S-transferasas, acetilcolinesterasa y oxidasas (Li *et al.*, 2007; Bass *et al.*, 2011). El metabolismo de los insectos juega un papel importante en la resistencia a insecticidas y el conocimiento del mismo se puede utilizar para mejorar la toxicidad de los insecticidas por la mezcla de otros insecticidas que no poseen las mismas vías metabólicas (Mohan y Gujar, 2003).

### **1.1 Objetivo general.**

Diferenciar la resistencia a insecticidas en poblaciones de *P. xylostella* del Estado de Guanajuato en base a su variabilidad genética y enzimática.

#### **1.1.1 Objetivos específicos.**

1. Evaluar el desarrollo de resistencia a insecticidas y sus efectos subletales en la biología de *P. xylostella*.
2. Cuantificar el contenido y la actividad enzimática en líneas resistentes a insecticidas de *P. xylostella*.
3. Determinar la variabilidad genética asociada a la resistencia a insecticidas en diferentes líneas de *P. xylostella* mediante el análisis de microsatélites.

## 1.2 Hipótesis.

1. *P. xylostella* desarrollara el factor de resistencia mas alto para el insecticida cipermetrina
2. La aplicación de dosis subletales de insecticidas afectara de manera negativa la biologia de *P. xylostella*
3. La mayor actividad enzimática en las poblaciones de *P. xylostella* será a causa de las esterases.
4. Se presentará una alta variabilidad genética en las poblaciones de *P. xylostella* asociada a la resistencia a insecticidas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Cultivo del brócoli (*Brassica oleracea* L.)

Las Brassica son un grupo de especies importantes desde el punto de vista agrícola ya que forman parte de la nutrición humana, estos compuestos han ganado atención debido a su papel en la prevención del cáncer y de las enfermedades cardiovasculares (Cartea y Velasco, 2008), como una fuente de compuestos promotores de la salud, como fibra, vitamina C, glucosinolato y flavonoides y selenio (Keck y Finley, 2004).

#### 2.1.1 Origen

Los cultivos de coles tan diversos como la col rizada, la col, el colinabo, el brócoli, la coliflor y las coles de Bruselas son todas de la misma especie, *Brassica oleracea* L., que es nativa a Europa. La extrema plasticidad de la especie ha permitido la diferenciación, bajo la selección humana, de este gran número de formas debido a la especialización de diferentes órganos vegetales que han dado lugar a diversos cultivos y usos. Estas incluyen, por ejemplo, las hojas en el caso de la col y la col rizada de hoja, el tallo en el colinabo y la col rizada, las inflorescencias en el brócoli y la flor de cauli y los brotes axilares (laterales) en la col de Bruselas (Maggioni *et al.*, 2010) . De acuerdo a un folleto de extensión de la Universidad Estatal de Iowa, todos los cultivos de coles son variedades cultivadas de la especie *Brassica oleracea* (Haynes *et al.*, 2009).

#### 2.1.2 Importancia económica

La familia de plantas Brassicaceae (o Crucíferas) incluye algunos de los cultivos más importantes económicamente del mundo, especialmente miembros de los géneros *Brassica* L. (coles, mostazas, colza, nabos, etc.), *Raphanus* L. (rábano), *Armoracia* G. Gaertn. & Al. (Rábano picante), *Lepidium* Fabr. (Berro de jardín), *Nasturtium* W. T. Aiton (berro), *Eutrema* R. Br. (Wasabi) y molino de Eruca. (Cohete) (Al-Shehbaz *et al.*, 2006). Estas especies cultivadas ofrecen una gran variedad de hortalizas de hojas, raíces, semillas oleaginosas y cultivos de condimentos. Las hortalizas Brassica son un alimento básico en muchas partes del mundo, ya que los cultivos producen el 14% del aceite vegetal

comestible del mundo y son la tercera fuente más importante de aceite comestible después de la soja y la palma. Entre las hortalizas, las variedades cultivadas de la especie *Brassica oleracea* L. se denominan a menudo “cultivos de colza”, que incluyen el brócoli, las coles de Bruselas, el repollo, la coliflor, las coles y el colinabo (Haynes *et al.*, 2009, OCDE, 2012).

Los cultivos de col son cultivados en todo el mundo, con la excepción de algunas zonas tropicales. Entre éstos, el repollo se produce lo más extensamente posible, seguido por la coliflor y el brócoli. La col es más importante en los países del norte y del este de Europa, mientras que la coliflor es más importante en el sur de Europa, Estados Unidos y México (Maggioni *et al.*, 2010).

### **2.1.3 Taxonomía de *Brassica oleracea***

**Order:** Brassicales

**Familia:** Brassicaceae

**Tribu:** Brassiceae

**Subtribu:** Brassicinae

**Género:** Brassica

**Sección:** Brassica

**Especies:** *Brassica oleracea* L.

### **2.1.4 Producción de brócoli en México**

Para el año 2016 la producción de brócoli fue 507,482.34 Ton, siendo el estado de Guanajuato como el principal productor con un 63.11% de la producción total seguido de los estados de Michoacán, Puebla y Jalisco con 9.55, 8.13 y 5.01% respectivamente (SIAP, 2017).

### 2.1.5 Producción de brócoli en Guanajuato

Guanajuato es el principal estado productor de brócoli a nivel nacional con una superficie de siembra de 2,1383.50 ha y una producción de 320,268.37 Ton lo que equivale a un rendimiento promedio de 15.04 Ton/ha significado un ingreso en el valor de producción de 1, 791,255.00 de miles de pesos (SIAP, 2017).

## 2.2 Palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella* L.)

La palomilla dorso de diamante (DBM), *P. xylostella* (L.), es una plaga cosmopolita altamente destructiva de los cultivos de crucíferas (Heckel, 2006), ocasionando incrementos significativos en los costos de producción (INIFAP, 2013). Este especialista de crucíferas puede tener su origen en Europa (Sarfraz *et al.*, 2006), o el Este de Asia (Liu *et al.*, 2000), pero está presente en todo el mundo donde quiera que existan sus plantas huésped (Torres *et al.*, 2006). En el primer estadio, las larvas entran en el parénquima de la hoja y se alimentan entre la parte superior y las superficies inferiores de las hojas que crean minas. En el segundo estadio, las larvas abandonan las minas, y del segundo al tercer estadio, que se alimentan de las hojas, destruyendo el tejido de la hoja, excepto para la epidermis superior, dejando "ventanas" transparentes en las hojas. Las larvas de cuarto estadio se alimentan a ambos lados de las hojas (Cardoso *et al.*, 2010). Este insecto tiene un ciclo de vida corto, alrededor de 18 días, y su población puede aumentar hasta 60 veces de una generación a la siguiente. Los estudios indican que las polillas pueden permanecer en vuelo continuo durante varios días y pueden cubrir una distancia de hasta a 1000 km por día, pero la forma en que las polillas sobreviven a temperaturas tan bajas como de gran altitud (Shingo y Ventura, 2009).

### 2.2.1 Clasificación taxonómica

*Plutella xylostella* (Linn. 1758) (Lepidóptera: Plutellidae)

**Reino:** Animal

**Phylum:** Arthropoda

**Clase:** Insecta

**Orden:** Lepidoptera

**Suborden:** Frenatae

**Superfamilia:** Yponomeutoidea

**Familia:** Plutellidae

**Género:** *Plutella*

**Especie:** *xylostella* (Linneo, 1758)

### 2.2.2 Ciclo de vida de *Plutella xylostella*

El ciclo biológico dura unas dos semanas, en función de las condiciones climáticas puede presentar de 5 a 10 generaciones anuales en climas templados y hasta 20 en trópicos y sub-trópicos. Es un insecto de gran movilidad y capacidad migratoria lo que le permite colonizar otras regiones al llegar el invierno (Midori, 2014)

- **Huevo:** los huevos son de forma óvaloaplanada, de color amarillo claro recién colocados, cambiando de tonalidad hasta llegar a oscurecerse para el tiempo de eclosión. La dimensión promedio de los huevos es de 0.48 mm de longitud y 0.28 mm de ancho.
- **Larva:** La larva recién emergida es de color blanco pálido, con la cabeza marrón oscura muy resaltante. Al momento de emerger tiene una longitud promedio de 1.20 mm. Finalizando el último instar, el cuerpo tiene una coloración verde claro con la cabeza marrón y la longitud promedio del cuerpo es de 10.27 mm.
- **Pupa:** La pupa es obtecta con una longitud promedio de 6.83 mm. Al principio de su formación tiene un color verde brillante, más tarde se torna blanco crema y

antes de emerger el adulto es de color marrón oscuro. La pupa se halla encerrada en un fino capullo de seda de color blanco. En esta fase es muy difícil diferenciar el sexo por presentar una morfología externa muy similar en esta especie.

- **Adulto:** el adulto es una polilla cuya longitud promedio del cuerpo es de 10.56 mm, con una expansión alar cercana a los 14 mm. Las alas anteriores son angostas con manchas pálidas en la parte media, semejando cuando están en reposo un diamante en la parte dorsal del insecto, razón por la cual, en inglés, se le ha dada la denominación común de diamondback moth. EL adulto hembra se diferencia muy fácilmente del macho por su genitalia externa, pero además en la hembra se presenta la mancha dorsal antes mencionada con una coloración más clara y brillante (Fernández y Álvarez, 2008).

### 2.2.3 Hospederos

La palomilla dorso de diamante se alimenta básicamente de repollo o col (*Brassica oleracea* var. capitata), coliflor (*B. oleracea* var. botrytis), brócoli (*B. oleracea* var. italica), rábano (*Raphanus sativus*), nabo (*B. rapa* pekinensis), col de bruselas (*B. oleracea* var. gemmifera), repollo chino (*B. rapa* cv. pekinensis), mostaza (*B. juncea*), colza (*B. napus*) (Bújanos *et al.*, 2013).

### 2.2.4 Daños

Esta plaga causa daños graves a cultivos de brassica, desprestigiando el producto, lo que interfiere en el crecimiento de las plantas e incluso causar la muerte o pérdida total (Da Silva, 2008). Algunas de las dificultades para su control se deben a la coexistencia de zonas de cultivo durante todo año con ello las plantas de diferentes edades que proporciona la abundante oferta y alimentación continua (Oliveira, 2012). También las larvas se alimentan de la nueva hoja antes de la formación de la cabeza de la inflorescencia lo cual puede plantear graves deformaciones y la no formación de la misma (Mau y Kessing, 2007). A nivel mundial, las pérdidas directas y los costos de control son estimado en US \$ 1 mil millones (Gryzwacz, *et al.*, 2010).



### 2.2.5 Control

*P. xylostella* se considera que es una de las plagas más difíciles de controlar. Hasta la fecha, los insecticidas siguen siendo el criterio principal para la gestión de *P. xylostella*, y los grupos principales de insecticidas para el control son las diamidas, avermectinas, piretrinas, y Bt (Xia *et al.*, 2014). Aplicaciones de insecticidas continuos han sido, y sigue siendo en muchas regiones, la técnica más utilizada para la protección de cultivos. Se reportaron casos de resistencia de *P. xylostella* a los insecticidas en el 1950. Hoy en día esta especie muestra resistencia a la mayoría de las clases de insecticidas, incluyendo compuestos recientemente introducidos con nuevos modos de acción (Zhao *et al.*, 2006b).

### 2.2.6 Resistencia en *Plutella xylostella*

En la India, en 1968 se reportó la primera detección de resistencia en la polilla de la col, *P. xylostella*, para DDT y Parathion, demostrando una extraordinaria habilidad para crear resistencia a varios insecticidas sistémicos, lo que ha causado una pérdida de eficiencia de los métodos de control en los cultivos de crucíferas de ese país (Vargas *et al.*, 2013).

El tiempo de generación corto de la plaga, genética plasticidad, alta fecundidad (Trocza *et al.*, 2012), el uso indiscriminado de insecticidas, y la disponibilidad de los cultivos huéspedes durante todo el año han contribuido al desarrollo de la resistencia para casi todas las clases de insecticidas, incluyendo *Bacillus thuringiensis* (Shelton, 2006).

*P. xylostella* desarrollaron resistencia a nuevos insecticidas tales como clorantraniliprol, indoxacarb, spinosad y en dos o tres años (Furlong *et al.*, 2013; Guo *et al.*, 2014). De acuerdo con la Arthropod Pesticide Resistance Data base (APRD), para el año 2020, la polilla de la col había desarrollado resistencia a aproximadamente 97 compuestos con diferentes modos de acción, incluyendo organoclorados, organofosforados, carbamato, piretroide, análogo de nereistoxina, benzoilurea, *Bacillus thuringiensis*, avermectina, espinosina, fenilpirazol, indoxacarb, diacilhidrazina y diamida (APRD, 2020).

El aspecto más importante en el manejo de resistencia a los insecticidas es una comprensión de los mecanismos que conducen a la resistencia de las plagas a los insecticidas. Anteriormente los informes indican que los mecanismos de resistencia de insectos a los insecticidas involucraba mutaciones de aminoácidos de destino, la sobre-expresión o mutaciones de desintoxicación enzimas, resistencia a la penetración y resistencia de comportamiento (Ahmad *et al.*, 2006; Bass *et al.*, 2015). Sin embargo, la mayor parte de mecanismos común es la resistencia metabólica, con un aumento en las actividades de esterasas, glutatión S-transferasas, y monooxigenasas del citocromo P450 (Li *et al.*, 2007; Bass *et al.*, 2011).

En *P. xylostella*, niveles elevados de esterasa se correlacionaron con la resistencia a la organofosforados, carbamatos, piretroides, indoxacarb, avermectina, y benzoilurea (Sayed *et al.*, 2006; Eziah *et al.* 2009; Furlong *et al.*, 2013), y la sobreexpresión de glutatión S-transferasa fue responsable de la resistencia a los organofosforados, piretroides, y diamida, así como indoxacarb (Furlong *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2014a). Además, el aumento de las actividades monooxigenasas del citocromo P450 contribuye a la resistencia al carbamato, piretroides, análogo de nereistoxina, y diamida (Bautista *et al.*, 2009; Furlong *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2014b).

Por lo tanto, el metabolismo de los insecticidas juega un papel particularmente importante en la resistencia y se puede utilizar para mejorar la toxicidad de los insecticidas por el uso de sinergistas que inhiben las vías metabólicas, o por la mezcla de otros insecticidas que no poseen las mismas vías metabólicas. Además, este conocimiento puede ser utilizado para la elaboración de los métodos de diagnóstico bioquímicos de detección de la resistencia a los insecticidas (Mohan y Gujar, 2003).

### **2.3 Resistencia**

La resistencia puede ser definida como " un cambio heredable en la sensibilidad de una población de plagas que se refleja en la falta repetida de un producto para lograr el nivel de control cuando se utiliza de acuerdo con la recomendación de la etiqueta para las especies de plagas. Es evidente que, debido a las poblaciones de insectos plaga son por

lo general de tamaño grande y se reproducen rápidamente, siempre hay un riesgo de que la resistencia a los insecticidas puede evolucionar, sobre todo cuando los insecticidas se utilizan o usada en exceso (IRAC, 2016).

### 2.3.1 Tipos de resistencia

- **Resistencia al lugar de acción.** Corresponde al segundo mecanismo más común de resistencia y está referida al cambio en la estructura del sitio o al número de sitios donde el plaguicida causa toxicidad sobre el insecto. Generalmente, los insecticidas actúan en un sitio específico del insecto, habitualmente en el sistema nervioso del insecto (piretroides, organofosforados y carbamatos). El sitio de acción puede ser modificado por razas resistentes impidiendo la acción del insecticida. Como resultado, el insecto no será controlado mediante la aplicación de un plaguicida o sólo se afectarán los insectos más susceptibles (FAO, 2012).
- **Resistencia a la penetración:** Este mecanismo consiste en una baja o lenta absorción del plaguicida debido a la modificación en la cutícula o en el epitelio del tracto digestivo del insecto (Vargas *et al.*, 2008). La resistencia de penetración está usualmente presente con otras formas de resistencia y la penetración reducida intensifica los efectos de aquellos otros mecanismos (FAO, 2012).
- **Resistencia de comportamiento:** Cualquier modificación en la conducta de la plaga que le ayuda a evitar los efectos letales de los plaguicidas. El organismo-plaga es aún sensible al plaguicida y será eliminado de exponerse a una dosis letal del plaguicida. Por consiguiente, aquellos individuos que evaden la exposición logran sobrevivir y reproducirse, lo cual puede conllevar al desarrollo de una cepa o individuo resistente en su comportamiento (FAO, 2012).
- **Resistencia cruzada:** Consiste en la modificación del sitio de acción del insecto en donde la toxina se acopla, causando la pérdida de eficacia del insecticida. Cuando esto sucede los insecticidas químicamente relacionados o que comparten un mismo modo de acción están más propensos a la adquisición de este tipo de

resistencia. Se ha observado por ejemplo que la resistencia a la parálisis en insectos se debe a la resistencia cruzada entre los insecticidas DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano] y piretroides que actúan en el mismo lugar del canal de sodio (Vargas *et al.*, 2008).

- **Resistencia múltiple:** La presencia simultánea de varios mecanismos diferentes de resistencia en el mismo organismo. Los distintos mecanismos de resistencia pueden combinarse para aportar resistencia a clases múltiples de plaguicidas. En el campo, la resistencia múltiple y la resistencia cruzada pueden aparecer, pero la primera se desarrolla a partir de casos de selección por separado, mientras que la segunda resulta de los mecanismos de resistencia compartida (FAO, 2012).
- **Resistencia metabólica:** Consiste en la degradación de muchos compuestos nocivos que se encuentran en el ambiente a través de un sistema integrado de enzimas (López, 2008). De esta manera, los insectos que son resistentes pueden detoxificar o destruir la toxina más rápido que los insectos susceptibles (IRAC, 2010). Además, para ser más eficientes, estos sistemas enzimáticos tienen también un espectro más amplio de actividad, o sea ellos pueden degradar muchos plaguicidas diferentes (FAO, 2012).

#### 2.4. Determinación de resistencia

Como consecuencia, la resistencia profiere cambios genéticos alterando procesos bioquímicos a nivel individual, se hace notable en una población cuando la proporción de resistencia sea tal, que se refleje en una falla en el control (Devonshire, 1990), convencionalmente se puede detectar la resistencia mediante:

##### 2.4.1 Bioensayos

Conocidos también como pruebas de susceptibilidad, son técnicas de laboratorio basadas en la dosis-mortalidad (Lagunes y Villanueva, 1994), donde se pretende por medio de un proceso experimental conocer la efectividad biológica del pesticida, determinando la magnitud del estímulo mediante la respuesta del insecto (Hubert, 1980),

generalmente involucran comparaciones de la DL<sub>50</sub>, DL<sub>90</sub> o de la concentración letal (Twine y Reynolds, 1980).

#### 2.4.2 Métodos bioquímicos

Técnicas sensitivas y precisas que proporcionan información de los mecanismos involucrados, pudiendo ser adaptados para detectar y monitorear la resistencia de muchas especies (Brown y Brogdon, 1987); generalmente correlacionan niveles de una enzima o una reacción enzimática específica, pueden ser cualitativos o cuantitativos, generalista o altamente específicos (Lagunes y Villanueva, 1994). Son ensayos múltiples que permiten analizar a una población de insectos cuantifican los niveles de una reacción enzimática (Brown y Brodon, 1987). Desarrollados para cuantificar niveles de Esterasas (Brogdon y Dickinson, 1983), Acetilcolinesterasa (Devonshire y Moores, 1984), Glutation S-Transferasas (Brogdon y Barber, 1990) y oxidasas (Brogdon *et al.*, 1997).

#### 2.4.2 Enzimas detoxificativas

- **Esterasas.** Las esterazas (CE3.1) son hidrolasas (CE3) que se encuentran distribuidas en diferentes tejidos catalizando reacciones de hidrólisis de ésteres carboxílicos (carboxiesterasas), amidas (amidazas) y ésteres de fosfato (fosfatasas). La interacción entre estas enzimas y el plaguicida no solamente da lugar a la acción que ejerce el tóxico en el organismo sino también, a una respuesta de defensa por parte del cuerpo que busca eliminar la sustancia. Dependiendo de la interacción tóxica – esteraza la hidrólisis de los fosfatos se puede abordar a partir de dos mecanismos (Kwong, 2002):

Hidrólisis catalítica por las fosfotriesterasas (CE3.1.8), conocidas como esterazas-A, porque no son inhibidas por los organofosforados, interaccionan con el grupo funcional sulfidrilo (-SH) del residuo de cisteína (CYS) del centro activo y forman un enlace P-S que es fácilmente hidrolizado por el agua (H<sub>2</sub>O) (Costa, 2006).

Hidrólisis no catalítica por las carboxilesterasas (CE3.1.1) o esterasas-B porque pueden ser inhibidas por los organofosforados, interaccionan con el radical hidroxilo (-OH) de la serina (SER) en el centro activo, dando lugar a la formación de grupos éster en presencia de radicales libres, que son los responsables del envejecimiento celular (Costa, 2006).

Estos dos grandes grupos enzimáticos (fosfotriesterasas y carboxilesterasas) presentan diferencias en sus reacciones de detoxificación no solamente por la acción que tienen los organofosforados sobre ellas sino también, por la eficiencia de cada una, ya que una sola molécula de fosfotriesterasa puede hidrolizar varias moléculas del organofosforado, mientras que una sola de carboxilesterasa hidroliza una del tóxico (Sogorb y Vilanova, 2002).

- **Glutation-S-Transferasa.** Las enzimas glutatión-S-transferasa (GST, EC 2.5.1.18) son biomarcadores útiles para metales y contaminantes orgánicos que producen estrés oxidativo (Yang *et al.*, 2001; Ezemonye y Tongo, 2010). GST son una amplia superfamilia de enzimas existentes en organismos procariotas y eucariotas, y están implicados en muchas actividades fisiológicas celulares, tales como detoxificación de compuestos endógenos y xenobióticos, transporte intracelular y biosíntesis de hormonas (Enayati *et al.*, 2005). Las enzimas protegen las células contra los tóxicos, neutralizándolas y haciendo que el producto sea más soluble en agua (Lamoureus y Rueness, 1987; Ezemonye y Tongo, 2010). Por lo tanto, esta enzima ha sido útil como indicador de exposición a plaguicidas (Taysse *et al.*, 1998; Ezemonye y Tongo, 2010). Entre la sustancia endógena, que protege contra el estrés oxidativo, la GST es la enzima de peso intracelular más abundante en la mayoría de los tipos de células, por lo que la alteración en la actividad de GST puede alterar el balance de activación-destoxificación que opera en diferentes tejidos para desintoxicar agentes tóxicos potenciales (Guengerich, 1963; Ezemonye y Tongo, 2010). Según sus localizaciones celulares, las GST se dividen generalmente en las tres categorías principales: citosol, microsomas, y mitocondrias. Hasta la fecha, sólo los dos

primeros grupos se han descubierto en los insectos (Jakobsson *et al.*, 1996; Hayes *et al.*, 2005; Shi *et al.*, 2012). Han sido implicadas en la resistencia a varias clases de insecticidas, incluyendo organoclorados, organofosforados y piretroides (Huang *et al.*, 1998; Vontas *et al.*, 2001). En general, los GST actúan conjugando el grupo tiol de Glutatiión (GSH; \ gamma - glutamil cisteinil - glicina) a compuestos que poseen un centro electrofílico. Al hacer esto, pueden eliminar los sustratos de una célula haciéndolos más solubles en agua y dirigiéndolos a los transportadores específicos de GSH multidrogas (Low *et al.*, 2010). Uno de los insecticidas mejor caracterizados Degradantes de los GST es la actividad de la DDT-deshidroclorinsa (DDTasa). En este caso, se elimina un átomo de cloro del DDT para generar DDE [1,1-bis- (4-clorofenil) -2,2-dicloroeteno] (Wang *et al.*, 2008). La acción de los GST sobre los pesticidas organofosforados puede conducir a la activación o desintoxicación (Miyamoto y Mikawa, 2005). GST con GSH liberan, grupos metilo o etilo (por ejemplo, paratión y paratión de metilo) y diaarínatos diaarínicos y diazoxon (Hutson *et al.*, 1972; Shishido *et al.*, 1972; Fujioka y Casida, 2007). Sin embargo, el conocimiento de la fosforilación de GSH es menos definitivo debido a que los metabolitos no se han caracterizado adecuadamente (Fujioka y Casida, 2007).

- **Oxidasa de función múltiple (MFO).** Son un grupo de enzimas que se encuentran en forma natural en el metabolismo del insecto debido a que, entre otras cosas, están involucradas en los procesos de detoxificación de aleloquímicos en las plantas (Scott y Wen, 2001). Las MFO se encuentran en el retículo endoplasmático liso en la fracción microsomal de las células, son no específicas y catalizan la reacción siguiente (Bisset, 2002): un átomo de una molécula de oxígeno se incorpora al sustrato, mientras que el otro se reduce a agua; por ello requiere oxígeno (O<sub>2</sub>) y nicotiamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) para su funcionamiento (López, 2008). Está comprobado que este sistema contiene además una flavoproteína, una ferrodoproteína y un citocromo especializado, el citocromo P450. Las P450 son una familia de homoproteínas de baja especificidad, lo que permite que sean capaces de metabolizar un número casi ilimitado de sustratos (Bisset, 2002). Se ha observado en algunos insectos

una relación directa entre el consumo de compuestos tóxicos de plantas y la inducción del metabolismo de las P450 dando como resultado una mayor detoxificación del xenobiótico (Snyder y Glendinning, 1996). Este sistema enzimático también se asocia a la detoxificación de numerosos plaguicidas, siendo común verlas implicadas en resistencia cruzada a más de un tipo de insecticida (López, 2008). Otros autores como Bautista *et al.* (2009), señalan que ha existido un aumento de la resistencia en insectos frente a insecticidas piretroides. La resistencia de *T. absoluta* frente a cartap demostró, que la mayor participación de enzimas implicadas en la detoxificación de este insecticida está dado por las MFO (Siqueira *et al.*, 2001).

- **Acetilcolinesterasa.** Se debe a que existen múltiples formas mutantes de la acetilcolinesterasa en la que el insecticida no puede acoplarse y no ejerce su acción dado el cambio en su conformación. En general, este mecanismo produce un amplio espectro de resistencia a la mayoría de los organofosforados y en mayor medida a los carbamatos (Bisset, 2002).

### 2.4.3 Pruebas moleculares

#### Maracadores moleculares

Desde la aparición de la PCR se han desarrollado una serie de técnicas utilizadas para los estudios de variabilidad genética en las especies animales. Como es el uso de los marcadores genéticos, la cual se basa en la clonación y secuenciación de fragmentos de ADN, mientras que otros, más aleatorios, se basan en la detección de polimorfismos al azar (fingerprint markers o huellas digitales moleculares) (Dodgson *et al.*, 1997).

Algunas características y particularidades notables de los principales marcadores moleculares más utilizados en genética de poblaciones se detallan a continuación:

- **SNP (polimorfismo de base única):** Es un tipo de polimorfismo que corresponde a la diferencia en una simple posición nucleotídica, por ejemplo sustituciones, deleciones o inserciones de un solo nucleótido. La mayoría de este tipo de polimorfismo presenta sólo dos tipos de alelos (bialelica). Con la presencia solamente de dos alelos, la máxima heterocigosidad esperada para cada SNP es de



solamente 50%, siendo por lo tanto menos informativo que las regiones satélites de ADN.

- **Minisatélites o Número de Secuencias de Tamaño Variables (VNTR):** Marcadores polimórficos descubiertos por Jeffreys et al. (1985), en ciertas pruebas de hibridación para secuencias repetitivas generaban un complejo patrón de bandas que contenían un polimorfismo heredable. Los VNTR son repeticiones al azar en tándem de 10 a 60 pb, altamente polimórficos y con elevadas tasas de heterocidad en las poblaciones (Vance y Othmane, 1998).
- **Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP):** Es una de las primeras técnicas descritas (Botstein et al., 1980), desde la aparición de la PCR, y consiste en visualizar las diferencias al nivel de la estructura del ADN, basándose en el uso de enzimas de restricción que cortan el ADN en sitios donde se encuentran una secuencia específica de nucleótidos. La identificación de los fragmentos (RFLPs) requiere del uso de geles de electroforesis que permitan separar los fragmentos que difieren en tamaño. La limitación de esta técnica es que únicamente identifica dos alelos por locus, por lo que la variabilidad obtenida es reducida. Otra limitación es que la aproximación con RFLPs, para la búsqueda de polimorfismo en productos de PCR no es efectiva al 100%, ya que muchos SNPs potenciales podrían no cambiar un sitio de restricción, y por tanto no serían detectados (Vance y Othmane, 1998).
- **Polimorfismo Amplificado Aleatoriamente (RAPD):** Representan a marcadores que se basan en el uso de oligonucleótidos (iniciadores) cortos, los cuáles a través de una reacción PCR, que se caracteriza por temperaturas bajas, lo cual genera una serie de fragmentos de amplio espectro a partir del ADN molde. La habilidad consiste entonces en encontrar aquellos fragmentos amplificados y que resulten ser polimórficos, los cuáles pueden ser mapeados. Una de las principales limitaciones del uso de los RAPDs es la baja repetibilidad de los análisis, aunado a la necesidad de usar un gran panel de RAPDs, lo que representa un elevado valor económico y trabajo analítico. Asimismo, y dado que es un marcador genético de tipo dominante, no podemos discriminar la existencia de heterocigotos, subestimando la cantidad de polimorfismo existente (Levin et al., 1994).

- **Microsatelites:** Los microsátelites están más o menos distribuidos a lo largo de todo el genoma de las células eucariotas, aunque con baja frecuencia en las regiones codificantes y, quizás también en los telómeros, su presencia en estas regiones se ha descrito asociada a enfermedades (Armour et al., 1994; Hancock, 1999; Tautz y Schlotterer, 1994). Sin embargo, aún se desconoce el significado funcional de estas secuencias, a pesar de que la hipótesis más aceptada apunta a que pueden estar relacionados con el empaquetamiento y la condensación del ADN en los cromosomas (Vanhala *et al.*, 1998).

Debido a particulares ventajas, el uso de microsátelites ha tenido un gran impacto en el estudio de la genética de animales y plantas. Desde su descubrimiento en 1989 (Litt y Luty, 1989, Tautz, 1989, Weber y May, 1989). El análisis con microsátelites involucra la detección de fragmentos específicos de ADN y nos da la medida de los alelos (en pares de bases, pb) en cada una de las regiones.

PRIMER ARTICULO

**Efectos Subletales en el Desarrollo de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**

**Asociados a la Resistencia a Fipronil**

**Artículo científico***(Original paper)*
**EFFECTOS SUBLETALES EN EL DESARROLLO DE *PLUTELLA XYLOSTELLA*  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A FIPRONIL**
**SUBLETHAL EFFECTS IN THE DEVELOPMENT OF *PLUTELLA XYLOSTELLA*  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO  
FIPRONIL**

**JOSÉ FRANCISCO RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ<sup>1</sup>, ERNESTO CERNA-CHÁVEZ<sup>2\*</sup>, YISA MARÍA  
OCHOA-  
FUENTES<sup>2</sup>, MARIANA BELTRÁN-BEACHE<sup>3</sup>, JERÓNIMO LANDEROS-FLORES<sup>2</sup>, LUIS PATRICIO  
GUEVARA-ACEVEDO<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Estudiante de Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio

Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. <francisco\_azul@live.com.mx>

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315.

<jabaly1@yahoo.com>; <yisa8a@yahoo.com>; <jlanflo@hotmail.com>

<sup>3</sup>Culta S.A. de C.V. Blvd. Luis Echeverría Álvarez No. 1700, Col. Altavista, CD. Mante, Tamaulipas, México, C.P. 89880. <beltranmariana89@gmail.com>

<sup>4</sup>Instituto Tecnológico de Roque, Km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya; Guanajuato, México, Apartado Postal 508, C.P. 38110.

<lpguevara@itroque.edu.mx> \*Autor

corresponsal: <jabaly1@yahoo.com>

Recibido: 25/06/2019; aceptado: 26/02/2020; publicado en línea: 27/03/2020

Editor responsable: Trevor Williams

---

**Rodríguez-Rodríguez, J. F., Cerna-Chávez, E., Ochoa-Fuentes, Y. M., Beltrán-Beache, M., LanderosFlores, J., Guevara-Acevedo, L. P.** (2020) Efectos subletales en el desarrollo de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) asociados a la resistencia a fipronil. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 36, 1–10.  
<https://doi.org/10.21829/azm.2020.3612214>

**RESUMEN.** *Plutella xylostella* (L.) es la principal plaga de los cultivos de la familia Brassicaceae generando grandes pérdidas económicas. Su control se basa principalmente en la aplicación de insecticidas de químicos, el uso excesivo de estos plaguicidas ha ayudado al desarrollo de resistencia hacia estos ingredientes activos. La implementación de dosis subletales de insecticidas



afecta la fisiología y comportamiento de los insectos. Se determinó las concentraciones letales ( $CL_{20}$  y  $CL_{50}$ ) de fipronil sobre una línea resistente y una línea susceptible a este compuesto y posteriormente estas se aplicaron a larvas de tercer instar para evaluar el porcentaje de pupación, peso de pupas, emergencia de adultos en dos generaciones (progenitores y descendientes), así como los tiempos de desarrollo de cada estadio de *P. xylostella*. Se observó un efecto importante en la aplicación de  $CL_{20}$  de fipronil al verse alargado el tiempo de desarrollo por más de tres días y una disminución de la fecundidad en más de un 20% en la línea resistente a fipronil, lo que puede ser un factor importante para el manejo y control de esta plaga cuando se presenten problemas de resistencia a fipronil.

**Palabras clave:** *Plutella xylostella*; resistencia; fipronil; efectos subletales



CC-BY-NC-SA

Reconocimiento –noComercial–Compartirigual

1

Rodríguez-Rodríguez *et al.*: Efectos en *P. xylostella* a la resistencia de fipronil

**Rodríguez-Rodríguez, J. F., Cerna-Chávez, E., Ochoa-Fuentes, Y. M., Beltrán-Beache, M., LanderosFlores, J., Guevara-Acevedo, L. P.** (2020) Sublethal effects in the development of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) associated with resistance to fipronil. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 36, 1–10.  
<https://doi.org/10.21829/azm.2020.3612214>

**ABSTRACT.** *Plutella xylostella* (L.) is the main pest of Brassicaceae crops, in which it can generate considerable economic losses. Its control is based mainly on the application of chemical insecticides, but the excessive use of these pesticides has contributed to the development of resistance towards these active ingredients. Sublethal doses of insecticides can affect the physiology and behavior of insects. Lethal concentrations ( $LC_{20}$  and  $LC_{50}$ ) of fipronil were determined on a resistant line and a susceptible line of insects and later these concentrations were applied to third instar larvae to evaluate the percentage of pupation, weight of pupae, emergence of adults in two generations (progenitors and descendants) as well as the development times of each stage of *P. xylostella*. Following the application of an  $LC_{20}$  of fipronil, the development time was extended for more than 3 days and the fecundity decreased by more than 20% in the line resistant to fipronil. This can be an important factor for the management and control of this pest when there are problems of resistance to fipronil.

**Key words:** *Plutella xylostella*; resistance; fipronil; sublethal effects

## INTRODUCCIÓN

El Estado de Guanajuato es el principal productor de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica* L.) en México, con una producción de 364,658.01 ton, lo que significa un ingreso para los productores del estado de 2, 084,816.33 de pesos (SIAP, 2019). La mayor parte de la producción es para exportación, el 97.5% de exportaciones de este vegetal son adquiridas por Estados Unidos, seguido de Canadá y países europeos como Reino Unido, Alemania, Francia, Países Bajos y Bélgica (SIAP, 2018). La Palomilla de dorso diamante (PDD), *Plutella xylostella* (L.), es la plaga más importante en cultivos de la familia Brassicaceae (Fathi *et al.*, 2011; Zalucki *et al.*, 2012). El manejo de PDD se basa principalmente en el uso de insecticidas de síntesis química de amplio espectro (Tabone *et al.*, 2012). La mayoría de los insecticidas existentes son perjudiciales para el medio ambiente y se han observado múltiples efectos secundarios en artrópodos benéficos (Biondi *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2012). Además, debido al uso excesivo de plaguicidas comerciales y las aplicaciones inadecuadas (Sun *et al.*, 2012), la PPD ha desarrollado resistencia a al menos 95 diferentes ingredientes activos, entre los que destacan la cipermetrina, abamectina, indoxacarb, spinosad, permetrina, fipronil y productos elaborados a base de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (APRD, 2019). Los plaguicidas, dependiendo de la forma de aplicación y dosis utilizadas, presentan efectos letales y subletales sobre los insectos (Mahmoudvand *et al.*, 2011a). La toxicología demográfica es una técnica ecotoxicológica que integra los parámetros de la tabla de vida en función a las dosis aplicadas (letales o subletales), las poblaciones expuestas a diversas dosis de un tóxico se comparan con poblaciones no expuestas a este mismo tóxico (Mahmoudvand *et al.*, 2011b). Las dosis subletales llegan a afectar la fisiología y el comportamiento de los insectos (Haynes, 1988), lo cual puede influir en el tiempo de desarrollo (Wang *et al.*, 2008), peso de larvas, pupas y adultos (Yin *et al.*, 2008), longevidad del adulto (Ergin *et al.*, 2007), incubabilidad (Alyokhin *et al.*, 2008), fecundidad (Wang *et al.*, 2009), tamaño del huevo (Yin *et al.*, 2008) y parámetros de reproducción, tales como la tasa reproductiva neta ( $R_0$ ), tasa de aumento intrínseca ( $r_m$ ), tasa de aumento finita ( $k$ ), tiempo de generación ( $T$ ), tiempo de duplicación ( $Dt$ ) (Ahmad *et al.*, 2012) y la proporción de sexos (Delpuech & Meyet, 2003). Los efectos subletales son considerados factores que intervienen en el desarrollo de la resistencia, por lo que una mejor comprensión de estos puede ser importante para diseñar estrategias efectivas de manejo de la resistencia a insecticidas (Tabashnik *et al.*, 2008). El objetivo de esta investigación fue caracterizar los efectos subletales en la fase de huevo, estadios larvales, el tiempo de desarrollo, supervivencia, ovoposición y la longevidad del adulto en una población resistente de *P. xylostella* a fipronil.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Insectos.** La línea de campo se colectó en parcelas comerciales ubicadas en el municipio de Celaya en el Estado de Guanajuato y fue criado en condiciones de laboratorio manteniéndolas bajo presión de selección con el insecticida fipronil durante diez generaciones ( $G_{10}$ ), para incrementar el nivel de resistencia. Utilizando plantas de brócoli de 50 días de edad, la alimentación de los adultos consistió en una solución azucarada al 15%, esto para asegurar el apareamiento y la ovoposición. Todas las etapas de desarrollo de la PDD se mantuvieron en condiciones controladas de  $27\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80\pm 10\%$  HR, 16:8 h L:O. Como línea susceptible se utilizaron insectos proporcionados por Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP), sin haberse sometido a un proceso de presión de selección con insecticidas desde 1996.

**Bioensayos.** Se evaluó el insecticida fipronil a seis concentraciones y un testigo absoluto que consistió en agua más adherente, la prueba de efectividad biológica se realizó mediante el método de inmersión de hojas (IRAC, 2019). Se recortaron discos de hojas de *B. oleracea* var. *Itálica* de 6 cm de diámetro y se sumergieron durante 10 s en las diferentes concentraciones evaluadas y



fueron preparadas con agua destilada que contenía  $1 \text{ mL L}^{-1}$  de adherente. Las hojas se dejaron secar durante 1 hora y luego se colocaron de forma individual en cajas Petri revestidas con papel absorbente humedecido con agua. Se transfirieron un total de 10 larvas de tercer instar por cada disco de hoja y se realizaron cuatro repeticiones por concentración. La mortalidad se evaluó 24 h después del inicio del experimento; las larvas que no reaccionaron cuando fueron estimulados con un pincel en la parte dorsal se registraron como muertas. Esta actividad se repitió hasta la décima generación fue donde ya no hubo diferencias en la respuesta al insecticida.

**Efectos de la resistencia a fipronil en el desarrollo de *Plutella xylostella*.** Una vez que la población de campo de *P. xylostella* alcanzó resistencia en la  $G_{10}$  en base a presión de selección de fipronil, 10 larvas de tercer instar se colocaron en disco de hoja tratado con la  $CL_{20}$  de la  $G_{10}$  (progenitores), utilizando un diseño experimental completamente al azar 10 repeticiones por cada tratamiento. Cada hoja con 10 larvas de tercer instar se consideró como unidad experimental. Se dejaron las larvas a alimentar por 24 h y posteriormente se cambió la hoja por otra no tratada y se observaron las larvas hasta transformarse en pupas y la emergencia de adultos. Una vez emergidos, los adultos se sexaron y se formaron 10 parejas, las cuales se colocaron en cajas Petri provistas de papel absorbente humedecido con agua potable y una hoja de *B. oleracea* var. Itálica y se dejaron que copularan y ovipositaran hasta que la última hembra murió. Diariamente se tomó el registro de los huevos ovipositados por hembra por día, los adultos fueron alimentados con agua azucarada al 15%, para asegurar su apareamiento y la oviposición. Se colectaron 100 huevos al azar de las parejas formadas y se colocaron sobre discos de hojas de brócoli en cajas Petri revestidas con papel absorbente humedecido con agua potable, realizado mediante un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones. Cada unidad experimental consistió en un disco de hoja de brócoli con 10 huevos. Se registró la duración del desarrollo en cada una de las etapas larvales, así como de pupa y de adulto de ambos sexos. En la etapa de pupa, se seleccionaron 10 pupas al azar de dos días de edad y se pesaron. En los adultos emergidos se evaluaron los efectos subletales, como proporción sexual, longevidad del adulto (hembra y macho) y fecundidad. Durante la fase experimental los insectos se mantuvieron en condiciones ambientales controladas de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80 \pm 10\%$  HR, 16:8 h L:O.

**Análisis de resultados.** Los datos de mortalidad obtenidos en los bioensayos fueron corregidos con la fórmula de Abbott (1925) y los resultados se sometieron a un análisis probit (Finney, 1971) para obtener la curva de concentración-mortalidad, utilizando el programa SAS System for Windows ver 9.0 (SAS, 2002). Con los valores obtenidos en los variables de desarrollo se realizó un análisis de varianza (ANVA), cuando Rodríguez-Rodríguez et al.: *Efectos en P. xylostella a la resistencia de fipronil*

este indicó diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó la prueba de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ), para la separación de las medias. Todos los análisis fueron realizados con el programa R, versión 3.3.1.

## RESULTADOS

Los valores de  $CL_{50}$  y  $CL_{20}$  de la línea susceptible (LS), la línea de campo sin presión de selección, o generación inicial  $G_1$  (LC) y la línea de campo con presión de selección  $G_{10}$  o resistente (LR) de *P. xylostella* se muestra en el Cuadro 1. Para la LS se estimó una  $CL_{50}$  de 0.092 partes por millón (ppm) y una  $CL_{20}$  de 0.028 ppm, la línea de campo generación inicial presentó una  $CL_{50}$  de 0.482 ppm y una  $CL_{20}$  de 0.095 ppm. Después de haber aplicado un proceso de selección durante diez generaciones se obtuvo una  $CL_{50}$  de 3.024 ppm y una  $CL_{20}$  de 0.865 ppm. El factor de resistencia fue 32.86 veces mayor en comparación a la LS.

**Cuadro 1.** Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción para el insecticida fipronil aplicado a diferentes poblaciones de *Plutella xylostella*.

Línea	$CL_{50}$ (ppm)	LFI -LFS	$CL_{20}$ (ppm)	Ecu. Predicción	P.R
<b>Línea susceptible</b>	0.092	0.030- 0.211	0.028	$y= 0.133+0.101$	-
<b>Generación inicial</b>	0.482	0.383 - 0.615	0.095	$y= 0.378\pm 1.195$	5.23
<b>Línea Resistente <math>G_{10}</math></b>	3.024	0.903 - 8.767	0.865	$y= -0.744+1.548$	32.86

CL=Concentración letal; LFI=Límite Fiducial Inferior; LFS=Límite Fiducial Superior (95%); P.R.= Proporción de resistencia; ppm=partes por millón.

Los porcentajes de pupas, pesos de pupa, porcentajes de adultos emergidos y proporción sexual tanto para progenitores como descendientes de la LS y la línea de campo LR expuestas a una concentración subletal ( $CL_{20}$ ) y sin exposición se muestran en el Cuadro 2. De acuerdo con el ANVA hubo una diferencia significativa entre los tratamientos en estudio para los porcentajes pupales, porcentaje de adultos emergidos y proporción sexual, en cuanto a los pesos de pupas no hubo diferencia significativa entre los tratamientos. La LS registró el mayor promedio para el porcentaje de pupas de los progenitores (95%), mientras que la LR expuesta a  $CL_{20}$  tuvo el valor menor (53%), observándose una reducción del 44% respecto a la LS. Por su parte, el porcentaje de pupas de los descendientes se vio reducido tanto para la LS tratada con una  $CL_{20}$ , como para la LR sin exposición y LR expuesta a  $CL_{20}$  con valores de 43, 41 y 33%, respectivamente. En el porcentaje de adultos emergidos se observa que hubo un efecto marcado al tratar la LS y LR con la  $CL_{20}$  reduciéndose más de un 25%, respecto a la LS y la LR sin aplicación para los progenitores. En lo que respecta a la proporción sexual de los progenitores no se observó diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. Sin embargo, hubo una diferencia significativa en los descendientes al verse reducida la proporción de 1.92 a 0.9 hembras por macho para LS sin aplicación, con respecto a la LS con aplicación de la  $CL_{20}$ , de igual manera la LR sin exposición con respecto a la LR expuesta se vio reducida de 1.55 a 0.27 hembras por macho.

Los efectos subletales del fipronil en la oviposición tanto de hembras de la LS con y sin aplicación de la  $CL_{20}$  y de la LR con y sin aplicación se muestran en el Cuadro 3, donde se observa que hubo diferencias significativas entre los tratamientos evaluados para el número de huevos por hembra por día (HHD) y en el total de huevos ovipositados por hembra. La LR fue la que presentó la media más alta de HHD tanto para progenitores como descendientes con valores de 53.76 y 42.28 huevos, respectivamente, reportando un total de 251.8 huevos para progenitores y 253 huevos para descendientes. Por su parte la LS muestra medias de 32.04 y 24.28 de HHD y un total de 160.2 y 145.8 huevos para progenitores y descendientes, respectivamente. La aplicación de una concentración subletal ( $CL_{20}$ ) de fipronil en ambas líneas (LS y LR) presenta un efecto para las hembras en la oviposición de huevos al verse reducida en la generación de progenitores en más de





un 11% para la LS y en 25% para la LR. En el caso de los descendientes solo se aprecia una disminución en la LR de un 20.5%, lo cual se verá reflejado en un menor número de individuos, caso contrario en la LS se observó un aumento de un 59%.

En el Cuadro 4 se muestra la comparación de medias de las fases de desarrollo, así como el tiempo de longevidad de hembra-macho y el tiempo total de desarrollo de las líneas con y sin aplicación, así como la línea LR con y sin exposición a la CL<sub>20</sub> de *P. xylostella*, observándose diferencias significativas para las fases de huevo, larva 4 (L4) y pupa, longevidad de hembra-macho y para el tiempo total de desarrollo de *P. xylostella*. La LR presentó el mayor tiempo de desarrollo en la fase de huevo con un valor medio de 3.85 días, por su parte la LS y LR con aplicación presentaron la media más baja de 3.03 y 3.00 días, respectivamente. De igual manera para la fase de L4 se puede observar que al aplicar fipronil (CL<sub>20</sub>) en la LS y en la LR hubo un efecto en el desarrollo de las larvas al alargar su tiempo de 2.379 y 4.64 días, respectivamente, en comparación con la LS y la LR sin aplicación (1.79 y 3.33 días, respectivamente). Por otro lado, en la fase de pupa el tiempo de desarrollo se ve disminuido al aplicar una CL<sub>20</sub> de fipronil en la LS y LR con valores de 2.14 y 2.83 días, respectivamente, mientras que en la LS y LR sin aplicación los días de desarrollo fueron de 4.05 y 3.25, respectivamente. El tiempo de vida de las hembras también se vio afectado por la aplicación de fipronil tanto en la LS y LR al reducirse en más de 1.95 y 2.75 días respectivamente, en comparación de la LS y la LR sin tratamiento insecticida. La vida de los machos solo se vio reducida para la LS con aplicación, en comparación a la LS sin aplicación acortándose sus días de vida de 2.89 a 1.00. Para el tiempo total de desarrollo del huevo hasta la muerte del adulto, se puede observar que la LS como la LR sin exposición se comportaron de manera muy similar (17.81 y 18.17 días, respectivamente). Sin embargo, para las líneas LS y LR expuestas, los días de vida desde huevo hasta la muerte del adulto se vieron afectados donde la LS se redujo 2.46 días, en tanto que para LR se presentó un aumento de 3.3 días.

**Cuadro 2.** Comparación de medias de los efectos subletales en el porcentaje pupal, peso de pupas, adultos emergidos y proporción sexual de *Plutella xylostella* expuestos a fipronil (10 repeticiones/tratamiento).

Trat*	n	Progenitores			
		% Pupas	Peso de pupas (mg)	% Adultos	P.S <sup>1</sup>
L.S	100	95 ± 7.071 a	4.73 ± 0.802 a	81 ± 11.972 a	1.36 ± 0.921 a
L.SCL <sub>20</sub>	100	73 ± 11.595 bc	4.15 ± 0.937 a	55.3 ± 22.311 b	1.05 ± 0.980 a
L.R	100	82 ± 17.511 ab	5.19 ± 0.657 a	60 ± 0.000 b	1.33 ± 0.000 a
L.RCL <sub>20</sub>	100	53 ± 26.687 c	4.75 ± 1.203 a	45 ± 0.000 b	1.18 ± 0.000 a
Descendientes					
L.S	100	91.66 ± 16.408 a	4.19 ± 0.696 a	85.57 ± 7.538 a	1.92 ± 1.258 a
L.SCL <sub>20</sub>	100	43 ± 28.303 b	4.10 ± 0.767 a	59.05 ± 39.84 ab	0.9 ± 0.994 ab
L.R	100	41 ± 32.81 b	3.32 ± 0.963 a	36 ± 25.47 b	1.55 ± 1.93 ab
L.RCL <sub>20</sub>	100	33 ± 25.407 b	3.39 ± 1.158 a	29 ± 21.84 b	0.27 ± 0.337 b

Medias seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>hembras por macho.

**Cuadro 3.** Efectos subletales del fipronil en el número promedio de huevos por hembra por día de *Plutella xylostella*.

Trat*	Progenitores		Descendientes	
	HHD <sup>2</sup>	Total	HHD <sup>2</sup>	Total
L.S	32.04 ± 8.162 ab	160.2 ± 40.81 b	24.282 ± 6.023 b	145.8 ± 15.46 b
L.SCL <sub>20</sub>	28.45 ± 2.891 b	131.8 ± 24.29 b	38.61 ± 11.505 ab	96.0 ± 44.362 b
L.R	53.76 ± 19.98 ab	251.8 ± 47.67 a	42.28 ± 10.554 a	253.0 ± 93.76 a
L.RCL <sub>20</sub>	39.34 ± 14.79 ab	162.4 ± 33.08 b	33.60 ± 9.569 ab	187.6 ± 51.96 b

Medias seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Huevos por hembra por día.

Rodríguez-Rodríguez et al.: Efectos en *P. xylostella* a la resistencia de fipronil

**Cuadro 4.** Efectos subletales del fipronil en las fases de desarrollo de *Plutella xylostella*.

Estadio	Tratamientos <sup>1</sup>			
	L. S.	L. S. (CL <sub>20</sub> )	L. R.	L. R. (CL <sub>20</sub> )
Huevo	3.55 ± 0.39 ab	3.03 ± 0.053 b	3.85 ± 0.512 a	3.00 ± 1.098 b
Larva 1	1.08 ± 0.179 a	1.78 ± 0.768 a	1.82 ± 1.136 a	1.95 ± 0.831 a
Larva 2	1.83 ± 0.337 a	1.81 ± 1.048 a	2.83 ± 1.395 a	2.63 ± 1.046 a
Larva 3	1.91 ± 0.410 a	1.63 ± 0.980 a	0.80 ± 0.866 a	1.57 ± 1.413 a
Larva 4	1.79 ± 0.276 b	2.379 ± 1.486 b	3.33 ± 1.783 ab	4.64 ± 1.735 a
Pupa	4.05 ± 0.904 a	2.14 ± 1.275 b	3.25 ± 1.206 ab	2.83 ± 1.545 ab
Adulto	3.57 ± 0.472 a	2.56 ± 1.634 a	3.14 ± 1.752 a	2.74 ± 2.000 a
Hembra	4.41 ± 0.790 a	1.95 ± 0.693 b	3.30 ± 1.988 ab	2.75 ± 2.141 ab
Macho	2.89 ± 0.891 a	1.00 ± 0.552 b	2.21 ± 1.976 ab	2.88 ± 2.064 ab
Total	17.81 ± 0.994 ab	15.35 ± 5.356 b	18.17 ± 6.380 ab	22 ± 2.207 a

Medias seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Valores en días.

## DISCUSIÓN

En estudios previos con el fipronil, Barrera *et al.* (2006) reportaron valores de CL<sub>50</sub> de 0.03 ppm para una línea de campo, siendo estos resultados menores a los reportados en esta investigación para la línea resistente G<sub>10</sub> (3.024 ppm), por lo cual concluimos que *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a este insecticida a través del proceso de selección por 10 generaciones. Después de someter a selección a la generación progenitora durante 10 generaciones se obtuvo un aumento en la resistencia de 32.86 veces en comparación a la LS. En trabajos similares como los reportados por Wang *et al.* (2015), quienes reportaron un factor de resistencia de 2,200 veces al realizar una selección durante 25 generaciones de *P. xylostella*. Pu *et al.* (2009) reportaron un factor de resistencia de 4,330 veces en G<sub>10</sub> en una población de *P. xylostella* sometida a selección al insecticida abamectina. Por otro lado, Abbas *et al.* (2014) obtuvieron una resistencia para fipronil de 140.25 veces en 11 generaciones de selección sobre *Musca domestica*.

Estos resultados de porcentaje de transformación de pupa de esta investigación difieren a lo reportado por Hui *et al.* (2010), donde efectos del fenvalerato en el desarrollo de *P. xylostella*



presentaron un porcentaje de pupación en el control de 88.5 y de 87.4% para una línea tratada con una concentración subletal ( $CL_{25}$ ). Por su parte, Yin *et al.* (2008), reportaron un porcentaje de pupación en descendientes de *P. xylostella* de 75.19% de una línea tratada con una  $CL_{25}$  de spinosad, resultados mayores a los reportados en esta investigación. Huang *et al.* (2015) reportaron una disminución del 24% en el porcentaje de emergencia de adultos de una LS al ser tratada con  $CL_{25}$  de cantaridina.

Yin *et al.* (2008) reportaron una fecundidad de 121.19 huevos en promedio por hembra, para una línea susceptible, la cual se vio reducida a 81.70 huevos al exponer a sus progenitores a una  $CL_{20}$  de spinosad. Sin embargo, Mahmoudvand *et al.* (2011a) observaron una fecundidad mayor para una línea susceptible de 207.29 huevos en promedio por hembra, disminuida a 146.05 huevos al aplicar indoxacarb a una  $CL_{25}$ . Por su parte, Han *et al.* (2012) reportaron una fecundidad menor a la observada en esta investigación con un número total de 120 huevos en una línea susceptible, la cual disminuyó al hacer exponer larvas de tercer instar a una  $CL_{20}$  de chlorantraniliprole. Por lo anterior, se puede considerar que para el insecticida fipronil la fecundidad de *P. xylostella* fue reducida al aplicar concentraciones subletales de insecticidas. Fipronil actúa sobre el sistema nervioso de los insectos al unirse a los receptores de ácido gamma-aminobutírico (GABA). Estos receptores controlan el flujo de iones de cloruro a través de las membranas celulares del canal iónico que inhibe al sistema nervioso central, induciendo una hiperpolarización (Narahashi *et al.*, 2007). Los receptores GABA se encuentran en el cerebro de los insectos afectando la memoria y la percepción sensorial (El Hassani *et al.*, 2005). Asimismo, el fipronil baja la capacidad de la actividad de la enzima citocromo oxidasa, que es parte fundamental del complejo IV de la cadena respiratoria mitocondrial que actúa en la fase terminal de la cadena de transporte de electrones en el proceso de respiración mitocondrial para generar la energía requerida para la actividad metabólica y desarrollo (Hevner & Wong-Riley 1989; Decourtye *et al.*, 2002).

Sin embargo, comparando la línea LS con la línea LR sin exposición se puede observar que hubo un efecto de hormoligosis, lo cual se puede atribuir a la resistencia generada a través del tiempo. La hormoligosis describir el fenómeno cuando dosis subletales de insecticidas aumentan la tasa reproductiva y la incidencia de insectos (Mahmoudvand *et al.*, 2011a). Sota *et al.* (1998) reportaron que el número de huevos de hembras de *P. xylostella* tratadas con  $LC_{12.5}$ ,  $LC_{25}$  y  $LC_{50}$  de fenvalerato aumentaron en comparación a un control.

Los resultados obtenidos en las fases de desarrollo de *P. xylostella* son muy similares a los reportados por Mahmoudvand *et al.* (2011a; b), en estudios realizados sobre los efectos subletales de indoxacarb y hexaflumuron sobre *P. xylostella* se reportaron valores de 3.26 a 3.86 días en la fase de huevo al exponer larvas de tercer instar a una  $CL_{25}$  de ambos insecticidas. Mahmoudvand y Moharramipour (2015) presentaron un incremento en los días de desarrollo de L4 de *P. xylostella* tratadas con  $CL_{10}$  y  $CL_{25}$  de fenoxycarb y un control con medias de 2.40, 2.28 y 1.51 días, respectivamente. Han *et al.* (2012) reportaron que *P. xylostella* no presentó una disminución significativa en el tiempo de desarrollo de la fase pupal al exponer larvas de tercer instar a  $CL_{10}$  y  $CL_{25}$  de chlorantraniliprole en comparación a un control con valores de 4.13, 4.29 y 4.16 días, respectivamente. Por su parte, Mahmoudvand y Moharramipour (2015) reportaron un incremento en los días de pupación para esta plaga al aplicar  $CL_{10}$  y  $CL_{25}$  de fenoxycarb respecto a un control

con medias de 4.98, 4.71 y 3.70 días, respectivamente. Zhang *et al.* (2012) observaron que el tiempo de longevidad tanto de hembras y machos de *P. xylostella* fue mayor a 8.78 y 9.89 días, respectivamente, al aplicar la CL<sub>25</sub> de metaflumizona en larvas de tercer instar. Sin embargo, Yin *et al.* (2008) reportaron una disminución en el tiempo de desarrollo para hembras y machos en comparación con un control de 7.73 a 6.78 días para hembras y para los machos de 6.64 a 5.52 días en larvas de tercer instar expuestas a dosis subletal (CL<sub>25</sub>) de spinosad. Zhang *et al.* (2012) observaron que el tiempo de longevidad tanto de hembras y machos de *P. xylostella* es mayor a 8.78 y 9.89, respectivamente, al aplicar CL<sub>25</sub> de metaflumizona en larvas de tercer instar de *P. xylostella*. Por otro lado, Yin *et al.* (2008) reportaron una disminución en el tiempo de desarrollo para hembras y machos en comparación con un control de 7.73 a 6.78 días para hembras y para los machos fue de 6.64 a 5.52 días al exponer larvas de tercer instar a dosis subletal (CL<sub>25</sub>) de spinosad. Yin *et al.* (2008), Zhang *et al.* (2012), Mahmoudvand y Moharramipour (2015) y Han *et al.* (2012) observaron una leve disminución en el tiempo total de desarrollo de *P. xylostella* al exponer larvas de tercer instar a dosis subletales de spinosad, metaflumizona, fenoxycarb y chlorantraniliprole. respectivamente, lo cual puede propiciar mayor número de generaciones en campo de esta plaga. En el caso de la LR no hubo diferencia en comparación a la LS; sin embargo, cuando a esta se le aplicó una CL<sub>20</sub> su ciclo de vida fue extendido.

## CONCLUSIONES

La aplicación de bajas concentraciones (CL<sub>20</sub>) de fipronil en una línea resistente presentó efectos importantes en la biología de *P. xylostella* al alargar el tiempo de desarrollo, disminuir el porcentaje de pupación y emergencia de adultos, así como una menor fecundidad comparada con la línea susceptible. Estos cambios pueden ser resultado de los costos biológicos de la resistencia. Por otro lado, hubo un menor número de individuos con un ciclo más largo, lo que pudiera ocasionar un mayor número de aplicaciones del insecticida. El desarrollo de resistencia de *P. xylostella* a fipronil genera un fenómeno de hormoligosis al aumentar el número de huevos por hembra, lo que favorece a una mayor incidencia de individuos, lo cual puede ocasionar problemas para su control.

*Rodríguez-Rodríguez et al.: Efectos en P. xylostella a la resistencia de fipronil*

## LITERATURA CITADA

- Abbas, N., Khan, H. A. A., Shad, S. A. (2014)** La resistencia cruzada, la genética y la heredabilidad de la resistencia al fipronil en la mosca doméstica, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae): un vector potencial para la transmisión de enfermedades. *Investigación de Parasitología*, 113 (4), 1343–1352. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3773-4>
- Abbott, W. S. (1925)** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265–267. Disponible en línea: [https://www.doc-developpementdurable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES\\_ARBRES/Dattier-du-desert\\_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf](https://www.doc-developpementdurable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Dattier-du-desert_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf)



- Alyokhin, A., Sewell, G., Choban, R. (2008)** Reduced viability of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, eggs exposed to novaluron. *Pest Management Science*, 64, 94–99.  
<https://doi.org/10.1002/ps.1459>
- Ahmad, N., Ansari, M. S., Nazrussalam (2012)** Effect of neemarin on life table indices of *Plutella xylostella* (L.). *Crop Protection*, 38, 7–14.  
<http://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.03.006>
- APRD (Arthropod Pesticide Resistance Database) (2019)** Disponible en línea: <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=571> (última consulta 7 de marzo 2019).
- Barrera-Urzúa, R., Bujanos-Muñiz, R., Rodríguez-Maciell, C., Mora-Aguilera, G., Martínez-Téllez, M. Á. (2006)** Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) del Estado de Guanajuato, México. *Agrociencia*, 49 (3), 355–362. Disponible en línea: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30240308>
- Biondi, A., Mommaerts, V., Smaghe, G., Vinuela, E., Zappalà, L., Desneux, N. (2012)** The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Management Science*, 68, 1523–1536. <https://doi.org/10.1002/ps.3396>
- Decourtye, A., Lefort, S., Devillers, J., Gauthier, M., Aupinel, P., Tisseur, M. (2008)** Sublethal effects of fipronil on the ability of honeybee (*Apis mellifera*) to orientate in a complex maze. Pp: 75–83, En: P. A. Oomen, H. M. Thompson (Eds.). Hazard of pesticides to bees. 10th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Julius-Ku`hn-Archiv, Bucharest.
- Delpuech, J. M., Meyet, J. (2003)** Reduction in the sex ratio of the progeny of a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*) surviving the insecticide chlorpyrifos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 203–208.  
<https://doi.org/10.1007/s00244-002-0146-2>
- El Hassani, A. K., Dacher, M., Gauthier, M., Armengaud, C. (2005)** Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82, 30–39.
- Ergin, E., Er, A., Uckan, F., Rivers, D. B. (2007)** Effect of cypermethrin exposed hosts on egg-adult developmental time, number of offspring, sex ratio, longevity, and size of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae). *Belgian Journal of Zoology*, 137, 27–31.
- Fathi, S. A. A., Bozorg-Amirkalae, M., Sarfaraz, R. M. (2011)** Preference and performance of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) on canola cultivars. *Journal of Pest Science*, 84, 41–47.  
<https://doi.org/10.1007/s10340-010-0324-3>
- Finney, D. J. (1971)** Probit Analysis. Cambridge at the University Press. 3rd Ed, 120 pp.
- Han, W., Zhang, S., Shen, F., Liu, M., Ren, C., Gao, X. (2012)** Residual toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Management Science*, 68 (8), 1184–1190.  
<https://doi.org/10.1002/ps.3282>
- Haynes, K. F. (1988)** Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review Entomology*, 33, 149–168.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.33.010188.001053>

- Hevner, R. F., Wong-Riley, M. T. T. (1989)** Brain cytochrome oxidase: purification, antibody production, and immunohistochemical/histochemical correlations in the CNS. *Journal of Neuroscience*, 9 (11), 3884–3898.
- Huang, Z., Wang, Y., Zhang, Y. (2015)** Lethal and sublethal effects of cantharidin on development and reproduction of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 108 (3), 1054–1064.  
<https://doi.org/10.1093/jee/tov057>
- Hui, W., Juan, W., Li, H. S., Dai, H. G., Gu, X. J. (2010)** Sub-lethal effects of fenvalerate on the development, fecundity, and juvenile hormone esterase activity of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Agricultural Sciences in China*, 9 (11), 1612–1622.  
[https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60258-3](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60258-3)
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) (2019)** Disponible en línea: <https://www.iraonline.org/methods/plutella-xylostella-larvae/> (última consulta 8 de marzo 2019).
- Lu, Y. H., Wu, K. M., Jiang, Y. Y., Guo, Y. Y., Desneux, N. (2012)** Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature*, 487, 362–365.  
<https://doi.org/10.1038/nature11153>
- Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Garjan, A. S., Bandani, A. R. (2011a)** Sublethal effects of indoxacarb on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Applied Entomology and Zoology*, 46 (1), 75–80.  
<https://doi.org/10.1007/s13355-010-0010-1>
- Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Garjan, A. S., Bandani, A. R. (2011b)** Sublethal effects of hexaflumuron on development and reproduction of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Insect Science*, 18 (6), 689–696.  
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2011.01411.x>
- Mahmoudvand, M., Moharramipour, S. (2015)** Efectos subletales del fenoxicarb sobre la *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Diario de la Ciencia del Insecto*, 15 (1).  
<https://doi.org/10.1093/jisesa/iev064>
- Narahashi, T., Zhao, X., Ikeda, T., Nagata, K., Yeh, J.Z. (2007)** Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. *Human and Experimental Toxicology*, 26 (4), 361–366.
- Pu, X., Yang, Y., Wu, S., Wu, Y. (2009)** Characterization of abamectin resistance in a field-evolved multiresistant population of *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 66 (4), 371–378.  
<https://doi.org/10.1002/ps.1885>
- SAS Institute Inc. (2002)** Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- SIAP (Sistema de Información Agrícola y Pecuaria) (2018)** Disponible en línea:  
[https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018) (última consulta 7 de marzo 2019).
- SIAP (Sistema de Información Agrícola y Pecuaria) (2019)** Disponible en línea:  
<https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (última consulta 7 de marzo 2019).
- Sun, J. Y., Liang, P., Gao, X. W. (2012)** Cross-resistance patterns and fitness in fufenozide-resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Management Science*, 68, 285–289.  
<https://doi.org/10.1002/ps.2258>
- Tabashnik, B. E., Gassmann, A. J., Crowder, D. W., Carrière, Y. (2008)** Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. *Nature Biotechnology*, 26, 199–202.



- Tabone, E., Bardon, C., Desneux, N. (2012)** Dispersal study as Trichogrammatidae selection criteria for biological control in cauliflower greenhouses. *Acta Horticulturae*, 927, 227e235. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.927.25>
- Wang, D. X., Qiu, H., Ren, X. X., Zhang, W. Z., Wang, K. Y. (2009)** Sublethal effects of spinosad on survival, growth and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Managements Science*, 65, 223–227. <https://doi.org/10.1002/ps.1672>
- Wang, X. Y., Yang, Z. Q., Shen, Z. R., Lu, J., Xu, W. B. (2008)** Sublethal effects of selected insecticides on fecundity and wing dimorphism of green peach aphid (Hom., Aphididae). *Journal of Applied Entomology*, 132, 135–142. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2007.01225.x>
- Wang, X., Wu, S., Gao, W., Wu, Y. (2015)** Herencia dominante de la resistencia desarrollada en el campo al fipronil en *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Diario de Entomología Económica*, 109 (1), 334–338. <https://doi.org/10.1093/jee/tov317>
- Yin, X. H., Wu, Q. J., Li, X. F., Zhang, Y. J., Xu, B. Y. (2008)** Sublethal effects of spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Crop Protection*, 27, 1385–1391. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.008>
- Zalucki, M. P., Shabbir, A., Silva, R., Adamson, D., Shu-Sheng, L., Furlong, M. J. (2012)** Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string. *Journal of Economic Entomology*, 105, 1115–1129. <https://doi.org/10.1603/EC12107>
- Zhang, Z., Li, J. H., Gao, X. W. (2012)** Sublethal effects of metaflumizone on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Integrative Agriculture*, 11 (7), 1145–1150. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(12\)60108-](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(12)60108-)

## **SEGUNDO ARTICULO**

### **Selección de Resistencia y Efectos Subletales de Cipermetrina en la Palomilla Dorso de Diamante (*Plutella xylostella* L.)**



**Selección de Resistencia y Efectos Subletales de Cipermetrina en la  
Palomilla Dorso de Diamante (*Plutella xylostella* L.)**  
**Selection of Resistance and Sub-lethal Effects of Cypermethrin in the  
Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.)**

José Francisco Rodríguez-Rodríguez<sup>1</sup>; Ernesto Cerna-Chávez<sup>2</sup>; Mariana Beltrán-Beache<sup>3</sup>; Yisa María Ochoa-Fuentes<sup>4\*</sup>; Jerónimo Landeros-Flores<sup>5</sup>; Luis Patricio Guevara-Acevedo<sup>6</sup>.

**Palabras clave:** *Plutella xylostella*, resistencia, cipermetrina, efectos subletales

**Keywords:** *Plutella xylostella*, resistance, cypermethrin, sublethal effects.

Recepción: 01-02-20XX / Aceptación 01-02-20XX

---

### **Resumen**

*Plutella xylostella* es una importante plaga de cultivos de brassicas en más de 100 países. El principal método de control de *P. xylostella* se basa en el uso de insecticidas químicos. Sin embargo, esta especie se caracteriza por su rápido desarrollo de resistencia a casi todos los insecticidas. Se ha reportado que la aplicación de concentraciones bajas de insecticidas afecta la fisiología, bioquímica y ecología de los insectos. En este estudio, se realizó una selección de resistencia de cipermetrina durante ocho generaciones de *P. xylostella* y se determinó la dosis subletal (CL<sub>20</sub>) de la línea resistente y de la línea susceptible. Posteriormente, la dosis subletal se aplicó a larvas de tercer instar para investigar su efecto en el porcentaje de pupación, peso de pupas, emergencia de adultos en dos generaciones (progenitores y descendientes), así como los tiempos de desarrollo de cada fase de desarrollo de *P. xylostella*. Se observó una disminución el porcentaje de pupas formadas, adultos emergidos y peso de pupas. Por otro lado, el número de huevos depositados aumentó cuando los individuos fueron expuestos al insecticida. Lo anterior puede ser un factor importante para el manejo y control de esta plaga cuando se presenten problemas de resistencia a cipermetrina.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo; Coahuila, México. Estudiante de Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Email: francisco\_azul@live.com.mx

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo; Coahuila, México. Docente-Investigador. Email: <sup>2</sup>jabaly1@yahoo.com; <sup>3</sup>beltranmariana89@gmail.com; <sup>4</sup>yisa8a@yahoo.com; <sup>5</sup>jlanflo@hotmail.com

<sup>6</sup>Instituto Tecnológico de Roque, Celaya; Guanajuato, México. Docente-Investigador. Email: lpguevara@itroque.edu.mx  
© Universidad De La Salle Bajío (México)

## **Abstract**

*Plutella xylostella* is a major pest of cruciferous crops in more than 100 countries. The main control method for *P. xylostella* is based on the use of chemical insecticides. However, this moth species is characterized by its rapid development of resistance to almost all insecticides. The application of low concentrations of insecticides can affect the physiology, biochemistry, and ecology of insects. In this study, a cypermethrin resistance selection was performed during eight generations of *P. xylostella* and the sublethal dose (LC<sub>20</sub>) of the resistant line and the susceptible line was determined. Later, the sublethal dose was applied to third instar larvae to investigate its effect on the percentage of pupation, weight of pupae, emergence of adults in two generations (parents and offspring), as well as the development times of each phase of development of *P. xylostella*. A decrease was observed in the percentage of formed pupae, emerged adults and pupal weight. On the other hand, the number of oviposited eggs increased when individuals were exposed to the insecticide. The above can be an important factor for the management and control of this pest when problems of resistance to cypermethrin occur.

---

## **Introducción**

El manejo intensivo de sistemas agrícolas usa insecticidas de amplio espectro para el control de plagas sin considerar en la mayoría de los casos, el impacto potencial que estos productos pueden ocasionar sobre el ambiente (Rimoldi *et al.*, 2015). Algunos de los insecticidas convencionales más empleados para el control de plagas agrícolas son los piretroides entre los que se encuentran: deltametrina, permetrina y cipermetrina (CASAFE, 2011). La cipermetrina es un insecticida que se ha utilizado excesivamente desde su lanzamiento al mercado en los años 60 del siglo pasado presentado un efecto residual a largo plazo (Zhong *et al.*, 2013). Este insecticida actúa a nivel fisiológico al alterar el funcionamiento normal del sistema nervioso central, prolongando la apertura de los canales axónicos de sodio (Na) dependientes del voltaje, lo que permite el flujo excesivo de Na al interior de la célula, interrumpiendo así la señalización eléctrica provocando la muerte del insecto (Soderlund, 2010). Sin embargo, estudios recientes reportan efectos negativos de este insecticida como el desarrollo de resistencia por parte de las insectos plaga (Zhong *et al.*, 2013).

La polilla del dorso del diamante (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera:Plutellidae) es una plaga de importancia económica en cultivos de brassicas en más de 100 países, aunque se ha encontrado en más de 125 países. Este insecto afecta especialmente a el repollo (*Brassica oleracea* var. capitata), la coliflor (*B. oleracea* var. bitrytis), el brócoli (*B. oleracea* var. italica), las coles de Bruselas (*B. oleracea* var. gemmifera) y el nabo (*Brassica rapa* subsp. rapa) (Odewole y Adebayo, 2014). El principal método de control para *P. xylostella* ha sido el uso de insecticidas químicos (Shelton *et al.*, 1993; Kannan *et al.*, 2017). Sin embargo, esta especie desarrolla rápidamente resistencia a casi todos los insecticidas convencionales (Liu *et al.*, 2015), debido a sus múltiples generaciones, corto período de crecimiento, traslape generacional y el abuso de varios pesticidas, (Kang *et al.*, 2017). Sin embargo, el impacto de los pesticidas no solo se ve reflejado en matar a las plagas insectiles, sino también estos presentan efectos secundarios en la fecundidad, longevidad (Wang *et al.*, 2016), así como en la bioquímica y ecología de los insectos (Stark y Banks, 2003).

Yin *et al.* (2008) mencionan que la aplicación de dosis subletales de spinosad sobre *P. xylostella* disminuye de manera significativa el tiempo de eclosión de los huevos, el tamaño del huevo y el apetito reproductivo. Por su parte, otros estudios reportan que la aplicación de concentraciones subletales de permetrina puede inhibir la fecundidad femenina en *P. xylostella* (Kumar y Chapman, 2010; Su y Xia 2019). James y Price (2002) mencionan que las concentraciones subletales pueden tener un efecto adverso al estimular la reproducción de los insectos. Las dosis subletales se consideran que intervienen en el desarrollo de resistencia, por lo que, se necesita una mejor comprensión de dichos efectos para diseñar estrategias efectivas de manejo de la resistencia a insecticidas (Tabashnik *et al.*, 2008). El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de las dosis subletales del insecticida cipermetrina en la fase de huevo, estadios larvarios, tiempo de desarrollo, supervivencia, oviposición y longevidad del adulto de una población resistente de *P. xylostella*.

## **Método**

**Cría de insectos.** Las larvas se colectaron en parcelas comerciales de brócoli ubicadas en el municipio de San Luis de la Paz (21°05'42.9"N 100°32'21.3"W) en el Estado de Guanajuato y se criaron en condiciones de laboratorio manteniéndolas bajo presión de selección a una concentración subletal (CL<sub>20</sub>) en larvas L3 con el insecticida cipermetrina durante ocho generaciones (G8), para incrementar el nivel de resistencia. Las larvas se alimentaron con plantas de brócoli de 50 días de edad, mientras que la alimentación de los adultos consistió en una solución de agua azucarada al 15%, esto para asegurar el apareamiento y la ovoposición.

Todas las etapas de desarrollo de *la P. xylostella* se mantuvieron en condiciones controladas de  $27 \pm 1$  °C,  $80 \pm 10\%$  HR, 16: 8 h L:O. Como línea susceptible (LS) se utilizaron insectos proporcionados por Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP) campo experimental Bajío, sin haberse sometido a un proceso de presión de selección con insecticidas desde 1996.

**Bioensayos.** Las pruebas de efectividad biológica para el insecticida cipermetrina se realizaron mediante el método de inmersión de hojas (IRAC, 2019). Se evaluaron seis concentraciones (300, 600, 900, 1200, 1500 y 1800 ppm) que fueron preparadas con agua destilada más adherente (Inex-A®)  $1 \text{ mL L}^{-1}$  y un testigo absoluto que consistió en agua más adherente Inex-A®)  $1 \text{ mL L}^{-1}$ . Se recortaron discos de hojas de *B. oleracea* var. *italica* de 6 cm de diámetro y se sumergieron durante 10 s en las diferentes concentraciones en estudio, preparadas con agua destilada que contenía  $1 \text{ mL L}^{-1}$  de adherente. Las hojas se dejaron secar durante 1 h y se colocaron de forma individual en cajas Petri de 9 cm de diámetro revestidas con papel absorbente humedecido con agua destilada. Se transfirieron 10 larvas de tercer instar (L3) por cada disco de hoja y se realizaron cuatro repeticiones por concentración. La mortalidad se evaluó 24 h después del inicio del experimento; las larvas que no reaccionaron al ser estimuladas con un pincel en la parte dorsal se registraron como muertas. Se repitió este mismo procedimiento en cada generación hasta alcanzar la octava generación en la cual no se presentaron diferencias en la respuesta dosis-mortalidad al insecticida.

**Efectos subletales.** Una vez que inducida la resistencia hasta la octava generación de la población de laboratorio de *P. xylostella* (LR), se procedió a determinar los efectos subletales en el número de huevos ovipositados, supervivencia y peso de pupas, porcentaje de adultos emergidos, proporción sexual y tiempo de desarrollo de cada una de las fases de *P. xylostella*. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 10 repeticiones por cada tratamiento, como unidad experimental se consideró a una hoja con 10 individuos. Se transfirieron 10 larvas de tercer instar a disco de hoja *B. oleracea* var. *italica* de 6 cm de diámetro tratado con la  $CL_{20}$  de la octava generación (progenitores), se dejaron alimentar por 24 h y posteriormente se cambió la hoja por otra no tratada y se observaron las larvas hasta transformarse en pupas y la emergencia de adultos. Cuando las larvas se transformaron en pupas y cumplieron 2 días de edad, se seleccionaron 10 individuos de cada tratamiento y fueron pesados en una balanza analítica digital Ohaus® modelo Explore® Pro. Una vez emergidos, los adultos se separaron por sexos y se formaron parejas en cajas Petri de 9 cm de diámetro

provistas de papel absorbente humedecido con agua y una hoja de *B. oleracea* var. itálica. Los adultos se alimentaron con una solución de agua azucarada al 15 % y se dejaron que copularan y ovipositaran hasta que la última hembra se murió. Diariamente se tomó el registro de los huevos ovipositados por hembra por día colocando un disco de hoja de 6 cm de diámetro cada día. Se tomaron 100 huevos al azar de las parejas formadas y se colocaron sobre discos de hojas de brócoli en cajas Petri revestidas con papel absorbente humedecido con agua y se registró el tiempo de desarrollo en cada una de las fases. Una vez que las larvas puparon, se pesaron 10 pupas de forma al azar de cada tratamiento de 2 días de edad en una balanza analítica digital Ohaus® modelo Explore® Pro. En los adultos emergidos se evaluó la proporción sexual, longevidad del adulto (hembra y macho) y fecundidad. Durante la fase experimental los insectos se mantuvieron en condiciones ambientales controladas de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80 \pm 10\%$  HR, 16: 8 h L:O.

**Análisis estadístico.** Con el porcentaje de individuos muertos en los bioensayos se realizó una corrección de mortalidad con la fórmula de Abbott (1925) y posteriormente se sometieron a un análisis probit (Finney 1971) para obtener la curva de concentración-mortalidad, utilizando el programa SAS System for Windows ver 9.0 (SAS, 2002). La proporción de resistencia se determinó dividiendo la  $CL_{50}$  de línea resistente entre la  $CL_{50}$  de la línea susceptible y los niveles de resistencia a insecticidas se clasificaron según el estándar establecido por Shen *et al.* (1991), donde menciona que líneas con factores de resistencia mayores a 10 ya se consideran resistentes. Con los promedios obtenidos en la determinación de los efectos subletales en el tiempo de desarrollo de cada una de las fases, el porcentaje de pupas formadas, peso de pupas, adultos emergidos, proporción sexual y en el número de huevos por hembra por día se realizó la prueba Kruskal-Wallis para determinar la normalidad de los datos, y posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ). Los análisis fueron realizados mediante el programa R, versión 3.3.1.

### **Resultados y Discusión**

Con base a los resultados de la respuesta de presión de selección de cipermetrina en ocho generaciones en una población de campo de *P. xylostella*, se desarrolló un factor de resistencia de 86.43 veces mayor a la línea susceptible y con un incremento de niveles medios de resistencia entre generaciones de 1.19 veces (Cuadro1). Dukre *et al.*, (2009) en un estudio previo de selección de resistencia de *P. xylostella* a los insecticidas cipermetrina y fenvalerato reportaron factores de resistencia de 518.48 y 616 veces, en ocho generaciones, respectivamente, al aplicar a una concentración subletal de  $CL_{50}$ . Por otro lado, en líneas de campo se reportan proporciones

de resistencia de 25.10 (Jiang *et al.*, 2015) y 69.76 (Zhang *et al.*, 2016) veces en comparación a que una línea susceptible para el insecticida cipermetrina. Liu *et al.* (2015) en un estudio de selección de resistencia de clorantranipole en *P. xylostella* obtuvo una proporción de resistencia de 3.41 veces en ocho generaciones, lo que indica que la palomilla dorso de diamante desarrollo resistencia 25.34 veces más rápido a cipermetrina en comparación al clorantranilipole. Esto se puede deber a que la resistencia a piretroides está dada por varios mecanismos como son las enzimas detoxificativas: oxidasas, esterasas (Ishtiaq *et al.*, 2012) y gluatión-s-ransferasas (Gong *et al.*, 2013). Otro mecanismo involucrado en la resistencia a piretroides es la modificación en el sitio de acción, ya que los canales de sodio sensibles al voltaje son el principal objetivo de estos insecticidas. Estudios anteriores confirman que la resistencia se debe a una sensibilidad nerviosa reducida a la molécula del piretroide (Soderlund, 2010).

**Cuadro 1. Selección de resistencia y concentraciones subletales de Cipermetrina en ocho generaciones de *Plutella xylostella*.**

**Table 1. Selection of resistance and sublethal concentrations of Cypermethrin in eight generations of *Plutella xylostella*.**

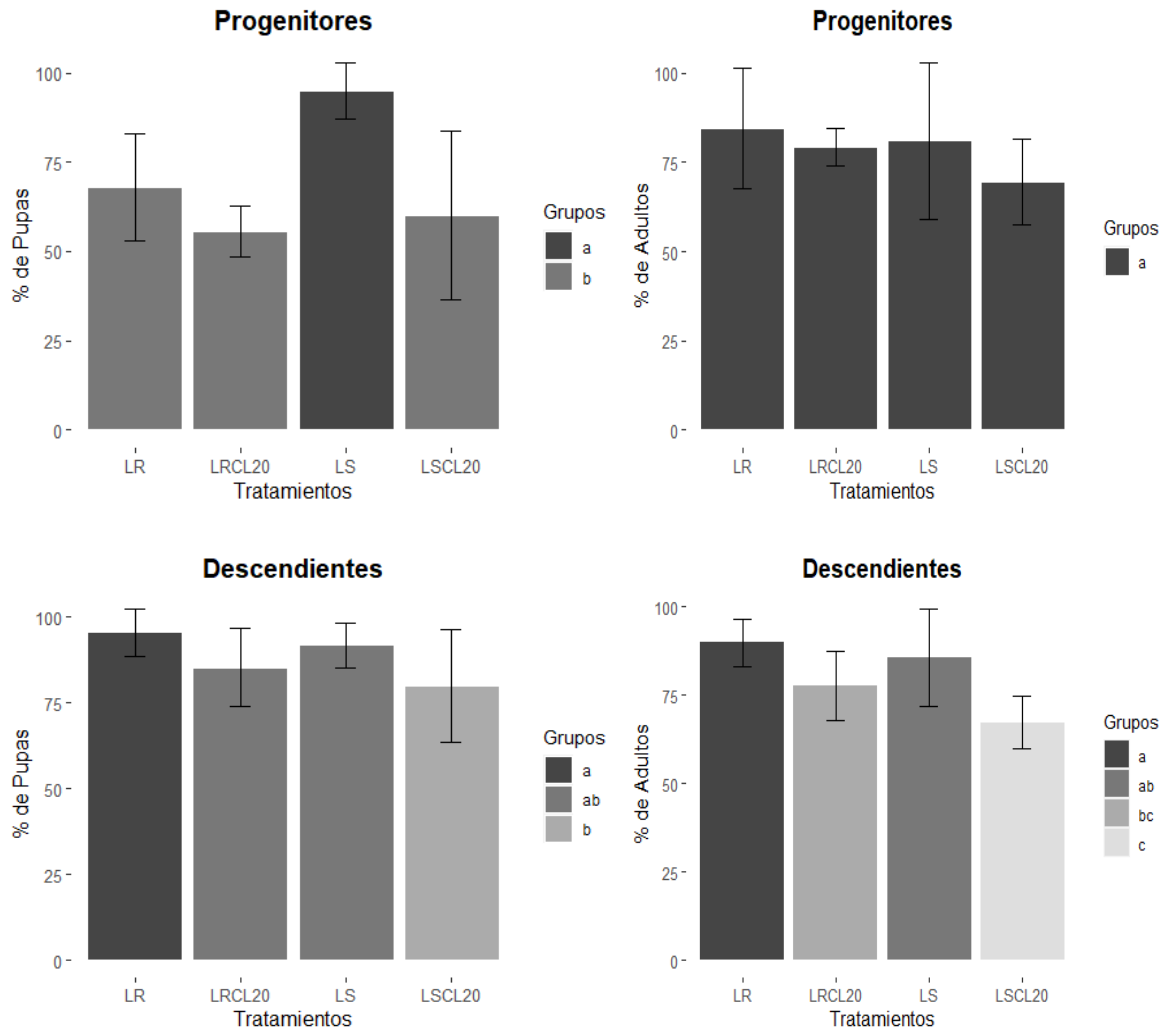
Generación	n	CL <sub>50</sub> (ppm)	LFI-LFS	CL <sub>20</sub> (ppm)	Ecu. Predicción	P.R <sup>1</sup>	P.R.R <sup>2</sup>
LS	40	90.36	60.60 - 138.26	28.84	y = -3.31+1.69	-	-
G <sub>1</sub>	40	1,164	862 - 1,805	138.82	y = -2.79+0.91	12.88	-
G <sub>2</sub>	40	1,354	1,201 - 1,555	485.23	y = -5.91+1.88	14.98	1.16
G <sub>3</sub>	40	1,564	1,392 - 1,779	527.24	y = -5.69+1.78	17.31	1.16
G <sub>4</sub>	40	2,689	2,133 - 3,455	904.13	y = 0.90-0.26	29.76	1.72
G <sub>5</sub>	40	3,686	3,234 - 4,202	1,424	y = -7.26+2.03	40.79	1.37
G <sub>6</sub>	40	5,949	3,379 - 9,862	3,285	y = -12.31+3.26	65.84	1.61
G <sub>7</sub>	40	6,498	5,929 - 7,082	3,561	y = -12.28+3.22	71.91	1.09
G <sub>8</sub>	40	7,810	7,256 - 8,366	4,583	y = -14.15+3.63	86.43	1.20

<sup>1</sup>Proporción de resistencia; <sup>2</sup>Proporción de resistencia entre generaciones

<sup>1</sup>Ratio of resistance; <sup>2</sup>Ratio of resistance between generations

El análisis de varianza para el porcentaje pupal y adultos emergidos de la generación progenitora de *P. xylostella* presenta valores estadísticos de g.l.= 3; P= 1.671 y g.l.= 3; P= 13.66, respectivamente. Por su parte, la generación descendiente muestra los siguientes valores

g.l.= 3; P= 3.786 y g.l.= 3; P =10.40, para el porcentaje de pupas formadas y adultos emergidos, respectivamente. La aplicación de una concentración subletal (CL<sub>20</sub>) de cipermetrina en larvas L3 de *P. xylostella* de la línea susceptible con aplicación (LSCL<sub>20</sub>) (60 %) y de la línea resistente con aplicación (LRCL<sub>20</sub>) (55.55%) disminuyó el porcentaje de pupas en comparación a una LS (95 %) y una LR (68 %) sin aplicación (Figura 1). La resistencia a cipermetrina también afecta en el porcentaje de pupas ya que observa una disminución del 28.5 % comparando la línea susceptible (LS) y línea resistente (LR), en el caso de la LSCL<sub>20</sub> y LRCL<sub>20</sub> se redujo en un 36.8 y 41.5% respectivamente Este fenómeno también llegó a tener un efecto transgeneracional (descendientes) al presentarse una disminución en la formación de pupas en los tratamientos con aplicación (LSCL<sub>20</sub> y LRCL<sub>20</sub>) en comparación a la LS y LR presentando un comportamiento similar entre sí (91.66 y 95.50% respectivamente). Estos resultados son inferiores a los reportados por Su y Xia, (2019), quienes muestran que la aplicación de dosis subletales de metiltio-diafentiuurón tuvo poco efecto en la tasa de pupación de las larvas progenitoras de *P. xylostella*. Por su parte, Hui *et al.* (2010), estudiando los efectos del fenvalerato en el desarrollo de *P. xylostella*, encontraron un porcentaje de pupación en el control de 88.5, y de 87.4% para una línea tratada con una concentración subletal (CL<sub>25</sub>). Respecto a los adultos de la generación progenitora no se presentó diferencia significativa entre los tratamientos evaluados con un porcentaje mayor al 70 % (Figura 1). Sin embargo, la descendencia de los adultos emergidos fue afectada al mostrar un disminución entre tratamientos, la LR (89.88 %) y LS (85.57 %) presentaron los valores más altos, por su parte LSCL<sub>20</sub> presentó el porcentaje medio más bajo con 67.25%. Huang *et al.* (2015) reportaron una disminución del 24% en adultos emergidos de una LS tratada con CL<sub>25</sub> de cantaridina. Por su parte, Su y Xia, (2019) demostraron que la aplicación de dosis subletales de metiltio-diafentiuurón tienen un efecto en la disminución de adultos emergidos de *P. xylostella* al verse reducida en más de un 36 % en comparación a una línea sin tratar.



**Figura 1. Comparación de medias de los efectos subletales en el porcentaje pupal y adultos emergidos de *Plutella xylostella* expuestos a Cipermetrina. LR: Línea resistente; LS: Línea susceptible; LSCL20: Línea susceptible con aplicación; LRCL20: Línea resistente con aplicación.**

**Figure 1. Comparison of means of the sublethal effects in the pupal percentage and emerged adults of *Plutella xylostella* exposed to Cypermethrin.**

**LR: resistant line; LS: Susceptible line; LSCL20: Susceptible line with application; LRCL20: Resistant line with application.**

En el cuadro 2 se muestran los valores medios del peso de pupas, donde se observa que ambas generaciones (progenitores y descendientes) presentan diferencia significativa la LSCL<sub>20</sub> se vio significativa (g.l.= 3; P = 4.66 y g.l.= 3; P = 3.137, respectivamente). La LSCL<sub>20</sub> presentó las medias más bajas en comparación al resto de los tratamientos, con un peso de 2.96 y 2.88 mg,



mientras que la LS fue la que presentó el mayor peso con 4.73 y 4.460 mg, respectivamente. Estos resultados difieren a los reportados por Mahmoudvand *et al.* (2011), quienes encontraron un efecto en la disminución del peso en los progenitores al aplicar una CL<sub>25</sub> de hexaflumuro, mientras en la generación descendiente no hubo diferencias significativas en los pesos de pupas de *P. xylostella*. Lo anterior indica que el hexaflumuro tiene un efecto directo en el peso de las pupas al afectar solo a los progenitores, mientras cipermetrina presenta un efecto directo e indirecto al afectar ambas generaciones.

En lo que se refiere a la proporción sexual, los progenitores no se vieron afectados al aplicar una concentración subletal de cipermetrina presentado valores medios de 1.363, 1.658, 1.425 y 1.736 hembras por macho para las líneas LS, LSCL<sub>20</sub>, LR y LRCL<sub>20</sub>, respectivamente. Sin embargo los descendientes si se presentaron diferencia significativa (g.l.= 3; P= 6.524) entre los tratamientos evaluados siendo la LRCL<sub>20</sub> la que presentó la proporción sexual más alta con 2.222 hembras por macho y la línea LSCL<sub>20</sub> reporta el valor más bajo con 0.607 hembras por macho. En contraste, Rodríguez *et al.* (2020) reportaron una disminución de 1.03 a 0.27 de hembras por machos de una línea resistente de *P. xylostella* al aplicar un CL<sub>20</sub> de Fipronil. Por su parte, Steinbach *et al.*, (2017) no encontraron diferencias en la proporción sexual de poblaciones resistentes a cipermetrina, deltametrina, fipronil, indoxabarb y clorantranipole reportando una media de 1 hembra por macho.

**Cuadro 2. Comparación de medias de los efectos subletales en el peso de pupas, y proporción sexual de *Plutella xylostella* expuestos a Cipermetrina.**

**Table 2. Comparison of means of the sublethal effects on pupal weight and sex ratio of *Plutella xylostella* exposed to Cypermethrin.**

Tratamiento	Progenitores		Descendientes	
	Peso de pupas (mg)	Proporción sexual <sup>1</sup>	Peso de pupas (mg)	Proporción sexual <sup>1</sup>
	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )
<b>L.S.</b>	4.73 ± 0.802 a	1.363 ± 0.921 a	4.19 ± 0.696 a	1.925 ± 1.258 a
<b>L.S.(CL<sub>20</sub>)</b>	2.96 ± 1.236 b	1.658 ± 1.595 a	2.880 ± 0.748 b	0.607 ± 0.294 b
<b>L.R.</b>	4.30 ± 1.729 ab	1.425 ± 1.041 a	4.460 ± 1.477 a	1.675 ± 0.897 a
<b>L.R. (CL<sub>20</sub>)</b>	4.30 ± 1.552 ab	1.736 ± 0.723 a	3.811 ± 0.914 ab	2.222 ± 0.666 a

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Hembras por macho; <sup>2</sup>Desviación estándar.

Means followed by the same letter within each column do not present a significant difference (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Females per male; <sup>2</sup>standard deviation.

En el cuadro 3 se muestran los efectos subletales de la cipermetrina en la fecundidad de *P. xylostella*, presentando diferencias significativas tanto en progenitores como descendientes con valores estadísticos de  $g.l.= 3$ ;  $P= 12.25$ , para huevos por hembra por día y  $g.l.= 3$ ;  $P= 3.802$ , para el total de huevos ovipositados en la generación progenitoras. Por su parte los descendientes reportan los siguiente valores de  $g.l.= 3$ ;  $P= 4.975$  y  $g.l.= 3$ ;  $P= 8.612$ , para huevos por hembras por día y total de huevos, respectivamente. Se observó un incremento en el número de huevos por hembra por día (HHD) en las líneas con aplicación (LSCL<sub>20</sub> y LRCL<sub>20</sub>) en ambas generaciones. La línea LRCL<sub>20</sub> fue la que presentó el mayor número de HHD para progenitores y descendientes con una media de 58.34 y 39.80, y con un total de 227.4 y 182.6 huevos respectivamente. Por su parte, la línea LS presentó valores más bajos con 34.04 y 24.55 HHD para los progenitores y descendientes y un total de 160.2 y 145.8 huevos respectivamente, lo que nos indica que la aplicación de cipermetrina aumenta la fecundidad en más de 70%. Estudios previos mencionan que la aplicación de dosis subletales de cipermetrina estimularon el crecimiento de poblaciones de *P. xylostella* (Han *et al.*, 2011) y *Carposina sasakii* (Quan *et al.*, 2016). En esta última especie se incremento el número de HHD en más de 13 % en comparación al control. Sin embargo, el uso de dosis subletales de cipermetrina contra *Helicoverpa armígera*, disminuyó de manera significativa el número de huevos ovipositados en 48.48% en comparación al control (Ahmad y Ansari, 2013). Estudios anteriores han demostrado que las concentraciones subletales de insecticidas pueden estimular significativamente la fecundidad de las plagas y son factores potenciales que conducen al brote de plagas de insectos (Li *et al.*, 2014).

**Cuadro 3. Efectos subletales del cipermetrina en el número promedio de huevos por hembra por día de *Plutella xylostella*.**

**Table 3. Sub-lethal effects of cypermethrin on the average number of eggs per female per day of *Plutella xylostella*.**

Tratamiento	Progenitores		Descendientes	
	HHD <sup>1</sup>	Total	HHD <sup>1</sup>	Total
	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )
L.S.	34.04 ± 6.886 c	160.2 ± 40.812 b	24.55 ± 6.023 b	145.8 ± 15.466 ab
L.S.(CL <sub>20</sub> )	49.34 ± 7.896 ab	181.4 ± 28.465 ab	28.466 ± 6.087 ab	115.6 ± 11.282 b
L.R.	39.08 ± 4.339 bc	172 ± 32.503 ab	37.30 ± 4.050 ab	157.6 ± 23.383 a
L.R. (CL <sub>20</sub> )	58.34 ± 7.924 a	227.4 ± 31.895 a	39.80 ± 10.894 a	182.6 ± 29.720 a

Medias seguidas de la misma letra por columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ );

<sup>1</sup>Huevos por hembra por día; <sup>2</sup>Desviación estándar.

Means followed by the same letter within each column do not present a significant difference (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Females per male; <sup>2</sup>standard deviation.

En el Cuadro 4 se muestra la comparación de medias de las fases de desarrollo, así como la longevidad de hembra-macho y el tiempo total de desarrollo de la LS con y sin aplicación, así como la LR con y sin exposición a la CL<sub>20</sub> de *P. xylostella*, observándose diferencias significativas para las fases de huevo, larva 1 (L1), larva 3 (L3) larva 4 (L4) y pupa, adultos, longevidad de hembra-macho y para el tiempo total de desarrollo con valores estadísticos de g.l.= 3; P= 8.104, g.l.= 3; P= 4.957, g.l.= 3; P= 5.483, g.l.= 3; P= 30.98, g.l.= 3; P= 7.790, g.l.= 3; P= 13.94, g.l.= 3; P= 11.08, g.l.= 3; P= 16.76 y g.l.= 3; P= 9.627, respectivamente. La LRCL<sub>20</sub> y la LS presentaron el mayor tiempo de desarrollo en la fase de huevo con una media de 3.55 y 3.33 días, por su parte la LSCL<sub>20</sub> presentó el valor más bajo con 2.46 días.

La LR con y sin aplicación reportaron los tiempos de desarrollo más altos para L1 con 1.55 y 1.66 días respectivamente. De igual manera para la fase de L3 se puede observar que la resistencia y la aplicación de cipermetrina (CL<sub>20</sub>) afectan en el desarrollo de las larvas al alargar su tiempo de 2.19 y 2.44 días para la LR y la LRCL<sub>20</sub>, respectivamente, en comparación con la LS (1.91 días). En lo que se refiere a L4 las LSCL<sub>20</sub> y LRCL<sub>20</sub> prolongaron su tiempo de desarrollo en 0.03 y 0.75 días, respectivamente en comparación a la LS y LR. Por otro lado, en la fase de pupa el tiempo de desarrollo se ve disminuido al aplicar una CL<sub>20</sub> de cipermetrina en la LS y LR con valores de 2.65 y 3.12 días, respectivamente, mientras que en la LS y LR sin aplicación los días de desarrollo fueron de 4.05 y 3.27, respectivamente. El tiempo de vida de las hembra-macho también fue afectado por la aplicación de cipermetrina en la LRCL<sub>20</sub> al

reducirse en más 0.60 y 0.30 días, respectivamente en comparación a la LR, caso contrario a la LSCL<sub>20</sub> que presentó un incremento en la longevidad de hembra-macho de 0.20 y 2.09 días, respectivamente, en comparación a la LS. Para el tiempo total de desarrollo del huevo hasta la muerte del adulto, se puede observar LRCL<sub>20</sub> presentó un incremento de 1.12 y 1.54 días, en comparación a la LS y LR, respectivamente. Sin embargo, para la línea LSCL<sub>20</sub> disminuyó su tiempo de desarrollo más de 1.70 días, en comparación a la LS. Xiao *et al.* (2016) reportaron un incremento el tiempo total de desarrollo de *Harmonia axyridis* de más de 4 días al aplicar cipermetrina. La aplicación de una CL<sub>20</sub> de clorantranilipole (Guo *et al.*, 2013) y Fipronil (Rodríguez *et al.*, 2020) en larvas de *P. xylostella* alargó su periodo de desarrollo en 0.59 y 4.19 días, respectivamente. Sin embargo, Zhang *et al.* (2012) y Mahmoudvand y Moharrampour (2015) observaron una leve disminución en el tiempo total de desarrollo de *P. xylostella* al exponer larvas de tercer instar a dosis subletales de metaflumizona y fenoxycarb, respectivamente.

**Cuadro 4. Efectos subletales de cipermetrina en las fases de desarrollo de *Plutella xylostella*.**

**Table 4. Sub-lethal effects of cypermethrin in the development stages of *Plutella xylostella*.**

Fase <sup>1</sup>	Tratamientos			
	L.S.	L.S.(CL <sub>20</sub> )	L.R.	L.R. (CL <sub>20</sub> )
	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )	(Media ± SD <sup>2</sup> )
<b>Huevo</b>	3.559 ± 0.398 a	2.467 ± 0.337 b	3.066 ± 0.712 ab	3.333 ± 0.559 a
<b>L1</b>	1.083 ± 0.179 b	1.244 ± 0.296 ab	1.550 ± 0.453 a	1.666 ± 0.500 a
<b>L2</b>	1.832 ± 0.337 a	1.688 ± 0.471 a	1.745 ± 0.314 a	1.708 ± 0.500 a
<b>L3</b>	1.918 ± 0.410 ab	1.634 ± 0.341b	2.190 ± 0.488 a	2.444 ± 0.583 a
<b>L4</b>	1.793 ± 0.276 c	1.823 ± 0.219 bc	2.131 ± 0.2833 b	2.888 ± 0.333 a
<b>Pupa</b>	4.056 ± 0.904 a	2.653 ± 0.419 b	3.270 ± 0.449 ab	3.122 ± 0.747 b
<b>Adulto</b>	3.575 ± 0.472 b	4.730 ± 0.271 a	3.450 ± 0.497 b	3.777 ± 0.666 b
<b>Macho</b>	2.894 ± 0.891 c	4.990 ± 0.662 a	4.150 ± 0.241 b	3.833 ± 0.707 b
<b>Hembra</b>	4.410 ± 0.790 ab	4.620 ± 0.423 a	3.720 ± 0.553 bc	3.100 ± 0.734 c
<b>Total</b>	17.814 ± 0.994 ab	16.020 ± 1.114 c	17.402 ± 1.608 bc	18.942 ± 0.946a

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada fila no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Valores en días; <sup>2</sup>Desviación estandar.

Means followed by the same letter within each row do not present significant difference (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Values in days; <sup>2</sup>Standard deviation.

**Conclusiones**

*Plutella xylostella* tiene la capacidad de desarrollar resistencia a cipermetrina en un corto tiempo. La aplicación de dosis subletales de cipermetrina tienen un efecto en la biología de *P. xylostella* ya que el porcentaje de pupas formadas, peso de pupas y adultos emergidos disminuyo, en cambio el ciclo de vida se vio a largado de manera mínima (1 día), en lo que se refiere a la fecundidad presenta una estimulación, la cual se ve reflejada en el número de huevos por hembra por día y en el total de huevos ovipositados.

## **Referencias**

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Ahmad, S., & Ansari, M. S. (2013). Acute toxicity and sub-lethal effects of a pyrethroid (cypermethrin) on survival, development and fitness of *Helicoverpa armigera*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(14), 1726-1739. Doi: <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.774809>
- CASAFE - CÁMARA ARGENTINA DE SANIDAD AGROPECUARIA Y FERTILIZANTES. (2011). Guía de productos fitosanitarios. Eds. CASAFE 15th, Buenos Aires. 996 p.
- Dukre, A. S., Moharil, M. P., Ghodki, B. S., & Rao, N. G. V. (2009). Role of glutathione S-transferase in imparting resistance to pyrethroids in *Plutella xylostella* (L.). *International Journal of Integrative Biology*, 6(1), 17-21.
- Gong, Y.J., Wang, Z.H., Shi, B.C., Kang, Z.J., Zhu, L., Jin, G.H., & Liu, T.X. (2013). Correlación entre la resistencia a los pesticidas y la actividad enzimática en la polilla del lomo del diamante, *Plutella xylostella*. *Journal of Insect Science*, 13 (1). Doi: <https://doi.org/10.1673/031.013.13501>
- Guo, L., Desneux, N., Sonoda, S., Liang, P., Han, P., & Gao, X. W. (2013). Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Crop Protection*, 48, 29-34. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.02.009>
- Han, W.S, Zhang, S.F., Shen F.Y., Zhang, H.J. & Gao, X.W. (2011). Sublethal effects of beta-cypermethrin on abamectin resistant and –susceptible population of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal Environmental Entomology* 33, 335–341. En Línea: [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-KCTD201103010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-KCTD201103010.htm)

- Huang, Z., Wang, Y., & Zhang, Y. (2015) Lethal and sublethal effects of cantharidin on development and reproduction of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 108 (3), 1054–1064. Doi: <https://doi.org/10.1093/jee/tov057>
- Hui, W., Juan, W., Li, H. S., Dai, H. G. & Gu, X. J. (2010). Sub-lethal effects of fenvalerate on the development, fecundity, and juvenile hormone esterase activity of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Agricultural Sciences in China*, 9 (11), 1612–1622. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60258-3](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60258-3)
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). (2019). En línea: <https://www.irc.org/methods/plutella-xylostella-larvae/> Consultado: 8 de marzo del 2019.
- Ishtiaq, M., Saleem, M. A., & Wright, D. J. (2012). Stability, cross-resistance and effect of synergists, PBO and DEF, on deltamethrin resistant strain of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(6).
- James, D. G., & Price, T. S. (2002). Fecundity in two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) is increased by direct and systemic exposure to imidacloprid. *Journal of Economic Entomology*, 95(4), 729-732. Doi: <https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.4.729>
- Jiang, T., Wu, S., Yang, T., Zhu, C., & Gao, C. (2015). Monitoring field populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for resistance to eight insecticides in China. *Florida Entomologist*, 98(1), 65-73.
- Kang, W. J., Koo, H. N., Jeong, D. H., Kim, H. K., Kim, J., & Kim, G. H. (2017). Functional and genetic characteristics of chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Entomological Research*, 47(6), 394-403. Doi: <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12258>.
- Kannan, M., Lokesh, S., Prithiva, J. N., & Mohan, M. (2017). Toxicity and sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* B.  $\delta$ -Endotoxin Cry1Ab on the biological parameters of diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Mysore Journal of Agricultural Sciences*, (Special Issue), 51(A), 153-158.
- Kumar, K., & Chapman, R. B. (1984). Sublethal effects of insecticides on the diamondback moth *Plutella xylostella* (L.). *Pesticide Science*, 15(4), 344-352. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.2780150404>
- Li, J. Y., Xiao, D., Qu, Y., Gao, X., & Song, D. (2014). Sublethal effects of malathion on biological traits and life table parameters of the soybean aphid, *Aphis glycines* (Matsumura). *Chinese Journal of Pesticide Science*, (2), 2. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotol-NYXB201402002.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotol-NYXB201402002.htm)

- Liu, X., Wang, H. Y., Ning, Y. B., Qiao, K., & Wang, K. Y. (2015). Resistance selection and characterization of chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(4), 1978-1985. Doi: <https://doi.org/10.1093/jee/tov098>
- Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Garjan, A. S., Bandani, A. R. (2011) Sublethal effects of hexaflumuron on development and reproduction of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Insect Science*, 18 (6), 689–696. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2011.01411.x>
- Mahmoudvand, M., & Moharrampour, S. (2015). Sublethal effects of fenoxycarb on the *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Insect Science*, 15(1). Doi: <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev064>
- Odewole, A. F., & Adebayo, T. A. (2014). Field evaluation of plant extracts for the control of diamond moth (*Plutella xylostella* Linnaeus) infesting cabbage (*Brassica oleracea* Linn). *International Letters of Natural Sciences*, 11(2), 164-178. [bwmeta1.element.agro-36a9e394-959c-4275-913f-9e95d2bb8cc](http://www.ijournals.com/doi/10.5897/IJNS1401.0000001)
- Quan, L. F., Qiu, G. S., Zhang, H. J., Sun, L. N., Li, Y. Y., & Yan, W. T. (2016). Sublethal concentration of beta-cypermethrin influences fecundity and mating behavior of *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae) adults. *Journal of Economic Entomology*, 109(5), 2196-2204. Doi: <https://doi.org/10.1093/jee/tow170>
- Rimoldi, F., Fogel, M. N., Schneider, M. I., & Ronco, A. E. (2015). Efectos indirectos de insecticidas convencionales y biorracionales sobre la alimentación de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 41(1), 41–47 Doi: <http://hdl.handle.net/11336/9382>
- Rodríguez, J. F. R., Chavez, E. C., Fuentes, Y. M. O., Beache, M. B., Flores, J. L., & Acevedo, L. P. G. (2020). Efectos subletales en el desarrollo de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) asociados a la resistencia a fipronil. *Acta Zoológica Mexicana (NS)*, 36(1), 1-10. Doi: <https://doi.org/10.21829/azm.2020.3612214>
- SAS Institute Inc. (2002). Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- Shen, J.L. Tan, J.G. Xiao, B. Tan, F.J. You, Z.P. Monitoring and forecasting of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to pyrethroid pesticides in China. *Chinese J. Appl. Entomol.*, 28 (1991), pp. 337-341. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.03.011>
- Shelton, A. M., Wyman, J. A., Cushing, N. L., Apfelbeck, K., Dennehy, T. J., Mahr, S. E. R., & Eigenbrode, S. D. (1993). Insecticide resistance of diamondback moth (Lepidoptera:

- Plutellidae) in North America. *Journal of Economic Entomology*, 86(1), 11-19. Doi: <https://doi.org/10.1093/jee/86.1.11>
- Steinbach, D., Moritz, G., & Nauen, R. (2017). Fitness costs and life table parameters of highly insecticide-resistant strains of *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae) at different temperatures. *Pest Management Science*, 73(9), 1789-1797. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4597>
- Soderlund, D. M. (2010). Toxicology and mode of action of pyrethroid insecticides. In Hayes' handbook of pesticide toxicology (pp. 1665-1686). Academic Press. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00077-X>
- Stark, J. D. & Banks, J.E. (2003). Stark, J. D., & Banks, J. E. (2003). Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48(1), 505-519. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.091801.112621>
- Su, C. & Xia, X. (2019). Su, C., & Xia, X. (2020). Sublethal effects of methylthio-diafenthiuron on the life table parameters and enzymatic properties of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 162, 43-51. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.08.011>
- Tabashnik, B.E., Gassmann, A.J., Crowder, D.W. & Carrière Y. (2008). Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. *Nat Biotechnol* 26:199–202. Doi: <https://doi.org/10.1038/nbt1382>
- Wang, R., Zheng, H., Qu, C., Wang, Z., Kong, Z., & Luo, C. (2016). Lethal and sublethal effects of a novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide, cycloxaprid, on *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 83, 15-19. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.01.015>
- Xiao, D., Zhao, J., Guo, X., Li, S., Zhang, F., & Wang, S. (2016). Sublethal effect of beta-cypermethrin on development and fertility of the Asian multicoloured ladybird beetle *Harmonia axyridis*. *Journal of Applied Entomology*, 140(8), 598-608. Doi: <https://doi.org/10.1111/jen.12302>
- Yin, X. H., Wu, Q. J., Li, X. F., Zhang, Y. J., & Xu, B. Y. (2008). Sublethal effects of spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Crop Protection*, 27(10), 1385-1391. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.008>
- Zhang, S., Zhang, X., Shen, J., Mao, K., You, H., & Li, J. (2016). Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 132, 38-46. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.01.007>



Selección de Resistencia y Efectos Subletales de Cipermetrina en la Palomilla Dorso de Diamante (*Plutella xylostella* L.)

Zhang, Z., Li, J. H., & Gao, X. W. (2012). Sublethal effects of metaflumizone on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Integrative Agriculture*, 11 (7), 1145–1150. Doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(12\)60108-](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(12)60108-)

Zhong, D., Chang, X., Zhou, G., He, Z., Fu, F., Yan, Z., & Cui, L. (2013). Relationship between knockdown resistance, metabolic detoxification and organismal resistance to pyrethroids in *Anopheles sinensis*. *PloS one*, 8(2). Doi: 10.1371 / journal.pone.0055475



## **TERCER ARTICULO**

**Efectos subletales y costos de resistencia a abamectina en la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**

1 **Efectos subletales y costos de resistencia a abamectina en la palomilla dorso de**  
2 **diamante (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**

3  
4 **Sublethal effects and costs of resistance to abamectin in diamondback moth (*Plutella***  
5 ***xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**

6  
7 **JOSÉ FRANCISCO RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ<sup>1</sup>; ERNESTO CERNA-CHÁVEZ<sup>2</sup>;**  
8 **YISA MARÍA OCHOA-FUENTES<sup>3</sup>; JERÓNIMO LANDEROS-FLORES<sup>4</sup>; LUIS**  
9 **PATRICIO GUEVARA-ACEVEDO<sup>5</sup>; HUGO CESAR CISNEROS-LÓPEZ<sup>6</sup>**

10  
11 <sup>1</sup>Estudiante de Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma  
12 Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P.  
13 25315. francisco\_azul@live.com.mx. <sup>2</sup>Doctor en ciencias, Universidad Autónoma Agraria  
14 Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315.  
15 jabaly1@yahoo.com; <sup>3</sup>Doctor en ciencias, Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro.  
16 Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. yisa8a@yahoo.com;  
17 <sup>4</sup>Doctor en ciencias, Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro  
18 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. jlanflo@hotmail.com; <sup>5</sup> Doctor en ciencias,  
19 Instituto Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, Km 8 Carretera Celaya-  
20 Juventino Rosas, Apartado Postal 508, C.P. 38110, Celaya; Guanajuato, México.  
21 lpguevara@itroque.edu.mx: <sup>6</sup>Doctor en ciencias, Instituto Nacional de México, Instituto  
22 Tecnológico de Roque, Km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Apartado Postal 508, C.P.  
23 38110, Celaya, Guanajuato, México. hugo.cl@roque.tecnm.mx

24 Autor de correspondencia: Ernesto Cerna Chávez, Doctor en Ciencias, Universidad Autónoma  
25 Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P.  
26 25315. jabaly1@yahoo.com.

27  
28 **Resumen**

29 El uso de concentraciones subletales de insecticidas llegan afectar la reproducción, orientación,  
30 alimentación, oviposición y aprendizaje de los insectos, lo que puede provocar nuevos brotes  
31 de plagas. Es fundamental comprender los efectos que tienen los insecticidas en la dinámica,  
32 biología y el desarrollo de plagas. *Plutella xylostella* es una de las plagas de mayor importancia  
33 nivel mundial, ya que cuenta con la capacidad de desarrollar resistencia fácilmente a los  
34 insecticidas utilizados para su control. Se realizó una presión de selección de abamectina

35 durante diez generaciones de *P. xylostella* y se determinó la concentración subletal (CL<sub>20</sub>) de  
36 la línea resistente y de la línea susceptible, posteriormente estas se aplicaron a larvas de tercer  
37 instar y se evaluó el efecto sobre el porcentaje de pupas formadas, peso de pupas, emergencia  
38 de adultos, en dos generaciones, así como los tiempos de desarrollo de cada una de las fases  
39 desde huevo hasta adulto. La resistencia y la aplicación de concentraciones subletales presenta  
40 costos importantes en la biología y desarrollo de *P. xylostella* al aumentar el porcentaje de  
41 pupación de una generación otra así como un mayor peso de pupas, un mayor número de huevos  
42 por hembra por día, sin embargo presenta un efecto transgeneracional al disminuir la  
43 oviposición en sus descendientes, en lo que se refiere al tiempo de desarrollo, presento un efecto  
44 nocivo al prolongarlo en más de 7 días, lo que generaría un mayor número de aplicaciones por  
45 ciclo.

46 **Palabras clave:** Abamectina, Resistencia, *Plutella xylostella*, Efectos Subletales

47

#### 48 **Abstract**

49 The use of sublethal concentrations of insecticides affect the reproduction, orientation, feeding,  
50 oviposition and learning of insects, which can cause new outbreaks of pests. Understanding the  
51 effects insecticides have on pest dynamics, biology, and development is critical. *Plutella*  
52 *xylostella* is one of the most important pests in the world, as it has the ability to easily develop  
53 resistance to the insecticides used for its control. Abamectin selection pressure was performed  
54 during ten generations of *P. xylostella* and the sublethal concentration (CL<sub>20</sub>) of the resistant  
55 line and the susceptible line was determined, later these were applied to third instar larvae and  
56 the effect on the percentage of pupae formed, pupal weight, adult emergence, in two  
57 generations, as well as the development times of each of the phases from egg to adult.  
58 Resistance and the application of sublethal concentrations present significant costs in the  
59 biology and development of *P. xylostella* as the percentage of pupation increases from one  
60 generation to another as well as a greater weight of pupae, a greater number of eggs per female  
61 per day, however It has a transgenerational effect by decreasing oviposition in its descendants,  
62 in what refers to the development time, it presented a harmful effect by prolonging it by more  
63 than 7 days, which would generate a greater number of applications per cycle.

64 **Key words:** Abamectin, Resistance, *Plutella xylostella*, Sublethal Effects

65

#### 66 **Introducción**

67 Los insecticidas pueden bloquear algunos procesos fisiológicos o bioquímicos, afectando la  
68 supervivencia, el crecimiento, el desarrollo, la reproducción y el comportamiento de las plagas

69 (De Castro *et al.*, 2013). Pero el uso de dosis/concentraciones subletales de agentes tóxicos  
70 llegan afectar la reproducción, orientación, alimentación, oviposición y aprendizaje de los  
71 insectos (Saran *et al.*, 2014). A demás Guedes y Cutler, (2014) mencionan que, existe la  
72 posibilidad de que ocurra un fenómeno conocido como hormesis en poblaciones expuestas a  
73 dosis subletales. A esta respuesta por parte de las poblaciones se le considera como una  
74 estimulación del rendimiento de los organismos que se produce a bajos niveles de exposición a  
75 agentes químicos que normalmente son tóxicos en niveles altos (Calabrese y Baldwin, 2001), y  
76 es considerado como el principal mecanismo para el resurgimiento de plagas (Cordeiro *et al.*,  
77 2013; Qu *et al.*, 2015). Es fundamental comprender cómo la exposición a compuestos químicos  
78 afecta la dinámica de la población de especies de plagas económicamente importantes, para  
79 desarrollar esquemas efectivos de manejo integrado de plagas (Banks *et al.*, 2017).

80 La Palomilla del Dorso del Diamante (PDD), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae),  
81 es una de las plagas de insectos más destructivas de los cultivos Brassicaceas en todo el mundo  
82 (Furlong *et al.*, 2013). Ya que cuando se encuentra en su fase larval se alimenta las partes  
83 frondosas de la planta y llega provocar pérdidas de rendimiento de aproximadamente 50-80%  
84 durante la infestación (Grzywacz *et al.*, 2010), que se ve reflejado en pérdidas económicas de  
85 \$ 4-5 mil millones anuales (Zalucki *et al.*, 2012). Esta especie es una plaga particularmente  
86 dañina debido a su alta tasa de reproducción y su capacidad para desarrollar resistencia a los  
87 insecticidas utilizados para su control (Wang y Wu, 2012), entre los que destacan: cipermetrina,  
88 abametina, indoxacar, spinosad, chlorantranilipole y *Bacillus thuringensis* (APRD, 2020). La  
89 abemectina es uno de los insecticidas más usados para el control de *P. xylostella* (Wang y Wu,  
90 2014). Este producto es derivado de fermentación natural de la bacteria del suelo *Streptomyces*  
91 *avermitilis* (Memarizadeh *et al.*, 2013). Actúa sobre la transmisión nerviosa del insecto: se fija  
92 sobre un receptor glutamato de los canales de cloro de la membrana de las células nerviosas,  
93 cerca del receptor GABA y de un receptor de benzodiazepinas, minimizando la acción del  
94 GABA, lo que genera un aumento en la liberación de este, dando lugar a un potencial de acción  
95 (Salazar *et al.*, 2011); su fijación provoca un flujo de iones Cl<sup>-</sup> al interior de las células nerviosas  
96 del insecto, originando su hiperpolarización y una falta de respuesta a los estímulos clásicos,  
97 provocando la muerte (Bowman, 2003). Investigaciones previas reportan efectos subletales  
98 asociados a la resistencia y aplicación de dosis subletales de abamaectina en un mayor tiempo  
99 de desarrollo de pupas, menor peso de pupas y menor supervivencia larval, así como la  
100 fecundidad femenina y la viabilidad del huevo se ven disminuidas (Wang y Wu, 2014). Xu *et*  
101 *al.* (2010) mencionan que hembras resistentes a la abamectina producen menos feromona sexual  
102 y muestran un nivel más bajo de comportamiento de llamada, mientras que los machos

103 resistentes presentaron una mayor capacidad de respuesta a las feromonas sexuales de hembras.  
104 Efectos similares se han reportado en otras plagas, como es el caso de *Tuta absoluta* al ser  
105 expuesta a dosis subletales de este insecticida, se vio disminuida la emergencia del adulto, el  
106 porcentaje de pupación, la fecundidad y la longevidad del adulto (Zibae y Esmaily, 2017).  
107 Por su parte Saber *et al.* (2018) mencionan que la aplicación de dosis subletales de abamectina  
108 sobre el acaro de dos manchas (*Tetranychus urticae*) afecta de manera importante el tiempo de  
109 desarrollo, la tasa de supervivencia y la fecundidad. El objetivo de la presente investigación fue  
110 evaluar el efecto de dosis subletales de abamectina y sus costos de resistencia en la biología y  
111 desarrollo de *Plutella xylostella*.

112

### 113 **Materiales y Métodos**

114 **Insectos.** La línea de campo se colectó en parcelas comerciales de brócoli ubicadas en el  
115 municipio de Abasolo en el Estado de Guanajuato y fue criada en condiciones de laboratorio,  
116 para aumentar el nivel de resistencia se mantuvieron bajo presión de selección con el insecticida  
117 abamectina durante diez generaciones ( $G_{10}$ ). La alimentación de las larvas consistió en plantas  
118 de brócoli de 50 días de edad, y la de los adultos en una solución azucarada al 15%, esto para  
119 asegurar el apareamiento y la ovoposición. Todas las etapas de desarrollo de la PDD se  
120 mantuvieron en condiciones controladas de  $27\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80\pm 10\%$  HR, 16:8 h L:O. Como línea  
121 susceptible se utilizaron individuos proporcionados por Instituto Nacional de Investigación  
122 Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP), criados sin presión de selección de insecticidas desde  
123 1996.

124 **Bioensayos.** Para determinar la  $CL_{50}$  y la  $CL_{20}$  de abamectina se utilizó método de inmersión  
125 de hojas (IRAC, 2020), utilizando un diseño experimental completamente al azar con seis  
126 concentraciones y un testigo absoluto de agua más adherente. Discos de hojas de *B. oleracea*  
127 *var. Itálica* de 6 cm de diámetro se sumergieron durante 10 s en las diferentes concentraciones  
128 evaluadas. Las hojas se dejaron secar durante 1 h y luego se colocaron de forma individual en  
129 cajas Petri revestidas con papel absorbente humedecido con agua. Se transfirieron un total de  
130 10 larvas de tercer instar (L3) por cada disco de hoja y se realizaron cuatro repeticiones por  
131 concentración. La mortalidad se evaluó 24 h después del inicio del experimento; las larvas que  
132 no reaccionaron cuando fueron estimuladas con un pincel en la parte dorsal se registraron como  
133 muertas. Una vez determinada la  $CL_{20}$  se aplicó durante las próximas 10 generaciones donde  
134 ya no hubo diferencias en la respuesta al insecticida.

135 **Efectos subletales y costos de la resistencia.** Obtenida la línea resistente a abamectina, diez  
136 larvas de tercer instar se colocaron en disco de hoja tratado con la  $CL_{20}$  de la  $G_{10}$  (progenitores),

137 se dejaron alimentar por 24 h y posteriormente se cambió la hoja por otra no tratada y se  
138 observaron hasta alcanzar su fase de pupa y la emergencia de adultos. Se utilizando un diseño  
139 experimental completamente al azar y 10 repeticiones por cada tratamiento; cada hoja con 10  
140 larvas de tercer instar se consideró como unidad experimental. Una vez emergidos, los adultos  
141 se sexaron y se formaron 10 parejas, las cuales se colocaron en cajas Petri provistas de papel  
142 absorbente humedecido con agua y una hoja de *B. oleracea* var. Itálica, se alimentaron con agua  
143 azucarada al 15% y se dejaron copular y ovipositar hasta que la última hembra murió.  
144 Diariamente se tomó el registro de los huevos ovipositados por hembra. Se tomaron 100 huevos  
145 al azar de las parejas formadas y se colocaron sobre discos de hojas de brócoli en cajas Petri  
146 revestidas con papel absorbente humedecido con agua, utilizando un diseño experimental  
147 completamente al azar con 10 repeticiones; cada unidad experimental consistió en un disco de  
148 hoja de brócoli con 10 huevos. Se registró la duración del desarrollo en cada una de las etapas  
149 larvales, así como de pupa y de adulto de ambos sexos. En la etapa de pupa, se seleccionaron  
150 10 pupas al azar de dos días de edad y se pesaron; en los adultos emergidos se evaluaron los  
151 efectos subletales, como proporción sexual, longevidad del adulto (hembra y macho) y  
152 fecundidad. Durante la fase experimental los insectos se mantuvieron en condiciones  
153 ambientales controladas de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $80\pm 10\%$  HR, 16:8 h L:O.

154 **Análisis de resultados.** Los datos obtenidos en los bioensayos fueron corregidos con la fórmula  
155 de Abbott (1925) y los resultados se sometieron a un análisis probit (Finney, 1971) para obtener  
156 la curva de respuesta concentración-mortalidad, utilizando el programa SAS System for  
157 Windows ver 9.0 (SAS, 2002). Con los valores de las variables de desarrollo se realizó un  
158 análisis de varianza (ANVA), y posteriormente se aplicó la prueba de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ), para la  
159 separación de las medias. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa R-studio,  
160 versión 3.3.1.

161

## 162 **Resultados**

163 La presión de selección de abamectina sobre una línea de campo de *P. xylostella* estimulo un  
164 desarrolló en la resistencia de 33.39 veces más en comparación a la LS (Cuadro 1). Se reporta  
165 una  $CL_{50}$  de 1.31 ppm para la LS y de 1.33 ppm para la primera generación (G1) de la línea de  
166 campo, después de realizar aplicaciones de una  $CL_{20}$  de abamectina durante diez generaciones  
167 (G<sub>10</sub>) en la línea de campo la  $CL_{50}$  aumento a 43.757 ppm.

168

169

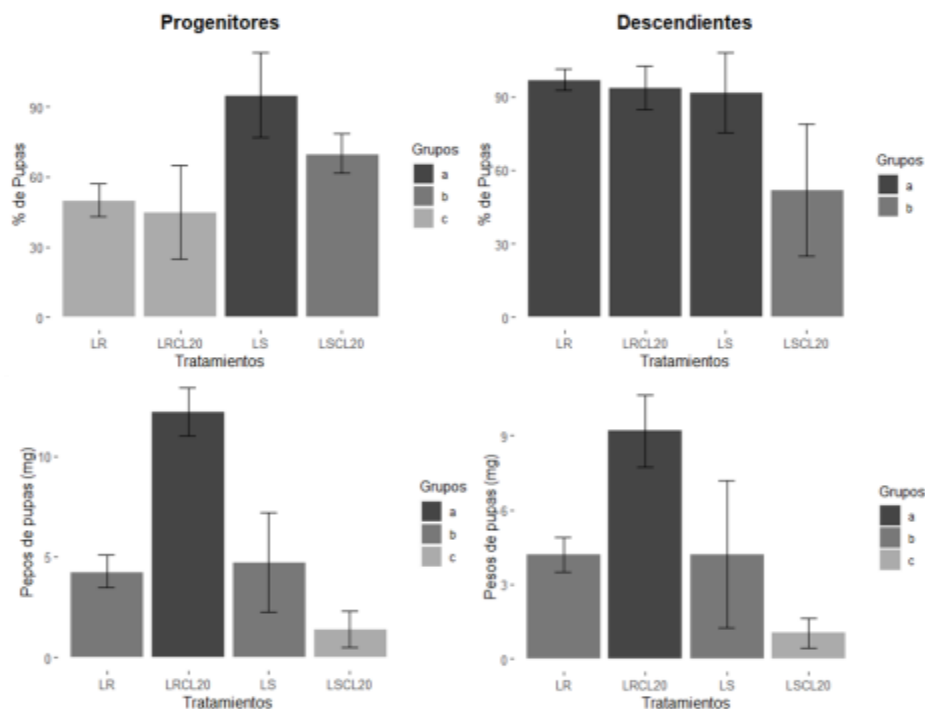


170 **Cuadro 1.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de abamectina en diferentes generaciones de  
 171 *Plutella xylostella*.

Generación	CL <sub>50</sub>	LFS-LFI	CL <sub>20</sub>	Ec. Predicción	P.R <sup>1</sup>
LS	1.31	0.706-2.215	0.21	y= -0.126+1.065	-
G <sub>1</sub>	1.33	0.585-2.762	0.282	y= -0.153 + 1.254	1.01
G <sub>10</sub>	43.757	41.361-46.228	28.43	y= -7.378 + 4.495	33.39

172 <sup>1</sup>Proporción de resistencia

173 Los efectos subletales y costos de la resistencia a la abamectina para la generación progenitora  
 174 y descendientes muestran diferencia significativa en el porcentaje de pupas (F= 24.16; g.l= 3;  
 175 P=9.66e<sup>-09</sup> y F= 16.41; g.l= 3; P= 6.94e<sup>-07</sup>) y peso de pupas (F= 93.04; g.l= 3; P=2e<sup>-16</sup> y F=  
 176 38.45; g.l= 3; P= 2.55e<sup>-11</sup>) de *P. xylostella* (Figura 1). En el porcentaje de pupas formadas la  
 177 LS fue la que presento el valor más alto con más de un 95 % y la línea resistente con aplicación  
 178 (LRCL<sub>20</sub>) reporto el menor valor por debajo del 50%, para el caso de la generación progenitora,  
 179 sin embargo el efecto de la resistencia y la aplicación de abamectina se ve reflejada en los  
 180 descendientes al reportar valores mayores del 90 % para la línea resistente (LR), LRCL<sub>20</sub> y LS,  
 181 por otra parte la aplicación de abamectina en la LS afecto a los descendientes al disminuir el  
 182 porcentaje de pupas al 50%. Para la generación de progenitores la LRCL<sub>20</sub> incremento más de  
 183 3 veces el peso de las pupas en comparación a la LR y LS, sin embargo la aplicación sobre la  
 184 LS, provoco una disminución del 50 % en el peso de pupas en comparación a la LS, efectos  
 185 similares se reportan sobre los descendientes al aumentar el peso de pupas más de 2 veces en la  
 186 LRCL<sub>20</sub> y verse disminuido en más del 50 % en LSCL<sub>20</sub> en comparación a las líneas sin tratar.  
 187 La combinación de la resistencia presente en *P. xylostella* y la aplicación de dosis subletales  
 188 juegan un factor importante en la formación y peso de pupas, lo que podría generar mayor  
 189 número de adultos resistentes y con un mayor apetito reproductivo.  
 190



**Figura 1.** Efectos subletales de la abamectina en el porcentaje pupal y peso de pupas de *Plutella xylostella*

191  
192  
193  
194  
195  
196  
197  
198  
199  
200  
201  
202  
203  
204  
205  
206  
207  
208  
209  
210

En el porcentaje de adultos emergidos en la generación de progenitores no se presentan diferencias significativas estadísticamente hablando, siendo LSCL<sub>20</sub> con el mayor número de adultos emergidos seguida de la LS, LR y LRCL<sub>20</sub> con 82.44, 81, 73.15 y 59.62 % respectivamente, sin embargo en los descendientes si se presenta un efecto de la resistencia ( $F=5.68$ ;  $g.l=3$ ;  $P=0.002$ ) y la aplicación de CL<sub>20</sub> al incrementar el porcentaje de adultos emergidos con 98 y 96.78 % para LR y LRCL<sub>20</sub>, respectivamente. En lo que se refiere a la proporción sexual en ninguna de las dos generaciones se presentaron diferencias significativas entre las líneas en estudio, considerando que la resistencia y la aplicación de CL<sub>20</sub> de abamectina no tiene un efecto importante en la proporción de sexos en *P. xylostella*.

211 **Cuadro 2.** Efectos subletales de abamectina en el porcentaje de adultos emergidos y proporción  
 212 sexual de *Plutella xylostella*.

Trat <sup>1</sup>	Progenitores		Descendientes	
	% de Adultos	Proporción sexual <sup>1</sup>	% de Adultos	Proporción sexual <sup>1</sup>
LS	81.00 ± 11.972 a	1.36 ± 0.921 a	85.57 ± 7.538 ab	1.92 ± 1.258 a
LSCL <sub>20</sub>	82.44 ± 17.234 a	1.61 ± 0.566 a	75.19 ± 26.651 b	1.27 ± 1.778 a
LR	73.15 ± 19.722 a	1.07 ± 0.834 a	98.00 ± 3.496 a	1.25 ± 0.353 a
LRCL <sub>20</sub>	69.62 ± 1.122 a	1.37 ± 0.455 a	96.78 ± 5.219 a	1.09 ± 0.693 a

213 Medias seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ );

214 <sup>1</sup>Hembras por macho.

215

216 La biología de *P. xylostella* se vio afectada por la resistencia y la aplicación de CL<sub>20</sub> de  
 217 abamectina, la cual se midió mediante la oviposición de huevos por hembra por día (HHD)  
 218 (Cuadro 3). El análisis de varianza presenta los siguientes valores de F= 16.73; g.l= 3; P=3.45e-  
 219 05 y F= 12.48; g.l= 3; P= 0.0001 para HHD y Total de huevos para la generación progenitora,  
 220 el caso de la generación descendiente para HHD y total de huevos los valores estadísticos son  
 221 los siguientes: F= 46.48; g.l= 3; P=4.01e-08 y F= 26.96; g.l= 3; P= 1.71e<sup>-06</sup> respectivamente.  
 222 Las hembras progenitoras de la LR fueron las que ovipositaron mas huevos a lo largo de su vida  
 223 con 220.2 huevos y un promedio de 32.49 HHD, sin embargo al aplicar CL<sub>20</sub> de abamectina en  
 224 individuos resistentes (LRCL<sub>20</sub>), esto propicio una reducción en la ovoposición con un total de  
 225 177.4 huevos y una media de 31.01 HHD, por su parte la LS reporta 34.04 HHD y un total de  
 226 140.02 huevos. Las hembras descendientes también se vieron afectas por la resistencia y la  
 227 aplicación de CL<sub>20</sub> de abamectina, pero en este caso de manera negativa al disminuir su total de  
 228 huevos en comparación con las hembras progenitoras con 172.6, 116.2 y 90.2 para LSCL<sub>20</sub>,  
 229 LRCL<sub>20</sub> y LR respectivamente.

230

231

232

233

234

235

236

237

238 **Cuadro 3.** Efectos subletales de abamectina en la oviposición de hembras de *Plutella xylostella*

Trat <sup>1</sup>	Progenitores		Descendientes	
	HHD <sup>2</sup>	Total	HHD <sup>2</sup>	Total
<b>LS</b>	34.04 ± 1.558 a	140.2 ± 8.105 c	27.16 ± 3.557 b	145.8 ± 15.46 a
<b>LSCL<sub>20</sub></b>	25.84 ± 3.188 b	204.8 ± 8.348 ab	42.53 ± 3.537 a	172.6 ± 23.049 a
<b>LR</b>	32.49 ± 0.892 a	220.2 ± 12.477 a	19.36 ± 2.709 c	116.2 ± 12.417 b
<b>LRCL<sub>20</sub></b>	31.01 ± 1.316 a	177.4 ± 41.204 bc	29.45 ± 3.537 b	90.2 ± 4.816 b

239 Medias seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ );

240 <sup>2</sup>Huevos por hembra por día.

241

242 El tiempo de desarrollo de cada una de las fases de *P. xylostella* se vieron afectados de manera  
 243 importante a causa de la resistencia y la exposición a CL<sub>20</sub> de abamectina. Como se observa en  
 244 el Cuadro 4, se presentan diferencias significativas entre las líneas en estudio en cada una de  
 245 las fases de desarrollo (Huevo, L1, L2, L3, L4, pupa y adulto) así como en el tiempo de vida de  
 246 hembras y macho y el tiempo total de vida de *P. xylostella*, con valores estadísticos de F= 11.85;  
 247 g.l= 3; P=1.51e<sup>-05</sup>, F= 3.99; g.l= 3; P=0.014, F= 28.23; g.l= 3; P=1.45e<sup>-09</sup>, F= 8.37; g.l= 3;  
 248 P=0.0002, F= 26.53; g.l= 3; P=3.12e<sup>-09</sup>, F= 58.05; g.l= 3; P=7.22e<sup>-14</sup>, F= 29.98; g.l= 3;  
 249 P=6.76e<sup>-10</sup>, F= 6.14; g.l= 3; P=0.001, F= 12.86; g.l= 3; P=7.28e<sup>-06</sup> F= 101.9; g.l= 3; P=2e<sup>-16</sup>,  
 250 respectivamente. Se observa un incremento en el tiempo de desarrollo de cada una de las fases  
 251 en la LR y en LRCL<sub>20</sub> en comparación a la LS, siendo las fases de L2, L3 y L4 las de mayor  
 252 incremento de tiempo de desarrollo, considerando que este insecto-plaga es un importante  
 253 defoliador, se puede reflejar en un mayor daño foliar en el cultivo, por su parte el tiempo de  
 254 desarrollo de los machos aumento en más de 2.5 días y el de las hembras más de 1.5 días,  
 255 asegurando así una mayor copulación y oviposición de los adultos. El tiempo total de desarrollo  
 256 desde huevo hasta la muerte del adulto aumento significativamente en 5.88 y 7.29 días para la  
 257 LR y LRCL<sub>20</sub> respectivamente, con comparación a la línea susceptible.

258

259

260

261

262

263

264

265 **Cuadro 4.** Efectos subletales de abamectina en el tiempo de desarrollo de *Plutella xylostella*.

Fase <sup>1</sup>	Tratamientos			
	LS	LSCL <sub>20</sub>	LR	LRCL <sub>20</sub>
<b>Huevo</b>	3.55 ± 0.398 b	2.87 ± 0.300 c	4.23 ± 0.501 a	3.73 ± 0.748 ab
<b>L1</b>	1.08 ± 0.179 b	1.84 ± 0.600 a	1.61 ± 0.380 ab	1.47 ± 0.691 ab
<b>L2</b>	1.83 ± 0.337 b	1.86 ± 0.282 b	3.13 ± 0.603 a	3.49 ± 0.697 a
<b>L3</b>	1.91 ± 0.410 ab	1.59 ± 0.345 b	2.28 ± 0.376 a	2.23 ± 0.216 a
<b>L4</b>	1.79 ± 0.276 b	1.50 ± 0.527 b	2.76 0.201 a	2.38 ± 0.306 a
<b>Pupa</b>	4.05 ± 0.904 c	3.00 ± 0.500 d	4.78 ± 0.269 b	5.83 ± 0.299 b
<b>Adulto</b>	3.57 ± 0.472 c	5.73 ± 0.754 a	4.90 ± 0.627 b	5.95 ± 0.598 a
<b>Macho</b>	2.89 ± 0.891 b	6.26 ± 2.129 a	5.10 ± 0.994 a	5.80 ± 0.788 a
<b>Hembra</b>	4.41 ± 0.790 b	5.20 ± 1.032 ab	4.60 ± 0.516 b	5.90 ± 0.888 a
<b>Total</b>	17.81 ± 0.994 c	18.41 ± 1.457 c	23.69 ± 1.218 b	25.10 ± 0.855 a

266 Medias seguidas de la misma letra no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ );

267 <sup>1</sup>Valores en días.

268

269 La aplicación de dosis subletales de abamectina afecta la biología y desarrollo de *P. xylostella*  
 270 lo que repercutiría en una mayor número de individuos por ciclo, mayor tiempo de desarrollo y  
 271 mayor tasa de ovoposición dando paso a posibles brotes de la plaga lo que aumentaría el número  
 272 de aplicaciones por ciclo y aumentado los costos de control, por lo que se recomienda disminuir  
 273 las aplicaciones de abamectina o insecticidas de un modo de acción similar y realizar rotación  
 274 de insecticidas de diferente grupo toxicológico para evitar el desarrollo de resistencia.

275

## 276 **Discusión**

277 Estudios previos mencionan que *P. xylostella* presenta una gran habilidad para desarrollar  
 278 resistencia a insecticidas elaborados a base de microorganismos como spinosad, benzoato de  
 279 enamectina y abamectina (Meghana *et al.*, 2017), en esta investigación se confirma dicha  
 280 capacidad al obtener un factor de resistencia de 33.39 veces al realizar una presión de selección  
 281 de abamectina en diez generaciones; Zhou *et al.* (2010) reportan un incremento en la  
 282 susceptibilidad de 5.8 veces para este mismo insecticida bajo una selección de resistencia en 11  
 283 generaciones de *P. xylostella*. Por su parte Wang y Wu (2014) obtuvieron un factor de  
 284 resistencia de 11,500 veces para una línea recolectada en campo y mantenida bajo presión de  
 285 selección durante 21 generaciones.

286 La resistencia a abamectina y la aplicación de dosis subletales presenta alteraciones en el  
287 desarrollo y biología de *P. xylostella*, al aumentar el porcentaje de pupas formadas de una  
288 generación a otra así como el peso de las mismas; Wang y Wu (2014) reportan una disminución  
289 en formación de pupas y un peso de pupas en una línea resistente a este insecticida; resultados  
290 similares se documentaron al aplicar dosis subletales de spinosad (Yin *et al.*, 2008) y  
291 clorraniliprol (Han *et al.*, 2012) que reducen significativamente la tasa de pupación y el peso  
292 de la pupas. Por su parte Moustafa *et al.* (2016) mencionan que la aplicación de dosis subletales  
293 del benzoato de emamectina (insecticida derivado de la abamectina) disminuye el porcentaje  
294 de pupas y aumenta el peso de las mismas para *Mamestra brassicae*.

295 La emergencia de adultos de *Plutella xylostella* en la primera generación se vio afectada por la  
296 resistencia y la exposición de abamectina al disminuir su porcentaje en comparación a la LS,  
297 sin embargo para la siguiente generación aumentó de manera considerable la tasa de adultos  
298 emergidos, estos resultados son similares a los reportados por Zibae y Esmaily (2017) en un  
299 estudio donde evaluaron los efectos subletales de abamectina sobre *Tuta absoluta* que al ser  
300 expuesta a dosis subletales la emergencia de adultos disminuyó en los progenitores pero  
301 presentó un aumento en la siguiente generación, de igual manera Moustafa *et al.* (2016)  
302 muestran una reducción del porcentaje de emergencia al exponer larvas de tercer instar de *P.*  
303 *xylostella* a los insecticidas spinosad y benzoato de emamectina. La restauración de una plaga  
304 de insectos se puede dar de manera gradual de generación en generación, sin embargo el punto  
305 final de un efecto subletal va depender de la especie de insecto, el tipo de aplicación, dosis y la  
306 clase de insecticida (Zibae y Esmaily, 2017).

307 Estudios previos han demostrado que la reducción en la fecundidad que ocurre en un insecto se  
308 ha relacionado a los cambios fisiológicos y morfológicos en ambos sexos (machos y hembras)  
309 (Saenz-de-Cabezón *et al.*, 2006). La biosíntesis de feromonas sexuales en los insectos implica  
310 una coordinación compleja de actividades fisiológicas que están bajo controles hormonales y  
311 neuronales (Rafaeli, 2011; Bloch *et al.*, 2013). Las hembras de *P. xylostella* producen menos  
312 feromona sexual y llegan a mostrar un nivel más bajo de comportamiento de llamada en cambio  
313 los machos resistentes muestran una mayor capacidad de respuesta a la mezcla de feromonas  
314 sexuales de hembras (Xu, *et al.*, 2010)

315 El ciclo de vida de *P. xylostella* se vio afectado a causa de la resistencia y a la exposición de  
316 dosis subletal, al incrementar los días de vida en comparación a la LS. Estudios previos  
317 descubrieron que las concentraciones subletales de indoxacarb (Wang *et al.*, 2011) y  
318 clorraniliprol (Guo *et al.*, 2013) inhiben el desarrollo de *P. xylostella*. Zibae y Esmaily,  
319 2017 mencionan que la aplicación de abamectina en *Tuta absoluta* no afectan el tiempo de

320 desarrollo de huevo hasta la muerte del adulto. Por su parte Kandil *et al.*, (2014) reporta un  
321 efecto nocivo sobre el desarrollo de *Helicoverpa armigera* después del tratamiento con  
322 benzoato de enamectina. La aplicación de dosis subletales de abamectina y sus efectos sobre su  
323 desarrollo y biología reportados en este estudio se puede asociar en gran medida al modo de  
324 acción de este insecticida, que se encuentra relaciona con el receptor GABA, que interfieren  
325 con la coordinación motora de los músculos involucrados en la alimentación y el movimiento  
326 de los insectos (Deecher *et al.*, 1990; Zibae y Esmaily, 2017).

327

### 328 **Conclusiones**

329 *Plutella xylostella* presenta una gran capacidad de desarrollar resistencia a abamectina en un  
330 corto periodo de tiempo al aumentar su proporción de resistencia en más de 30 veces en  
331 comparación a la línea susceptible.

332 La resistencia y la aplicación de concentraciones subletales de abamectina (CL<sub>20</sub>) sobre *Plutella*  
333 *xylostella* afectan de manera importante su biología y desarrollo, al aumentar el número de  
334 adultos por generación, peso de pupas, número de huevos por hembra y al alargar su ciclo de  
335 vida en más 7 días, generando un mayor número de individuos por generación y ciclo de vida  
336 más largo, además de estar estimulando el desarrollo de resistencia.

337

### 338 **Bibliografía**

339 ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of  
340 Economic Entomology, Cap 18, pp. 265–267. Disponible en línea: [https://www.doc-](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Dattier-du-desert_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf)  
341 [developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES\\_ARBRES/Dattier-du-](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Dattier-du-desert_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf)  
342 [desert\\_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Dattier-du-desert_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf)  
343 [%20aegyptiaca.pdf](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Dattier-du-desert_Balanites%20%C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf)

344 APRD (ARTHROPOD PESTICIDE RESISTANCE DATABASE), (2020). Disponible en línea:  
345 <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=571>(Ultima  
346 (Ultima consulta: 20-abril-2020)

347 BANKS, J.E.; VARGAS, R.I.; ACKLEH, A.S.; STARK, J.D. 2017. Efectos subletales en el  
348 manejo de plagas: una perspectiva de especies sustitutas en el control de la mosca de la  
349 fruta. Insectos, 8 (3), 78. <https://doi.org/10.3390/insects8030078>

350 BLOCH, G.; HAZAN, E.; RAFAELI, A. 2013. Circadian rhythms and endocrine functions in  
351 adult insects. Journal of insect physiology, 59(1), 56-69.  
352 <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.10.012>

- 353 BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C.; EBERHARD, M. L.; BOWMAN, D. D. (2003). Parasitología  
354 para veterinarios, Georgis. [http://www.sidalc.net/cgi-](http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=indea.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000191)  
355 [bin/wxis.exe/?IsisScript=indea.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion](http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=indea.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000191)  
356 [=mfn=000191](http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=indea.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000191)
- 357 CALABRESE1, E. J.; BALDWIN, L. A. 2001. Hormesis: a generalizable and unifying  
358 hypothesis. Critical reviews in toxicology, 31(4-5), 353-424.  
359 <https://doi.org/10.1080/20014091111730>
- 360 CORDEIRO, E. M. G.; DE MOURA, I. L. T.; FADINI, M. A. M.; GUEDES, R. N. C. 2013.  
361 Beyond selectivity: are behavioral avoidance and hormesis likely causes of pyrethroid-  
362 induced outbreaks of the southern red mite *Oligonychus ilicis*. Chemosphere, 93(6),  
363 1111-1116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.030>
- 364 DE CASTRO, A.A.; CORRÊA, A.S.; LEGASPI, J.C.; GUEDES, R.N.C.; SERRÃO, J.E.;  
365 ZANUNCIO, J.C. 2013. Supervivencia y comportamiento de los depredadores expuestos  
366 a insecticidas *Podisus nigrispinus* y *Supputius cincticeps* (Heteroptera: Pentatomidae).  
367 Chemosphere, 93 (6), 1043-1050. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0769-z>
- 368 DEECHER, D. C.; BREZNER, J.; TANENBAUM, S. W. 1990. Sublethal effects of avermectin  
369 and milbemycin on the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). Journal of economic  
370 entomology, 83(3), 710-714. <https://doi.org/10.1093/jee/83.3.710>
- 371 FINNEY, D. J. 1971 Probit Analysis. Cambridge at the University Press. 3rd Ed, 120 pp.
- 372 FURLONG, M. J.; WRIGHT, D. J.; DOSDALL, L. M. 2013. Diamondback moth ecology and  
373 management: problems, progress, and prospects. Annual review of entomology, 58, 517-  
374 541. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153605>
- 375 GRZYWACZ, D.; ROSSBACH, A.; RAUF, A., RUSSELL, D. A.; SRINIVASAN, R.;  
376 SHELTON, A. M. 2010. Current control methods for diamondback moth and other  
377 brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-  
378 resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. Crop protection, 29(1), 68-79.  
379 <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.08.009>
- 380 GUEDES, R. N. C.; CUTLER, G. C. 2014. Insecticide-induced hormesis and arthropod pest  
381 management. Pest Management Science, 70(5), 690-697.  
382 <https://doi.org/10.1002/ps.3669>
- 383 GUO, L.; DESNEUX, N.; SONODA, S.; LIANG, P.; HAN, P.; GAO, X. W. 2013. Sublethal  
384 and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the  
385 diamondback moth, *Plutella xylostella* L. Crop protection, 48, 29-34.  
386 <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.02.009>



- 387 HAN, W.; ZHANG, S.; SHEN, F.; LIU, M.; REN, C.; GAO, X. 2012. Toxicidad residual y  
388 efectos subletales de clorantraniliprol en *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).  
389 Ciencia de manejo de plagas, 68 (8), 1184-1190. <https://doi.org/10.1002/ps.3282>
- 390 IRAC (INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE). 2019. Disponible en línea:  
391 <https://www.ircac.online.org/methods/plutella-xylostella-larvae/> (última consulta 8 de  
392 marzo 2019).
- 393 KANDIL, M. A.; OTHMAN, K. S. A.; EL-MALLA, M. A.; RADWAN, E. M. M.;  
394 ELBADAWY, M. A. E. 2014. Efficacy of non-conventional insecticides on the  
395 American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). Bulletin of the Entomological  
396 Society of Egypt, 40, 69-81.
- 397 MEGHANA, C.; JAYAPPA, J.; REDDY, N. A.; DEVAPPA, V.; SRIDHAR, V.;  
398 KATTEGOUDAR, J. 2017. Assessing susceptibility of diamondback moth, *Plutella*  
399 *xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) population of different geographic region to selected  
400 newer insecticides.  
401 [http://www.entomoljournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=1&part=E&Articl](http://www.entomoljournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=1&part=E&ArticleId=2972)  
402 [eId=2972](http://www.entomoljournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=1&part=E&ArticleId=2972)
- 403 MEMARIZADEH, N.; GHADAMYARI, M.; ZAMANI, P.; SAJEDI, R.H. 2013. Mecanismos  
404 de resistencia a la abamectina en poblaciones iraníes del ácaro araña de dos puntos,  
405 *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). 10.1051/acarologia/20132093
- 406 MOUSTAFA, M.A; KÁKAI, Á.; AWAD, M.; FÓNAGY, A. 2016. Efectos subletales de  
407 spinosad y benzoato de emamectina sobre el desarrollo larvario y las actividades  
408 reproductivas de la polilla de la col, *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae).  
409 Protección de cultivos, 90, 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.09.004>
- 410 QU, Y.; XIAO, D.; LI, J.; CHEN, Z.; BIONDI, A.; DESNEUX, N.; SONG, D. 2015. Sublethal  
411 and hormesis effects of imidacloprid on the soybean aphid *Aphis glycines*.  
412 Ecotoxicology, 24(3), 479-487. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1396-2>
- 413 RAFAELI, A. 2011. Moth sex-pheromone production: Biosynthetic pathways, regulatory  
414 physiology, inhibitory processes and disruption. Moths: Types, ecological significance  
415 and control, 115-143.
- 416 SABER, M.; AHMADI, Z.; MAHDAVINIA, G. 2018. Efectos subletales de espirodiclofeno,  
417 abamectina y piridaben sobre los rasgos de la historia de vida y los parámetros de la tabla  
418 de vida de la araña roja de dos puntos, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae).  
419 Acarología experimental y aplicada, 75 (1), 55-67. [https://doi.org/10.1007/s10493-018-](https://doi.org/10.1007/s10493-018-0226-2)  
420 [0226-2](https://doi.org/10.1007/s10493-018-0226-2)

- 421 SÁENZ-DE-CABEZÓN, F. J.; PÉREZ-MORENO, I.; ZALOM, F. G.; MARCO, V. 2006.  
422 Effects of lufenuron on *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval, and adult  
423 stages. Journal of economic entomology, 99(2), 427-431.  
424 <https://doi.org/10.1093/jee/99.2.427>
- 425 SALAZAR, B. G.; MORENO, D. H.; RODRÍGUEZ, F. S.; PÉREZ-LÓPEZ, M. 2011. Empleo  
426 de ivermectina como parasiticida en ovino: posibles efectos tóxicos y repercusiones  
427 ambientales. In Anales de Veterinaria de Murcia Vol. 27, pp. 23-32.  
428 <https://doi.org/10.6018/j/160111>
- 429 SARAN, R. K.; ZIEGLER, M.; KUDLIE, S.; HARRISON, D.; LEVA, D. M.; SCHERER, C.;  
430 COFFELT, M. A. 2014. Behavioral effects and tunneling responses of eastern  
431 subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) exposed to chlorantraniliprole-treated  
432 soils. Journal of economic entomology, 107(5), 1878-1889.  
433 <https://doi.org/10.1603/EC11393>
- 434 SAS Institute Inc. 2002. Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- 435 WANG, G.; HUANG, X.; WEI, H.; FADAMIRO, H. Y. 2011. Sublethal effects of larval  
436 exposure to indoxacarb on reproductive activities of the diamondback moth, *Plutella*  
437 *xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Pesticide biochemistry and physiology, 101(3),  
438 227-231. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.09.010>
- 439 WANG, R.; WU, Y. 2014. Dominant fitness costs of abamectin resistance in *Plutella xylostella*.  
440 Pest management science, 70(12), 1872-1876. <https://doi.org/10.1002/ps.3741>
- 441 WANG, X.; WU, Y. 2012. High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field  
442 populations of *Plutella xylostella*. J. Econ. Entomol. 105, 1019–1023. 10.1603/EC12059
- 443 XU, Z.; CAO, G. C.; DONG, S. L. 2010. Changes of sex pheromone communication systems  
444 associated with tebufenozide and abamectin resistance in diamondback moth, *Plutella*  
445 *xylostella* (L.). Journal of chemical ecology, 36(5), 526-534.  
446 <https://doi.org/10.1007/s10886-010-9785-3>
- 447 YIN, X. H.; WU, Q. J.; LI, X. F.; ZHANG, Y. J.; XU, B. Y. 2008. Sublethal effects of spinosad  
448 on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Crop Protection, 27(10), 1385-  
449 1391. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.008>
- 450 ZALUCKI, M. P.; SHABBIR, A.; SILVA, R.; ADAMSON, D.; SHU-SHENG, L.; FURLONG,  
451 M. J. 2012. Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests,  
452 *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string. Journal  
453 of economic entomology, 105(4), 1115-1129. <https://doi.org/10.1603/EC12107>

- 454 ZHOU, X. M.; WU, Q. J.; ZHANG, Y. J.; BAI, L. Y.; HUANG, X. Y. 2010. Effects of abamectin  
455 selection on the genetic differentiation within *Plutella xylostella* (Lepidoptera:  
456 Plutellidae) based on amplified fragment length polymorphism. *Insect science*, 17(4),  
457 353-360. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.01307.x>
- 458 ZIBAEI, I.; ESMAEILI, M. 2017. Effect of sublethal doses of abamectin on demographic traits  
459 of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal*  
460 *of plant protection research*. 10.1515/jppr-2017

## **CUARTO ARTICULO**

**Mecanismos de Resistencia a Insecticidas en *Plutella xylostella* L.**

**(Lepidoptera:Plutellidae)**

**Mecanismos de Resistencia a Insecticidas en *Plutella xylostella* L.  
(Lepidoptera:Plutellidae)**

José Franciscisco Rodríguez Rodríguez<sup>1</sup>; Ernesto Cerna Chávez<sup>2</sup>; Yisa María Ochoa Fuentes<sup>3</sup>; Jeronimo Landeros Flores<sup>4</sup>; Luis Patricio Guevara Acevedo<sup>5</sup>; Hugo Cesar Cisneros López<sup>6</sup>

Estudiante de Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. francisco\_azul@live.com.mx. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. <sup>2</sup>jabaly1@yahoo.com; <sup>3</sup>yisa8a@yahoo.com; <sup>4</sup>jlanflo@hotmail.com. Instituto Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque, Km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Apartado Postal 508, C.P. 38110, Celaya; Guanajuato, México. <sup>5</sup>lpguevara@itroque.edu.mx; <sup>6</sup>hugo.cl@roque.tecnm.mx.

Autor de correspondencia: jabaly1@yahoo.com

### **Resumen**

*Plutella xylostella* es una de las principales plagas que afectan a las crucíferas en todo el mundo generando grandes pérdidas económicas. El manejo se basa principalmente en el uso de insecticidas de síntesis química. Sin embargo la alta presión de selección de insecticidas en campo, ha propiciado el desarrollo de resistencia a las diferentes materias activas utilizadas para su control. El principal tipo de resistencia presente en los insecto es la resistencia de tipo metabólica, la cual engloba diferentes grupos de enzimas que son las encargadas de eliminar las moléculas de los insecticidas del organismo de las plagas. Se caracterizaron los principales mecanismos bioquímicos de resistencias a insecticidas en *P. xylostella* mediante la cuantificación y actividad enzimática de  $\alpha$  y  $\beta$  esterasas, glutatión S-transferasas, acetilcolinesterasas y oxidasas en cuatro líneas resistentes a diferentes insecticidas (cipermetrina, indoxacarb, fipronil y abamectina). Los resultados demuestran que las esterasas se encuentran involucradas en la resistencia a los cuatro insecticidas evaluados. La sobre expresión de oxidasas está relacionada con la resistencia a fipronil e indoxacarb, por su parte glutatión S-

transferasas se asocia a la resistencia a cipermetrina, mientras que acetilcolinesteras no juega un papel importante en la resistencia a estos insecticidas.

**Palabras clave:** Abamectina, cipermetrina, indoxacarb, fipronil, enzimas detoxificativas.

### **Abstrac**

*Plutella xylostella* is one of the main pests that affect crucifers worldwide, generating great economic losses. Management is mainly based on the use of chemically synthetic insecticides. However, the high pressure of selection of insecticides in the field has led to the development of resistance to the different active materials used for their control. The main type of resistance present in insects is metabolic resistance, which includes different groups of enzymes that are responsible for eliminating the insecticide molecules from the pest organism. The main biochemical mechanisms of insecticide resistance in *P. xylostella* were characterized by quantification and enzymatic activity of  $\alpha$  and  $\beta$  esterases, glutathione S-transferases, acetylcholinesterases and oxidases in four lines resistant to different insecticides (cypermethrin, indoxacarb, fipronil and abamectin) . The results show that esterases are involved in resistance to the four insecticides evaluated. Overexpression of oxidases is related to resistance to fipronil and indoxacarb, on the other hand glutathione S-transferases are associated with resistance to cypermethrin, while acetylcholinesterases do not play an important role in resistance to these insecticides.

**Key words:** abamectin, cypermethrin, indoxacarb, fipronil, detoxifying enzymes.

### **Introducción**

La polilla dorso de diamante (*Plutella xylostella* L.) es el insecto plaga más destructivo de los cultivos de crucíferas, actualmente representa pérdidas anuales de cosechas mayores a 2.700 millones de dólares (Zalucki *et al.*, 2012). La aplicación de insecticidas químicos es el principal método de control para *P. xylostella* (Li *et al.*, 2016). Sin embargo este insecto se caracteriza por su gran capacidad para desarrollar resistencia a los productos de síntesis química utilizados para su manejo, esto se debe en gran medida a su alta plasticidad genética, un corto tiempo de generación, alta fecundidad y el uso

excesivo de moléculas químicas, lo que genera una alta presión de selección en el campo (Trocza *et al.*, 2017). La Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) reporta que *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a 97 insecticidas con diferente modo de acción entre los que destacan abamectina, chlorantranilipole, cipermetrina, fipronil, indoxacarb, spinosad y diferentes cepas de *Bacillus thuringiensis* (APRD, 2020). La resistencia a insecticidas involucra diferentes mecanismos de detoxificación por parte de los insectos como mutaciones de aminoácidos en el sitio objetivo, la sobreexpresión o mutaciones de las enzimas de desintoxicación, resistencia a la penetración y resistencia conductual (Bass *et al.*, 2015). La resistencia metabólica es el mecanismo más común en los insectos, con un aumento en las actividades de esterasas, glutatión S-transferasas y oxidasas (Bass *et al.*, 2011), mientras que la resistencia no metabólica está asociada a una mutación en el sitio de acción como es el caso de Acetilcolinesterasa (Ramya *et al.*, 2016a). La comprensión de estos mecanismos de resistencia es el aspecto más importante para el manejo de la resistencia en insectos plaga (Zhang *et al.*, 2016). Estudios previos demuestran que la sobreexpresión de esterasas y oxidasas confieren un alto nivel de resistencia para clorpirifos, cipermetrina, acefato (Ramya *et al.*, 2016b) y deltametrina (Soleymanzade *et al.*, 2018); similar a lo reportado por Cerna *et al.* (2018) que menciona que las esterasas y oxidasas juegan un papel importante en la desintoxicación de insecticidas en *P. xylostella*. Por su parte Zhang *et al.* (2017) mencionan que una elevada actividad de glutatión S-transferasas y oxidasas es el principal mecanismo de resistencia para indoxacarb en *P. xylostella*. El objetivo de la presente investigación fue determinar el contenido y la actividad enzimática en líneas resistentes a insecticidas de *P. xylostella*.

## **Materiales y métodos**

**Insectos.** Los individuos de las líneas resistentes a cipermetrina, indoxacarb, fipronil y abamectina fueron proporcionados por el Laboratorio de Fitosanidad del Instituto Tecnológico de Roque, en Celaya, Gto. México, los cuales se mantuvieron bajo presión de selección durante 10 generaciones (G10) para los insecticidas Abamectina, indoxacarb y fipronil, y ocho generaciones (G8) para el insecticida cipermetrina. Como línea susceptible se utilizaron individuos proporcionados por el Instituto Nacional de

Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP) campus Bajío, sin presión de selección desde 1996. Todos los individuos fueron mantenidos en condiciones de laboratorio de  $25\pm 2$  °C,  $70\pm 10$  % de HR y un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad.

**Bioensayos.** Para conocer el nivel de resistencia de cada una de las líneas resistentes a los diferentes insecticidas de *P. xylostella*, se realizaron bioensayos de inmersión de hoja (IRAC, 2020). Se evaluaron seis concentraciones para cada insecticida y un testigo blanco, el cual consistió de agua más adherente A-Inex® ( $1 \text{ mL L}^{-1}$ ), con 4 repeticiones por concentración. Se recortaron discos de hoja de *B. oleracea* de 6 cm de diámetro y se sumergieron en las soluciones en estudio durante 10 s, se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1 h y posteriormente se colocaron en cajas petri provistas de papel absorbente humedecido con agua corriente, esto para mantener la turgencia de la hoja durante el experimento; se transfirieron 10 larvas de tercer instar (L3) de *P. xylostella* a los discos de hoja tratados y se mantuvieron en condiciones controladas de  $25\pm 2$ °C,  $70\pm 10$  % de HR y un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad. La mortalidad se evaluó a las 24 h posteriores al inicio de experimento, como criterio de mortalidad a las larvas se les realizó un estímulo en la parte dorsal y toda aquella que no respondía a dicho estímulo fue considerada muerta.

### **Pruebas bioquímicas**

**Cuantificación de proteína.** Para la determinación de proteína comprendida en las larvas de tercer estadio de *P. xylostella*, se utilizó el método descrito por Bradford (1976) modificada por Brogdon (1984) y Brogdon & Barber (1987). Se utilizaron diferentes cantidades de larvas (0.25, 0.50, 0.75, 1, 1.25, 1.50, 1.75 y 2), se colocaron en tubos eppendorf, con cuatro repeticiones para cada densidad, se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de solución buffer ( $\text{KPO}_4$ ) a 0.05 M y 7.2 pH y se trituraron con un macerador de tejidos y se aforaron a 1 mL, el homogenato obtenido se utilizó como fuente de enzima. En una microplaca de 96 pocillos, en cada cavidad se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de la fuente de enzima + 80  $\mu\text{L}$  de solución buffer ( $\text{KPO}_4$ ) + 200  $\mu\text{L}$  de colorante diluido Bio-Rad (1:4, v:v); esto se realizó por triplicado para cada repetición. Las lecturas de absorbancia se tomaron mediante un filtro de 630 nm y se calcularon los valores de  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de proteína comprendidos en el rango de 80 a 140  $\mu\text{g}$ . Para calcular la curva estándar de la proteína se utilizó Albúmina Sérica Bovina (ASB).



**Cuantificación enzimática.** Para los niveles enzimáticos de  $\beta$  y  $\alpha$ -esterasas se utilizó la técnica de Brogdon & Dickinson (1983). Se agregaron 100  $\mu$ L del homogenato + 100  $\mu$ L de  $\beta$  o  $\alpha$ -naftil acetato en cada cavidad de la microplaca, se dejó incubar por 10 min y posteriormente se adicionaron 100  $\mu$ L de Fast-blue, se encubó durante 2 minutos y se tomó lectura con un filtro de 540 nm. Con la metodología de Brogdon *et al.*, (1997), se determinó el nivel de oxidasas, se colocaron 100  $\mu$ L del homogenato + 200  $\mu$ L de 5,5' Dihidrocloruro de tetrametilbencidina (TMBZ) + 25  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3 %, se dejó incubar por 5 minutos y la lectura se tomó con un filtro de 620 nm. Para las GST, se utilizó el método de Brogdon & Barber (1990), se agregaron 100  $\mu$ L del homogenato + 100  $\mu$ L de glutatión reducido + 100  $\mu$ L de 1-cloro-2,4'-dinitrobenceno (CDNB) y se leyó al tiempo cero (T0) y al tiempo cinco (T5), con un filtro de 340 nm, tomando las diferencias de ambos tiempos para el análisis de resultados. Por último, siguiendo la técnica de Brogdon (1988), se calcularon los niveles de Acetilcolinesterasa, se adicionaron 100  $\mu$ L del homogenato + 100  $\mu$ L de yoduro de acetilcolina al 3.0 mM + 100  $\mu$ L de ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB), se leyó al T0 y al tiempo diez (T10), con un filtro de 414 nm, la diferencia de ambos tiempos se utilizó para el análisis de resultados.

**Actividad enzimática.** La estimación de la actividad enzimática de esterasas se realizó mediante el método descrito por Brogdon y Dickinson (1983) con algunas modificaciones. En una micro placa de 96 pozos se agregaron 50  $\mu$ l del homogenato + 140  $\mu$ l de acetato de  $\alpha$  ó  $\beta$ -naftilo + 60  $\mu$ l de fast blue y se tomó la lectura de T0 a 450 nm. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 10 min y se tomó la lectura de T10. La actividad enzimática específica se calculó a partir de la curva estándar de  $\alpha$  ó  $\beta$ -naftol y se expresó como  $\mu$ mol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína. La actividad de GST se midió según Kranthi (2005) con algunas modificaciones. Se agregaron 4  $\mu$ L de la fuente de enzima + 184  $\mu$ L de gltatión reducido + 2  $\mu$ L de CDNB en una micro placa de 96 pozos y se tomó lectura al T0 y T5 a 340 nm. Se calculó el conjugado de CDNB-GSH formado en  $\mu$ mol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína con la siguiente formula, se utilizando 9.6 como la diferencia del coeficiente extinción milimolar de entre el conjugado CDNB-GSN y CDNB.

$$CDNB - GSH = \frac{\text{Abs(Incrementada en 5 min)} * 3 * 1000}{9.6 * 5 * \text{mg de proteina}}$$

Para oxidasas se utilizó la técnica propuesta por Kranthi (2005), en una micro placa de 96 pozos se adicionaron 200 µL al 0.05 % de TMBZ + 30 µL del homogenato + 25 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 70 µL de solución buffer (KPO<sub>4</sub>) se leyó a 630 nm. La actividad total de las oxidasas se calculó a partir de la curva estándar de citocromo c y se expresó como µmoles min<sup>-1</sup> de citocromo P450 mg<sup>-1</sup> de proteína.

**Análisis estadístico.** Con los datos de pruebas de susceptibilidad a los insecticidas se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925) y posteriormente se realizó un análisis probit (Finney, 1971) para obtener la curva de respuesta concentración-mortalidad, usando el programa estadístico SAS System for Windows ver 9.0 (SAS, 2002). Para determinar el factor de resistencia se dividió la CL<sub>50</sub> de cada línea resistente entre la CL<sub>50</sub> de la línea susceptible (Georghiou, 1962). Con los valores de los bioensayos enzimáticos se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y se aplicó la prueba de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ), para la separación de las medias. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa R-studio, versión 3.3.1.

## Resultados

La línea susceptible (LS) de *P. xylostella* presentó una CL<sub>50</sub> de 1.31, 90.36, 0.092 y 11.28 ppm para los insecticidas abamectina, cipermetrina, fipronil e indoxacarb respectivamente, como se observa en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de diferentes insecticidas de una línea susceptible de *Plutella xylostella*.

Insecticida	CL <sub>50</sub> (ppm)	LFI-LFS	CL <sub>20</sub> (ppm)	y = a ± b
<b>Abamectina</b>	1.31	0.706 - 2.215	0.21	y = -0.126 + 1.065
<b>Cipermetrina</b>	90.36	60.60 - 138.26	28.84	y = -3.310 + 1.690
<b>Fipronil</b>	0.092	0.030 - 0.211	0.028	y = 0.133 + 0.101
<b>Indoxacarb</b>	11.28	4.878 - 24.805	0.77	y = 0.017 - 0.008

LFI=Límite fiducial inferior; LFS= Límite fiducial superior.

Las CL<sub>50</sub> y la proporción de resistencia de las líneas mantenidas en presión de selección a abamectina (G<sub>10</sub>), cipermetrina (G<sub>8</sub>), fipronil (G<sub>10</sub>), e indoxacar (G<sub>10</sub>) se muestran en la Tabla 2. La línea resistente a indoxacarb fue la que desarrollo el factor de resistencia mas alto con 186.06 veces mas que la LS y una CL<sub>50</sub> de 2,099 ppm, seguida de la línea resistente a cipermetrina con una proporción de resistencia de 86.43 veces y una CL<sub>50</sub> de 7,810 ppm y por ultimo las líneas resistentea a abamectina y fipronil con un factor de resistencia de 33.39 y 32.86 veces y una CL<sub>50</sub> de 43.757 y 3.024 ppm respectivamente.

**Tabla 2.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de líneas resistentes de *Plutella xylostella* a diferentes insecticidas.

Insecticida	CL <sub>50</sub> (ppm)	LFI-LFS	CL <sub>20</sub> (ppm)	y= a ± b	P.R
Abamectina (G <sub>10</sub> )	43.757	41.361- 46.228	28.43	y= -7.378 + 4.495	33.39
Cipermetrina (G <sub>8</sub> )	7,810	7,256 - 8,366	4,583	y= -14.150 + 3.630	86.43
Fipronil (G <sub>10</sub> )	3.024	0.903 - 8.767	0.865	y= -0.744 + 1.548	32.86
Indoxacarb (G <sub>10</sub> )	2,099	1,648 - 2,902	1,265	y= 8.099 - 2.453	186.06

LFI=Límite fiducial inferior; LFS= Límite fiducial superior; P.R= Proporción de resistencia

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la comparación de medias de las enzimas detoxificativas en diez generaciones de *P. xylostella* bajo presión de selección a abamectina; mostrando diferencias significativas para  $\alpha$ -esterasa (F=41.77; P=2e<sup>-16</sup>),  $\beta$ -esterasas (F=40.22; P=2e<sup>-16</sup>), oxidasas (F=5.81; P=1.06e<sup>-06</sup>) y acetilcolinesterasas (F=12.28; P=4.87e<sup>-13</sup>).  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas presentaron su mayor contenido en la generación cinco (G<sub>5</sub>) con una media de 5.198 y 5.523 respectivamente, superando a la LS en un 36 y 44 % respectivamente. En el caso de oxidasas y acetilcolinesterasa los valores medios de LS no fueron superados en ninguna generación al realizar presión de selección de abamectina, por lo que se pueden considerar como mecanismos detoxificativos pocos relevantes para este insecticida.

**Tabla 3.** Comparación de medias de enzimas detoxificativas en diez generaciones de *Plutella xylostella* con presión de selección a abamectina.

G <sup>1</sup>	$\alpha$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	$\beta$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Glutación S- Transferasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Oxidasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Acetilcolinesterasa (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )
LS <sup>3</sup>	3.800 $\pm$ 0.096 bcde	3.818 $\pm$ 0.080 b	0.026 $\pm$ 0.041 a	3.470 $\pm$ 0.306 a	0.040 $\pm$ 0.033 a
G1	3.626 $\pm$ 0.090 cde	3.631 $\pm$ 0.110 bc	0.019 $\pm$ 0.009 a	3.298 $\pm$ 0.062 abcd	0.000 $\pm$ 0.001 c
G2	4.00 $\pm$ 0.180 b	3.818 $\pm$ 0.203 b	0.030 $\pm$ 0.013 a	3.368 $\pm$ 0.033 abc	0.003 $\pm$ 0.005 c
G3	3.895 $\pm$ 0.116 bcd	3.693 $\pm$ 0.086 bc	0.018 $\pm$ 0.013 a	3.303 $\pm$ 0.055 abcd	0.002 $\pm$ 0.005 c
G4	3.768 $\pm$ 0.118 bcde	3.595 $\pm$ 0.198 bc	0.016 $\pm$ 0.006 a	3.191 $\pm$ 0.039 cd	0.004 $\pm$ 0.004 c
G5	3.793 $\pm$ 0.252 bcde	3.683 $\pm$ 0.246 bc	0.017 $\pm$ 0.010 a	3.193 $\pm$ 0.078 cd	0.008 $\pm$ 0.007 bc
G6	5.198 $\pm$ 0.489 a	5.523 $\pm$ 0.802 a	0.022 $\pm$ 0.015 a	3.233 $\pm$ 0.046 bcd	0.004 $\pm$ 0.005 c
G7	3.500 $\pm$ 0.033 e	3.336 $\pm$ 0.096 c	0.020 $\pm$ 0.007 a	3.102 $\pm$ 0.027 d	0.011 $\pm$ 0.008 bc
G8	4.045 $\pm$ 0.124 b	3.861 $\pm$ 0.143 b	0.018 $\pm$ 0.017 a	3.424 $\pm$ 0.215 ab	0.002 $\pm$ 0.004 c
G9	3.926 $\pm$ 0.290 bc	3.467 $\pm$ 0.040 bc	0.016 $\pm$ 0.010 a	3.269 $\pm$ 0.101 abcd	0.037 $\pm$ 0.11 a
G10	3.589 $\pm$ 0.107 de	3.448 $\pm$ 0.150 bc	0.025 $\pm$ 0.014 a	3.261 $\pm$ 0.162 bcd	0.024 $\pm$ 0.013 ab

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Generación; <sup>2</sup>Desviación estándar; <sup>3</sup>Línea susceptible.

Los niveles enzimáticos al realizar la selección de resistencia de cipermetrina en diez generaciones de *P. xylostella* se muestran en la Tabla 4, presentando diferencias significativas para cada grupo enzimático, con valores estadísticos de  $F=58.93$ ;  $P=2e^{-16}$  para  $\alpha$ -esterasas,  $F=20.45$ ;  $P=9.24e^{-16}$  para  $\beta$ -esterasas,  $F=2.66$ ;  $P=0.012$  para glutación S-transferasas,  $F=8.95$ ;  $P=1.96e^{-08}$  para oxidasas y de  $F=3.12$ ;  $P=0.004$  para acetilcolinesterasa.  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas en la G8 presentan los valores más altos con 4.349 y 4.456 respectivamente, superando a la LS en 14 y 16 % respectivamente. Por su parte glutación S-transferasas muestra su máxima expresión en la G5 con una media de 0.050, mientras que la LS presentó un contenido medio de 0.026 para esta misma enzima. En lo que se refiere a oxidasas y acetilcolinesterasas la selección de resistencia de cipermetrina no presentó un efecto en la expresión de estas enzimas al no superar en ninguna generación el contenido de la LS.

**Tabla 4.** Comparación de medias de enzimas detoxificativas en ocho generaciones de *Plutella xylostella* con presión de selección a cipermetrina.

G <sup>1</sup>	$\alpha$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	$\beta$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Glutación S- Transferasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Oxidasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Acetilcolinesterasa (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )
LS <sup>3</sup>	3.800 $\pm$ 0.096 bc	3.818 $\pm$ 0.080 bc	0.026 $\pm$ 0.041 ab	3.470 $\pm$ 0.306 a	0.040 $\pm$ 0.033 a
G1	3.792 $\pm$ 0.105 bc	3.747 $\pm$ 0.048 bc	0.009 $\pm$ 0.017 b	3.238 $\pm$ 0.028 bcd	0.005 $\pm$ 0.013 b
G2	3.557 $\pm$ 0.095 de	3.538 $\pm$ 0.068 cd	0.038 $\pm$ 0.015 ab	3.145 $\pm$ 0.021 cd	0.007 $\pm$ 0.007 b
G3	3.657 $\pm$ 0.093 cd	3.612 $\pm$ 0.077 cd	0.037 $\pm$ 0.030 ab	3.197 $\pm$ 0.046 bcd	0.009 $\pm$ 0.008 b
G4	3.913 $\pm$ 0.141 b	3.912 $\pm$ 0.175 b	0.046 $\pm$ 0.014 a	3.214 $\pm$ 0.048 bcd	0.010 $\pm$ 0.007 b
G5	3.429 $\pm$ 0.021 e	3.390 $\pm$ 0.045 d	0.050 $\pm$ 0.017 a	3.099 $\pm$ 0.010 d	0.018 $\pm$ 0.14 ab
G6	3.852 $\pm$ 0.059 b	3.762 $\pm$ 0.071 bc	0.024 $\pm$ 0.019 ab	3.270 $\pm$ 0.035 bc	0.013 $\pm$ 0.012 b
G7	3.829 $\pm$ 0.059 b	3.793 $\pm$ 0.082 bc	0.028 $\pm$ 0.013 ab	3.328 $\pm$ 0.044 ab	0.014 $\pm$ 0.011 ab
G8	4.349 $\pm$ 0.164 a	4.456 $\pm$ 0.538 a	0.033 $\pm$ 0.016 ab	3.192 $\pm$ 0.070 bcd	0.017 $\pm$ 0.027 ab

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Generación; <sup>2</sup>Desviación estándar; <sup>3</sup>Línea susceptible.

Los resultados de la comparación de medias del contenido de enzimas detoxificativas en diez generaciones de *P. xylostella* con selección de resistencia de fipronil se observan en la Tabla 5, donde se muestran diferencias significativas en cada grupo enzimático,  $\alpha$ -esterasas ( $F=51.94$ ;  $P=2e^{-16}$ ),  $\beta$ -esterasas ( $F=101$ ;  $P=2.e^{-16}$ ), glutación S-transferasas ( $F=3.56$ ;  $P=0.0005$ ), oxidasas ( $F=372.5$ ;  $P=2e^{-16}$ ) y acetilcolinesterasa ( $F=8.387$ ;  $P=2.1e^{-09}$ ).  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas durante diez generaciones presentan un incremento del 13 % en su expresión en comparación a la LS. Por su parte las oxidasas muestran aumento mínimo al superar en 1% al contenido de LS. Para el caso de glutación S-transferasas y acetilcolinesterasa la presión de selección del insecticida fipronil no alteró su contenido a lo largo de 10 generaciones en comparación a la LS.

**Tabla 5.** Comparación de medias de enzimas detoxificativas en diez generaciones de *Plutella xylostella* con presión de selección a fipronil.

G <sup>1</sup>	$\alpha$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	$\beta$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Glutación S- Transferasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Oxidasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Acetilcolinesterasa (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )
LS <sup>3</sup>	3.800 $\pm$ 0.096 c	3.818 $\pm$ 0.080 d	0.026 $\pm$ 0.041 a	3.470 $\pm$ 0.306 ab	0.040 $\pm$ 0.033 a
G1	3.467 $\pm$ 0.058 d	3.429 $\pm$ 0.073 f	0.015 $\pm$ 0.007 ab	0.574 $\pm$ 0.213 f	0.000 $\pm$ 0.000 b
G2	3.497 $\pm$ 0.048 d	3.514 $\pm$ 0.048 ef	0.016 $\pm$ 0.004 ab	0.467 $\pm$ 0.055 f	0.0008 $\pm$ 0.002 b
G3	3.540 $\pm$ 0.0351 d	3.580 $\pm$ 0.036 e	0.010 $\pm$ 0.11 ab	2.889 $\pm$ 0.248 d	0.002 $\pm$ 0.008 b
G4	3.563 $\pm$ 0.080 d	3.581 $\pm$ 0.095 e	0.018 $\pm$ 0.014 ab	3.325 $\pm$ 0.151 abc	0.0005 $\pm$ 0.001 b
G5	3.572 $\pm$ 0.061 d	3.528 $\pm$ 0.051 ef	0.0005 $\pm$ 0.001 b	2.509 $\pm$ 0.290 e	0.000 $\pm$ 0.000 b
G6	3.848 $\pm$ 0.093 c	3.892 $\pm$ 0.070 cd	0.001 $\pm$ 0.001 b	3.237 $\pm$ 0.055 bc	0.013 $\pm$ 0.011 b
G7	3.923 $\pm$ 0.109 bc	3.972 $\pm$ 0.093 bc	0.001 $\pm$ 0.005 b	3.284 $\pm$ 0.019 abc	0.008 $\pm$ 0.009 b
G8	4.055 $\pm$ 0.096 b	4.041 $\pm$ 0.066 b	0.005 $\pm$ 0.005 ab	3.397 $\pm$ 0.025 abc	0.010 $\pm$ 0.007 b
G9	3.960 $\pm$ 0.249 bc	4.000 $\pm$ 0.170 bc	0.001 $\pm$ 0.0002 b	3.198 $\pm$ 0.025 c	0.008 $\pm$ 0.008 b
G10	4.330 $\pm$ 0.161 a	4.321 $\pm$ 0.059 a	0.002 $\pm$ 0.004 b	3.521 $\pm$ 0.129 a	0.004 $\pm$ 0.006 b

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Generación; <sup>2</sup>Desviación estándar; <sup>3</sup>Línea susceptible.

En la Tabla 6 se observa la expresión de enzimas detoxificativas en diez generaciones de *P.xylostella* con presión de selección de indoxacarb, presentado diferencias significativas para cada grupo enzimático,  $\alpha$ -esterasas ( $F=13.1$ ;  $P=9.93e^{-14}$ ),  $\beta$ -esterasas ( $F=16.74$ ;  $P=2.e^{-16}$ ), glutación S-transferasas ( $F=2.51$ ;  $P=0.010$ ), oxidasas ( $F=6.52$ ;  $P=1.81e^{-07}$ ) y acetilcolinesterasa ( $F=12.74$ ;  $P=1.99e^{-13}$ ).  $\alpha$ -esterasas muestra un aumento en su expresión del 22 % a lo largo de diez generaciones en comparación a la LS. Por su parte glutación S-transferasas incremento un 100 % su contenido en comparación a la LS. Los grupos enzimáticos  $\beta$ -esterasas, oxidasas y acetilcolinesterasa no muestran efecto alguno sobre su contenido al realizar una selección de resistencia con indoxacarb.

**Tabla 6.** Comparación de medias de enzimas detoxificativas en diez generaciones de *Plutella xylostella* con presión de selección a el insecticida indoxacarb.

G <sup>1</sup>	$\alpha$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	$\beta$ -Esterasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Glutación S- Transferasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Oxidasas (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )	Acetilcolinesterasa (Media $\pm$ SD <sup>2</sup> )
LS <sup>3</sup>	3.800 $\pm$ 0.096 c	3.818 $\pm$ 0.080 a	0.026 $\pm$ 0.041 ab	3.470 $\pm$ 0.306 a	0.040 $\pm$ 0.033 a
G1	3.518 $\pm$ 0.066 c	3.298 $\pm$ 0.050 d	0.019 $\pm$ 0.011 b	3.162 $\pm$ 0.043 c	0.0001 $\pm$ 0.0003 c
G2	3.747 $\pm$ 0.228 bc	3.386 $\pm$ 0.098 cd	0.021 $\pm$ 0.016 b	3.293 $\pm$ 0.072 abc	0.0003 $\pm$ 0.0001 c
G3	3.785 $\pm$ 0.045 bc	3.442 $\pm$ 0.051 cd	0.024 $\pm$ 0.008 ab	3.265 $\pm$ 0.030 bc	0.000 $\pm$ 0.000 c
G4	3.662 $\pm$ 0.300 bc	3.412 $\pm$ 0.075 cd	0.018 $\pm$ 0.007 b	3.196 $\pm$ 0.053 c	0.0004 $\pm$ 0.001 c
G5	3.648 $\pm$ 0.074 bc	3.535 $\pm$ 0.082 bc	0.024 $\pm$ 0.006 ab	3.325 $\pm$ 0.095 abc	0.001 $\pm$ 0.002 c
G6	3.526 $\pm$ 0.028 c	3.297 $\pm$ 0.022 d	0.018 $\pm$ 0.006 b	3.210 $\pm$ 0.095 c	0.000 $\pm$ 0.000 c
G7	3.752 $\pm$ 0.062 bc	3.465 $\pm$ 0.123 cd	0.020 $\pm$ 0.007 b	3.270 $\pm$ 0.073 bc	0.001 $\pm$ 0.003 c
G8	4.004 $\pm$ 0.004 b	3.683 $\pm$ 0.178 ab	0.032 $\pm$ 0.004 ab	3.390 $\pm$ 0.119 ab	0.002 $\pm$ 0.003 c
G9	3.690 $\pm$ 0.047 bc	3.484 $\pm$ 0.033 bcd	0.016 $\pm$ 0.007 b	3.217 $\pm$ 0.306 bc	0.012 $\pm$ 0.011 bc
G10	4.644 $\pm$ 0.737 a	3.791 $\pm$ 0.333 a	0.052 $\pm$ 0.040 a	3.155 $\pm$ 0.066 c	0.027 $\pm$ 0.013 ab

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Generación; <sup>2</sup>Desviación estándar; <sup>3</sup>Línea susceptible.

En la tabla 7 se muestra la comparación de medias de la cinética enzimática presentando diferencias significativas  $\beta$ -esterasas ( $F = 56.92$ ,  $P = 2e^{-16}$ ), glutación S-transferasas ( $F = 5.697$ ,  $P = 0.000656$ ) y oxidasas ( $F = 5.633$ ,  $P = 0.00108$ ). Las líneas resistentes a indoxacarb y abamectina presentaron un incremento del 19 y 2 % respectivamente, en la cinética de  $\beta$ -esterasas en comparación a la línea susceptible. En el caso de glutación S-transferasas las líneas resistentes a cipermetrina, indoxacarb, fipronil y abamectina muestran un aumento en la actividad enzimática en 3.39, 2.12, 3.38 y 1.09 veces más que la línea susceptible. En lo que se refiere a las oxidasas ninguna de las líneas en estudio superó la actividad enzimática de la línea susceptible.

**Tabla 7.** Comparación de medias de la actividad enzimática de  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas y glutatión S-transferasas en líneas de *Plutella xylostella* resistentes a insecticidas.

Línea	$\alpha$ -Esterasas ( $\mu\text{moles min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ) Media $\pm$ SD <sup>1</sup>	$\beta$ -Esterasas ( $\mu\text{moles min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ) Media $\pm$ SD <sup>1</sup>	Glutatión S-Transferasas ( $\mu\text{moles min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ) Media $\pm$ SD <sup>1</sup>	Oxidadas ( $\mu\text{moles min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ) Media $\pm$ SD <sup>1</sup>
LS <sup>2</sup>	0.2356 $\pm$ 0.0223 a	0.2984 $\pm$ 0.0439 a	1.236 $\pm$ 1.222 b	0.046 $\pm$ 0.005 a
Cipermetrina	0.2422 $\pm$ 0.0085 a	0.0447 $\pm$ 0.0262 b	4.200 $\pm$ 3.127 a	0.042 $\pm$ 0.00009 b
Indoxacarb	0.2534 $\pm$ 0.0255 a	0.3556 $\pm$ 0.0886 a	2.622 $\pm$ 2.028 ab	0.041 $\pm$ 0.0005 b
Fipronil	0.2600 $\pm$ 0.0093 a	0.0447 $\pm$ 0.0196 b	4.187 $\pm$ 0.546 a	0.041 $\pm$ 0.0004 b
Abamectina	0.2603 $\pm$ 0.0355 a	0.3072 $\pm$ 0.1168 a	1.359 $\pm$ 1.172 ab	0.041 $\pm$ 0.0004 b

Medias seguidas de la misma letra dentro de cada columna no presentan diferencia significativa (Tukey,  $\alpha < 0.05$ ); <sup>1</sup>Desviación estándar; <sup>2</sup>Línea susceptible.

## Discusión

*P. xylostella* presenta una gran capacidad para desarrollar resistencia a los insecticidas usados para su control (Meghana *et al.* 2018). En este estudio se confirma dicha capacidad al realizar presión de selección de resistencia a diferentes insecticidas al presentar proporciones de resistencia de 33.39, 86.43, 32.86 y 186 veces para abamectina, cipermetrina, fipronil e indoxacarb respectivamente, en comparación a línea susceptible. Estos resultados difieren a los reportados por Zhou *et al.*, (2010) quienes presentaron un factor de resistencia de 5.8 veces bajo una presión de selección por abamectina en 11 generaciones de *P. xylostella*. Por su parte Wang *et al.* (2015), obtuvieron una proporción de resistencia de 2.200 veces al realizar una selección de resistencia a fipronil durante 25 generaciones de *P. xylostella*. Zhang *et al.* (2016) detectaron un factor de resistencia superior a 69.76 veces para cipermetrina en poblaciones de campo. Por lo otro lado Marak *et al.* (2017) en un estudio realizado con indoxacarb reportan un factor de resistencia de 238.41 veces bajo una selección de resistencia de 14 generaciones de *P. xylostella*.

*P. xylostella* ha desarrollado diversos mecanismos de resistencia a los insecticidas que ayudan a desintoxicar o reducir su sensibilidad (Furlong *et al.*, 2013; Gou *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015; Heckel *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2014). La sobre duplicación de genes de la carboxilesterasa, el aumento de la transcripción del citocromo P450 monooxigenasa y glutatión S-transferasas (Heckel *et al.*, 2012) y las mutaciones puntuales en el sitio de acción minimizan la acción de los insecticida (Gou *et al.*, 2014). Sin embargo, en muchos casos la sobre expresión del enzimas desintoxicantes es el



principal mecanismo de resistencia a los insecticidas (Heckel *et al.*, 2012). Nehare *et al.* (2010) reportan que glutatión S-transferasas y las esterasas están involucradas en la resistencia al indoxacarb. Por su parte, Zhang *et al.* (2017) mencionan que *P. xylostella* puede desarrollar resistencia al indoxacarb y que la desintoxicación está dada por glutatión S-transferasas y oxidasas. Lo cual concuerda con los resultados de esta investigación donde se reporta que la resistencia a indoxacarb presenta altos niveles de oxidasas y esterasas. Soleymanzade *et al.* (2018) observaron que los altos niveles de esterasas y oxidasas están relacionados a la resistencia a deltametrina en *P. xylostella*. Similar a lo demostrado en este estudio donde la resistencia a cipermetrina presenta una sobreexpresión de esterasas y glutatión S-transferasas. Sin embargo Gong *et al.* (2013) mencionan que no existe una relación entre la actividad de glutatión S-transferasas y la resistencia a la beta cipermetrina. Furlong *et al.*, 2013 reporta que la sobreexpresión de esterasas está estrechamente relacionada a la resistencia a abamectina en *P. xylostella*, lo que concuerda con lo reportado en esta investigación donde se presenta un incremento en la actividad de esterasas a causa de la resistencia a abamectina. Sin embargo previamente se ha documentado que una línea de *P. xylostella* resistente a la abamectina había aumentado la actividad de las oxidasas (Qian *et al.*, 2008). El incremento de la actividad enzimática de esterasas, glutatión S-transferasas y oxidasas está relacionada con la disminución de la sensibilidad al fipronil, según lo reportado por Xie *et al.* (2011); resultados similares a los reportados por Ren *et al.* (2015) quienes mencionan que las esterasas juegan un papel importante en la desintoxicación del fipronil.

### **Conclusiones**

*P. xylostella* presenta una gran capacidad para desarrollar resistencia a indoxacarb, cipermetrina, abamectina y fipronil en pocas generaciones, ya que la sobreexpresión de enzimas esterasas se relaciona con la resistencia a abamectina, así como las esterasas y glutatión S-transferasas están involucradas con la resistencia a cipermetrina, mientras que las esterasas y oxidasas están implicadas en la resistencia a los insecticidas fipronil e indoxacarb. Por su parte la enzima acetilcolinesterasa no se considera un mecanismo importante de resistencia para los insecticidas estudiados.

### **Literatura citada**

- APRD, (Arthropod Pesticide Resistance Database). 2020. En Línea: <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=571>. Consultado: 25-Junio-2020.
- Bass, C. & Field, L. M. (2011). Gene amplification and insecticide resistance. *Pest management science*, 67(8), 886-890. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.2189>
- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M. S. & Nauen, R. (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 78-87. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.04.004>
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254. Doi: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brogdon, W. G. & Barber A. (1987). Microplate assay of acetylcholinesterase inhibition kinetics in single mosquitoes homogenates. *Pesticides Biochemistry and Physiology*, 29: 252-259. Doi: [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(87\)90155-6](https://doi.org/10.1016/0048-3575(87)90155-6)
- Brogdon, W. G. & Barber, A. M. (1990). Microplate assay of glutathione s-transferase activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 96: 339-342. Doi: [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(90\)90385-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(90)90385-7)
- Brogdon, W. G. & Dickinson, M. C. (1983). A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analytical Biochemistry*, 131: 499-503. Doi: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(83\)90204-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(83)90204-X)
- Brogdon, W. G. (1984). Mosquito protein microassay-1: Protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 79: 457-459. Doi: [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(84\)90405-X](https://doi.org/10.1016/0305-0491(84)90405-X)
- Brogdon, W. G. (1988). Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90: 145-150. Doi: [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(88\)90110-7](https://doi.org/10.1016/0742-8413(88)90110-7)

- Brogdon, W. G., Mcallister, J. C. & Vulule, J. (1997). Hemeperoxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13: 233-237. En línea: [https://www.researchgate.net/profile/Janet\\_Mcallister/publication/13845800\\_Haem\\_peroxidase\\_activity\\_in\\_single\\_mosquitoes\\_identifies\\_individuals\\_expressing\\_an\\_elevated\\_oxidase\\_for\\_insecticide\\_resistance/links/545a5fed0cf25c508c308a38/Haem-peroxidase-activity-in-single-mosquitoes-identifiesindividuals-expressing-an-elevated-oxidase-for-insecticide-resistance.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Janet_Mcallister/publication/13845800_Haem_peroxidase_activity_in_single_mosquitoes_identifies_individuals_expressing_an_elevated_oxidase_for_insecticide_resistance/links/545a5fed0cf25c508c308a38/Haem-peroxidase-activity-in-single-mosquitoes-identifiesindividuals-expressing-an-elevated-oxidase-for-insecticide-resistance.pdf)
- Cerna, Chavez, E., Rodríguez, Rodríguez, J. F., Hernández, Juárez, A., Aguirre, Uribe, L., Landeros, Flores, J., Cervantes, Ortiz, F. & Ochoa, Y. M. (2018). Cuantificación de enzimas asociadas a la resistencia de insecticidas en Diferentes Poblaciones de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutelliidae) del Estado de Guanajuato. *Revista Bio Ciencias*, 5, 10. Doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.05.nesp.e424>
- Furlong, M. J., Wright, D. J. & Dossall, L. M. (2013). Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annual review of entomology*, 58, 517-541. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153605>
- Gong, Y.J., Wang, Z.H., Shi, B.C., Kang, Z.J., Zhu, L., Jin, G.H. & Liu, T.X. (2013). Correlación entre la resistencia a los pesticidas y la actividad enzimática en la polilla del dorso de diamante, *Plutella xylostella*. *Revista de ciencia de insectos*, 13 (1). Doi: <https://doi.org/10.1673/031.013.13501>
- Guo, L., Liang, P., Zhou, X. & Gao, X. (2014). Novel mutations and mutation combinations of ryanodine receptor in a chlorantraniliprole resistant population of *Plutella xylostella* (L.). *Scientific Reports*, 4, 6924. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep06924>
- Heckel, D. G. (2012). Insecticide resistance after silent spring. *Science*, 337(6102), 1612-1614. Doi: 10.1126 / science.1226994
- Hu, Z. D., Xia, F. E. N. G., Lin, Q. S., Chen, H. Y., Li, Z. Y., Fei, Y. I. N. & Gao, X. W. (2014). Biochemical mechanism of chlorantraniliprole resistance in the

- diamondback moth, *Plutella xylostella* Linnaeus. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(11), 2452-2459. Doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60748-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60748-6)
- Jiang, T., Wu, S., Yang, T., Zhu, C. & Gao, C. (2015). Monitoring field populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for resistance to eight insecticides in China. *Florida Entomologist*, 65-73. [www.jstor.org/stable/24364175](http://www.jstor.org/stable/24364175). Accessed 7 Dec. 2020
- Kranthi, K. R. (2005). Insecticide resistance-monitoring, mechanisms and management manual. Central Institute for Cotton Research, PB, 2, 49-87.
- Li, Z., Feng, X., Liu, S. S., You, M. & Furlong, M. J. (2016). Biology, ecology, and management of the diamondback moth in China. *Annual review of entomology*, 61, 277-296. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023622>
- Marak, R. M., Firake, D. M., Sontakke, P. P. & Behere, G. T. (2017). Mode of inheritance of Indoxacarb resistance in diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and cross resistance to different groups of pesticides. *Phytoparasitica*, 45(4), 549-558. <https://doi.org/10.1007/s12600-017-0618-6>
- Meghana, C., Jayappa, J., Reddy, N. A., Devappa, V., Sridar, V & Kattagoudar, Jyothi. 2018. Assessing susceptibility of diamond back moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) population of different geolographic region to selected newer insecticides. *Journal of Entomological and Zoological Studies*. 6(1): 320-327.
- Nehare, S., Moharil, M. P., Ghodki, B. S., Lande, G. K., Bisane, K. D., Thakare, A. S. & Barkhade, U. P. (2010). Biochemical analysis and synergistic suppression of indoxacarb resistance in *Plutella xylostella* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(2), 91-95. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2009.12.002>
- Qian, L., Cao, G., Song, J., Yin, Q. & Han, Z. (2008). Mecanismos bioquímicos que confieren resistencia cruzada entre tebufenozida y abamectina en *Plutella xylostella*. *Bioquímica y fisiología de plaguicidas*, 91 (3), 175-179. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.03.011>

- Ramya, S. L., Venkatesan, T., Murthy, K. S., Jalali, S. K. & Abraham, V. (2016b). Field-evolved insecticide resistance and biochemical validation of enzyme activities in diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Indian J Plant Protec*, 44, 9-15.
- Ramya, S. L., Venkatesan, T., Srinivasa Murthy, K., Jalali, S. K. & Verghese, A. (2016a). Detection of carboxylesterase and esterase activity in culturable gut bacterial flora isolated from diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), from India and its possible role in indoxacarb degradation. *Brazilian journal of microbiology*, 47(2), 327-336. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.012>
- Ren, N., Xie, M., You, Y., Li, J., Chen, W., Cheng, X. & You, M. (2015). Fipronil-resistance mediated by carboxylesterases in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Acta Entomologica Sinica*, 58(3), 288-296. [http://www.insect.org.cn/EN/volumn/cu ...](http://www.insect.org.cn/EN/volumn/cu...)
- Soleymanzade, A., Valizadegan, O. & Askari Saryazdi, G. (2018). Deltamethrin resistance in some diamondback moth, *Plutella xylostella* populations in Iran. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 7(1), 12-20. Doi: <http://gebsj.ir/article-1-253-en.html>
- Soleymanzade, A., Valizadegan, O. & Askari Saryazdi, G. (2018). Deltamethrin resistance in some diamondback moth, *Plutella xylostella* populations in Iran. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 7(1), 12-20. <http://gebsj.ir/article-1-253-en.html>
- Troczka, B. J., Williamson, M. S., Field, L. M. & Davies, T. E. (2017). Rapid selection for resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* via specific amino acid polymorphisms in the ryanodine receptor. *Neurotoxicology*, 60, 224-233. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.05.012>
- Xie, M., & You, M. S. (2011). Effects of fipronil on detoxifying enzyme activities in *Plutella xylostella*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(6), 1728-1733. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTTotal-KCZS201106029.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTTotal-KCZS201106029.htm)
- Wang, X., Wu, S., Gao, W. & Wu, Y. (2015) Herencia dominante de la resistencia desarrollada en el campo al fipronil en *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Diario de Entomología Económica*, 109 (1), 334-338. Doi: <https://doi.org/10.1093/jee/tov317>

- Zalucki, M. P., Shabbir, A., Silva, R., Adamson, D., Shu-Sheng, L. & Furlong, M. J. (2012). Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string. *Journal of economic entomology*, 105(4), 1115-1129. Doi: <https://doi.org/10.1603/EC12107>
- Zhang, S., Zhang, X., Shen, J., Li, D., Wan, H., You, H. & Li, J. (2017). Cross-resistance and biochemical mechanisms of resistance to indoxacarb in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 85-89. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.06.011>
- Zhang, S., Zhang, X., Shen, J., Mao, K., You, H. & Li, J. (2016). Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. *Pesticide biochemistry and physiology*, 132, 38-46. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.01.007>
- Zhou, X. M.; Wu, Q. J.; Zhang, Y. J.; Bai, L. Y. & Huang, X. Y. (2010). Effects of abamectin selection on the genetic differentiation within *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) based on amplified fragment length polymorphism. *Insect science*, 17(4), 353-360. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.01307>.

## QUINTO ARTICULO

**Variabilidad genética de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) asociada a la resistencia a insecticidas**

)

## Variabilidad genética de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) asociada a la resistencia a insecticidas

José Francisco Rodríguez-Rodríguez<sup>1</sup>, Ernesto Cerna-Chávez<sup>2\*</sup>, Yisa María Ochoa-Fuentes<sup>2</sup>, Mariana Beltrán-Beache<sup>3</sup>, Jerónimo Landeros-Flores<sup>2</sup>, Luis Patricio Guevara-Acevedo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. <francisco\_azul@live.com.mx>

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C.P. 25315. <jabaly1@yahoo.com>; <yisa8a@yahoo.com>; <jlanflo@hotmail.com>

<sup>3</sup>Culta S.A. de C.V. Blvd. Luis Echeverría Álvarez No. 1700, Col. Altavista, CD. Mante, Tamaulipas, México, C.P. 89880. <beltranmariana89@gmail.com>

<sup>4</sup>Instituto Tecnológico de Roque, Km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya; Guanajuato, México, Apartado Postal 508, C.P. 38110. <lpguevara@itroque.edu.mx>

\*Autor corresponsal: <jabaly1@yahoo.com>

### Resumen

*Plutella xylostella* es la principal plaga que ataca a los cultivos de crucíferas en todo el mundo provocando grandes pérdidas económicas debido a los altos costos de control. El principal método de control de esta plaga es el uso de insecticidas químicos. Sin embargo, el uso descontrolado de estas moléculas químicas ha provocado el desarrollo de resistencia a insecticidas en *P. xylostella*. Uno de los principales tipos de resistencia presente en los insectos es la resistencia genética a los insecticidas considerada como cambio microevolutivo, en el cual aumenta la frecuencia de los alelos resistentes, terminando en una condición homocigótica. Los cambios genéticos son difíciles de detectar por los métodos convencionales. Sin embargo, el uso de la biotecnología nos permite determinar la variación genética y la estructura de poblaciones de insectos. Se determinó la variabilidad genética en cuatro poblaciones resistentes a insecticidas de *P. xylostella* mediante el uso de marcadores moleculares tipo microsatélite. Los resultados



muestran porcentajes de similitud del 44 al 87 % en las líneas en estudios, siendo las líneas resistentes a fipronil e indoxacarb las que presentan mayor similitud, mientras las líneas resistentes a cipermetrina y abamectina muestran la menor similitud, lo que significa que la resistencia juega un papel importante en la variabilidad genética de *P. xylostella*.

**Palabras clave:** Microsatélites, cipermetrina, abamectina, indoxacarb, fipronil

### **Abstract**

*Plutella xylostella* is the main pest that attacks cruciferous crops around the world causing great economic losses due to high control costs. The main method of controlling this pest is the use of chemical insecticides. However, the uncontrolled use of these chemical molecules has led to the development of resistance to insecticides in *P. xylostella*. One of the main types of resistance present in insects is genetic resistance to insecticides, considered as a microevolutionary change, in which the frequency of resistant alleles increases, ending in a homozygous condition. Genetic changes are difficult to detect by conventional methods. However, the use of biotechnology allows us to determine the genetic variation and structure of insect populations. Genetic variability in four insecticide resistant populations of *P. xylostella* was determined by using microsatellite type molecular markers. The results show percentages of similarity from 44 to 87% in the lines in studies, being the lines resistant to fipronil and indoxacarb the ones that present the greatest similarity, while the lines resistant to cypermethrin and abamectin show the least similarity, which means that the resistance plays an important role in the genetic variability of *P. xylostella*.

**Key words:** Microsatellites, cypermethrin, abamectin, indoxacarb, fipronil

### **Introducción**

*Plutella xylostella* L. tiene un genoma de aproximadamente 343 Mpb, con alrededor de 18,071 genes codificadores de proteínas y 781 ARN no codificantes; 1,412 genes son únicos, la mayoría están involucrados en vías biológicas del procesamiento de la información ambiental, la replicación o reparación de cromosomas, la regulación transcripcional y el metabolismo de las proteínas, se considera un insecto altamente

heterocigoto con 31 cromosomas y abundantes variaciones de ADN, como SNP (Polimorfismo de nucleótido único), InDels (Contracción de inserción o delección) y variación estructural y repeticiones de fragmentos compuestos (You *et al.*, 2013). Debido a que cuenta una compleja red de genes expresados en su etapa larval relacionados a la quimiorrecepción de los olores, la digestión de los alimentos y la desintoxicación metabólica (Lee, 2013). La resistencia genética a los insecticidas es un cambio microevolutivo, en el cual aumenta la frecuencia de los alelos resistentes, y muchos de estos alelos terminan en una condición homocigótica (Hartley *et al.*, 2006). Los cambios genéticos son difíciles de detectar por los métodos convencionales como los bioensayos; el uso de la biotecnología nos permite desarrollar programas de control basados en el estudio de la variación genética y la estructura de poblaciones de insectos (Li *et al.*, 2006; Xie, 2013). Folmer *et al.* (1994) mencionan que los marcadores moleculares son herramientas que permiten determinar la variabilidad genética en diferentes niveles de insecticidas ha permitido desarrollar marcadores moleculares que pueden proporcionar indicadores sensibles al desarrollo de resistencia bajo el aumento de la presión de selección de insecticidas (Zhou *et al.*, 2010). Una alternativa es el uso de microsatelites que son repeticiones en tándem de patrones muy cortos de 1–6 pb que no se repiten muchas veces en un locus, pero se distribuyen de manera relativamente uniforme en diferentes loci, capaces de medir la diversidad genética, mostrando muy altos niveles de polimorfismo y muchos alelos por locus, además su carácter codominante revela el genotipo completo de los individuos, sin encubrimientos a causa de características dominantes, son fáciles de medir y analizar, además tienen una confiabilidad del 100% (Goldstein y Scholötterer, 1999; Frankham *et al.*, 2002). Actualmente se han realizado una gran cantidad de investigaciones para la identificación de genes de resistencia a insecticidas, pero existen pocos estudios sobre la diversidad genética en *P. xylostella* asociada a la resistencia a insecticidas; Zhou *et al.*, 2010 reportan una alta heterocigosidad en una cepa resistente a la abamectina, la cual disminuyó con el aumento de la presión de selección y el nivel de resistencia. Por su parte Patel *et al.* (2014) presentan un alto polimorfismo en una cepa resistente a Clorantropilprol; Sunitha *et al.* (2015) menciona una variabilidad genética entre las poblaciones de *P. xylostella* tratadas con acefato, spinosad y Cry2Ab, del 33 al 69%,

del 27 al 56% y del 34 al 69%, respectivamente. Sin embargo se ha reportado una alta variabilidad dentro de poblaciones (Endersby *et al.*, 2006) y entre poblaciones (Ke *et al.*, 2015; Murthy *et al.*, 2014) de *P. xylostella* asociados a su ecología conductual. Por su parte Ojha *et al.* (2016) reporta una alta variabilidad genética en distintas poblaciones de campo de *P. xylostella* la cual se puede relacionar por la presión de selección local en el uso de insecticidas, la variación de la cepa del huésped y las prácticas culturales. Por esta razón, los estudios sobre variabilidad genética, estructura poblacional y flujo de genes entre poblaciones de plagas puede proveer información importante para diseñar estrategias para un efectivo Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Endersby *et al.*, 2006). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue estudiar la variabilidad genética de poblaciones de *P. xylostella* resistentes a insecticidas, utilizando marcadores moleculares tipo microsatelites (SSR).

### **Materiales y métodos**

**Insectos.** Las larvas de tercer estadio de *P. xylostella* resistentes a cipermetrina, indoxacarb, fipronil y abamectina fueron proporcionadas por el Laboratorio de Fitosanidad del Instituto Tecnológico de Roque, en Celaya, Gto. México, los cuales se habian mantenido bajo presión de selección durante 10 generaciones. Como línea susceptible se usaron individuos proporcionados por el Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP) campus Bajío, sin presión de selección desde 1996. Las larvas fueron mantenidos en condiciones controladas de  $25\pm 2$  °C,  $70\pm 10$  % de HR y un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad en cajas entomológicas de 60 x 40 x 40 cm y alimentadas con plantas de brocolí (*Brassica oleracea*) de 50 días de edad..

**Bioensayos.** Para determinar el nivel de resistencia de las líneas resistentes a los insecticidas antes mencionados, se realizaron bioensayos de inmersión de hoja (IRAC, 2020). Se evaluaron seis concentraciones para cada insecticida y un testigo blanco, el cual consistió de agua más adherente ( $1 \text{ mL L}^{-1}$ ), con 4 repeticiones por concentración. Se sumergieron discos de hoja de *B. oleracea* de 6 cm de diámetro en las soluciones en estudio durante 10 s, se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1 h y después se colocaron en placas petri de 86 mm de diámetro provistas de papel absorbente humedecido con agua para mantener la turgencia de la hoja a lo largo del experimento;

se transfirieron diez larvas de tercer estadio de *P. xylostella* de un día de edad en cada disco de hoja y se mantuvieron en condiciones controladas de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de HR y un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad. Se tomo registro de la mortalidad a las 24 h posteriores al inicio de experimento, con ayuda de un pincel de pelo de camello 000 a las larvas se les realizo un estimulo en parte dorsal y toda aquella que no respondía a este estimulo se consideró como muerta.

**Extracción de ADN.** La extracción de ADN de las larvas resistentes a cada insecticidad y de la línea susceptible se realizó mediante el método de Doyle y Doyle (1990). Se tomaron larvas de tercer estadio de cada línea resistente y susceptible y colocaron en tubos de eppendorf con 500  $\mu\text{L}$  de Buffer de Lisis, se maceraron con una varilla esmerilada hasta asegurar el rompimiento de los tejidos, se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1) y se mezcló durante un 1 min en vortex y posteriormente se centrifugo a 12,000 rpm durante 15 min; se recuperó el sobrenadante y se le adiciono isopropanol (mismo volumen) y se mezcló con inversiones suaves, se refrigeró a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 30 min, transcurrido el tiempo se centrifugo a 12,000 rpm por 15 min para obtener la pastilla de ADN, se eliminó la fase liquida y se realizó un lavado de pastilla con alcohol al 70% volviendo a centrifugar a 12,000 rpm por 3 min, se desechó el alcohol y se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente durante 2 h, posterior a esto la pastilla se resuspendio en 50  $\mu\text{L}$  de agua miliq previamente esterilizada. El producto de la extracción se visualizó en un gel de agarosa al 1% utilizando red gel como colorante tinción, mediante electroforesis vertical a 60 V durante 30 min.

**PCR-SSR.** La variación genética en las diferentes líneas resistentes a insecticidas se realizó mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) utilizando microsatelites (SSR) como marcadores moleculares (Cuadro 1). En un tubo de PCR se agregaron 7  $\mu\text{L}$  de Taq Polimerasa más 0.5  $\mu\text{L}$  de cada iniciador ( $5' - 3'$  y  $3' - 5'$ ), 1  $\mu\text{L}$  de ADN y se agregaron 6  $\mu\text{L}$  de agua miliq previamente esterilizada para ajustar a un volumen final de 15  $\mu\text{L}$ . Las condiciones de temperatura para la PCR fueron: un ciclo de desnaturalización inicial a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 10 min, luego 36 ciclos de desnaturalización a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 30 s, 36 ciclos de alineamiento a  $56^{\circ}\text{C}$  durante 45 s, 36 ciclos de extensión a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 45 s, y una extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 10 min, esto

para los iniciadores A-DBM-133, A-DBM-142, B-DBM-23, B-DBM-25 y B-DBM-30, mientras que para B-DBM-1, B-DBM-34 y B-DBM-64 las condiciones de temperatura fueron las siguientes: un ciclo de desnaturalización inicial a 94 ° C durante 10 min, y luego 36 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 30 s, 36 ciclos de alineamiento a 53 ° C durante 45 s, 36 ciclos de extensión a 72 ° C durante 45 s, y una extensión final a 72 ° C durante 10 min. Los productos amplificados en la PCR se observaron en un gel de agarosa al 2.5% mediante electroforesis vertical a 100 V durante 1 h, utilizando red gel como colorante de tinción y un marcador molecular de 50 pb.

**Cuadro1.** Marcadores moleculares tipo micrasatelite (SSR) para *Plutella xylostella*.

Primer-SSR	Secuencia (5'-3')	Pb <sup>1</sup>
A-DBM-133	F: TTT AGT GAC GAG ATG AGC GG R: AGG AAT GAT GGC AGA AAT GG	135-177
A-DBM-142	F: GTG CGT CAA ATG TCT TGG TG R: CCT ATT TGT TGC GGT CCT GT	150-174
B-DBM-1	F: CAA CAA ACA CAA CGG CAA TC R: CTG GTA TGT TCT CTG ACG CA	221-290
B-DBM-23	F: TGG CTC CAC TCC ACA ACA TA R: CCG TGT CGA TGG TTT TGT CT	219-234
B-DBM-25	F: TAC ACC ACC CAA CAT GCA CC R: TGC TTG TCT TGG ATA CTG CG	104-167
B-DBM-30	F: TGC TTA TAG CCT CGT AGC CG R: TGA ACA TCT AGC GGG AGG AC	138-177
B-DBM-34	F: CCT CAT TTG TCC CAT CAT CC R: CCG AAT GGA CGA AAA CTG AT	131-182
B-DMB-64	F: TCG CCA CGA TAT GTT CGA TA R: AGT TGC ATT TAC AAG CTC CG	153-171

<sup>1</sup>Pares de bases en donde se observa el primer.

**Análisis de datos.** Con los datos de los bioensayos se corrigió la mortalidad (Abbott, 1925) y se realizó un análisis probit (Finney, 1971) para obtener la curva de respuesta concentración-mortalidad, con el programa estadístico SAS System for Windows ver 9.0 (SAS, 2002). La determinación del factor de resistencia se dividió la CL<sub>50</sub> de cada línea resistente entre la CL<sub>50</sub> de la línea susceptible (Shen *et al.*, 1991). Con las bandas

visualizadas en los geles de las reacciones de PCR-SSR realizó un análisis de conglomerados con el software NTSYS-pc versión 2.10 (Rohlf, 2000) y se construyó un dendrograma usando el método de grupos de pares no ponderados con una media aritmética (UPGMA) basada en matrices de similitud calculadas usando el coeficiente de emparejamiento simple (Nei y Li, 1979).

### Resultados y discusión

En el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos en los bioensayos realizados en la línea susceptible para los insecticidas abamectina, cipermetrina, fipronil e indoxacarb con CL<sub>50</sub> de 1.31, 90.36, 0.092 y 11.28 respectivamente.

**Cuadro 1.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de diferentes insecticidas de una línea susceptible de *Plutella xylostella*.

Insecticida	CL <sub>50</sub> (ppm)	LFI-LFS*	CL <sub>20</sub> (ppm)	Ecu. Predicción
<b>Abamectina</b>	1.31	0.706 - 2.215	0.21	y= -0.126 + 1.065
<b>Cipermetrina</b>	90.36	60.60 - 138.26	28.84	y = -3.310 + 1.690
<b>Fipronil</b>	0.092	0.030 - 0.211	0.028	y= 0.133 + 0.101
<b>Indoxacarb</b>	11.28	4.878 - 24.805	0.77	y= 0.017 - 0.008

\*LFI: Limite fiducial inferior; LFS: Limite fiducial superior.

La línea resistente a indoxacarb muestra el factor de resistencia mas alto de las líneas en estudio con 186.06 en comparación a la línea susceptible, seguido de la línea resistente a cipermetrina con una proporción de resistencia de 86.43. Por su parte las líneas resistentes a fipronil y abamectina muestran un factor de resistencia de 32.86 y 33.39 en comparación a la línea susceptible (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de líneas resistentes de *Plutella xylostella* a diferentes insecticidas.

Insecticida	CL <sub>50</sub> (ppm)	LFI-LFS*	CL <sub>20</sub> (ppm)	Ecu. Predicción	P.R**
Abamectina	43.757	41.361- 46.228	28.43	y= -7.378 + 4.495	33.39
Cipermetrina	7,810	7,256 - 8,366	4,583	y= -14.150 + 3.630	86.43
Fipronil	3.024	0.903 - 8.767	0.865	y= -0.744 + 1.548	32.86
Indoxacarb	2,099	1,648 - 2,902	1,265	y= 8.099 - 2.453	186.06

\*LFI: Limite fiducial inferior; LFS: Limite fiducial superior; \*\*P.R= Proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.

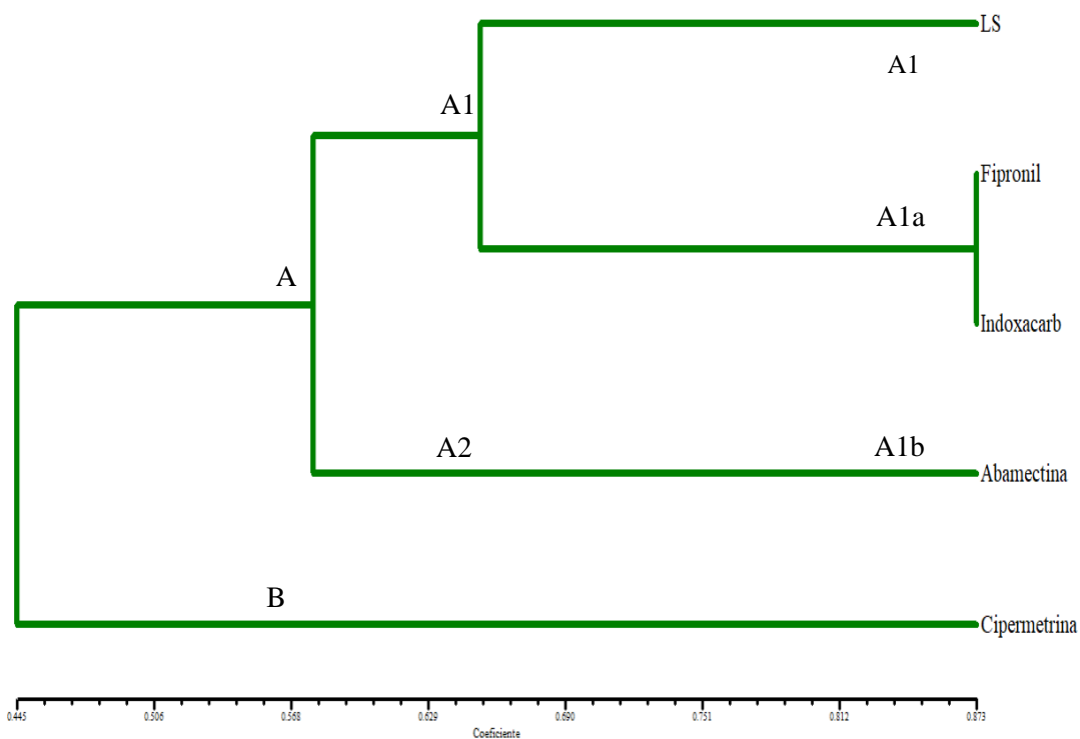
Las líneas resistentes de indoxacarb y fipronil presentaron el porcentaje de similitud mas alto 87 %, mientras que el valor mas bajo de similitud se muestra para las líneas resistentes a cipermetrina y abamectina con un valor de 34 % (Cuadro 3) El dendrograma (Figura 1) basado en la matriz de similitud a partir del análisis de UPGMA separó las líneas en estudio en dos grupos (A y B) con un coeficiente de distancia genetica común de 0.44. El grupo A esta constituido por línea susceptible y las líneas resistentea a fipronil indoxacarb y abamectina con un nivel de similitud de 56% y dividido en dos subgrupos con una similitud de 67 %, mientras que en el grupo B se encuentra la línea resistente a cipermetrina. Ojha et al. (2016) realizó una análisis filogenetico en diferentes poblaciones de *P. xylostella* y demostro que todas las poblaciones estan altamente interrelacionadas entre si al comprar sus resultados con secuencias de nucleotidos de otros paises obtenidas del GenBank. Sin embargo, estudios previos han demostrado que se cree que la presión de selección de plaguicidas es un factor importante en la diversidad genética en poblaciones de insectos (Wei *et al.*, 2013). Sunitha *et al.* (2015) obtuvieron valores maximos de similitud entre generaciones de 68, 56 y 69 % para líneas de campo de *P. xylostella* tratadas con acephato, spinosad y la cepa Cry2Ab, respectivamente. Caso contrario a lo encontrado por Murthy et al. (2014) quienes reportan una similitud maxima de 43 % y una minima del 24% entre poblaciones de campo de *P. xylostella*. Por su parte Zhou *et al.*, (2010) mencionan que la selección de resistencia a la abamectina esta relacionada con un alto polimosfismo genético en *P. xylostella*. Perez *et al.* (2016) reportan una alta variabilidad genetica e *Spodoptera frugiperda* asociada al uso excesivo de insecticidas quimicos. Sharma *et al.*

(2008) estudiaron la resistencia al imidacloprid en mosca blanca del algodón y obtuvieron que la aplicación de imidacloprid genera alteraciones genéticas en la supervivencia de la mosca blanca. Resultados similares obtuvieron Zhang *et al.* (2004) quienes encontraron variación genética significativa entre una línea susceptible y una resistente a thiametoxam de *Bemisia tabaci*. Por lo que una alta variabilidad genética en los insectos propicia una rápida evolución y adaptación a diversas condiciones climáticas y plantas hospedantes, lo que resulta en un rápido desarrollo de resistencia a insecticidas de los insectos a los insecticidas Sunitha *et al.* (2015).

**Cuadro 3.** Cluster de distancias genéticas de cuatro líneas resistentes a insecticidas de *Plutella xylostella*

	LS <sup>1</sup>	Abamectina	Fipronil	Cipermetrina	Indoxacarb
LS <sup>1</sup>	1.000				
Abamectina	0.439	1.000			
Fipronil	0.700	0.677	1.000		
Cipermetrina	0.500	<b>0.342</b>	0.555	1.000	
Indoxacarb	0.603	0.615	<b>0.873</b>	0.382	1.000





**Figura 1.** Dendrograma del análisis Cluster de cuatro líneas resistentes a insecticidas de *Plutella xylostella*.

### Conclusiones

La presión de selección de insecticidas muestra un efecto en la variabilidad genética entre líneas resistentes al generar dos grupos distintos con un coeficiente de similitud en común de un 44 % y dos subgrupos con un coeficiente de similitud mayor al 56 %. Todas líneas resistentes varían respecto a la línea susceptible con coeficiente de similitud que van del 43 al 70%, siendo la línea resistente abamectina la que presenta el coeficiente de similitud más bajo. Las líneas resistentes a fipronil e indoxacarb son las que presentan mayor porcentaje de similitud entre sí con un valor de 87 %. Mientras que las líneas resistentes a cipermetrina y abamectina muestran la similitud más baja con un 32 %.

### Literatura citada

- Abbott, W. S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, Cap 18, pp. 265–267. Disponible en línea: [https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES\\_ARBRES/Dattier-du-desert\\_Balanites%20C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Arbres-Fruitiers/FICHES_ARBRES/Dattier-du-desert_Balanites%20C3%A6gyptiaca/Molluscicidal%20activity%20of%20Balanites%20aegyptiaca.pdf)
- Doyle, J. J., J. L. Doyle. (1990).** Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Endersby, N. M., McKechnie, S. W., Ridland, P. M., & Weeks, A. R. (2006).** Microsatellites reveal a lack of structure in Australian populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Molecular Ecology*, 15(1), 107-118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02789.x>
- Finney, D. J. (1971).** Probit Analysis. Cambridge at the University Press. 3rd Ed, 120 pp.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., and Vrijenhoek R. (1994).** DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299.
- Frankham, R., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002).** Introduction to conservation genetics. Cambridge university press.
- Goldstein, D. B., & Schlötterer, C. (1999).** Microsatellites: evolution and applications. New York: Oxford. p, 6.
- Hartley, C. J., Newcomb, R. D., Russell, R. J., Yong, C. G., Stevens, J. R., Yeates, D. K., & Oakeshott, J. G. (2006).** Amplification of DNA from preserved specimens shows blowflies were preadapted for the rapid evolution of insecticide resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23), 8757-8762. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509590103>
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). (2019).** En línea: <https://www.ircac.online.org/methods/plutella-xylostella-larvae/> Consultado: 8 de Marzo del 2019.

- Ke, F., You, S., He, W., Liu, T., Vasseur, L., Douglas, C. J., & You, M. (2015).** Genetic differentiation of the regional *Plutella xylostella* populations across the Taiwan Strait based on identification of microsatellite markers. *Ecology and evolution*, 5(24), 5880-5891. <https://doi.org/10.1002/ece3.1850>
- Lee, J. W. (2013).** A Mini-Review: Molecular Profiles of Diamondback Moth (*Plutella xylostella*). *Molecular Entomology*, 4.
- Li J., Zhao F., Choi Y.S., Kim I., Sohn H.D. and Jin B.R., (2006).** Genetic variation in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in China inferred from mitochondrial COI gene sequence, *European Journal of Entomology*, 103(3): 605–611 <http://dx.doi.org/10.14411/eje.2006.081>.
- Murthy, M. S., Sannaveerappanavar, V. T., & Shankarappa, K. S. (2014).** Genetic diversity of diamondback moth, *Plutella xylostella* L.(Yponomeutidae: Lepidoptera) populations in India using RAPD markers. *Journal of Entomology*, 11(2), 95-101. 10.3923 / je.2014.95.101
- Nei, M., & Li, W. H. (1979).** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10), 5269-5273. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>
- Ojha, R., Jalali, S. K., Poorani, J., & Murthy, K. S. (2016).** Genetic variation among different Indian populations of cabbage diamondback moth (*Plutella xylostella*; Lepidoptera: Plutellidae) based on mitochondrial DNA. *Molecular Entomology*, 7. 10.5376 / me.2015.06.0006
- Patel, N. N., Patel, K. N., & Sagane, V. (2014).** Molecular Characterization of Rynaxypr Resistant *Plutella xylostella* (L.). *Genetics and Plant Breeding*, 9(2), 777-782.  
<https://pdfs.semanticscholar.org/de9a/7eef920807ef49d224ce1a51a7ca69ee1c94.pdf>
- Perez-Zubiri, J. R., Cerna-Chavez, E., Aguirre-Urbe, L. A., Landeros-Flores, J., Harris, M. K., & Rodriguez-Herrera, R. (2016).** Population variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize (Poales: Poaceae) associated with the use of chemical insecticides. *Florida Entomologist*, 329-331.

- Rohlf, F. J. (2000).** NTSYS-PC version 2.10 s. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Publications, Setauket, New York. NTSYS-PC version 2.10 s. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Publications, Setauket, New York.
- SAS Institute Inc. (2002).** Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- Sharma, S., Dilawari, V. K., & Gupta, V. K. (2002).** RAPDPCR analysis to monitor imidacloprid resistance in cotton whitefly. Resistant Pest Management Newsletter, 13(1).
- Shen, J.L. Tan, J.G. Xiao, B. Tan, F.J. You, Z.P. (1991).** Monitoring and forecasting of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to pyrethroid pesticides in China. Chinese J. Appl. Entomol., 28, pp. 337-341. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.03.011>
- Sunitha, V., Singh, T. V. K., Babu, V. R., & Satyanarayana, J. (2015).** Genetic diversity assessment using RAPD primers in insecticide resistant populations of diamondback moth *Plutella xylostella* (Linn.). Journal of Applied and Natural Science, 7(1), 219-225. 10.31018 / jans.v7i1.593
- Wei, S. J., Shi, B. C., Gong, Y. J., Jin, G. H., Chen, X. X., & Meng, X. F. (2013).** Genetic structure and demographic history reveal migration of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from the southern to northern regions of China. PloS one, 8(4), e59654. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059654>
- Xie S. (2013).** The Genome of Diamondback Moth Sequenced, a Model Pest in Lepidoptera, Jiyinzuxue Yu Shengwu Jishu (online), 2: 1-2 <http://dx.doi.org/10.5376/gb.cn.2013.02.0001>
- You, M., Yue, Z., He, W., Yang, X., Yang, G., Xie, M., & Douglas, C. J. (2013).** A heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification. Nature genetics, 45(2), 220. <https://doi.org/10.1038/ng.2524>
- Zhou, X. M., Wu, Q. J., Zhang, Y. J., Bai, L. Y., & Huang, X. Y. (2010).** Effects of abamectin selection on the genetic differentiation within *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) based on amplified fragment length polymorphism.

Insect Science, 17(4), 353-360. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.01307.x>

## CONCLUSIONES GENERALES

*P. xylostella* presenta una gran habilidad para desarrollar resistencia al insecticida indoxacarb, mientras que para el resto de los insecticidas el desarrollo de resistencia es mas lento.

La aplicación de concentraciones subletales ( $CL_{20}$ ) de los distintos insecticidas presenta efectos importantes en la biología de *P. xylostella* al alargar el tiempo de desarrollo, disminuir el porcentaje de pupación y emergencia de adultos y un aumento en la fecundidad, excepto para indoxacarb que disminuyo la fecundidad.

Las enzimas  $\alpha$ - $\beta$  esterasas se presentaron en mayor contenido en todos los insecticidas en estudio, mientras que GST se presento en cipermetrina e indoxacarb, por su parte oxidasas mostró su mayor contenido para fipronil.  $\beta$  esterasas mostro una mayor actividad para indoxacarb y abamectina, mientras GST presento una cinetica mayor en cipermetrina y fipronil, por su parte AChE muestra un aumento en la actividad enzimática para abamectina

La presión de selección de insecticidas mostro un efecto en la variabilidad genética entre líneas resistentes a insecticidas al generar dos grupos distintos uno donde se encuentran la línea susceptible y las líneas resistentes a indoxacarb, fipronil y abamectina, mientras que en el segundo grupo esta la línea resistente a cipermetrina.