

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



**Determinación de Enzimas de Resistencia en Poblaciones de *Bactericera cockerelli* (Sulc)
(HEMIPTERA: TRIOZIDAE) Procedentes de la Zona Papera de
Coahuila y Nuevo León**

POR:

OMEGAR HERNÁNDEZ BAUTISTA

T E S I S

Presentada como requisito para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

**Determinación de Enzimas de Resistencia en Poblaciones de *Bactericera cockerelli* (Sulc)
(HEMIPTERA: TRIOZIDAE) Procedentes de la Zona Papera de
Coahuila y Nuevo León**

Por:

OMEGAR HERNÁNDEZ BAUTISTA

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:

ASESOR PRINCIPAL



DR. ERNESTO CERNA CHÁVEZ

SINODAL:



DRA. YISA MARÍA OCHOA FUENTES

SINODAL:



DR. JERÓNIMO LANDERÓS FLORES

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



DR. MARIO ERNESTO VÁZQUEZ BADILLO

Saltillo, Coahuila, México
Marzo de 2011



Coordinación
División de Agronomía

RESUMEN

La región papera de Coahuila y Nuevo León es una de las más importantes a nivel nacional por registrar altos rendimientos, donde se presentan problemas fitosanitarios de los cuales sobresale el complejo punta morada, provocado por "*Candidatus Liberibacter Solanacearum*" donde *Bactericera cockerelli* es su principal vector y el insecto más abundante, aunado a esto, el daño directo al alimentarse provoca amarillentos foliares, por lo que se ha incrementado el uso de insecticidas para disminuir las altas densidades de este triozido. El uso irracional, mal manejo y otros factores que dificultan las aplicaciones traen consigo problemas de resistencia, por lo que este trabajo tiene como objetivo: Determinar la actividad enzimática de 20 poblaciones de este insecto provenientes de la región papera del noreste de México. Para esto, se recolectaron veinte poblaciones en diferentes localidades de la región papera de Coahuila y Nuevo León, una vez obtenidas las muestras, en el laboratorio se determinó la cantidad de enzimas mediante el método de Brogdon (1984). Los datos de las pruebas bioquímicas se clasificaron según la comparación de medias, la proporción de resistencia se determinó mediante un umbral obtenido de la media del valor máximo respecto al mínimo y se clasificó según Montella *et al.* (2007). Los resultados obtenidos mostraron la presencia elevada de Esterasas, Oxidasas, Acetilcolinesterasas y Glutacion S-Transferasas. Las medias fueron de, 3.4456, 0.9245, 0.2977, 0.0309 con un 98 %, 70.5 %, 33.5 % y 1.5 % de proporción de resistencia y en base a Montella (2007), los resultados fueron clasificados como: Muy alterado, alterado, moderadamente alterado, inalterado para dichas enzimas respectivamente. También encontramos diferencia en el contenido enzimático según el hospedero.

Palabras clave: pulgón saltador de la papa, Esterasas, Oxidasas, Acetilcolinesterasas, Glutacion S-Transferasas, actividad enzimática, proporción de resistencia.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, porque dentro de toda su creación, me contempló para formar parte de ella.

(Salmos 135:6)

A mi **Alma Mater**, por adoptarme y formarme como profesionista, y permitirme ejercer profesionalmente el oficio mas antiguo del hombre: la Agricultura (*Génesis 2:15*)

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez**, por formar parte de este proyecto, por sus consejos, sugerencias y comprensión como asesor; por su confianza, apoyo, amistad y la dedicación a mi persona.

A la Dra. **Yisa Ochoa Fuentes**, por formar parte del jurado como sinodal, apoyo técnico y por su disponibilidad para la revisión de esta tesis.

Al **Dr. Jerónimo Landeros Flores**, por formar parte del jurado como sinodal y su aportación en la revisión de este proyecto.

Al **Mc. Omar García Ángel** y a la **Ing. Yanira Jiménez Bautista** por su aportación técnica para la realización de este trabajo de investigación.

Al **Dr. Antonio P. Terán Vargas**, por permitirme realizar mi semestre de practicas profesionales en el INIFAP – CEHUAS, y por las facilidades otorgadas para llevarlas acabo.

A todo los profesores del Departamento de Parasitología, quienes mediante sus enseñanzas transmiten: conocimiento, experiencia y juicio, que han aportado en mi formación académica y personal. En especial al **Dr. Abiel Sánchez A.** al **Mc. Antonio Cárdenas E.** y **T.A. Silvia Ovalle Nava.**

DEDICATORIAS

Este trabajo se la dedico a toda aquella persona que tome y lea esta tesis, esperando que le sirva como ayuda para obtener información, apoyo para la toma de decisiones y guía para futuras redacciones, la información aquí contenida, puede serle de mucha utilidad ya que se incluyen aspectos importantes en la rama de la toxicología, dándole prioridad a lo mas relevante en el ámbito parasitológico, este material ha sido elaborado pensando en ti.

También se la dedico a todos mis compañeros de la generación CX quienes conviví durante el transcurso de la carrera. A mis amigos: Chino, Pifas, Cocho, Juanito y Berna, quienes formamos el equipo de Fut-bol “Bichos Raros”, nunca ganábamos pero siempre nos divertíamos, a Mario, Rosy, Yoseni, Almita y Karen. A todos ellos por su amistad compartida con quienes forme una bonita familia en la Antonio Narro; fue un placer conocerles.

Al grupo de jóvenes “Active Life” de la iglesia Bautista de Saltillo, con quienes compartimos momentos de compañerismo, en especial a Víctor A. Ventura, con quien aprendí que enseñar cuesta más que ser enseñado.

A Pepe Zapata y a su esposa Yazmín, por las atenciones mostradas y por disponer de su tiempo para instruirme, que en gran manera, contribuyeron en la edificación de mi persona.

A toda la gente del INIFAP Campo Experimental las Huastecas, quienes hicieron más agradable mi semestre de estancia, a Yorch, Lupix, Dulce y Gallo.

DEDICATORIA ESPECIAL

A mis hermanos

Chilo, Pelón y Solecito

Quienes inconscientemente me regalaban su tiempo y sin darse cuenta, yo les robaba un pedacito de sus vidas. Me es grato saber que ustedes son parte de mí y yo de ustedes.

Los quiere, Gary.

A mi morenita

Sheylita

Por ofrecerme un amor incondicional y sincero, depositando su confianza en mí, quien es como el lirio entre los espinos, por estar ciega y seguirme queriendo.

“Y alégrate con la mujer de tu juventud, como cierva amada y graciosa gacela. Sus caricias te satisfagan todo el tiempo, Y en su amor recreáte siempre. (Proverbios 5:18 y 19).

Te ama, tu Wihui.

A mis Padres

Viejo y Chanita

Gracias por desgastar sus vidas, para formar la mía.

“Oye a tu padre, a aquel que te engendró; Y cuando tu madre envejeciere no la menosprecies”.

“Alégrense tu padre y tu madre, Y gócese la que te dio a luz”. (Proverbios 23: 22; 25).

Los ama, su Chaparro.

ÍNDICE

RESUMEN	I
AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIAS	III
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	2
Cultivo de la Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.).....	2
Origen y distribución	2
Generalidades.....	2
Importancia	2
Complejo Punta Morada de la Papa.....	3
Importancia	3
Sintomatología	3
Etiología.....	4
Vectores	5
<i>Bactericera cockerelli</i> (Sulc.).....	6
Origen	6
Distribución	6
Ubicación taxonómica	7
Biología y hábitos	7
Descripción morfológica.....	9
Huevo.....	9
Ninfa	9
Primer instar.....	9
Segundo instar.....	10
Tercer instar	10
Cuarto instar.....	10
Quinto instar	10
Adulto	11
Hospederos.....	11
Daños e Importancia económica.....	12
Directo	12

Indirecto	13
Alternativas de control	13
Cultural	13
Control biológico	14
Control químico	14
RESISTENCIA	15
Generalidades	15
Clasificación	15
Resistencia por comportamiento	15
Resistencia morfológica	16
Resistencia fisiológica	16
Determinación de resistencia	16
Bioensayos	17
Métodos bioquímicos	17
Electroforesis	17
Pruebas moleculares	17
Pruebas bioquímicas	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Ubicación	18
Recolecta del material biológico	18
Manejo de material biológico en laboratorio	20
Cuantificación de proteína	20
Pruebas bioquímicas	21
Prueba de esterasas elevadas no específicas (β -Esterasas)	21
Prueba de reacciones de oxidasa	22
Prueba Glutathion S-transferasa	22
Prueba de acetilcolinesterasa	23
Análisis estadístico	24
RESULTADOS	25
DISCUSIONES	43
CONCLUSIONES	46
LITERATURA CITADA	47
APÉNDICE	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Coordenadas de los 20 sitios recolectados en la región papera.....	19
Cuadro 2. Porcentajes de resistencia de cada enzima en todas las poblaciones.....	33
Cuadro 3. Clasificación de la actividad enzimática según las proporciones de resistencia.....	33
Cuadro 4. Análisis de varianza del contenido de β -Esterasas en las 20 poblaciones.....	34
Cuadro 5. Comparación de medias del contenido de β -Esterasas en las poblaciones.....	34
Cuadro 6. Análisis de varianza del contenido de Oxidasas en las 20 poblaciones.....	35
Cuadro 7. Comparación de medias del contenido de Oxidasas en las 20 poblaciones.....	35
Cuadro 8. Análisis de varianza del contenido de Glutación S-Transf. en las 20 poblaciones.....	36
Cuadro 9. Comparación de medias del contenido de Glut. S-T. en las 20 poblaciones.....	36
Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de Acetilcolinesterasa en las 20 poblaciones.....	37
Cuadro 11. Comparación de medias del contenido de ATChE. en las 20 poblaciones.....	37
Cuadro 12. Análisis de varianza del contenido de cada enzima en las 20 localidades.....	38
Cuadro 13. Contenido total de enzimas en las 20 localidades.....	38
Cuadro 14. Contenido total de enzimas en cada población muestreada.....	39
Cuadro 15. Porcentaje del incremento de enzimas respecto a la población 20.....	40
Cuadro 16. Absorbancia obtenidas en diferentes cantidades de insectos y sus medias.....	59
Cuadro 17. Enzimas totales, gr/mL de proteína en 10 repeticiones y sus respectivas medias.....	59
Cuadro 18. Cuantificación de β -Esterasas en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.....	60
Cuadro 19. Cuantificación de Oxidasas en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.....	60
Cuadro 20. Cuantificación de Glutacion S-Transferasas ($T_5 - T_0$) en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.....	61
Cuadro 21. Cuantificación de Acetilcolinesterasa ($T_{10} - T_0$) en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.....	61

Cuadro 22. Intervalos de frecuencia del contenido de β -Esterasas de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.....	62
Cuadro 23. Intervalos de frecuencia del contenido de Oxidasas de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.....	62
Cuadro 24. Intervalos de frecuencia del contenido de Glutation S-Transferasas de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.....	63
Cuadro 25. Intervalos de frecuencia del contenido de Acetilcolinesterasa de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la ubicación de las localidades muestreadas.....	19
Figura 2. Contenido de β -Esterasas en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.....	25
Figura 3. Contenido de Oxidasas en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.....	27
Figura 4. Contenido de Glutation S-Transferasas en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.....	29
Figura 5. Contenido de Acetilcolinesterasa en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.....	31
Figura 6. Mapa de la distribución de β -Esterasas.....	41
Figura 7. Mapa de la distribución de Oxidasas.....	41
Figura 8. Mapa de la distribución de Glutation S-Transferasas.....	42
Figura 9. Mapa del la distribución de Acetilcolinesterasas.....	42
Figura 10. Gráfica del contenido de enzimas en mg, en 10 repeticiones con diferente cantidad de insectos: 1, 3, 7 y 10; rango entre 80 y 140 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de proteína.....	59

INTRODUCCIÓN

La región noreste de la república mexicana, es una de las mas importantes a nivel nacional en la producción de papa (*Solanum tuberosum* L.) principalmente el sur de los estados de Coahuila y Nuevo León, en donde se siembra una superficie aproximada de 6 000 ha bajo condiciones de riego con un rendimiento promedio de 31 ton/ha (Almeyda *et al.*, 2008). Aportando el 15 % de la producción nacional (SAGARPA, 2008).

Existen diversos factores que limitan los rendimientos y su rentabilidad, donde destacan la incidencia de insectos plaga y enfermedades causadas por algas fitopatógenas, hongos, nematodos, bacterias, virus y viroides (Flores-Olivas *et al.*, 2004).

Entre ellos resalta una enfermedad complejo denominada punta morada de la papa, cuya sintomatología demerita la calidad del tubérculo, lo que dificulta la comercialización y consumo en fresco (Cadena *et al.*, 2003). En la industria, los tubérculos muestran defectos al freírse como, coloraciones oscuras que se asemejan a una necrosis radial, por lo que en Estados Unidos a esta enfermedad se le conoce como “Zebra Chip” (Munyanzeza *et al.*, 2007).

El agente causal esta asociado a organismos tipo bacteria: “*Candidatus Liberibacter psyllaourous*” (Hansen *et al.*, 2008) o “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” (Liefting *et al.*, 2009a, b). Donde *Bactericera cockerelli* es un insecto vector de dicho patógeno (Segonda *et al.*, 2010). Además, en monitoreos realizados en campo, es el insecto mas común y abundante en cultivos afectados (Marín *et al.*, 2009), el cual está altamente distribuido en nuestro país en las principales zonas paperas (Garzón *et al.*, 2005).

También se han reportado daños mecánicos por la alimentación de este insecto, además de la inyección de toxinas al succionar la savia (Munyanzeza *et al.*, 2007), estos daños ha ocasionado la destrucción masiva de cultivos enteros, por lo que para el manejo de esta enfermedad debe ser prioritario el control de *Bactericera cockerelli* orientado a disminuir de sus elevadas poblaciones (Almeyda, 2008).

Existen diferentes alternativas para el control de este triozido. Pero debido a las limitantes como: las irrupciones espontaneas, elevada tasa de oviposición con la cual incrementan disparadamente su población, escasa presencia de enemigos naturales y la falta de información, imposibilitan la implementación de un manejo integrado y el desarrollo de certeras estrategias.

Su control se basa en la aplicación de insecticidas (Liu y Trumble, 2007), los cuales en su mayoría resultan efectivos. Aunque en los últimos años en la región de Coahuila y Nuevo León se perciben resultados no satisfactorios, por lo que los productores realizan hasta 30 aplicaciones de insecticidas (Almeyda *et al.*, 2008).

JUSTIFICACIÓN

El uso irracional de insecticidas contra *Bactericera cockerelli* sugiere el desarrollo de resistencia a los productos utilizados para su manejo (Vargas *et al.*, 2005), ya que este fenómeno se ha confirmado para la mayoría de los insecticidas de uso indiscriminado (Georghiou y Lagunes, 1991).

Vega *et al.* (2008) mencionan que la falta de control se puede deber a factores como la baja cobertura de aspersion. Luna (2010) reporta que un mal manejo provoca resistencia a corto plazo, resultado de una expresión fenotípica de tipo fisiológica. Otorgada por la adición de enzimas como un mecanismo protector (Lagunes y Villanueva, 1994), ya que la acción de sistemas enzimáticos presentes, permiten metabolizar insecticidas y transformarlos en productos menos tóxicos (Wilkinson, 1983).

En la región de Coahuila y Nuevo León se desconocen los mecanismos enzimáticos involucrados en la tolerancia de *Bactericera cokerelli*, por lo que el conocer dichos factores permitirá un manejo adecuado de la resistencia y por lo mismo un control mas eficiente de este insecto.

OBJETIVOS

El presente trabajo de investigación, tiene como objetivos determinar la actividad enzimática de resistencia de *Bactericera cockerelli* en diferentes localidades y/o poblaciones en la región papera del noreste de México.

Conocer la proporción de resistencia conferidas por enzimas detoxificantes (β -Esterasas, Oxidasas, Glutathion S-Tranferasas y Acetilcolinesterasas), en cada una de las localidades, así como la formación de grupos geográficos con condiciones similares de resistencia.

HIPÓTESIS

Dentro de la región papera de Coahuila y Nuevo León, la actividad enzimática se presenta en diferentes proporciones.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo de la Papa (*Solanum tuberosum* L.)

Origen y distribución

Vavilov en 1951 propone que el centro de origen de la papa está ubicado en la cordillera de los Andes de Perú, extendiéndose por el sur de Bolivia, Argentina, Chile, norte de Ecuador y Colombia (Inés-Juárez, 2007); presenta más especies silvestres que cualquier otro cultivo, y están ampliamente distribuidas (Hawkes, 1990); fue introducida a Europa a finales del siglo XVI, extendiéndose por todo el mundo en pocos siglos (Huaman *et al.*, 1988).

Generalidades

Es una planta dicotiledónea, anual, herbácea, de naturaleza perenne, capaz de reproducirse vía tubérculo (Campos y Villarreal, 1989); Sus raíces son adventicias, tallos aéreos herbáceos y subterráneos llamados tubérculos (Cepeda y Gallegos, 2003), el cual es el principal órgano adaptado para el almacenamiento de reservas empleadas en la respiración (Arce, 1996).

Importancia

En la región papera de Coahuila y Nuevo León se obtienen los rendimientos más altos por unidad de superficie a nivel nacional, llegando a obtener hasta 50 ton/ha (Inés-Juárez, 2007). Actualmente en México la superficie sembrada es de 54,141.36 ha, para semilla alrededor de 27,000 ha, obteniendo un rendimiento promedio de 27.74 Kg/ha (SIAP, 2010). Dichos rendimientos se ven afectados por problemas fitosanitarios originados por: insectos, hongos, virus, viroides, bacterias que afectan al follaje y a tubérculos debilitando la planta, provocando la muerte prematura (Rousselle *et al.*, 1999). En los últimos años la enfermedad punta morada se ha convertido en una de las más importantes limitantes para la producción de papa a nivel nacional (Flores-Olivas *et al.*, 2004).

Complejo: Punta Morada de la Papa

Importancia

Descrita alrededor de 1994 en Saltillo, México., e identificada hasta el 2000 en Texas, USA (Munyaneza *et al.*, 2007). Esporádicamente los defectos en las plantas, fueron económicamente importantes alrededor de 2004, 2005 y 2006 en zonas productoras, causando pérdidas millonarias a productores y procesadores en numerosas localidades de Estados Unidos y México (Hernández-García *et al.*, 2006; Salas *et al.*, 2006).

La incidencia de ésta enfermedad se incrementó considerablemente, llegando al 100 % en algunas áreas productoras de la región Sur de Coahuila y Nuevo León, los rendimientos se redujeron hasta en un 90% y las pérdidas registradas fueron del 100% (Flores-Olivas *et al.*, 2004); La presencia de los síntomas demeritan drásticamente su calidad, se reduce el consumo en fresco, disminuyen el rendimiento, dificultan la comercialización e imposibilitan el uso como semilla (Cadena *et al.*, 2003).

Sintomatología

Se le denomina Punta Morada de la Papa a un conjunto de síntomas de los cuales se incluyen: la disminución en el crecimiento, enrollamiento apical, abultamiento del tallo en la inserción de las hojas y coloración purpúrea en los folíolos; los tubérculos dañados muestran un oscurecimiento en el interior imposibilitando la brotación o los brotes resultan de forma hilada (Cadena *et al.*, 2003). En Estados Unidos se presentan sintomatologías similares, pero dicha enfermedad se conoce como “Zebra Chip” debido a que al freír las papas, las hojuelas desarrollaban una necrosis radial (Feng *et al.*, 2009).

Etiología

Las sintomatologías descritas, se debe a la interferencia que tienen los patógenos con el transporte de nutrientes, a las toxinas inyectadas por *Bactericera cockerelli* al alimentarse, así como los daños mecánicos ocasionados al succionar la savia (List, 1939; Garzón, 1984; Munyaneza *et al.*, 2007).

Primeramente se reportó que el agente causal de la punta morada esta relacionado con organismos de tipo fitoplasma (Beres *et al.*, 1998; Delgadillo, 1999), y esta relacionado con el agente causal del permanente del tomate, debido a que pertenecen al mismo grupo (Almeyda *et al.*, 2002b), también se asocia con la presencia de hongos del suelo tales como: *Fusarium* sp. (Jensen *et al.*, 2004) y *Verticillium* sp. (Almeyda *et al.*, 2004).

En tubérculos infectados con Punta Morada de la Papa o “Zebra Chip”, se detectaron tres diferentes tipos de fitoplasmas, uno recientemente denominado “*Candidatus* phytoplasma americanum” aunque en bajas concentraciones (Salas *et al.*, 2006; Sencor *et al.*, 2006).

Munyaneza *et al.* (2007) no detecta la presencia de fitoplasmas en plantas y tubérculos que presentaban sintomatología típica. En plantas infestadas por *B. cockerelli*, que mostraron síntomas de amarillamiento y pardeado de tubérculos, también se encontraron libres de fitoplasmas (Díaz *et al.*, 2008). Por su parte Feng *et al.* (2009) atribuyen las coloraciones radiales en el interior de los tubérculos al deficiente contenido de almidón, glucosa y sacarosa.

Mediante técnicas moleculares modernas Hansen *et al.* (2008) basado en la caracterización genética y ecológica, reportan una nueva especie de Huanglongbing tentativamente “*Candidatus* Liberibacter psyllaourous” como agente causal de la enfermedad “psyllid yellows” describiéndolo de tipo bacteriano ya que posee un 97% de similitud con las secuencias genómicas de “*Candidatus* Liberibacter asiaticus”.

En Nueva Zelanda, tubérculos con síntomas de “Zebra Chip” resultaron positivas a liberibacter (Anderson, 2008; Liefiting *et al.*, 2008), en Estados Unidos Abad *et al.* (2009) descubre la misma especie de liberibacter en plantas afectadas. Liefiting *et al.* (2009a, b) proponen “*Candidatus Liberibacter solanacearum*”. Aunque en Nueva Zelanda, (L.W. Liefiting, comunicado personal) sugiere la asociación de dichos síntomas con “*Candidatus Phytoplasma australiense*” el cual fue descubierto recientemente en cultivos de papa (Teulon, 2009).

Últimamente Segonda *et al.* (2010) sugieren que ambas especies de liberibacter son sinonimias y que no todas las poblaciones de *B. cockerelli* pueden vectorear a dicho patógeno, la planta puede reponerse de daños provocados por la constante alimentación de triozidos, cosa contraria a liberibacter, por lo que se diferencia “psyllid yellows” con “zebra chip”. Este último puede transmitirse vía tubérculo, el movimiento de semilla infectada a otras regiones desempeña un papel importante en el ciclo de vida de este patógeno (Pitman *et al.*, 2011).

Vectores

En estados unidos Munyaneza y Upton (2005) describen al cicadelido *Circulifer tenellus* (Baker) como vector del agente causal, La chicharrita *Macrostes quadrilineatus* Forbes [= *Macrostes fascifrons* (Stal)] es vector del fitoplasma “aster yellow” uno de los causante del manchado de tubérculos al freírse (Pavlista, 2002b).

En México Almeyda, *et al.* (2008) reportan como portadores de fitoplasma al psilido *Heteropsylla texana*, a cicadelidos del género *Empoasca* spp. y *Aceratagallia* spp; también a maleza hospedera como el polocote (*Helianthus annuus*) y a la correhuela (*Convolvulus arvensis*) como reservorios de fitoplasmas.

B. cockerelli muestra una fuerte relación con la enfermedad punta morada, ya que es el insecto más común y abundante en cultivos afectados (Marín, *et al.*, 2009), entre el 53 y 57% de cultivos expuestos a este triozido presentaron síntomas típicos (Munyaneza *et al.*, 2007), donde las plantas más jóvenes son más susceptibles a su ataque (Feng *et al.*, 2009).

***Bactericera cockerelli* (Sulc)**

Origen

Históricamente se describió por primera vez en 1909 por T. D. Cockerell en el estado de Colorado (Richards, 1928). Como reconocimiento, el Dr. Sulc lo denomina científicamente como *Trioza cockerelli* (Sulc 1909). Posteriormente en 1911 se le asigna a la especie al género *Paratrioza* (Crawford, 1911); recientemente mediante procesos de revisión se ha asignado al género de esta especie como *Bactericera* (Burckhardt y Lauterer, 1997; Abdullah, 2008).

Distribución

En Norteamérica, dicha especie se han identificado dos biotipos, el nativo e invasor (Liu *et al.*, 2006), el nativo inverna en México y Texas, migra en primavera y verano hacia el norte (Wallis, 1955). El invasor esta asociado a las regiones occidentales California y Baja California (México) (Liu *et al.*, 2006). El invasor presenta elevados valores de CL₅₀, son menos susceptibles hacia algunos insecticidas que el biotipo nativo (Liu y Trumble, 2007).

Esporádicamente en México, la incidencia de esta especie ha sido señalada desde 1947, cuando Pletsch reportó antecedentes de poblaciones en los estados de Durango, Tamaulipas, Estado de México, Guanajuato y Michoacán, posteriormente se extendió a otros estados denominándolo comúnmente como pulgón saltador, encontrados también en climas cálidos como Morelos, Nayarit y Sinaloa (Garzón *et al.*, 2005), para Centroamérica existen reportes en Guatemala y Honduras (Rojas, 2010).

Ubicación taxonómica

Según Triplehorn y Johnson (2005) consideran a *Bactericera cockerelli* dentro de la familia Psyllidae, posteriormente Hudkingson (2009) la incluyen dentro de la familia Triozidae, quedando como clasificación taxonómica de la siguiente manera:

Reyno:Animal
Phyllum:Artropoda
Clase:Hexapoda
Orden:Hemiptera
Suborden:Sternorrhyncha
Superfamilia: ...Psylloidea
Familia:Triozidae
Genero:*Bactericera*
Especie:*B. cockerelli*

Biología y hábitos

Estos insectos presentan metamorfosis incompleta, es decir que pasan por los estadios de huevo, ninfa y adulto (Wallis, 1951). Pertenece a la Superfamilia Psylloidea los cuales se alimentan introduciendo su estilete y succionando la savia de los conductos del floema de las plantas hospederas aprovechando azucares y aminoácidos (Percy, 2003).

Las hembras ovipositan los huevecillos en el envés de las hojas medias e inferiores de la planta (Castellanos, 2004), entre la primera a cuarta hojas verdaderas (Garzón *et al.*, 2005); sin embargo Knowlton y Janes (1931) reportan que son puestos preferentemente sobre la yemas apicales mas jóvenes. Con frecuencia en hilera en los bordes marginales o distribuidos en la superficie de las hojas (Cranshaw, 2007).

La hembra vive 21 días, tres veces mas que los machos (Garzón *et al.*, 2005), depositando alrededor de 300 huevecillos (Wallis, 1951). Puede incrementar la población ovipositando hasta 1400 huevos (Liu *et al.*, 2006). Cada hembra deposita entre 1 y 11 huevecillos por día (Becerra, 1989), el promedio de oviposturas diarias es de 37.6 huevecillos, los cuales requerirán de 3 a 15 días para incubar y de 14 a 17 días para completar los instares ninfales (Knowlton y Janes, 1931), con un intervalo alrededor de 30 días desde la copula hasta la formación del nuevo adulto (Garza y Rivas, 2003), mientras que Abdullah (2008) reporta un ciclo completo en 34 días.

Como su velocidad de desarrollo depende en gran parte de la temperatura, Montero (1994) determina su edad fisiológica en unidades calor (U. C.) obteniendo de huevecillo a adulto 139.3 U. C. Sin embargo (Becerra, 1989) reporta un total de 356 U. C. con un umbral de desarrollo de 7 °C a 35 °C y un óptimo de 27 °C (List, 1939b), a los 16 y 21 °C las poblaciones aumentan con rapidez (Knowlton y Janes, 1931), y a temperaturas superiores a los 32 °C se detiene la oviposición, eclosión de huevos y supervivencia de ninfas, a los 37 °C, resultan letales tanto para huevecillos y ninfas en un transcurso de dos horas (Pavlista, 2002).

Las ninfas se encuentran cerca de los huevecillos, adheridas en un solo lugar de la hoja, son casi inmóviles en los tres primeros estadios y van adquiriendo movilidad (Bravo *et al.*, 2006), a veces se desplazan buscando mayor ventilación y temperatura (Castellanos, 2004), las ninfas mas viejas se encuentran en el tercer inferior de la planta, por esta razón se hace mas difícil el control químico (Garzón *et al.*, 2005).

Los adultos se encuentran en cualquier parte de la planta, incluso en el haz de las hojas mas altas (Castellanos, 2004). Estos vuelan alrededor de dos horas al día, son los responsables de la diseminación a corta y larga distancia, tienen hábitos migratorios llegando alcanzar hasta 1.5 km de altura, pudiendo ser arrastrados por los vientos dominantes, a su vez infestar cultivos vecinos (Garzón *et al.*, 2005).

Descripción morfológica

Huevo

Los huevos de esta especie son anaranjado-amarillentos, con corion brillante (Marín, 2004), presentan en uno de sus extremos un pedicelo corto que se adhiere a la superficie de las hojas (Garza y Rivas, 2003). Los próximos a eclosionar, se les puede notar los ojos de las ninfas de primer instar (Becerra, 1989). La incubación varía de 3 a 9 días en donde la mayor eclosión se presenta durante el quinto o sexto día (Knowlton y Janes, 1931).

Ninfa

Presenta cinco instares que son en gran parte similares en sus características morfológicas, las ninfas al eclosionar adquieren un color amarillo-verde pálido, son ovales y aplanadas dorso-ventralmente, con ojos rojos bien definidos (Lorus y Margery, 1980). Las antenas presentan sensilias placoides (estructuras circulares de función olfatoria) (Marín, 2004). Los cambios estructurales en los instares según Rowe y Knowlton (1935) son el aumento en el tamaño del cuerpo, desarrollo de las alas y la presencia de estructuras cilíndricas que contienen filamentos cerosos, los cuales forman un halo en el perímetro del cuerpo.

Primer instar.- son anaranjadas o amarillas (Garza y Rivas, 2003). Antenas con segmentos basales cortos y gruesos que se adelgazan en un pequeño segmento terminal con dos setas sensoriales, ojos anaranjados notorios en vista ventral y dorsal (Becerra, 1989). Cabeza y tórax fusionados, la división del cuerpo no está bien definida, paquetes alares poco notables y la segmentación en las patas es poco visible (Marín, 2004). Su estilete es casi del largo del cuerpo, el abdomen con segmentación poco visible, poros anales externos poco definidos y el margen del cuerpo con una hilera de setas truncadas (Vargas-Madríz, 2010).

Segundo instar.- Se aprecian notablemente las divisiones entre la cabeza, tórax y abdomen (Pletsch, 1949), la tonalidad de los ojos es naranja rojiza y el tórax amarillento con los paquetes alares visibles (Becerra, 1989). La segmentación en las patas es notoria, en el abdomen se aprecia un par de espiráculos en cada uno de los primeros segmentos (Marín, 2004).

Tercer instar.- las antenas se adelgazan en la parte media para terminar con dos setas sensoriales, se definen perfectamente las constricciones del cuerpo, se observan los paquetes alares en el mesotórax y metatórax (Becerra, 1989). El tórax comienza a tornarse de color verde amarillento (Pletsch, 1949). A partir de este instar las glándulas de cera son prominentes alrededor del cuerpo (Rojas, 2010).

Cuarto instar.- las antenas con tres sensilias, en los ojos se hacen evidentes las omatidias (Marín, 2004), las divisiones del cuerpo presentan las mismas características al instar anterior Garza y Rivas (2003), La diferencia está en la parte terminal de las tibias posteriores donde se aprecian dos espuelas, los segmentos tarsales y un par de uñas así como los paquetes alares bien definidos (Becerra, 1989), la separación entre el protórax es muy notoria, en cada uno de los cuatro primeros segmentos abdominales tienen un par de espiráculos (Marín, 2004).

Quinto instar.- Cabeza, tórax y abdomen se distinguen claramente, antenas de tres segmentos, con dos setas sensoriales y cuatro sensilias placoides diferenciadas (Marín, 2004), la base de la antena es gruesa y la apical filiforme divididas por una hendidura muy marcada, presenta tres espuelas en la parte terminal de las tibias posteriores y abdomen adquiere una forma semicircular (Becerra, 1989). Paquetes alares anteriores con ángulos humerales proyectados hacia la parte anterior (Burckhardt y Lauterer, 1997).

Adulto

Al emerger su coloración es verde (Wallis, 1951), posteriormente en tres días se tornan negros (García y Rivas, 2003), de 2 a 6 mm de longitud (Lorus y Margery, 1980). Cabeza ligeramente inclinada respecto al eje longitudinal (Burckhardt y Lauterer, 1997), proporcionalmente equivale a una décima parte de su cuerpo, ojos grandes cafés, las antenas filiformes, tórax con manchas cafés bien definidas (Marín, 2004). Alas claras transparentes y membranosas en forma de azotea sobre el abdomen (Pletsch, 1947), alas anteriores con trifurcación en las venas: I + M + Cu. (Burckhardt y Lauterer, 1997).

En la base del abdomen presenta una franja transversal blanca (Bautista, 2006), y en la parte media dorsal hay una mancha en forma de “Y” con los brazos hacia la parte terminal del abdomen (Marín, 2004). El abdomen de las hembras tiene cinco segmentos visibles mas el segmento genital que tiene forma cónica, los machos tienen seis segmentos visibles mas el genital que esta plegado sobre la parte media dorsal del abdomen (Marín, 2004). Las hembras termina con ovipositor corto, redondeado y más robusto, mientras que los genitales de los machos tienen aspecto mas obtuso en las extremidades (Pletsch, 1947).

Hospederos

B. cockerelli presenta un amplio rango de hospederos incluyendo varias especies en 20 familias, de las cuales tienen una preferencia muy fuerte a las especies de las solanáceas (Liu y Trumble, 2006). De las cuales resaltan chile, tomate y papa, en berenjena (*Solanum melongena* L.) el tiempo de desarrollo es mas rápido (Martin, 2008). Puede invernar en otras solanaceas silvestres en regiones cálidas (Cranshaw, 2007; Hodkinson, 2009), consiguiendo sobrevivir en convolvuláceas y amarantáceas, incluyendo cultivos y malezas nativas (Pavlista, 2002).

Daños e Importancia económica

Dentro de la sintomatología provocada por *B. cockerelli*, Las plantas enfermas muestran una disminución en el crecimiento, desarrollo prematuro, clorosis o amarillamiento (List, 1935, 1939). Otros síntomas son la formación de tubérculos aéreos, entrenudos cortos, enrollamiento apical, coloración purpúrea en los folíolos y oscurecimiento en el interior de los tubérculos (Munyanza *et al.*, 2007). Reduciendo la longevidad del cultivo, el tamaño y la calidad, provocando pérdidas cuantiosas en el rendimiento (Al-Jabar 1999).

Garzón (1984) Reporta en tomate, una enfermedad denominándola “Permanente del tomate”. Siendo *B. cockerelli* uno de sus principales vectores (Garzón, 1986). Tanto en tomate y papa, este insecto es un vector potencial de enfermedades para ambos cultivos por la capacidad de incubar patógenos (Almeyda *et al.*, 2002a).

Los daños provocados por *Bactericera cockerelli* se categorizan en dos tipos:

Directo

Primeramente se reportó a *Bactericera cockerelli* provocando amarillamientos foliares o “psyllid yellows”, dicho síntoma se asoció con la alimentación de los instares ninfales (Blood *et al.*, 1933), al succionar la savia en los conductos de floema (Munyanza *et al.*, 2007). Por su parte Carter (1950) descubrió que no todas las ninfas tiene la habilidad para producir una reacción toxica. Sin embargo, el desorden metabólico pudiera ser por la presencia de metabolitos producidos e inyectado por las ninfas (Rubio *et al.*, 2006), ya que dicha toxina no ha sido aislada (Munyanza *et al.*, 2007). Mientras que en tomate Garzón *et al.* (2009) elimina la posibilidad de que los síntomas se deban a toxinas inyectadas por ninfas.

Indirecto

Como vector, incubador y transmisor de patógenos, tales como: Fitoplasmas (Salas *et al.*, 2006), uno de los agentes que provocan los síntomas del complejo “punta morada de la papa” (PMP) (Garzón *et al.*, 2005).

“organismos tipo bacteria no cultivable” (OTB), provocando el permanente del tomate, en donde para adquirir al agente causal, las ninfas de *B. cockerelli*, requieren de 15 minutos mientras que los adultos necesitan alrededor de 30 minutos, la transmisión es persistente y posiblemente transovárica (Garzón *et al.*, 2009).

Huanglongbing, “*Candidatus Liberibacter psyllaurous*” (CLP) provocando amarillamientos “psyllid yellows” (Hansen *et al.*, 2008), “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” (CLS) los cuales están asociados con el manchado de tubérculos “Zebra chip” (ZC) (Liefting *et al.*, 2008). Dichos agentes provocan sintomatologías similares Munyaneza *et al.* (2007b); Feng *et al.* (2009), tales como: oscurecimiento del tejido vascular, rayos medulares decoloración y manchado necrótico que elevan el contenido de Zn, P, K y Ca, a su vez disminuyen considerablemente las concentraciones de Mg, Cu y B (Miles *et al.*, 2009).

Alternativas de control

Cultural

En su mayoría, las prácticas culturales empleadas en el manejo de los insectos vectores es la destrucción de focos de infestación, eliminando plantas viejas después de la cosecha; la destrucción de plantas hospederas, al menos en los márgenes del cultivo y lotes adyacentes, así una buena nutrición para ayudar a reducir el efecto de las altas densidades (Avilés *et al.*, 2003). Dichas estrategias están establecidas en la norma oficial mexicana NOM-081-FITO-2001, que se refiere al manejo y eliminación de focos de infestación con establecimiento y reordenamiento de fechas de siembra y destrucción de residuos de cosecha (SAGARPA, 2001).

Control biológico

Dentro de los enemigos naturales de *B. cockerelli* se incluyen hongos entomopatógenos como: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticilium lecanii*. Depredadores como: *Aphis lion*, *Chrysoperla* spp., *Geocoris* sp. e *Hippodamia convergens* (Guer), parasitoides de ninfas: *Metaphycus psyllidis* (Comp.) (Bujanos *et al.*, 2005; Bravo y López, 2007).

Por su parte Rojas (2010) recomienda la inclusión de *Tamarixia triozae* (Burks) (Hemiptera: Eulophidae) como un agente de control biológico dentro de un manejo integrado. Pero debido a la poca presencia de enemigos naturales, no presentan un eficiente control, ya que al alimentarse un grupo relativamente pequeño de estos insectos pueden provocar daños a la planta antes que los insectos benéficos efectúen su acción de control (Al-Jabar, 1999).

Control químico

En cuanto a las recientes irrupciones, a las elevadas poblaciones y al incremento de daños, el control de *B. cockerelli* principalmente se efectúa con el uso de insecticidas organosintéticos (Liu y Trumble, 2007). La toxicidad dependerá de la especie, insecticida, estado biológico, dosis y forma de exposición (Luna, 2010).

En campo Avilés *et al.* (2003) reporta que abamectina, spinosad, imidacloprid y thiamethoxam son efectivos. Espinosad es muy persistente durando hasta 29 días, de igual forma azadiractina (Luna, 2010), aplicándose cuando existan alrededor de 30 ninfas por planta (Liu y Trumble, 2005); siendo una de las dificultades en las aplicaciones por la disposición de las ninfas en el envés de las hojas (Pavlista, 2002).

Por su parte Vega *et al.* (2008) mencionan que la falta de control se puede deber a factores como una baja cobertura de aspersion, mala calibración y equipo en mal estado. Un mal manejo provoca contaminación ambiental, desequilibrio ecológico y surgimiento de insectos resistentes en corto plazo (Luna, 2010).

En Coahuila y San Luis potosí, es común que se realicen doce aplicaciones de insecticidas por ciclo de cultivo (Vega *et al.*, 2008). Aunque en algunas regiones productoras de México realizan hasta 30 aplicaciones, incrementando los costos de producción y representando un riesgo de contaminación ambiental y de daño directo al hombre (Rubio *et al.*, 2006). Al observar poblaciones altas en lotes comerciales de papa a pesar del elevado número de aplicaciones de insecticidas en Arteaga, Coahuila, Vargas (2005) señala que *B. cockerelli* es tolerante a altas dosis de plaguicidas.

Resistencia

Generalidades

Se define como el desarrollo de la capacidad de tolerar dosis de tóxicos que serían letales para la mayoría de los individuos de una población de la misma especie (FAO, 1957). Resultado de la selección intensiva, por lo que el insecto adquiere la aptitud de sobrevivir en un ambiente contaminado (Metcalf, 1989), dicha habilidad es hereditaria en un conjunto de individuos y los capacita fisiológica y etológicamente para bloquear la acción tóxica de un insecticida (Lagunes y Villanueva, 1994).

El desarrollo de la resistencia es subsiguiente a aplicaciones intensivas y repetidas, por lo que es preciso utilizar dosis cada vez mayores que normalmente eran eficaces, las poblaciones resistentes se distinguen por el efecto de tolerancia, en tanto las susceptibles siguen sucumbiendo al insecticida en sus dosis normales (Barbera, 1989).

Clasificación

Resistencia por comportamiento.- Se presenta en especies muy hiperactivas, un indicador es la preferencia para descansar en áreas no tratadas, o bien la tendencia de detectar el insecticida y tratar de evitarlo (Carrillo, 1984).

Resistencia morfológica.- mecanismo físico dado por la formación de estructuras cuticulares, no permiten que el tóxico penetre la cutícula del insecto, la velocidad de penetración dependerá de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del integumento del insecto, la cual varía considerablemente entre los estadios de vida (Barbera, 1989).

Resistencia fisiológica.- Esta puede ser de dos formas: No metabólico, por la insensibilidad en el sitio de acción, resistencia al derribo, Acetilcolinesterasa Insensible, penetración reducida, mayor almacenamiento y Excreción (Vais *et al.*, 1997). Resistencia metabólica, por la adición de sistemas enzimáticos, donde los insecticidas son metabolizados y transformados en productos menos tóxicos (Lagunes y Villanueva, 1994).

Las enzimas responsables para la detoxificación en los organismos son transcritas por Esterasas, Oxidasas y Glutación S-Transferasas (GST) (Flores *et al.*, 2001), el mecanismo de resistencia más común en insectos es provocado por la actividad de esterasas detoxificativas que metabolizan (hidrolizan enlaces éster) un amplio rango de insecticidas comprendidas en familias proteicas pertenecientes a las α y β hidrolasas (Cygler *et al.*, 1993; Oakeshott, 1993).

En insectos resistentes se muestra una sobre-expresión de los niveles de oxidasas (Carino *et al.*, 1994). Los mecanismos de sobreproducción de oxidasas parecen ser resultado de factores cis- y trans- (Cohen *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 1997).

La mayoría de los organismos poseen múltiples Glutación S-Transferasas (Hayes, *et al.*, 1995). Las GST implicadas en la resistencia al DDT están presentes como grupos de genes que han sido mezclados a través del genoma por recombinación (Zhou *et al.*, 1997).

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:

Bioensayos

Conocidos también como pruebas de susceptibilidad, son técnicas de laboratorio basado 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_{50} , DL_{90} o de la concentración letal (Twine y Reynolds, 1980).

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).

Electroforesis.- separa moléculas en dependencia fundamental de su carga, desplazando proteínas bajo influencia de un campo eléctrico (Bisset, 2001), se emplean geles de acrilamida que se polimeriza y forma redes que permiten el paso de proteínas de diferentes pesos moleculares (Ibel *et al.*, 1990).

Pruebas moleculares.- incrementa la precisión y reduce la variabilidad asociada a los bioensayos (Devonshire, 1990), se obtienen patrones de banda de ADN que son utilizado como marcadores genéticos para una especie (Ffrench *et al.*, 1994).

Pruebas bioquímicas.- son ensayos múltiples que permiten analizar a una población de insectos cuantifican los niveles de 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).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Toxicología de insectos y en el Laboratorio de Parasitología Molecular, ambos del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista Saltillo, Coahuila, México.

Recolecta del material biológico

Se realizaron muestreos a partir de marzo a junio de 2010, en las zonas productoras de Coahuila (Huachichil, Emiliano Zapata, El Huizache) y Nuevo León (Navidad, San Rafael, La Hediondilla), así como una población recolectada en el invernadero del departamento de parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, sobre plantas de chile y papa.

Para cada sitio, se recolectaron en hojas infestadas en cultivos de papa, papa mostrenca en pivotes abandonados de un ciclo anterior y maleza aledaña a los cultivos las cuales son reservorio de *B. cockerelli* durante el invierno como: jarilla (*Senecio salignus*), cilindrillo (*lycium berlandlen*) y trompillo (*Solanum elagnipholium*).

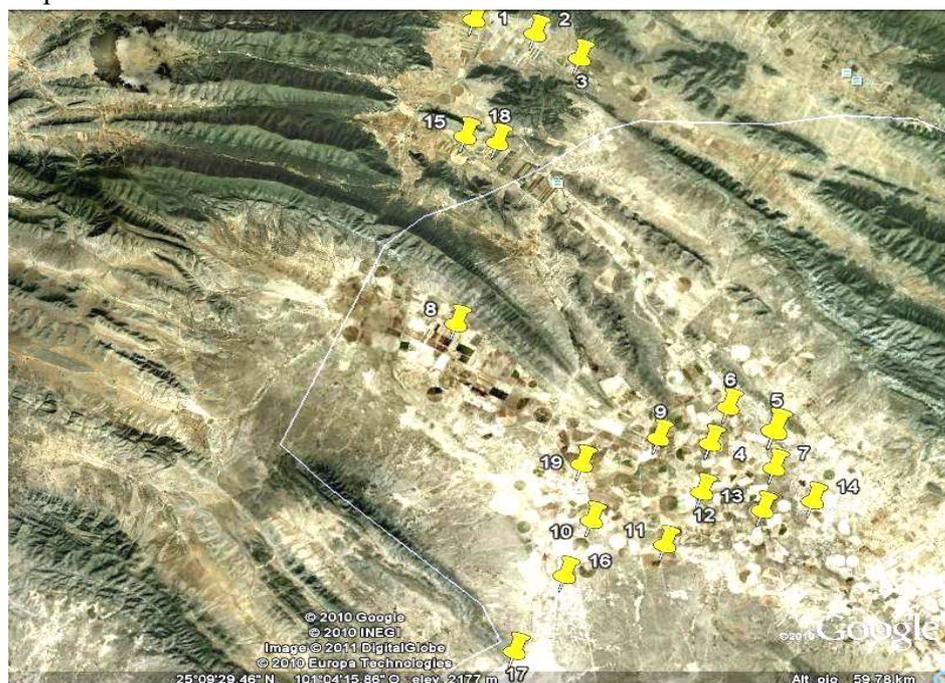
Se tiraron redazos entomológicos para la captura de adultos de *B. cockerelli*, en el caso de papa mostrenca, debido a su tamaño, se colocaba una bolsa de plástico sobre las primeras ramas y se sacudían, en ambos casos hasta obtener una suficiente cantidad de adultos.

Para cada localidad se obtuvo su ubicación geográfica mediante la ayuda de un GPS, arrojándonos las coordenadas vía satélite, donde las distancia entre localidades van de 1.85 km a 58.34 km

Cuadro 1. Coordenadas de los 20 sitios recolectados en la región papaera.

Localidad	N	O	Altitud	hospedero
1	25° 16' 25.89" N	100° 47' 51.81" O	2063	maleza
2	25° 16' 10.96" N	100° 45' 48.31" O	2029	maleza
3	25° 15' 29.39" N	100° 44' 14.51" O	1060	maleza
4	25° 2' 45.92" N	100° 38' 10.08" O	1877	Mostrenca
5	25° 3' 20.32" N	100° 36' 9.49" O	1891	Mostrenca
6	25° 4' 4.72" N	100° 37' 45.45" O	1887	Maleza
7	25° 2' 9.16" N	100° 35' 58.04" O	1884	Mostrenca
8	25° 5' 57.49" N	100° 47' 2.60" O	1960	Papa
9	25° 2' 45.74" N	100° 39' 53.37" O	1881	Mostrenca
10	24° 59' 41.35" N	100° 41' 42.23" O	1888	Mostrenca
11	24° 59' 7.38" N	100° 39' 11.58" O	1885	Papa
12	25° 1' 3.40" N	100° 38' 13.05" O	1881	Papa
13	25° 0' 38.91" N	100° 36' 9.26" O	1883	Papa
14	25° 1' 8.73" N	100° 34' 33.41" O	1894	Papa
15	25° 12' 23.80" N	100° 47' 37.16" O	2032	Papa
16	24° 57' 42.32" N	100° 42' 19.73" O	1875	Maleza
17	24° 54' 54.94" N	100° 43' 36.96" O	1870	Maleza
18	25° 12' 18.82" N	100° 46' 32.59" O	2011	Papa
19	25° 1' 35.59" N	100° 42' 16.67" O	1833	Mostrenca
20	25° 21' 8.35" N	101° 1' 37.82" O	1750	Invernadero

Figura 1. Mapa de la ubicación de las localidades muestreadas



Manejo de material biológico en laboratorio

Una vez en el laboratorio, se mantuvieron en refrigeración, se realizó la identificación de *Bactericera cockerelli* según las características señaladas en la revisión de literatura, posteriormente se separaron de otras especies contenidas en las muestras. Una vez separadas y agrupadas, se colocaron en tubos eppendorf según la localidad, se etiquetaron y se conservaron en refrigeración.

Cuantificación de proteína

Para conocer la cantidad de proteína total se empleó la metodología descrita por Brogdon (1984). Dicho método consiste en cuantificar una proteína de referencia “Albumina sérica bovina” (BSA) para la obtención de una curva estándar, donde se consideraran los datos comprendidos entre 80 y 140 $\mu\text{g/mL}$ de proteína.

Preparación de reactivos.- Reagente: Se disolvió 20 mL de colorante (reagente) con 80 mL de H_2O esterilizada, se pasó por papel filtro para obtener una dilución, posteriormente la preparación de Buffer (KPO_4), se disolvió 6.6 g de fosfato dibásico con 1.7 g fosfato monobásico, aforando a 1000 mL de H_2O esterilizada.

Preparación de homogenatos.- En tubos eppendorf de 1.5 mL se colocaron 4 muestras con diferente cantidad de insectos: 1, 3, 7 y 10, cada muestra con 10 repeticiones. Se agregó 500 μL de diluyente buffer KPO_4 (fosfato de potasio), se trituraron con un homogenizador de tejidos, se aforó a 1 mL adicionándole 900 μL de diluyente.

Lectura de absorbancias.- Se empleó una microplaca de 96 pozos, en cada cavidad se colocaron 20 μL de homogenato, se agregaron 80 μL de buffer (KPO_4) y 200 μL de colorante diluido, estos pasos se realizan por triplicado para cada repetición. Consecutivamente se colocaron en el lector de placas obteniendo los valores de absorbancia con un filtro de 630 nm, sin filtro diferencial.

Interpretación de resultados.- A los datos arrojados por el lector de placas, se les obtuvo la media de cada repetición (tres pozos), mediante la ecuación de la curva estándar de referencia del método de Brogdon (1984) dada por la interpolación de $\mu\text{g/mL}$ de proteína y la absorbancia, se obtuvieron analíticamente los valores comprendidos en un rango establecido por el autor. La ecuación de la recta fue: $y = - 0.5033 + 0.7249 (x)$; donde se sustituyen los valores de las medias de las absorbancias, obteniendo los valores de $\mu\text{g/mL}$ de proteína, fueron tabuladas y se obtuvo la media del contenido de proteína, comparándolas para decidir la cantidad de insectos a emplear para la determinación de enzimas.

Pruebas bioquímicas

Prueba de esterasas elevadas no específicas (β -Esterasas)

Mide los niveles de β -Esterasas no específicas presentes.

Preparación de reactivos.- Acetato de β -naftil: se disolvió 56 mg de β -naphthyl acetate en 20 mL de acetona y se agregó 80 mL de buffer (KPO_4). Para preparar O-Dianisidina (fast-blue), se disolvió 50 mg de O-Dianisidine (fast-blue) en 50 mL De H_2O esterilizada. Este último reactivo se preparó inmediatamente antes de usarlo, ya que se degrada fácilmente, un indicador es su coloración, cuando adquiere una tonalidad ámbar se descarta y se prepara uno nuevo.

Lectura de absorbancias.- En cada pozo de la microplaca, se colocaron 100 μL del homogenato de insectos, se agregó 100 μL de acetato de β -naftil, se dejó incubar por 10 minutos, pasado el tiempo, agregando 100 μL de Dianisidina, estos pasos se realizan por duplicado para cada repetición de las 20 localidades, se dejaron incubar durante 2 minutos y se corre en el lector de placas usando un filtro de 540 nM. Una vez arrojadas las lecturas de absorbancias, se promedian según su muestra y su repetición para el análisis de resultados. Se emplearon los pozos G10, G11, G12 como control positivo donde se agregó 300 μL de β -naftil a cada uno y H10, H11, H12 para control negativo agregando 300 μL de de buffer (KPO_4).

Prueba de reacciones de oxidasa

Mide los niveles de peroxidasas

Preparación de reactivos.- Buffer de Acetato de Na (0.25 M): se disolvió 16.6 mL de 3M Sodium Acetate en 180 mL de H₂O esterilizada, después se aforó a 200 mL, ajustando el pH 5.0 adicionándole ácido acético glacial. Para el TMBZ, se disolvió 50 mg de 3, 3', 5, 5'-Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride, en 25 mL de Metanol, agregando 75 mL de 0.25 M Na Acetate buffer, se dejó disolver durante varios minutos. Por último para el Cytochrome-C: se pesaron 10 mg de Cytochrome-C (de corazón de bovino) y fueron disueltos en 100 mL de Buffer de Acetato de Na (0.25 M) pH 5.

Lectura de absorbancias.- Se colocaron 100 µL del homogenato de insectos, se agregan 200 µL de TMBZ, agregado una gota (25 µL) de peróxido de hidrogeno (H₂O₂) al 3%, estos pasos se realizaron por duplicado para cada repetición de las 20 localidades, se dejó incubar por 5 minutos, pasado el tiempo se corrió en el lector de placas usando un filtro de 620 nM. Una vez arrojadas las lecturas de absorbancias, se promediaron según su muestra y repetición para el análisis de resultados. Se emplearon los pozos G10, G11, G12 como control positivo donde se agregó 300 µL de Cytochrome-C a cada uno y H10, H11, H12 para control negativo agregando 300 µL de buffer (KPO₄).

Prueba Glutathion S-transferasa

Mide los niveles de Glutathion S-transferasa presentes

Preparación de reactivos.- Reduced glutathione: se disolvieron 61 mg de reduced glutathione en 100 mL de buffer (KPO₄). Para cDNB, fueron disueltos 20 mg de 1-chloro-2,4'-dinitrobenzene en 10 mL de Acetona y se agregaron 90 mL de buffer (KPO₄); este reactivo es viable de 3 a 4 días a 4 °C.

Lectura de absorbancias.- se colocó 100 μ L del homogenato de insectos, se agregaron 100 μ L de Reduced glutathione, y 100 μ L de cDNB, estos pasos se realizaron por duplicado para cada repetición de las 20 localidades, se corrió inmediatamente (T_0) en el lector de placas usando un filtro de 340 nM, se volvió a correr transcurridos 5 minutos (T_5). Las lecturas de absorbancias, se promediaron según su muestra y su repetición en donde se tomaron en cuenta las diferencias de ambos tiempos ($T_5 - T_0$) para el análisis de resultados. En esta prueba en particular no se contemplan controles, tanto los positivo como los negativos por lo que se dejaron los espacios vacíos.

Prueba de acetilcolinesterasa

Mide la cantidad de acetilcolinesterasa presente

Preparación de reactivos.- ATCh: se disolvió 70 mg de Acetylthiocholine iodide (ATCh) en 10 mL de acetona y se agregó 90 mL de buffer (KPO_4); para el DTNB, se prepararon 13 mg de Dithio-bis-nitrobenzoic acid (DTNB) y fueron agregados 100 mL de buffer (KPO_4), este reactivo puede durar de 3 a 4 días a 4 °C.

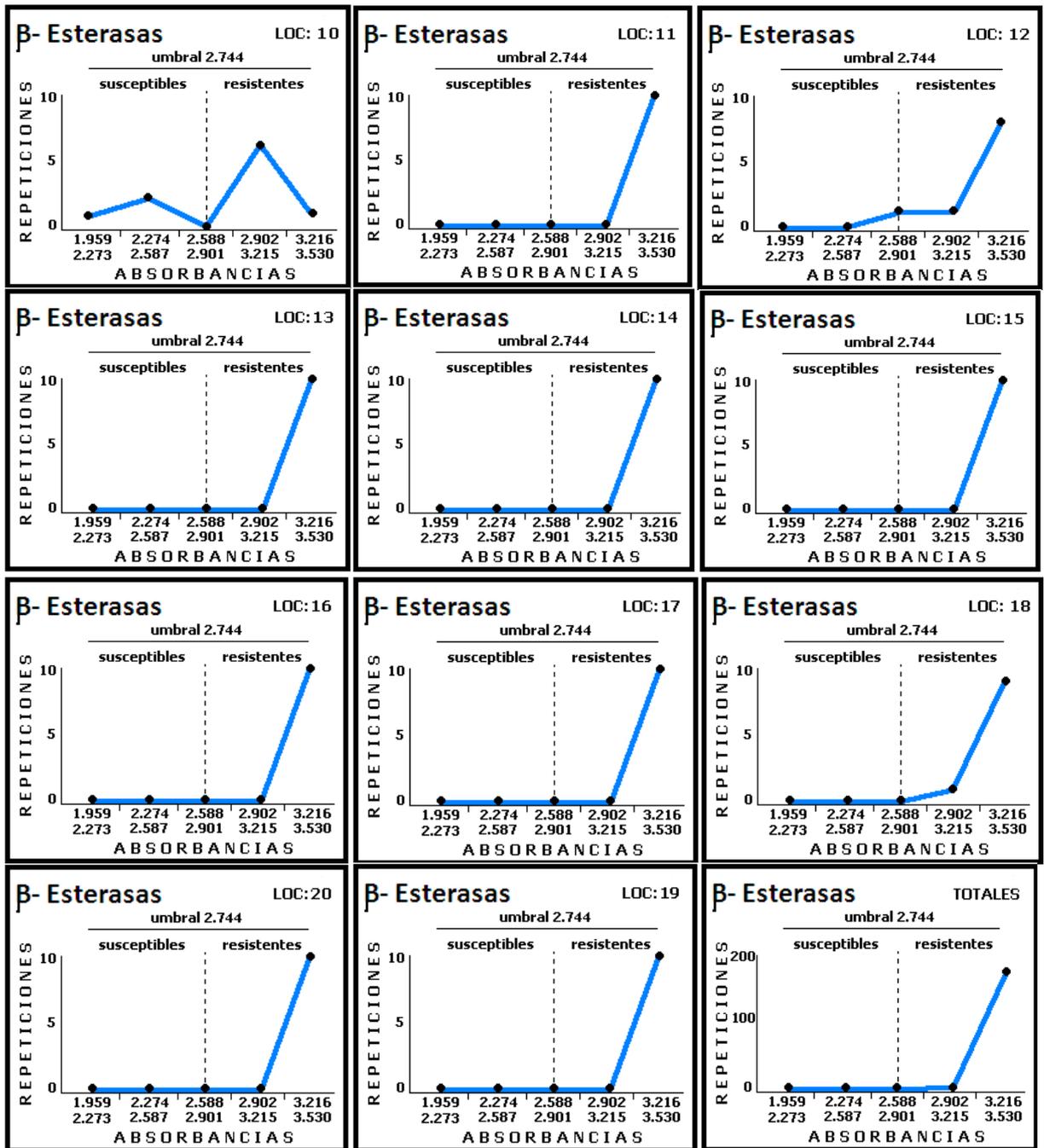
Lectura de absorbancias.- Se colocaron 100 μ L del homogenato de insectos, se agregaron 100 μ L de ATCh y 100 μ L de DNTB, estos pasos se realizan por duplicado para cada repetición de las 20 localidades, se corrieron inmediatamente (T_0) en el lector de placas usando un filtro de 414 nM, se volvió a correr transcurridos 10 minutos (T_{10}). Las lecturas de absorbancias se promediaron según su muestra y su repetición en donde se tomaron en cuenta las diferencias entre ambos tiempos ($T_{10} - T_0$) para el análisis de resultados. Se emplearon los pozos G10, G11, G12 y H10, H11, H12 para control negativo, los cuales se les agregó 300 μ L de buffer (KPO_4) a cada uno.

Análisis estadístico

los resultados se analizaron para obtener las proporciones de resistencia mediante el método gráfico, para poder referenciar las poblaciones respecto a su contenido de enzimas cuantificadas en absorbancias, las cuales fueron arrojadas por un espectrofotómetro, leídos con diferentes filtros según la enzima a analizar; posteriormente se obtuvieron los porcentajes de la proporción de resistencia para cada enzima en cada población, en ausencia de una línea susceptible, se tomó como referencia un umbral que se estableció en base a la media entre el valor máximo y el mínimo, obteniendo por lo consiguiente los porcentajes totales de proporción de resistencia a nivel región.

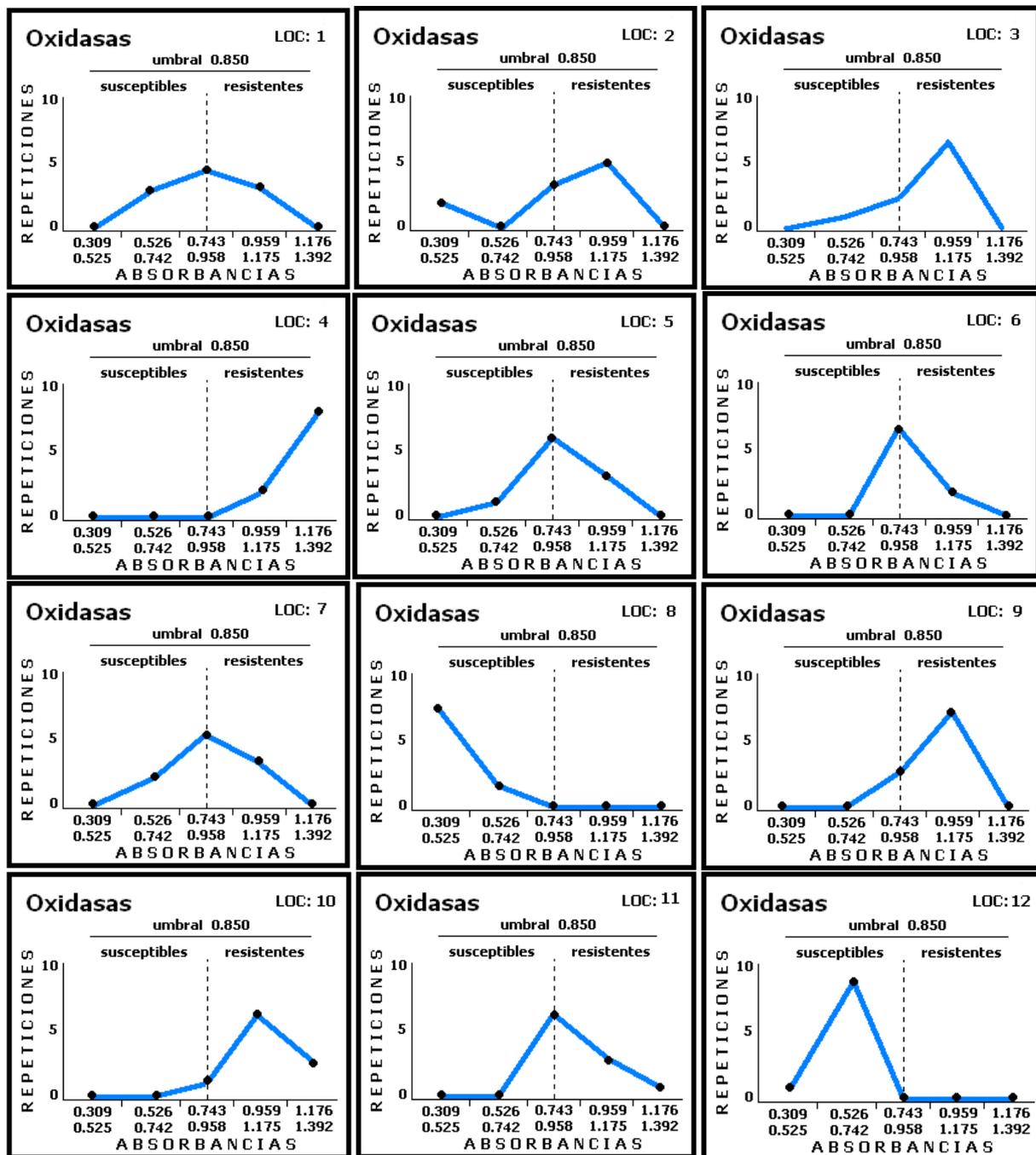
Con la finalidad de conocer la variación entre los individuos de cada localidad, como entre las poblaciones, los resultados se analizaron estadísticamente mediante el Software SAS System for Windows 9.0, para obtener análisis de varianza con un 0.05 % grado de significancia y comparaciones de medias mediante “diferencia mínima significativa” (dms), cuando las agrupaciones similares se traslaparon formando numerosos grupos estadísticos se compararon mediante el método de “tukey” para reducir agrupaciones y hacer mas marcada la diferencia.

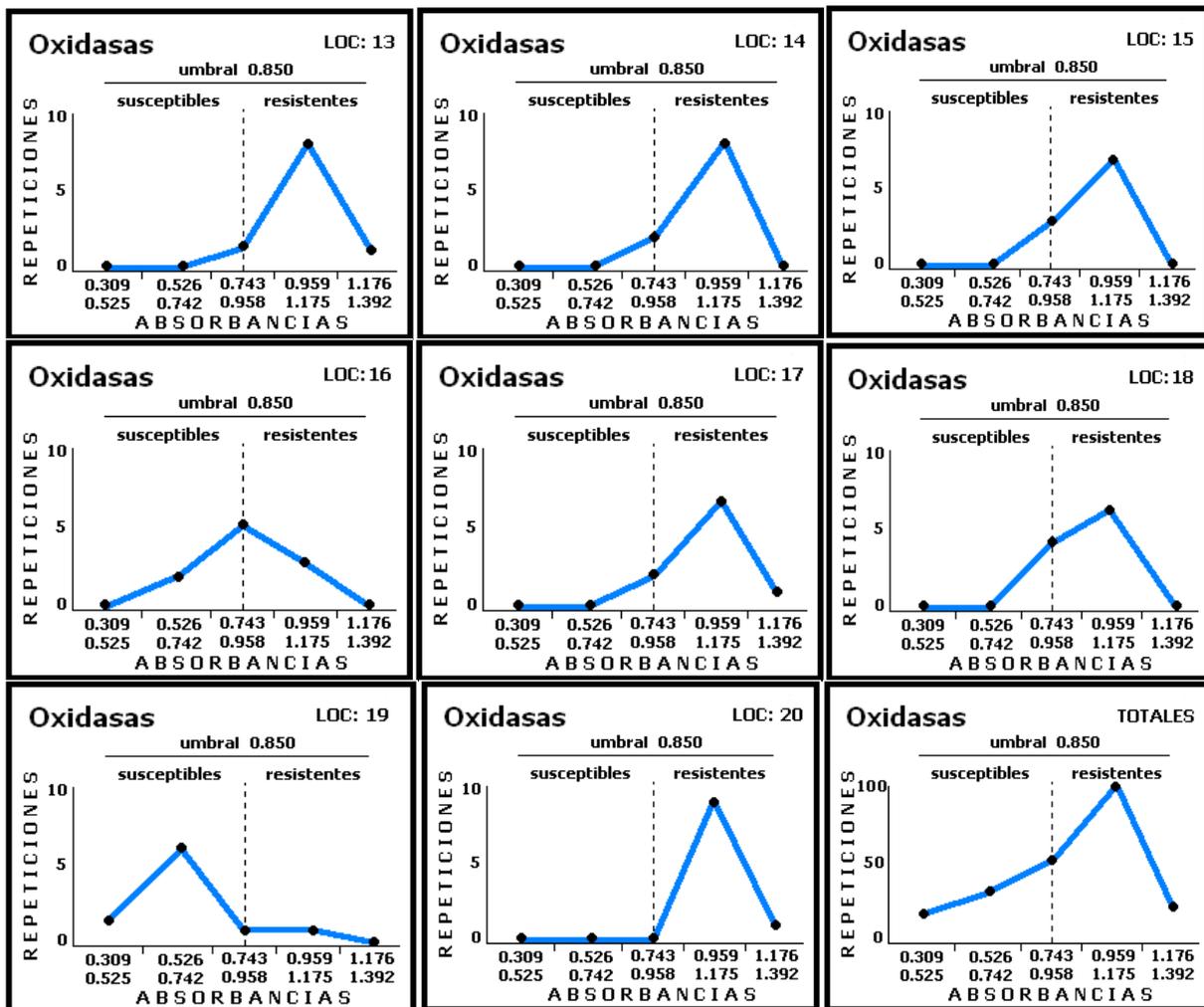
Los análisis estadísticos ayudaron a determinar la enzima prioritaria, tanto las diferencias entre ellas, como entre poblaciones, así como la distribución de la resistencia en las diferentes localidades de la zona papera; la proporción de resistencia se clasificó mediante la escala propuesta por (Montella *et al.*, 2007) con pequeñas modificaciones para contrastar los resultados, “inalterado” de 0-5 %, “incipientemente alterado” 6-30 %, “moderadamente alterado” de 30-50%, “alterado” de 51-75 %, “muy alterado” de 76-100 %, similarmente en la comparación de medias del contenido de enzimas, se formaron grupos de resistencia, bajo la siguiente escala ascendente: baja, medianamente baja, media, medianamente alta y alta, como los grupos que presentaron un traslape se correlacionaron con: la ubicación, proporción de resistencia y hospedero. Con ayuda de su ubicación geográfica satelital (GPS), nos permitió elaborar un mapa donde se señalan las agrupaciones de dichas localidades respecto a la enzima estudiada.



Respecto a la Figura 2, las poblaciones registraron alto contenido de β -Esterasas, dado que en 18 localidades, la proporción de resistencia fue del 100 %, tan solo las poblaciones 8 y 10 presentaron un 90 y 70 % respectivamente, dentro de ambas localidades se encuentra el 2 % de individuos susceptibles de todas las poblaciones, en general la actividad enzimática se considera “Muy Alterado” al presentar un 98 % de proporción de resistencia.

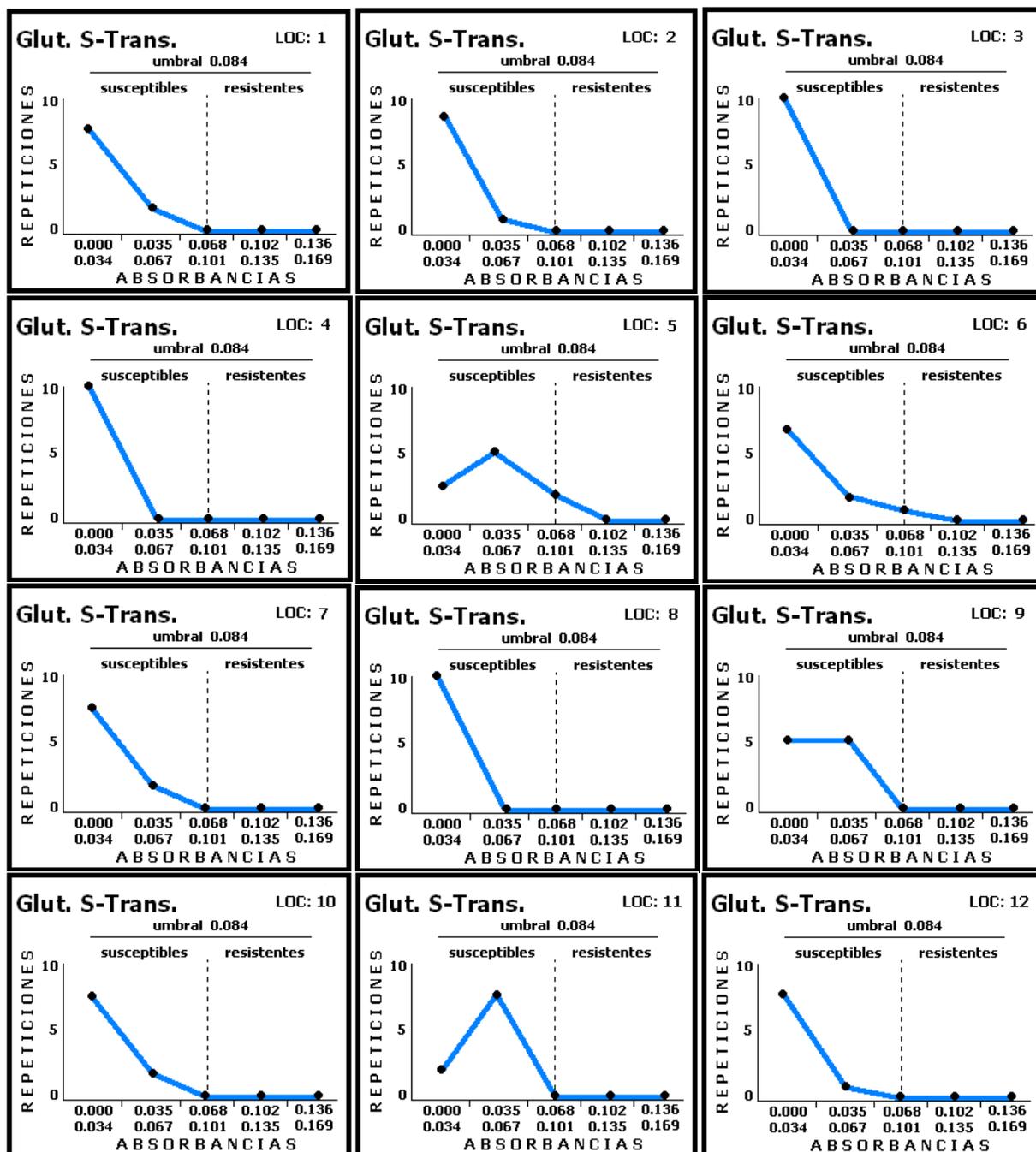
Figura 3. Contenido de Oxidasas en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.

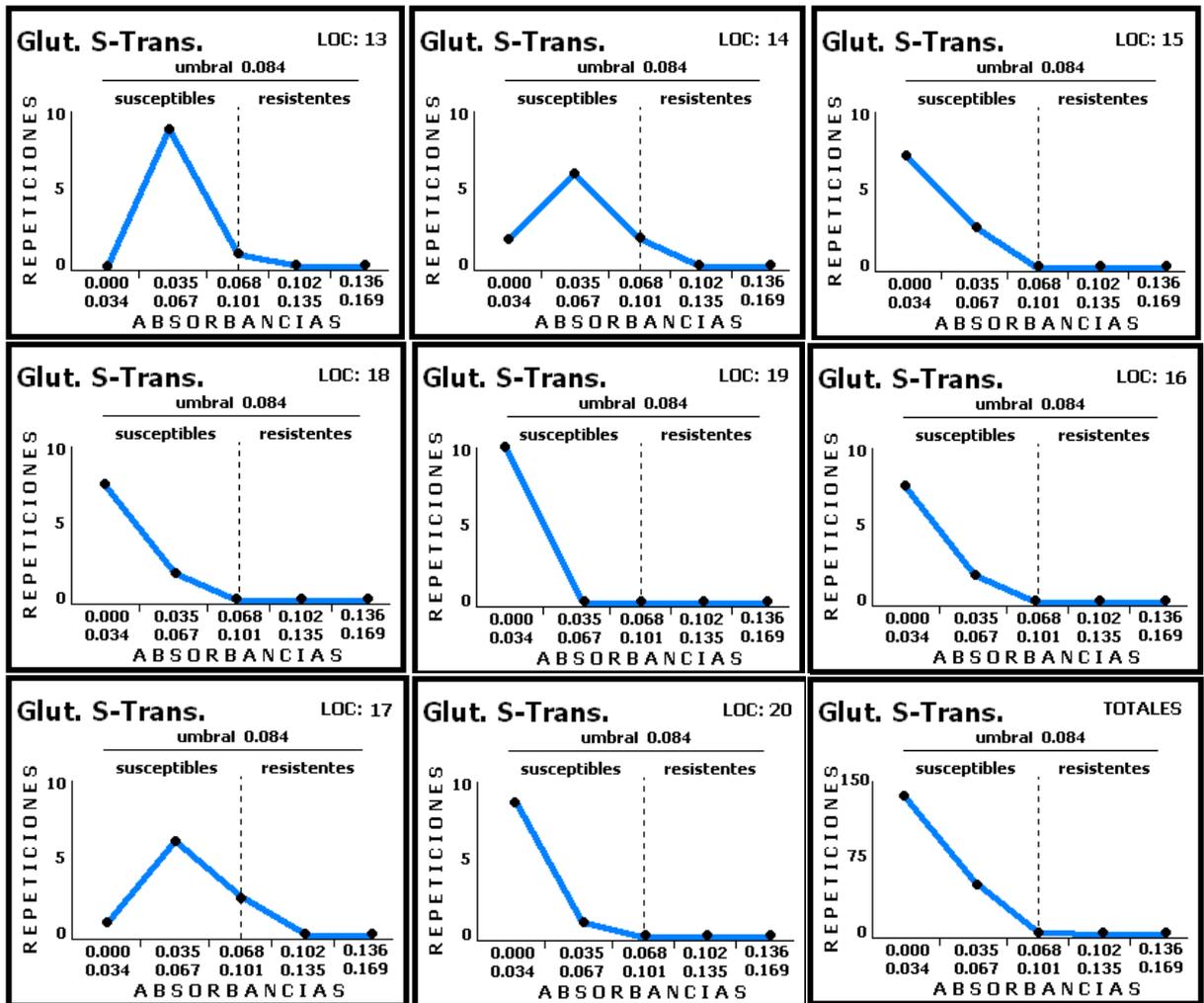




Analizando el conjunto de gráficas de la de Figura 3, se observa que las localidades: 4, 6, 10, 13, 14, 17 y 19 presentaron mayor contenido de Oxidasas llegando a registrar hasta un 100 % de proporción de resistencia, ya que todos sus valores rebasaron el umbral establecido, en las localidades 8 y 12 fueron las poblaciones en que ninguno de sus registros superó dicha referencia, por lo que se les atribuye un 0 %, en tanto las poblaciones: 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 15, 16, 18 y 20 registraron los porcentajes: 40, 60, 70, 60, 50, 90, 90, 90, 70, 80 y 10 respectivamente, resultando un total de 70.5 % de proporción de resistencia para todas las poblaciones, por lo que la actividad enzimática se considera “Alterado”.

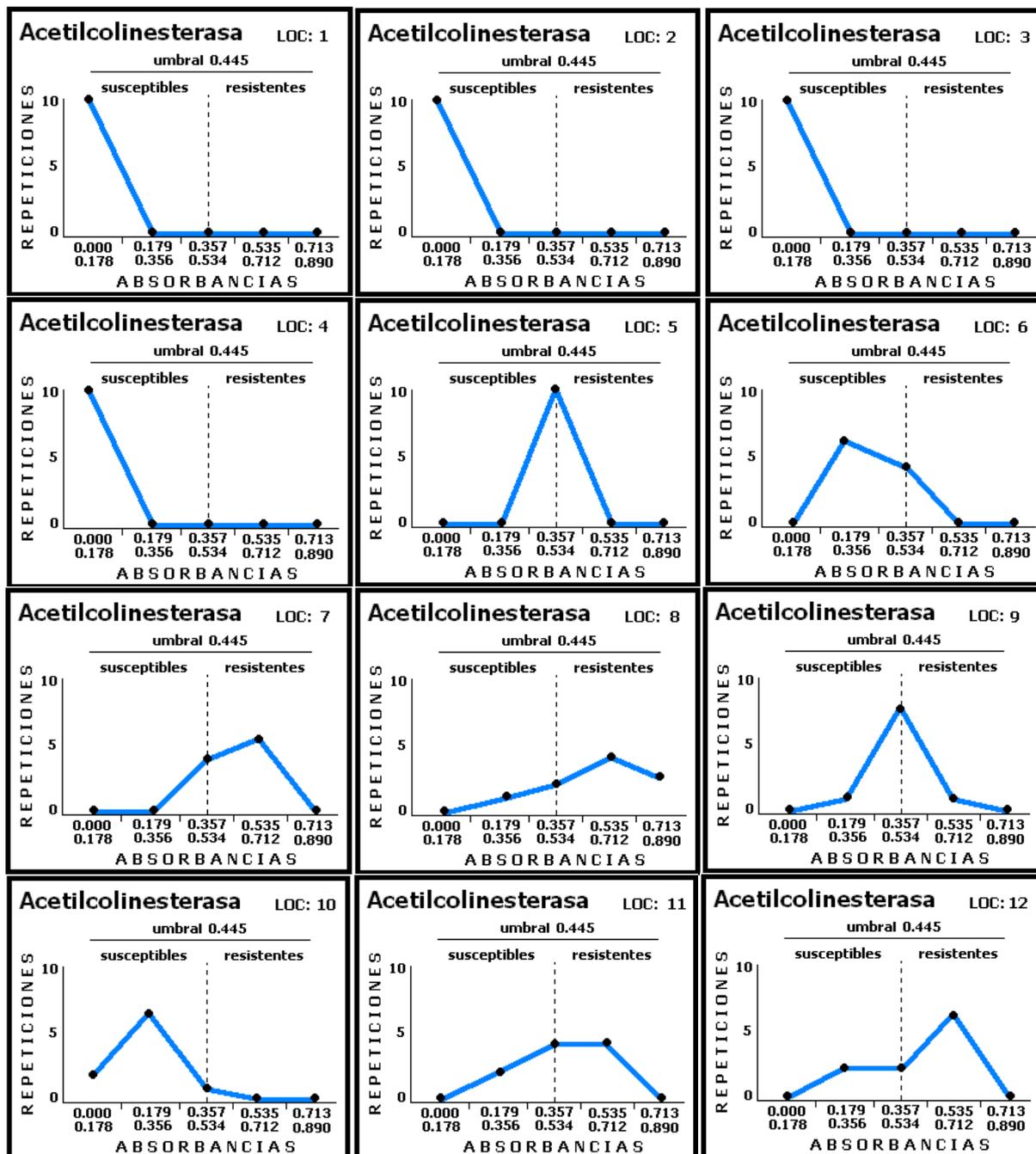
Figura 4. Contenido de Glutacion S-Transferasas en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.

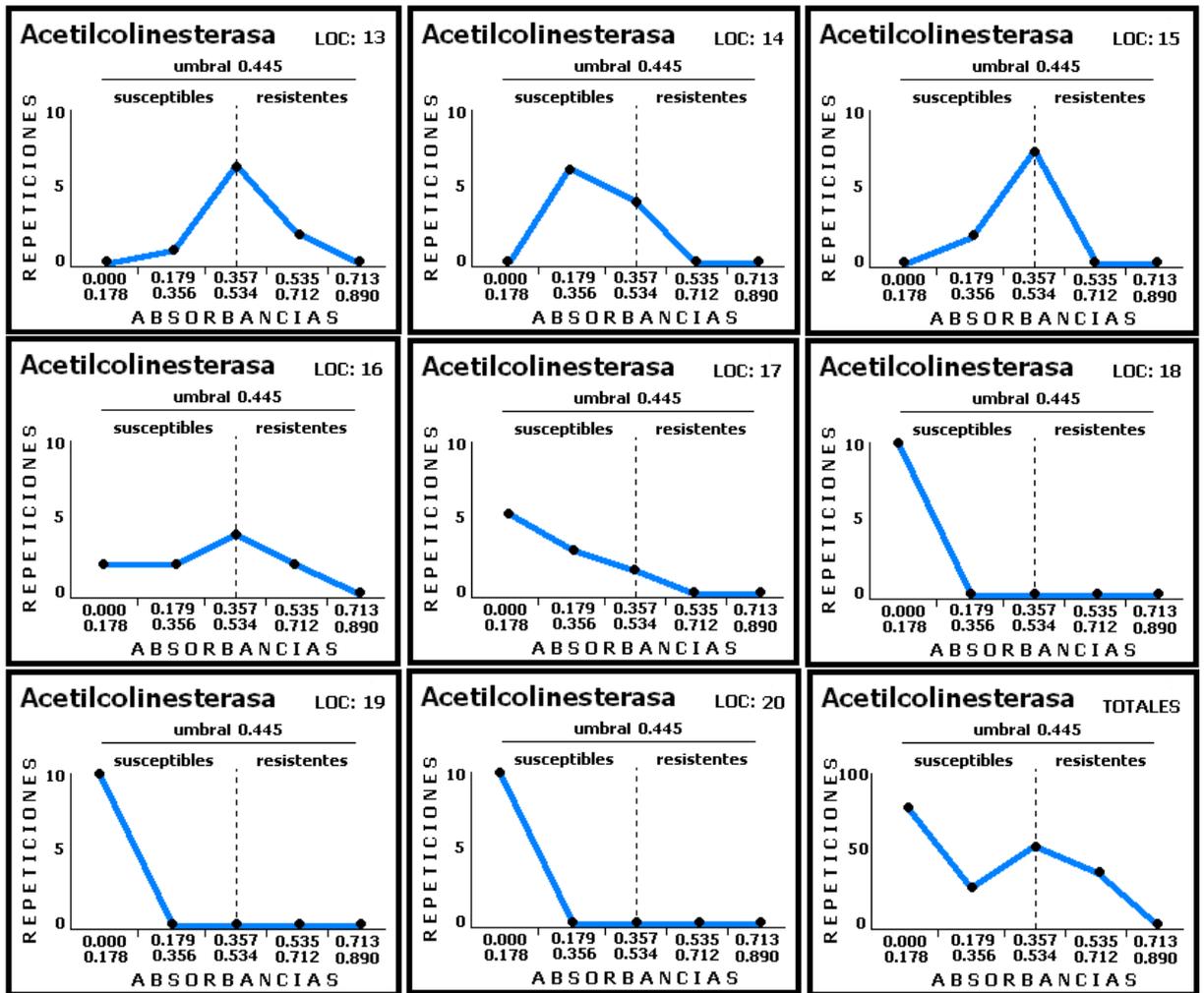




Como podemos observar en el conjunto de gráficos en la Figura 4, la mayoría de las poblaciones se encuentran por debajo del umbral de resistencia, solo las poblaciones 12, 14 y 17 las que registran un 10 % cada una, encontrándose tan solo un 1.5 % de proporción de resistencia entre todas las poblaciones. Dicha proporción es menor que el 5 %, por lo que la actividad enzimática se considera como “inalterado”.

Figura 5. Contenido de Acetilcolinesterasa en las 20 localidades respecto al umbral de resistencia, en la grafica “totales” se muestra el conjunto de todas ellas.





En relación al contenido de acetilcolinesterasas en la Figura 5, sobresalen las poblaciones: 7, 14 y 15 quienes presentaron elevada cantidad de acetilcolinesterasa, superando el umbral establecido, cada uno con un 100 % de proporción de resistencia, mientras que en las poblaciones: 1, 2, 3, 4, 10, 18, 19 y 20 registran un 0 %; en las localidades: 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 16 y 17 mostraron porcentajes de: 40, 20, 70, 50, 60, 70, 20, 30 y 10 respectivamente. En conjunto se reporta un 33.5 % de las poblaciones son resistentes mediante la producción de acetilcolinesterasas, la actividad enzimática esta comprendida entre 30 y 50 % por lo que se clasifica como “Moderadamente Alterado”.

Cuadro 2. Porcentajes de resistencia de cada enzima en todas las poblaciones.

Proporción de resistencia en %				
Pob.	β -Est.	Oxid.	GST.	ATChE.
1	100	40	0	0
2	100	60	0	0
3	100	70	0	0
4	100	100	0	0
5	100	60	0	40
6	100	100	0	20
7	100	50	0	100
8	90	0	0	70
9	100	90	0	50
10	70	100	0	0
11	100	90	0	60
12	100	0	10	70
13	100	100	0	20
14	100	100	10	100
15	100	90	0	100
16	100	70	0	30
17	100	100	10	10
18	100	80	0	0
19	100	100	0	0
20	100	10	0	0
\bar{X}	98	70.5	1.5	33.5

Cuadro 3. Clasificación de la actividad enzimática según las proporciones de resistencia.

Actividad enzimática		
Enzima	%	Clasificación
β -Est.	98	Muy Alterado
oxid.	71	Alterado
GST.	1.5	Inalterado
ATChE.	34	Moderadamente Alt.

En contraste con las gráficas anteriores, en el cuadro 2, se muestra la comparación de los porcentajes de proporción de la resistencia en cada población para cada enzima específica, se observa que, en la misma población varia la proporción de resistencia según la enzima estudiada, y que las β -Esterasas presentan poca variación en su cuantificación así como glutatión S-Transferasas ya que se presentan de forma uniforme, caso distinto en oxidasas y en acetilcolinesterasas, donde las proporciones son muy variadas.

Observando el cuadro 3, β -Esterasas resultó según montella *et al.* (2007) “Muy Alterado”, seguido de oxidasas, cuya actividad enzimática se considera “Alterado”, acetilcolinesterasa como “Moderadamente alterado”, por ultimo Glutatión S-Transferasas como “inalterado”.

Cuadro 4. Análisis de varianza del contenido de β -Esterasas en las 20 poblaciones.

Análisis de Varianza B-Esterasas					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
Trat.	19	3.55635966	0.18717682	8.64	0.000
Error	171	3.70633069	0.02167445		
Total	199	7.44991236			
C. V. =	4.272413	%			

Tomando en cuenta el coeficiente de variación en el Cuadro 4, se observa que la producción de β -Esterasas, entre las localidades de la zona papera en cuestión, se presenta de una forma homogénea, dado a que se encontró muy poca variabilidad entre dichas poblaciones.

Cuadro 5. Comparación de medias del contenido de β -Esterasas en las poblaciones.

β - Esterasas		
Comparación de medias (sign. 0.05)		
Trat.	Media	Agrupación
3	3.5061	A
5	3.5057	A
1	3.5003	A
9	3.4985	A
16	3.4961	A
4	3.4960	A
7	3.4940	A
15	3.4937	A
19	3.4922	A
2	3.4916	A
14	3.4875	A
13	3.4850	A
17	3.4840	A B
11	3.4817	A B
20	3.4800	A B
18	3.4582	A B
6	3.4375	A B
12	3.3855	A B
8	3.3545	B
10	2.8896	C
	dms=	0.13

En observación al Cuadro 5, del contenido de β -Esterasas, en la región muestreada se formaron cuatro grupos estadísticos; la población 3 registró la mayor cantidad de β -Esterasas presentes, seguido de las poblaciones: 5, 1, 9, 16, 4, 7, 15, 19, 2, 14 y 13, los cuales se encuentran dentro del primer grupo; en los grupos intermedios tenemos a: 17, 11, 20, 18, 6 y 12; la población 8 se incluye dentro de otro grupo intermedio, señalando que existe una diferencia significativa respecto a los anteriores. Por último la población más diferenciada entre ellas con el menor registro de absorbancias se encontró a la población 10, la cual es estadísticamente diferente a los demás debido a que en esta localidad el contenido de β -Esterasas se presenta en niveles bajos.

Cuadro 6. Análisis de varianza del contenido de Oxidasas en las 20 poblaciones.

Análisis de Varianza Oxidasas					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
Trat.	19	6.98963478	0.36787551	23.22	0.000
Error	171	2.70924452	0.01584354		
Total	199	9.83173078			
C. V. =	13.61225	%			

En relación al análisis de varianza el contenido de oxidasas de Cuadro 6, al igual que en β -Esterasas en las localidades muestreadas, la variabilidad es poca aunque en oxidasas es un poco mayor el coeficiente de variación respecto a la enzima antes mencionada.

Cuadro 7. Comparación de medias del contenido de Oxidasas.

Oxidasas (tukey)		
Comparación de medias (sign. 0.05)		
Trat.	Media	Agrupación
4	1.2257	A
6	1.1100	A B
10	1.1029	A B
13	1.0726	A B C
19	1.0601	A B C
17	1.0401	A B C
14	1.0112	B C E
11	0.9914	B C E
9	0.9898	B C E
3	0.9783	B C E
15	0.9622	B C E
18	0.9408	B C E
5	0.9180	B C E
16	0.8820	C E
7	0.8746	C E
2	0.8559	E
1	0.8348	E F
20	0.6396	F G
12	0.5795	G H
8	0.4243	H
dms=	0.2027	

Referente a la comparación de medias mediante el método “diferencia mínima significativa” (dms), se observó una numerosa formación de grupos estadísticos, dado que muchas de las agrupaciones resultantes presentaron traslape entre ellas, lo que los hace estadísticamente similares, por lo que se compararon mediante el método de “tukey” (Cuadro 7), alcanzando a reducir las agrupaciones, a su vez, se ve marcada la diferencia entre estas, donde resaltan la población 4 con el mayor contenidos de oxidasas y la población 8 como la localidad que presentó las menores cantidades.

Cuadro 8. Análisis de varianza del contenido de Glutación S-Transferasas en las 20 poblaciones.

Análisis de Varianza Glutación S-Transferasas					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
Trat.	19	0.03994798	0.00210253	6.85	0.000
Error	171	0.05248852	0.00030695		
Total	199	0.09485158			
C. V. =		56.3163	%		

En el Cuadro 8, encontramos un coeficiente de variación muy elevado, indicando que dentro de cada población el contenido de Glutación S-Transferasas es muy heterogénea resultado de la variabilidad de los individuos para la producción de la enzima en mención.

Cuadro 9. Comparación de medias del contenido de Glut. S-T. en las 20 poblaciones.

Glutación S-Transferasas		
Comparación de medias (sign. 0.05)		
Trat.	Media	Agrupación
14	0.0568	A
13	0.0559	A
17	0.0558	A
5	0.0505	A B
11	0.0416	A B C
12	0.0397	B C D
9	0.0368	B C D E
15	0.0304	C D E F
6	0.0285	C D E F
18	0.028	C D E F
1	0.0272	C D E F
7	0.0253	D E F G
8	0.0235	E F G
16	0.0221	E F G
19	0.0217	E F G
2	0.0188	F G
4	0.0175	F G
10	0.0159	F G
3	0.0151	F G
20	0.0111	G
dms=		0.0155

Simplificando el contenido del Cuadro 9. Obtenemos que las poblaciones: 14, 13 y 17 registraron mayor contenido de Glutación S-Transferasas, mientras que la población 20 fue la localidad en donde se presenta el menor contenido de esta enzima. Al igual que en los resultados obtenidos en oxidasas, se forman grupos intermedios, solo que en la cantidad de Glutación S-Transferasas entre las poblaciones es mas marcada la diferenciación de estos grupos estadísticos.

Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de Acetilcolinesterasa en las 20 poblaciones.

Análisis de Varianza Acetilcolinesterasas					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
Trat.	19	9.91639005	0.52191527	69.22	0.000
Error	171	1.2892762	0.00753963		
Total	199	11.32871095			
C. V. =	29.26214	%			

Referente al cuadro 10, se registra un coeficiente de variación elevado, aunque se presenta con menor heterogeneidad en comparación a Glutación S-Transferasas.

Cuadro 11. Comparación de medias del contenido de ATChE. en las 20 poblaciones.

Acetilcolinesterasa		
Comparación de medias (sign. 0.05)		
Trat.	Media	Agrupación
8	0.6091	A
15	0.5706	A B
7	0.5656	A B
14	0.5353	A B C
12	0.5105	B C D
11	0.4686	C D
9	0.4604	C D
13	0.4499	D E
5	0.4383	D E
6	0.3740	E F
16	0.3444	F
10	0.2365	G
17	0.2095	G
1	0.0423	H
3	0.0348	H
20	0.0230	H
2	0.0222	H
18	0.0196	H
19	0.0143	H
4	0.0058	H
dms=	0.0767	

Analizando la información del Cuadro 11, se observa que la localidad 8 fue la población que registró el mayor contenido de Acetilcolinesterasa; las poblaciones: 1, 3, 20, 2, 18, 19 y 4, se contemplan dentro de la agrupación con el menor contenido de dicha enzima, mientras que el resto de las localidades muestran traslape entre sus agrupaciones, formando grupos estadísticos intermedios.

Cuadro 12. Análisis de varianza del contenido de cada enzima en las 20 localidades.

Análisis de Varianza					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
Trat.	3	145.94	48.64666	1696.03	0.0001
Error	57	1.6349	0.028682		
Total	79	147.993			

C. V. = 14.42 %

Referente al Cuadro 12, podemos mencionar que el coeficiente de variación esta dentro de los rangos normales, enfatizamos que este ANVA es el mismo para la comparación de medias en los cuadros 13 y 14, ya que se emplea el mismo modelo en el programa estadístico.

Cuadro 13. Contenido total de enzimas en las 20 localidades.

Enzimas totales en 20 poblaciones		
comparación de medias (sign. 0.05)		
Trat.	Media	Agrupación
1	3.4456	A
2	0.9245	B
4	0.2977	C
3	0.0309	D
dms=		0.1072

1. β -Esterasas
2. Oxidasas
3. Acetilcolinesterasa
4. Glutación S-Transferasas

Concerniente al Cuadro 13, se contrastan las cantidades de cada una de las cuatro enzimas en las 20 localidades, se puede observar que en todas ellas el contenido de enzimas está grandemente diferenciadas entre ellas, ya que la comparación de medias nos arrojó cuatro grupos estadísticos, uno para cada enzima en específico, β -Esterasas fue la agrupación con mayor cantidad respecto a las demás enzimas, seguido de Oxidasas, Acetilcolinesterasa y Glutación S-Transferasas sucesivamente.

Cuadro 14. Contenido total de enzimas en cada población muestreada.

Enzimas totales en C/Población		
Comparación de medias (sign. 0.05)		
Trat.	Media	Agrupación
14	1.2727	A
13	1.2656	A
15	1.2640	A
9	1.2462	A
11	1.2456	A
7	1.2396	A
6	1.2373	A
5	1.2279	A
17	1.1972	A
16	1.1916	A
4	1.1860	A
19	1.1468	A
3	1.1333	A
12	1.1286	A
18	1.1115	A
8	1.1026	A
1	1.1009	A
2	1.0970	A
10	1.0611	A
20	1.0382	A
	dms=	0.24

Referente al Cuadro 14, donde se comparan las medias del total enzimas contenidas en todas las poblaciones, se observa que entre localidades no existe diferencia estadística dado a que el contenido de estas proteínas es uniforme, solo que en cada población ciertas enzimas están en diferente proporción. También se puede observar que la localidad 14 registró mayor contenido de enzimas, a su vez la localidad 20 (invernadero) se presentó en menor cantidad, probablemente se deba a que se ejerció poca presión de selección; al comparar el Cuadro 2, con las proporciones de resistencia determinadas por el método gráfico, encontramos una amplia relación, ya que la población con mayor cantidad de enzimas, registró los mas altos porcentajes de resistencia, mientras que la población 20, reportó los menores porcentajes, a su vez el resto de las poblaciones se ordenaron en una forma muy similar.

Cuadro 15. Porcentaje del incremento de enzimas respecto a la población 20.

Pobl.	Media	% Incrm.
14	1.2727	22.59
13	1.2656	21.91
15	1.2640	21.75
9	1.2462	20.04
11	1.2456	19.98
7	1.2396	19.40
6	1.2373	19.18
5	1.2279	18.27
17	1.1972	15.31
16	1.1916	14.78
4	1.1860	14.24
19	1.1468	10.46
3	1.1333	9.16
12	1.1286	8.71
18	1.1115	7.06
8	1.1026	6.21
1	1.1009	6.04
2	1.0970	5.66
10	1.0611	2.21
20	1.0382	0.00

Como se puede observar en el Cuadro 14, hacemos hincapié de que entre las medias no existe diferencia estadística, sin embargo sí observamos una variación en el contenido de las cuatro enzimas estudiadas, ya que se presenta una tendencia al incremento, por lo que en el Cuadro 15, se muestran los porcentajes del desarrollo de enzimas según la diferencia de la cuantificación entre ellas, tomando como referencia la población de menor cantidad en caso la localidad 20, dicha población fue recolectada en invernadero de la universidad Antonio Narro.

Por último, conjuntando toda la información formamos grupos de resistencia, ilustrándolos en mapas para cada enzima, en donde a cada población se comparó según la clasificación de la actividad enzimática propuesta por Montella respecto a la proporción de resistencia y su agrupación en la comparación de medias, quedando de la siguiente manera:

Figura 6. Mapa de la distribución de β -Esterasas.

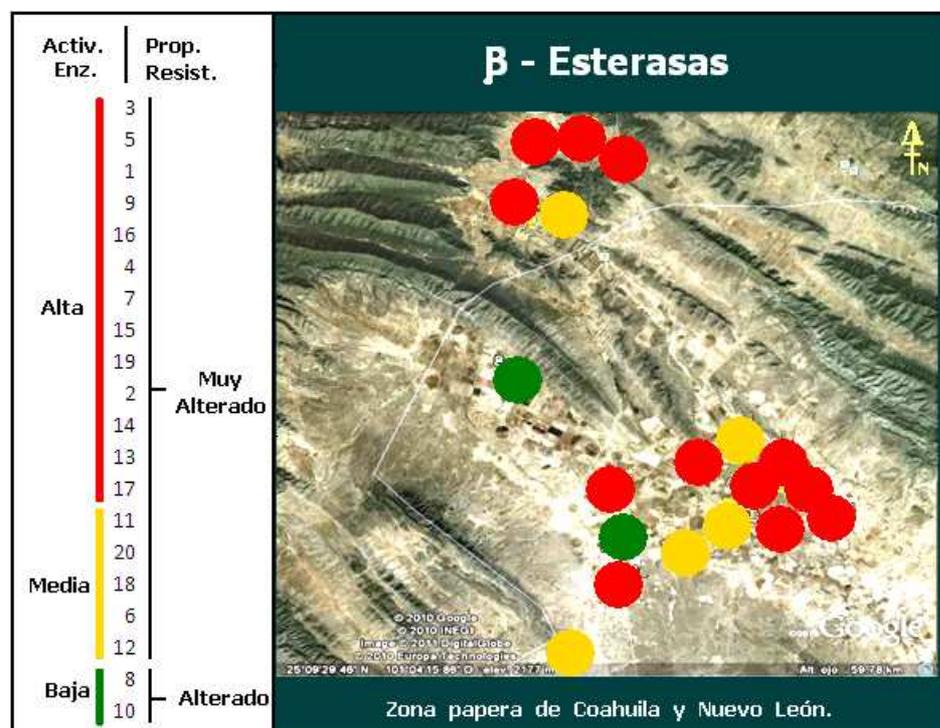


Figura 7. Mapa de la distribución de Oxidasas.

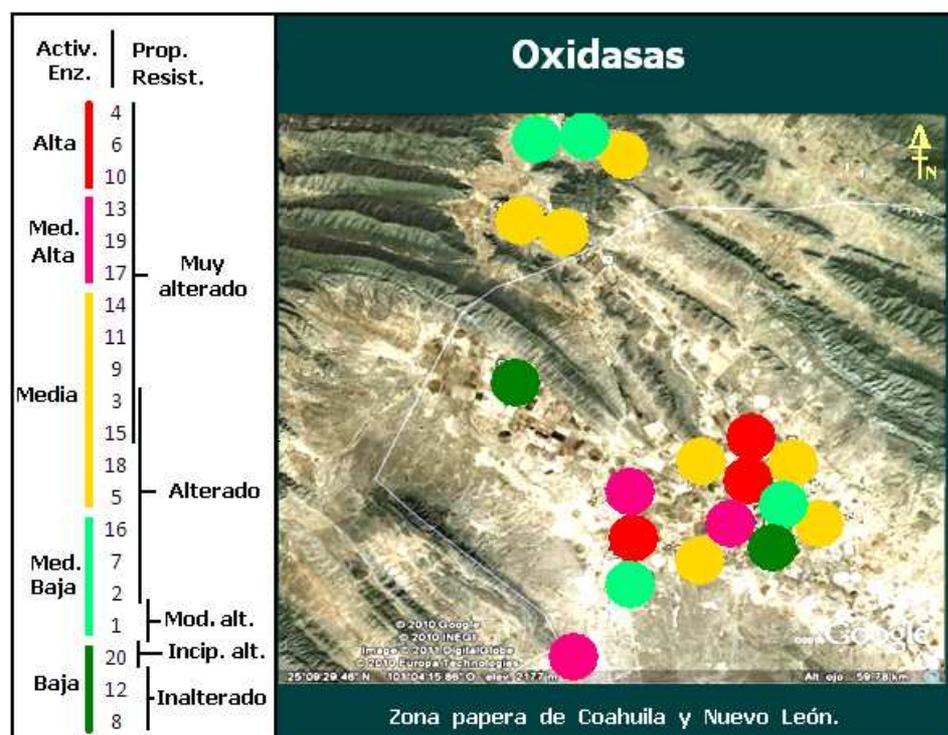


Figura 8. Mapa de la distribución de Glutation S-Transferasas.

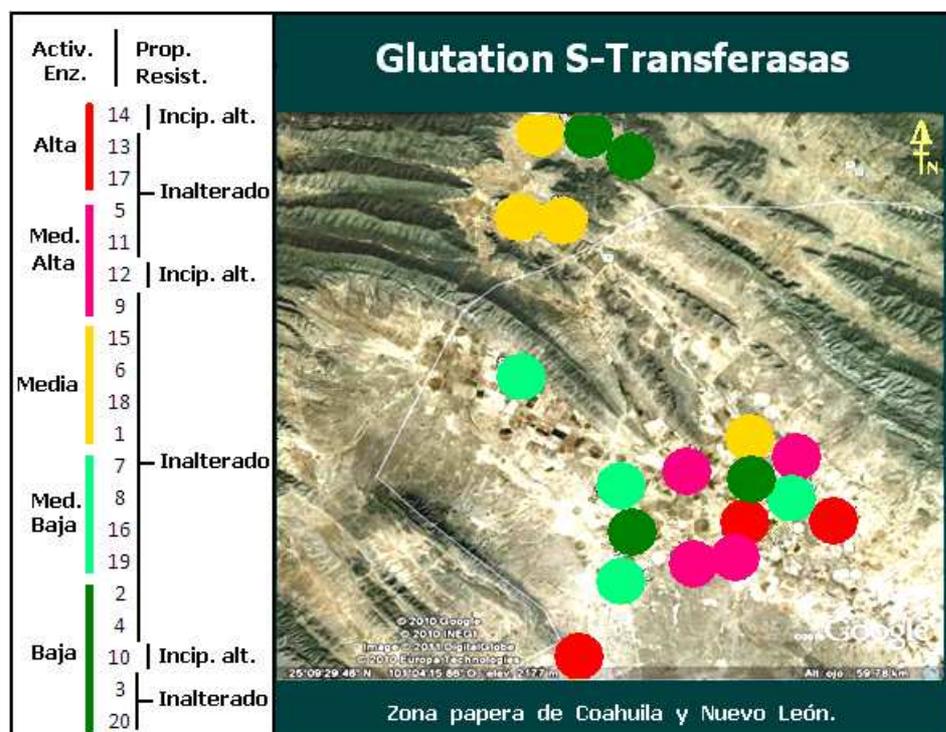
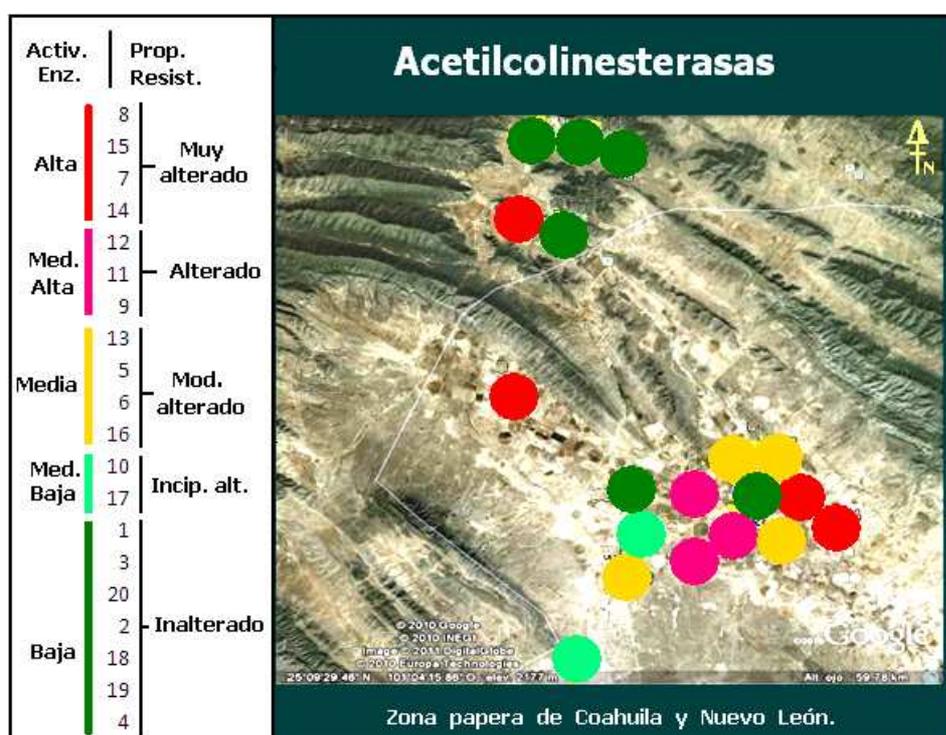


Figura 9. Mapa del la distribución de Acetilcolinesterasas.



DISCUSIONES

En la zona papera de Coahuila y Nuevo León la distribución de la resistencia mediante el mecanismo de β -Esterasas es de forma homogénea, alcanzando un 98 % de proporción de resistencia, Trabajos similares como el realizado por Ponce *et al.* (2009), reportan que las β -Esterasas registran los valores mas altos en adultos de *Aedes albopictus*; por su parte Flores *et al.* (2006) determina proporciones de resistencia del 100 % en mosquitos de *Aedes aegypti* relacionadas a enzimas (α - y β -Esterasas); estas son las responsables de resistencia, atreves de la detoxificación de organofosforados y carbamatos (Lee *et al.*, 1990; Georghiou, 1994; Pasteur y Raymound, 1996). Así mismo, otros autores mencionan que su actividad enzimática también esta asociada con resistencia a piretroides (Brogdon y Barber, 1990; Flores *at al.*, 2005, 2006).

Tomando en cuenta que las primeras poblaciones con mayor cantidad de β -Esterasas (véase Cuadros: 1, 2, 5), fueron recolectados en maleza, y papa mostrenca, por lo que podemos mencionar una relación Hospedero-Insecto-Actividad enzimática.

En relación a la papa mostrenca, son poblaciones que se les ejerció presión de selección y que después de la cosecha se establecieron en rastrojos y en los primeros brotes de papa olvidada. Respecto a la maleza se plantea que dichas poblaciones proceden de cultivos bajo presión de selección y que migraron para invernan en hospederos alternantes, por lo que la actividad enzimática es relativamente alta (Liu y Trumble, 2007).

Aunado a lo anterior, podemos mencionar que, los insectos que se alimentan del floema, inyectan saliva en los conductos y en los espacios extracelulares, para prever la respuesta de la planta sellan el sitio de alimentación (Van der Westhuizen *et al.*, 1998), la saliva contiene peroxidadas, β -glucosidasas y otros factores que generan enzimas en plantas (Milles, 1999), que aparentemente inducen la transcripción de genes asociados al estrés y a la producción de ácido salicílico y ácido jasmonico (Moran y Tompson, 2001), así como la producción de sustancias aleloquímicas las cuales en insectos inducen la producción de enzimas que pueden incrementar la tolerancia a pesticidas (Kennedy, 1984; Brewer *et al.*, 1995). Incluso los estados de desarrollo de la planta, pueden afectar la resistencia (Attah y Van Emden, 1993), como el cultivar seleccionado (Liu y Trumble, 2004).

Para el caso de oxidasas, se presentó una situación similar, donde la población 17 procedente de maleza cilindrillo (*lycium berlandlen*) se reportó como una de las localidades con alto contenido de oxidasas, sin embargo para las otras de enzimas el contenido fue relativamente bajo (figura 4 y cuadros: 1, 2 y 7), por lo anterior, podemos decir, que en la interacción hospederio-fitófago las plantas son promovidas a desarrollar mecanismos de defensa, en este caso como una barrera química para evitar ser consumidas (Brattsen, 1992). Principalmente aleloquímicos tales como metabolitos secundarios (glucósidos iridoides, furanocumarinas, terpenos, ácidos hidroxámicos), los cuales provocan efectos nocivos sobre el insecto, incluyendo efectos antialimentarios, antibióticos y deterrentes (Berenbaum y Zangerl, 1998).

Para alimentarse de sus plantas hospederas, los insectos fitófagos han desarrollado sistemas metabólicos para superar las defensas químicas producidas por sus plantas hospederas (Ahmad *et al.*, 1986). Estos sistemas de defensa involucran principalmente mecanismos de detoxificación basados en sistemas enzimáticos, los cuales pueden catalizar la degradación de aleloquímicos producidos por las plantas, transformándolos en compuestos polares de menor toxicidad y fácil eliminación (Berenbaum y Zangerl, 1998). Entre estos destacan enzimas como las Esterasas, Oxidasas de Función Múltiple, y Glutación S-transferasa (Berenbaum y Zangerl, 1998; Müller *et al.*, 2003).

Las Oxidasas de Función Múltiple, son una familia de enzimas que cumplen un importante rol en la degradación de esteroides y hormonas juveniles en insectos hemí y holometábolos, así como en la degradación de compuestos químicos de origen natural (fitotoxinas) o sintético (insecticidas) (Danielson *et al.*, 1998). Al observar que las poblaciones presentan elevada actividad enzimática y proporciones elevadas de resistencia (véase cuadros 2 y 7), así como la heterogeneidad en la que se presenta, deducimos que en la región papera en estudio, la producción de Oxidasas como mecanismo detoxificante depende tanto de la ubicación geográfica específica de cada población como de los factores que intervienen y/o inducen su producción para posteriormente generar resistencia.

En cuanto acetilcolinesterasa, a nivel región es muy heterogénea y se observa mucha variación en las proporciones de resistencia, tanto que la actividad enzimática entre individuos de la misma población también presentan mucha variabilidad (véase Cuadros 2, 10 y 11) en general se reporta un 33.5 % (Figura 4 y cuadro 2). Por lo que para la selección del plaguicida para el control de *Bactericera cockerelli* tendrá que tomarse en cuenta la ubicación geográfica de la localidad y grupo toxicológico de insecticidas usados anteriormente (Trumble, 1998).

Por otra parte, la Glutathion S-transferasas y la cantidad de enzima individual presente en insectos susceptibles y resistentes han demostrado ser uno de los factores responsables de la resistencia a varios insecticidas (Brattsten *et al.*, 1986; Paton *et al.*, 2000). Sin embargo en la zona papera del sur de Coahuila y Nuevo León, el contenido de Glutathion S-Transferasas no es un factor determinante para la presencia de resistencia de *Bactericera cockerelli* a insecticidas. Esto concuerda a los resultados obtenidos por (Díaz-Cristina *et al.*, 2004) donde la frecuencia de GST es muy baja.

Este sistema enzimático generalmente está involucrado en la resistencia a insecticidas organofosforados (Ortelli *et al.*, 2003) podemos deducir que la baja cantidad se debe a la elevada producción de β -Esterasas, ya que son el principales responsables de la resistencia a organofosforados (Bisset *et al.*, 1990). Aunque varios estudios correlacionan la resistencia a insecticidas con niveles incrementados de actividad de GST y la producción de diferentes isoformas (Ku *et al.*, 1994; Ranson *et al.*, 2002). Este sistema enzimático provee la forma más importante de resistencia metabólica en insectos al organoclorado DDT a través de la dehidroclorinación (Rodríguez *et al.*, 1998; Ortelli *et al.*, 2003). Dentro del Cuadro 8, encontramos un coeficiente de variación muy elevado, indicando que dentro de cada población el contenido de Glutathion S-Transferasas es muy heterogénea resultado de la variabilidad de los individuos para la producción de la enzima en mención.

CONCLUSIONES

En general, podemos mencionar que en la zona papera de Coahuila y Nuevo León, la resistencia mediante sistemas enzimáticos de detoxificación se da por la presencia de β -Esterasas, ya que fue la agrupación con mayor cantidad respecto a las demás enzimas, presentándose de forma homogénea entre las poblaciones, seguido de Oxidasas y Acetilcolinesterasa.

Además se encontró que las poblaciones con mayor cantidad de enzima, fueron aquellas recolectadas en maleza: (*Senecio salignus*), (*lycium berlandlen*) y papa mostrenca, corroborando la relación Hospedero-Insecto-Actividad enzimática.

Así mismo podemos mencionar, que el reservorio es uno de los factores que pudieran dificultar el control químico de este vector al observar una alteración en el contenido enzimático en poblaciones de *B. cockerelli* procedentes de maleza.

Proponiendo realizar futuros estudios enfocados en: el contenido de enzimas en maleza hospederas, cuantificación de enzimas de *Bactericera cockerelli* según el hospedero, y su interacción.

LITERATURA CITADA

- Abad, J. A.; Bandia, M.; French-Monar, R.D.; Liefting, L. W.; Clover, G. R. G. 2009. First report of the detection of “*Candidatus Liberibacter*” species in zebra chip disease-infected potato plants in the United States. *Plant Disease* 93 (1): 108.
- Abdullah, N. M. 2008. Life history of the Potato Psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) in Controlled Environment agriculture in Arizona. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 3 (1), pp. 060-067.
- Ahmad, S.; Brattsen, L.B.; Mullin, C. A. and Yu, S.J. 1986. Enzymes involved in the metabolism of plants allelochemicals. In: *Molecular Aspects of insect-plant Associations*. Eds: Brattsen, L.B. y Ahmad, S. Plenum press, NY. pp. 73-152.
- Al-Jabar, A. 1999. Integrated pest management of tomato/potato psyllid, *Paratrioza cockerelli* (SULC) (*Homoptera, psyllidae*) with emphasis on its importance in greenhouse grown tomatoes. Ph.D. Dissertation. Colorado State University, Fort. Collins, CO. p.89.
- Almeyda, L. I. H.; Sánchez, S J. A.; Garzón, T. J. A.; Zavala, Q. T. y Rubio, C. O. 2002a. Detección molecular del agente etiológico de la punta morada de la papa. CONPAPA (eds.) Memoria del XI Congreso Nacional de productores de Papa. León Gto. México. P. 52-57.
- Almeyda, L. I. H.; Sánchez, S. J. A. y Rubio, C. O. 2002b. Detección molecular de fitoplasma en insectos y malezas asociados al cultivo de l papa (*Solanum tuberosum*). In Fuentes, G. D. (ed.) Memoria del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Resumen P. 141.
- Almeyda, L. I. H.; Sánchez, S. J. A. y Garzón, T. J. A. 2004. Detección molecular de fitoplasmas en papa. Memoria de la XXI Semana Internacional del Parasitólogo: Simposium Punta Morada de la Papa, Saltillo, Coahuila, México. Pp 4-13.
- Almeyda, L. I. H.; Sánchez, S. J. A. y Garzón, T. J. A. 2008. Vectores causantes de punta morada en Coahuila y Nuevo León, México. *Agricultura técnica en México*. Abril-Junio. Año/vol. 32. Numero 02. Texcoco, México. Pp 141-150.
- Anderson, J. 2008. Observations on the effect of the potato/tomato psyllid on potato breeding trials at Pukekohe and comments on the possible consequences for the New Zealand potato industry. Crop & Food Research Confidential Report No. 2146, Crop & Food Research, Lincoln, New Zealand. P 7.

- Arce, F. A. 1996. El cultivo de la papa. Editorial Mundi-prensa. Madrid España. 179 p.
- Attah, P. K., Van Emden, H. F., 1993. The susceptibility to malathion of *Metopolophium dirhodum* on 2 wheat species at 2 growth stages, and the effect of plant growth regulators on this susceptibility. *Insect Sci. Appl.* 14, 101–106.
- Avilés, G. M. C.; Garzón, T. J. A.; Marín, J. A. y Caro, P. H. M. 2003. El Psilido del tomate: *Paratriza cockerelli* (Sulc): Biología, ecología y su control. *In: Taller sobre Paratriza cockerelli* como plaga y vector de fitoplasmas. Culiacán, México. Pp 21-35.
- Barbera C. 1989. Pesticidas agrícolas. Cuarta edición. Ediciones Omega S.A. Pp 506-507.
- Bautista, M. N. 2006. Insectos plaga, una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco Edo. De Méx. No. 306. CANIEM. 103 pp.
- Becerra, A. F. 1989. Biología de *Paratriza cockerelli* (Sulc) y su relación con la enfermedad del “Permanente del tomate” en el Bajío. Tesis de Licenciatura. Univ. Aut. De Qro., Ciencias Químicas. 55 p.
- Berenbaum, M. R. y Zangerl, A. R. 1998. Population-level adaptation to host-plant chemicals: the role of cytochrome P450 monooxygenases. *En: Genetic structure and local adaptation in natural insect populations.* Eds: Mopper, S. and Strauss, S. Y. (Chapman and Hall), 91-112.
- Beres, M.; Zavala, S. M. E.; Ríos, S. M.; Marín, J. A.; Rocha, R.; Leal, K. D. S. y Martínez, S. J. P. 1998. Etiología y Ecología del Agente Causal de los Síndromes “Bola de Hilo” y “Punta Morada” de la papa en México. Cong. Nal. De Productores de Papa. 2º Simposio Internacional de la Papa. Toluca, México. 4p.
- Bisset, J. A.; Rodríguez, M. M.; Díaz, C. and Ortiz, E. 1990. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Bull Entomol Res* 80:245-50.
- Bisset, J. A.; Rodríguez, M. M.; Molina, D.; Díaz, C.; y Soca, L. A. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *REV CUBANA MED TROP* 53(1): 37-43.
- Blood, H. L.; Richards, B. L.; Wann, F. B. 1933. Studies of psyllid yellows of tomato. *Phytopathology* 23: 930.
- Brattsen, L. B. 1992. Metabolic defenses against plant allelochemicals. *En Herbivores: Their interacciones with secondary plant metabolites.* Eds: Rosenthal, G. y Berenbaum, M. (Academic Press, CA.), 2: 175-242.

- Brattsten, L. B.; Holyoke, C. V.; Leeper, J. R. and Raffa, K. F. 1986 Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. *Science* 12:55-60.
- Bravo, L. G. A.; Galindo, G. G. y Amador, D. R. M. 2006. Tecnología de producción de chile seco. (INIFAP) Instituto nacional de investigaciones forestales agrícolas y pecuarias-Centro de investigación regional norte centro, Campo experimental Zacatecas. 5:110.
- Bravo, M. E. y López, L. P. 2007. principales plagas del chile de agua en los valles centrales de Oaxaca. *Agroproduce, Fundación Produce A. C.* Abril 7:12-15.
- Brewer, M. J.; Meade, T. and Trumble, J. T. 1995. Development of insecticide-resistant and -susceptible *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) exposed to furanocoumarins found in celery. *Environ. Entomol.* 24, 392-401.
- Brogdon, W. G. and Dickinson, C. M. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analyt. Biochem.* 131: 499-503.
- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990. Microplate assay of Glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito triturates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96: 339-342.
- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990b. Fenitrothion-deltamethrin cross resistance conferred by Esterasas in Guatemala *Anopheles albimans*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 37: 130-139.
- Brogdon, W. G.; McAllister and Vulule J. 1997. Heme peroxidase activity measured in single-mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 13: 223-237.
- Brown, T. M. and Brogdon, W. G. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 145-162.
- Burckhardt, D. and Lauterer, P. 1997. A taxonomic reassessment of the triozid genus *Bactericera* (Hemiptera: Psylloidea). *Journal of Natural History* 31: 99-153.
- Cadena, H. M. A.; Guzmán, P. R.; Díaz, M.; Zavala, T. E.; Almeyda L. H.; López, H. D.; Rivera, A. P. y Rubio, C. O. 2003. Distribución, incidencia y severidad del pardeamiento y la brotación anormal en los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Valles altos y sierras de los estados de México, Tlaxcala y el Distrito Federal, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21: 248-258.
- Campos, C. A. y Villarreal J. H. 1989. El cultivo de la papa. Monografía. Trabajo final del curso intensivo. ITESM. Monterrey, Nuevo León. México. 132 p.
- Castellanos, J. M. 2004. Para una agricultura orgánica sustentables e inocua; paratrizafin. Boletín informativo, Organic. S. A. de C. V. P 6.

- Carino, F. A.; Koener, J. F.; Plapp, F. W. and Feyereisen, R. 1994. Constitutive overexpression of the cytochrome P450 gene Cyp6A1 in a house fly strain with metabolic resistance to insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24: 411-8.
- Carrillo, R. H. 1984. Análisis de acción conjunta de insecticidas en larvas del gusano cogollero del maíz (J.E. Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) Tesis de maestría en ciencias. Centro de entomología y acarología. Colegio de Posgraduados. Chapingo, México, 82 pp.
- Carter, R. D. 1950. Toxicity of *Paratrioza cockerelli* to certain Solanaceous plants. Ph.D. Dissertation, University of California. p.128.
- Cepeda, S. M. y Gallegos, M. G. 2003. La papa. El fruto de la tierra. Editorial Trillas. Primera Edición. Octubre. 15-35.
- Cohen, M. B.; Koener, J. F. and Feyereisen, R. 1994. Structure and chromosomal localization of Cyp6A1, a cytochrome P450-encoding gene from the house fly. *Gene.* 146: 267-272.
- Cranshaw, W. S. 2007. Potato or tomato psyllids. *Insect Series Home & Garden.* No. 5:540.
- Crawford, D. L. 1911. American Psyllidae III. (Triozinae). *Pom. J. Entomol.* 3: 422-453.
- Cygler, M.; Schrag, J. D.; Sussman, J. L.; Harel, M.; Silman, I. and Gentry, M. K. 1993. Relationship between sequence conservation and three-dimensional structure in a large family of esterases, lipases and related proteins. *Protein Sci.* 2: 366-382.
- Danielson, P. B.; Foster, J. L. M.; McMahill, M. M.; Smith, M. K. and Fogleman, J. C. 1998. Induction by alkaloids and phenobarbital of Family 4 Cytochrome P450s in *Drosophila*?: evidence for involvement in host plant utilization. *Molecular and general genetics* 259: 54 - 59
- Delgadillo, F. S. 1999. Alteraciones histológicas causadas por fitoplasmas asociados al “permanente del jitomate” en Guanajuato. XXVI Nacional de Fitopatología. P. 320.
- Devonshire, A. L. 1990. Biochemical and molecular genetic analysis of insects populations resistant to insecticides. Brighton crop protection conference. Pest and Diseases. Pp 889-896
- Devonshire, A. L. and Moores G. D. 1984. Characterization insecticide-insensitive acetylcholinesterase: microcomputer based analysis of enzyme inhibition in homogenates to individual house fly (*Musca domestica*) heads. *Pestic. Biochem. Physiol.* 21: 341-348.
- Díaz-Cristina; Rodríguez, M. M.; Fresneda, M. y Bisset, J. A. 2004. Determinación de la actividad glutatión-S-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. *Rev. Cub. Med. Trop.* 56(2):111-116.

- Díaz, V. M.; Cadena, H. M. A.; Rojas, M. R. I.; Zavaleta, M. E.; Ochoa, M. D. and Bujanos, M. R. 2008. Responses of potato cultivars to the psyllid (*Bactericera cockerelli*) under greenhouse Conditions. *Agricultura Técnica en México*, Vol. 34, Núm. 4: 471-479
- FAO 1957. Technical report, No. 125
- Feng-Gao, J. J.; Xiangbing, Y. and Tong-Xian Liu. 2009. Zebra chip disease incidence on potato is influenced by timing of potato psyllid infestation, but not by the host plants on which they were reared. *Insect Science* 16: 399-408
- Ffrench, C. R. H.; steinchen J. C. and Brun, L. O. 1994. A molecular diagnostic for ndosulfan insecticide resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) *Bull. Entomol. Res.*84:11-16.
- Flores E. A.; Badii, M. H. y Ponce, G. G. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. Vol. 2 No.4 Octubre-Diciembre. 8 pp.
- Flores E. A.; Albeldaño, W. V.; Fernandez, I. S.; Badii, M. H.; Loaiza, M. H. B.; Ponce, G. G.; Lozano, S. F.; Brogdon, W. G.; Black IV, W. C. and Beaty, B. 2005. Elevated α esterase levels associated with permwtrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, Mexico. *Pestic. Biochem. Physiol.* 82: 66-78.
- Flores E. A.; Grajales, J. S.; Fernandez, I. S.; Ponce, G. G.; Loaiza, M. H. B.; Lozano, S.; Brogdon, W. G.; Black IV, W. C. and Beaty, B. 2006. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Souther Mexico. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*22: 672-677.
- Flores-Olivas. A.; Gallegos M. G.; and García M. O. 2004. Memorias del simposio punta morada de la papa. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro, Saltillo, Coahuila, Mexico. 103 p.
- Garza, E. U. y Rivas A. M. 2003. Manejo integrado de las plagas del chile y jitomate en la zona de San Luís Potosí. INIFAP-CIRNE. Campo experimental Ebano. Folleto para productores Num.5. San Luís Potosí, México. 47 p.
- Garzón, T. J. A. 1984. Enfermedad del “Permanente” del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en Celaya, Guanajuato XI Congreso Nacional de Fitopatología. San Luis Potosí, S. L. P. 1984. Resúmenes, Soc. Mex. Fitopatología 138 p.
- Garzón, T. J. A.; Garza, C.A. y Bujanos, M.R. 1986. Determinación del insecto vector de la enfermedad de tipo viral “permanente del tomate” (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en la región del Bajío. In: XIII Congreso Nacional de Fitopatología. Tuxtla Gutiérrez, Chis. Resúmenes. Soc. Mex. de Fitopatología, A.C. p.30.

- Garzón, T. J. A.; Garzón, C. J. A.; Velarde, F. S.; Marín J. A.; Cárdenas V. O. G. 2005. Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al “Permanente del tomate” por el psílido *Bactericera cockerelli* Sulc., en México. *Entomología Mex.* (4). México. p.: 672-675.
- Garzón, T. J. A.; Cárdenas-Valenzuela, O. G.; Bujanos, M. R.; Marín, J. A., Becerra, F. A.; Velarde, F. S.; Reyes, M. C.; González, C. M. y Martínez, C. J. L. 2009. Asociación de Hemiptera: Triozidae con la enfermedad ‘Permanente del tomate’ en México. *Agricultura Técnica en México* Vol. 35 Núm.1 1 de enero-31 de marzo 2009 p.: 61-72
- Georghiou, G.P. 1971. Resistance of insects and mites to insecticides and acaricidas and the future of pesticide chemicals. En: swift, J.E. (ed.) *Agricultural Chemical Harmony or Discord for Food People and Environment.* Univ. California Div. Agr. Sci. 151 p.
- Georghiou, G. P. y A. Lagunes. 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. FAO. Rome, Italy. 318 p.
- Georghiou, G. P. 1994. Principles of insecticide resisten management. *Phytoprotection* 75 Suppl.51-59
- Hansen, A. K.; Trumble, J. T.; Stouthamer, T. and Paine, T. D. 2008. A new huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllauros*”, found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* Sulc. *Appl. Environ. Microbiol.* 74(18):5862-5865.
- Hawkes, J. G. 1990. *The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources.* Smithsonian Institution Press. Washington D. C. 50-59.
- Hayes, J. D. and Pulford. D. J. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30: 445-600.
- Hernández-García, V.; Sánchez-Arizpe, A.; Frías-Treviño G. A. y Padrón-Corral, E. 2006. Factores abióticos y su relación con el síndrome de punta morada de la papa, p. C-17. *In Memoria de XXII Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa*, 30 Julio - 4 Agosto 2006 ALAP, Toluca, México.
- Hodkinson, I. D. 2009. Life cycle variation and adptation in jumping lice (Insecta:Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. *J. Nat. Hist.* 43:65-179.
- Huaman, Z.; Schmielidiche, P. y Wissar, R. 1988. Los recursos genéticos de la papa y su conservación. Centro internacional de la papa Toluca Edo. De México Agosto. 65-73.
- Hubert, J. J. 1980. *Bioassay.* Kendall/Hunt Pub. Co. USA. 164 p.

- Ibel, K.; May, R. P.; Kirscheer, K.; Szadkowski, H.; Mascher, E. and Lundahl, P. 1990. Protein-decorated micelle structure of sodium-dodecyl-sulfate proyein complexes as determinadesd by neutrón scattering. *Eur. J. Biochem.* 190: 311-318.
- Inés-Juárez, J. F. 2007. Crecimiento y producción de papa infestada con *Bactericera cockerelli* (Sulc) e inoculadas con *Verticillium dahliae* Kleb. y *Fusarium oxisporum* Schlecht, bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Univ. Aut. Agr. Antonio Narro. Buenavista, saltillo, Coahuila. 63 pp.
- Jensen, A.; Hamm, P.; Thomas, P. E.; Crosslin, J.; Munyaneza, J. E.; Schreiber, A. and Pike, K. 2004. Purple top and leafhoppers: an update. *Potato progress.* IV: 1-3.
- Kennedy, G.G., 1984. 2-Tridecanone, tomatoes and *Heliothis zea*: potential incompatibility of plant antibiosis with insecticidal control. *Entomol. Exp. Appl.* 35, 305–311.
- Knowlton, G. F. and Janes, M. J. 1931. Studies on the biology of *Paratrioza cockerelli* (Sulc). *Entomol. Soc. Am. Ann.* 24: 283-291.
- Ku, S. S.; Chiang, F. M.; Hsin, C. Y.; Yao, Y. E. and Sun, C. N. 1994. Glutathione transferase isozymes involved in insecticide resistance of diamondback moth larvae. *Pest Biochem Physiol* 50:191-7.
- Lagunes, T. A. Y J. Villanueva, J.1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillos, Edo. de México. 264 pp.
- Lee, J. G.; Pasteur, N. and Georghiou, G. P. 1990. Preliminary results of an Elisa test for detections of organophosphate-resistance in *Culex* populations due to increased detoxification by Esterasas. 58th Annual Conference of the California Mosquito and Vector Control association. 111-115.
- Liefting, L. W.; Perez-Egusquiza, Z. C.; Clover, G. R. G.; Anderson, J. A. D. 2008. A new ‘*Candidatus Liberibacter*’ species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* 92(10): 1474.
- Liefting, L. W.; Sutherland, P.W.; Ward, L. I.; Paice, K. L.; Weir, B. S.; Clover, G. R. G. 2009a. A new, ‘*Candidatus Liberibacter*’ species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93 (3): 208-214.
- Liefting, L. W.; Weir, B. S.; Pennycook, S. R.; Clover, G. R. G. 2009b. ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’, a liberibacter associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. In press. *In: New Zealand Plant Protection* 62: 136-144.
- List, G. M. 1935. Psyllid yellows of tomatoes and control of the psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc.), by the use of sulfur. *Journal of Economic Entomology* 28: 431–436.

- List, G. M. 1939. The potato and tomato psyllid and its control on tomatoes. Colorado Agricultural Experiment Station Bulletin 454: 33.
- List, G. M. 1939b. The effect of the temperature upon egg the position, egg hatch and nymphal development of *Paratyoza cockerelli* (Sulc). Colorado State College. Fort Collins. Jour. Econ. Ent. 32:30-36.
- Liu, N. and Scott, J. G. 1997. Phenobarbital induction of Cyp6D1 is due to a *trans* acting factor on autosome 2 in house flies, *Musca domestica*. Insect. Mol. Biol. 6: 77-81.
- Liu, D. and Trumble, J. T. 2004. Interactions of plant resistance and insecticides on the development and survival of *Bactericera cockerelli* [Sulc](Homoptera: Psyllidae). Crop Protection 24 (2005) 111–117.
- Liu, D. G.; Trumble, J. T. and Stouthamer, R. 2006. Genetic differentiation between Eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. Entomologia Experimentalis et Applicata 118(3): 177-183.
- Liu, D. G. and Trumble, J. T. 2007. Comparative fitness of invasive and native populations of the potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). Entomologia Experimentalis et Applicata 123 (1):35-42.
- Lorus, M. and Marguery, M. 1980. Field guide to North American insects and spiders. National Audubon Society. Alfred A. Knopf, New Cork. p 499.
- Luna, C. A. 2010. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc)(Hemiptera: Triozidae). Tesis de maestria. Colegio de postgraduados. 36 p.
- Marín J. A. 2004. Biología, ecología e identificación de insectos vectores en cultivo de papa. Memoria de la XXI Semana Internacional del Parasitólogo: Simposium Punta Morada de la Papa, Saltillo, Coahuila, México. Pp 84-96.
- Marín J. A.; Bujanos, M. R.; Delgadillo, S. F. 2009. Psiloideos y cicadélidos en el cultivo de la papa en el Bajío, Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México*, Vol. 35, Núm. 1, enero-marzo, 2009. Pp. 117-123
- Martin, N. A. 2008. Host plants of the potato/tomato psyllid: a cautionary tale. The Weta 35 (1): 12-16.
- Metcalf, R. L. 1989. Insect Resistance to Insecticides. Pestic. Sci. 26:333-358.
- Miles, P.W. (1999) Aphid saliva. *Biological Reviews*, 74: 41-85.

- Miles, G. P.; Buchman, J. L. and Munyaneza, J. E. 2009. Impact of Zebra Chip Disease on the Mineral Content of Potato Tubers. *American Journal of Potato Research: an official publication of the Potato Association of America*. Nov., v. 86, no. 6: 481-489.
- Montella, I. R.; Martins, A.J.; Fernandez, V.; Pereira, L.B.; Braga, I.A. And Valle, D. 2007. Insecticide resistance mechanism of Brazilian *Aedes aegyti* populations from 2001-2004. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77: 467-477.
- Montero, R. L. 1994. Ciclo de vida y factores de mortalidad del Psilido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc) (Homóptera: Psyllidae). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 50 p.
- Moran, P. J. and Thompson, G. A. (2001) Molecular responses to aphid feeding in Arabidopsis in relation to plant defense pathways. *Plant Physiology*, 125, 1074-1085.
- Müller, C.; Zwaan, B. J.; de Vos, H. and Brakefield, P.M. 2003. Chemical defence in a sawfly: genetic components of variation in relevant life-history traits. Institute of Biology, Leiden University, The Netherlands *Nature Publishing Group* 90: 468-475.
- Munyaneza, J. E. and Upton, J. E. 2005. Beet leafhopper (Hemíptera: Cicadellidae) transmits the Columbia Basin potato purple top phytoplasma to potato, beets, and weeds. *J. Economic Entomology*. 99:268-172.
- Munyaneza, J. E.; Crosslin, J. M. and Upton, J. E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “Zebra Chip,” a new potato disease in Southwestern United States and México. *J. Econ. Entomol.* 100: 656-663.
- Munyaneza, J. E.; Goolsby, J. A.; Crosslin, J. M. and Upton, J. E. 2007b. Evidence that Zebra Chip Potato Disease in the Lower Rio Grande Valley of Texas is Associated with *Bactericera cockerelli*. *Subtropical Plant Science*, 59:30-37.
- Oakeshott J.G., E.A. van Papenrecht, T.M. Boyce, M.J. Healy and R. J. Russell. 1993. Evolutionary genetics of *Drosophila* esterases. *Genetica*. 90: 239-268
- Ortelli, F.; Rossiter, L. C.; Vontas, J.; Ranson, H. and Hemingway, J. 2003. Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem J.* 373 (Pt 3): 957-63.
- Pasteur, N. and Raymonds, M. 1996. Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration and selection in field populations. *J. Heredity* 87: 444-449.
- Paton, M. G.; Karunaratne, S. H. P. P.; Giakoumaki, E.; Roberts, N. and Hemingway, J. 2000. Quantitative analysis of gene amplification in insecticide resistant *Culex* mosquitoes. *Biochem J.* 346:17-24.

- Pavlista, A. D. 2002. Potato (tomato) psyllids. Nebraska Potato Eyes. 4:1-4.
- Pavlista, A. D. 2002b. Leafhoppers. U. Nebraska Panhandle Research and Extension Center. Nebraska Potato Eyes Vol. (14): 4
- Percy, D. M. 2003. Legume-feeding psyllids (Hemiptera: Psylloidea) of the canary islands and madeira. *Journal of Natural History*. 37: 397-461.
- Pitman, A. R.; Drayton, G. M.; Kraberger, S. J.; Genet, R. A. and Scott, I. A. W. 2011. Tuber transmission of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” and its association with zebra chip on potato in New Zealand. *European journal of plant pathology*. Dordrecht : Springer Netherlands. Mar., v. 129, no. 3: 389-398 p.
- Pletsch, D. J. 1947. The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc), its biology and control. *Montana Agric. Exp. Stn. Bull.* 446: 95.
- Ponce, G. G.; Badii, M.; Mercado, R. y Flores, A. E. 2009. Esterases in *Aedes albopictus* (Skuse) from Northeastern Mexico. *Southwestern entomologist*. Vol: 34 (4): 477-484.
- Ranson, H.; Claudianos, C.; Ortelli, F. Abgrall, C. Hemingway, J. Sharakhova, M. V. 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science* 298:179-81.
- Richards, B. L. 1928. A new and destructive disease of the potato in Utah and its relation to potato psylla. *Phytopathology* 18:140–141.
- Rodríguez, M. M.; Bisset, J. A.; Rodríguez, I. y Díaz, C. 1998. Selección de una cepa de *Culex quinquefasciatus* resistente a lambda-diacialotrina y su espectro de resistencia cruzada a otros insecticidas. *Rev. Cubana Med. Trop.* 50(2):129-32.
- Rojas, R. P. 2010. Biología de *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoide de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). Tesis de maestría en fitosanidad, Entomología y acarología. Colegio de postgraduados. Carretera México-Texcoco Edo. De Méx. 48 p.
- Rowe, J. A. and Knowlton, G. F. 1935. Studies upon the morphology of *Paratrioza cockerelli* (Sulc). *Utah Acad. Sci. Arts. Lett.* 12:223-239.
- Rubio, C. O. A; Almeyda, L. I. H.; Ireta, M. J.; Sánchez, S. J. A; Fernández, S. R.; Borbón, S. J. T.; Díaz, H. C.; Garzón, T. J. A.; Rocha, R. R. y Cadena, H. M. A. 2006. Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* sulc. En las principales zonas productoras de papa en México. *Agricultura técnica en México*. Mayo-agosto. Año/vol. 32. Numero 02. Texcoco, México. Pp.: 201-211.

- SAGARPA. 2001. Secretaria de Agricultura, Ganaderia, desarrollo Rural, Pesca y Alimentacion. 2001. Direccion General de Sanidad Vegetal. Norma Oficial Mex. NOM-082-FITO-2001. <http://www.sagarpa.gob.mx>
- SAGARPA. 2008. *Anuario estadístico agropecuario*. SAGARPA, México, D. F. 276 pp.
- SAS Institute Inc. 2002. Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- Salas, M. M. A.; Flores O. A.; Sánchez A. A.; García, M. O.; Almeyda, L. I. H. y Garzón, T. J. A. 2006 Eficiencia de insectos vectores en la transmisión de fitoplasmas de la punta morada de la papa. *In: Memorias de XXII Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa*. Toluca, Estado de México. p. 0-1
- Secor, G. A.; Lee, I. M.; Bottner, K. D.; Rivera, V. V.; and Gudmestad, N. C. 2006 First report of a defect of processing potatoes in Texas and Nebraska associated with new phytoplasma. *Plant Disease* 90:377
- Segonda, V. G.; Munyaneza, J. E.; Crosslin J. M.; Buchman, J. L. and Rappu, H. R. 2010. Phenotypic and Etiological differences between psyllid yellows and zebra chip disease of potato. *American Journal of Potato Research*. 87: 41-49.
- SIAP. 2010. Servicio de Informacion y estadistica Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>
- Sulc, K. 1909. *Trioza cockerelli* n.sp., a novelty from North America, being also of economic importance. *Acta Society Entomologia Bohemiae* 6: 102-108.
- Teulon, D. A. J.; workman, P. J.; Thomas, K. L. and Nielsen, M. C. 2009 *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in new zealand. *New Zealand Plant Protection* 62: 136-144 (2009).
- Triplehorn, C. H. and Johnson, N. F. 2005. Borror and DeLong's introduction to the study of insects. Seventh edition. Thomson books/cole. pp. 268-332.
- Trumble, J. T. 1998. IPM: overcoming conflicts in adoption. *Integr. Pest Manage. Rev.* 3, 195–207.
- Twine, P. H. and Reynolds H. T. 1980. Relative susceptibility and resistance of the tobacco budworm to methyl parathion and synthetic pyrethroids in southern California. *J. Econ. Entomol.* 73: 339-242.
- Vais, H., Williamson, M. S.; Hick, C. A.; Eldursi, N.; Devonshire, A. L. and Usherwood, P. N. 1997. Functional analysis of a rat sodium channel carrying a mutation for insect knock-down resistance (kdr) to pyrethroids. *FEBS Lett.* 413: 427-332.

- Van der Westhuizen, A. J.; Qian, X. M. and Botha, A. M. 1998. Differential induction of apoplastic peroxidase and chitinase activities in susceptible and resistant wheat cultivars by Russian wheat aphid infestation. *Plant Cell Reports*, 18, 132-137.
- Vargas, C. I. I. 2005. Especies y fluctuación poblacional de cicadelidos y psilidos positivos a fitoplasmas en el cultivo de la papa y maleza aldeaña en Arteaga Coahuila. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 89 p.
- Vargas-Madríz, H. 2010. Morfometría y tablas de vida de *Bactericera cockerelli* (sulc) en dos variedades de tomate en invernadero. Tesis de maestría en fitosanidad, Entomología y acarología. Colegio de postgraduados. Carretera México-Texcoco Edo. De Méx. 123 pp.
- Vega, G.; Rodríguez, M.; Díaz, G.; Bujanos, M.; Mota, S.; Martínez, C.; Lagunes, T.; Garzón, T. 2008 Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones mexicanas del salerillo, *Bactericera cockerelli* (sulc) (Hemiptera: Triozidae) *Agrociencia*, Vol. 32. No. 4. Pp. 463-471.
- Wallis, R. 1955. Ecological studies on the potato psyllid as a pest of potatoes. USDA Technical Bulletin No. 1107: 25 pp.
- Zhou, Z. H. and Syvanen, M. A. 1997. A complex glutathione transferase gene family in the housefly *Musca domestica*. *Mol. Gen. Genet.* 256: 187-194.

APÉNDICE

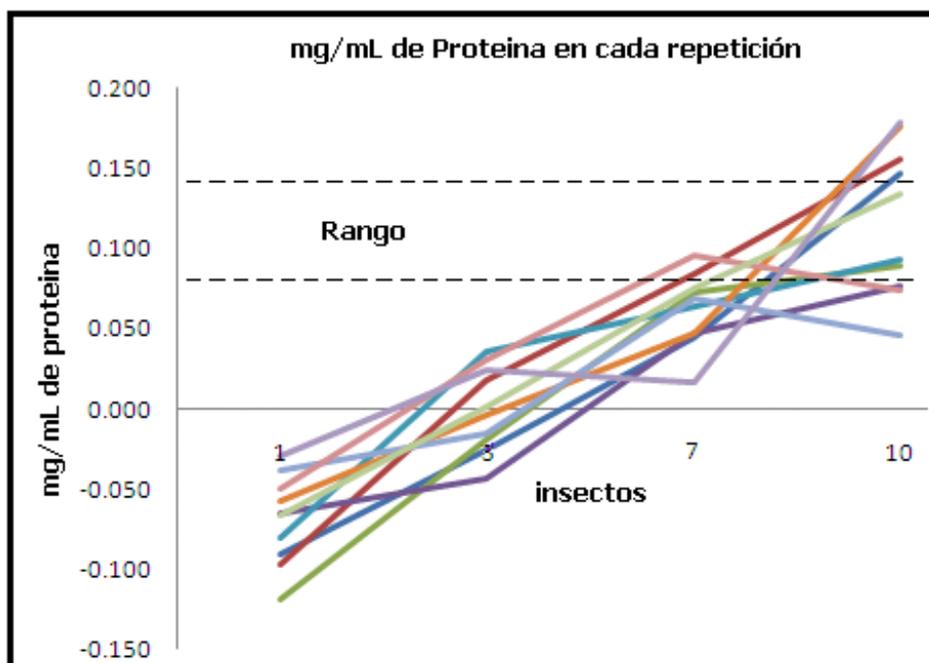
Cuadro 16. Absorbancias obtenidas en diferentes cantidades de insectos y sus medias.

r	Absorbancias			
	1	3	7	10
1	0.570	0.659	0.757	0.896
2	0.560	0.719	0.810	0.910
3	0.530	0.667	0.795	0.818
4	0.604	0.634	0.759	0.800
5	0.583	0.743	0.782	0.823
6	0.615	0.688	0.759	0.938
7	0.642	0.674	0.789	0.757
8	0.625	0.737	0.826	0.796
9	0.603	0.697	0.799	0.879
10	0.654	0.727	0.717	0.941
X	0.599	0.695	0.779	0.856

Cuadro 17. Enzimas totales, g/mL de proteína en 10 repeticiones y sus respectivas medias.

r	gr/mL de proteína			
	1	3	7	10
1	-0.090	-0.025	0.045	0.146
2	-0.097	0.018	0.084	0.156
3	-0.119	-0.020	0.073	0.089
4	-0.065	-0.044	0.047	0.077
5	-0.081	0.036	0.064	0.093
6	-0.058	-0.005	0.047	0.176
7	-0.038	-0.015	0.069	0.045
8	-0.050	0.031	0.096	0.074
9	-0.066	0.002	0.076	0.134
10	-0.029	0.024	0.017	0.179
X	-0.069	0.000	0.062	0.117

Figura 10. Grafica del contenido de enzimas en mg, en 10 repeticiones con diferente cantidad de insectos: 1, 3, 7 y 10; rango entre 80 y 140 $\mu\text{g/mL}$ de proteína.



Cuadro 18. Cuantificación de β -Esterasas en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.

β-Esterasas en 20 poblaciones																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	3.493	3.501	3.519	3.481	3.496	3.516	3.501	3.518	3.523	2.993	3.488	3.514	3.454	3.485	3.508	3.485	3.487	3.506	3.491	3.467
2	3.504	3.500	3.530	3.499	3.520	3.465	3.494	3.505	3.515	2.554	3.489	3.497	3.500	3.440	3.435	3.503	3.509	3.498	3.512	3.448
3	3.504	3.488	3.519	3.437	3.502	3.493	3.510	3.523	3.527	2.562	3.515	3.493	3.507	3.493	3.487	3.481	3.443	3.515	3.466	3.512
4	3.505	3.525	3.514	3.525	3.500	3.398	3.501	3.493	3.502	3.098	3.505	3.506	3.417	3.493	3.493	3.491	3.491	3.482	3.496	3.493
5	3.490	3.520	3.506	3.509	3.499	3.264	3.500	1.959	3.483	3.138	3.439	3.397	3.514	3.496	3.481	3.519	3.481	3.482	3.509	3.419
6	3.509	3.479	3.509	3.513	3.502	3.370	3.516	3.494	3.511	2.925	3.508	2.777	3.495	3.479	3.514	3.526	3.491	3.507	3.485	3.490
7	3.502	3.405	3.487	3.499	3.503	3.475	3.500	3.514	3.512	3.194	3.501	3.500	3.503	3.504	3.514	3.481	3.493	3.478	3.507	3.511
8	3.512	3.496	3.471	3.491	3.525	3.433	3.417	3.517	3.502	2.937	3.479	3.499	3.473	3.472	3.492	3.458	3.503	3.121	3.487	3.481
9	3.511	3.508	3.517	3.494	3.489	3.475	3.488	3.530	3.422	3.242	3.478	3.497	3.499	3.497	3.512	3.506	3.461	3.492	3.499	3.503
10	3.473	3.494	3.489	3.512	3.521	3.486	3.513	3.492	3.488	2.253	3.415	3.175	3.488	3.516	3.501	3.511	3.481	3.501	3.470	3.476
X	3.5	3.491	3.506	3.496	3.505	3.437	3.494	3.354	3.498	2.889	3.482	3.385	3.485	3.487	3.494	3.496	3.484	3.458	3.492	3.48

Cuadro 19. Cuantificación de Oxidasas en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.

Oxidasas en 20 poblaciones																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0.715	0.941	1.085	1.212	0.903	1.056	1.102	0.436	0.988	1.080	1.131	0.537	0.980	1.106	0.950	0.856	0.987	1.041	0.981	0.974
2	0.761	0.746	0.718	1.232	0.935	0.929	1.067	0.378	0.974	0.933	1.191	0.542	1.119	1.009	1.001	0.731	1.086	0.970	1.073	0.749
3	0.608	0.971	1.116	1.258	1.068	1.290	1.077	0.357	1.117	1.252	1.165	0.530	1.162	1.043	0.968	0.898	1.020	0.806	0.959	0.565
4	0.919	0.962	0.850	1.333	0.692	1.086	0.817	0.332	0.766	1.063	0.967	0.520	1.025	0.986	1.014	0.840	1.291	0.966	0.983	0.513
5	0.759	1.157	1.144	0.981	1.089	1.116	0.864	0.309	1.139	1.111	0.910	0.592	1.048	1.119	0.783	1.024	0.902	0.966	1.177	0.453
6	0.978	1.144	1.067	1.219	1.128	1.079	0.908	0.384	1.148	1.051	0.942	0.532	0.960	1.006	0.963	0.975	1.053	0.872	1.150	0.670
7	1.027	0.396	1.017	1.392	0.793	1.095	0.781	0.444	1.043	1.115	0.846	0.617	1.392	1.007	0.968	0.726	1.116	0.974	1.010	0.533
8	1.000	0.840	0.988	1.258	0.781	1.015	0.799	0.545	0.871	1.015	0.896	0.607	1.019	1.006	1.017	0.851	0.905	1.056	1.110	0.638
9	0.842	0.430	0.837	1.150	0.842	1.166	0.673	0.535	0.877	1.179	0.935	0.672	0.958	0.922	0.936	1.050	1.046	0.842	1.064	0.718
10	0.739	0.972	0.961	1.222	0.949	1.268	0.658	0.523	0.979	1.230	0.931	0.646	1.063	0.908	1.022	0.869	0.995	0.915	1.094	0.583
x	0.835	0.856	0.978	1.225	0.918	1.110	0.874	0.424	0.990	1.103	0.991	0.579	1.072	1.011	0.962	0.882	1.040	0.941	1.060	0.639

Cuadro 20. Cuantificación de Glutation S-Transferasas ($T_5 - T_0$) en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.

Glutation S-Transferasas en 20 poblaciones ($T_5 - T_0$)																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0.024	0.033	0.016	0.012	0.042	0.051	0.0130	0.030	0.008	0.036	0.032	0.023	0.047	0.095	0.023	0.028	0.047	0.027	0.013	0.011
2	0.022	0.040	0.016	0.013	0.028	0.082	0.0185	0.020	0.024	0.042	0.042	0.019	0.056	0.048	0.031	0.017	0.057	0.029	0.031	0.008
3	0.033	0.019	0.021	0.016	0.019	0.012	0.0305	0.023	0.038	0.003	0.039	0.017	0.044	0.065	0.025	0.007	0.036	0.023	0.032	0.003
4	0.037	0.005	0.020	0.013	0.051	0.013	0.0390	0.023	0.052	0.003	0.059	0.024	0.059	0.056	0.042	0.018	0.090	0.049	0.031	0.000
5	0.026	0.016	0.012	0.031	0.064	0.023	0.0245	0.034	0.061	0.018	0.032	0.024	0.077	0.017	0.023	0.038	0.040	0.049	0.013	0.012
6	0.028	0.014	0.006	0.025	0.066	0.028	0.0195	0.029	0.056	0.007	0.036	0.028	0.048	0.030	0.015	0.036	0.081	0.024	0.011	0.039
7	0.011	0.028	0.007	0.021	0.031	0.036	0.0255	0.019	0.014	0.014	0.036	0.168	0.055	0.065	0.014	0.022	0.047	0.030	0.017	0.016
8	0.021	0.015	0.008	0.019	0.068	0.029	0.0325	0.022	0.017	0.031	0.043	0.012	0.057	0.074	0.025	0.008	0.021	0.030	0.023	0.007
9	0.039	0.015	0.030	0.010	0.065	0.000	0.0355	0.027	0.065	0.000	0.056	0.056	0.063	0.059	0.057	0.032	0.078	0.009	0.031	0.013
10	0.031	0.003	0.015	0.015	0.071	0.011	0.0105	0.008	0.033	0.005	0.037	0.023	0.053	0.059	0.049	0.015	0.061	0.010	0.015	0.002
x	0.027	0.019	0.015	0.017	0.050	0.028	0.025	0.023	0.036	0.016	0.041	0.040	0.056	0.057	0.030	0.022	0.056	0.028	0.021	0.011

Cuadro 21. Cuantificación de Acetilcolinesterasa ($T_{10} - T_0$) en las 20 poblaciones y sus respectivas medias.

Acetilcolinesterasa en 20 poblaciones ($T_{10} - T_0$)																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0.059	0.032	0.031	0.000	0.460	0.438	0.500	0.546	0.461	0.282	0.579	0.429	0.441	0.651	0.571	0.335	0.137	0.036	0.032	0.024
2	0.038	0.035	0.031	0.005	0.438	0.525	0.743	0.890	0.682	0.140	0.548	0.598	0.321	0.639	0.694	0.294	0.127	0.013	0.021	0.067
3	0.043	0.025	0.041	0.004	0.404	0.489	0.462	0.401	0.511	0.127	0.383	0.627	0.636	0.449	0.541	0.155	0.155	0.038	0.016	0.019
4	0.029	0.013	0.045	0.001	0.438	0.334	0.681	0.383	0.380	0.183	0.315	0.515	0.416	0.460	0.543	0.380	0.198	0.024	0.013	0.007
5	0.049	0.024	0.021	0.011	0.376	0.296	0.475	0.345	0.434	0.278	0.430	0.559	0.415	0.702	0.445	0.499	0.211	0.024	0.010	0.025
6	0.047	0.014	0.035	0.012	0.432	0.325	0.554	0.794	0.491	0.279	0.454	0.317	0.432	0.447	0.552	0.065	0.116	0.018	0.002	0.021
7	0.035	0.030	0.030	0.001	0.483	0.310	0.629	0.707	0.478	0.387	0.595	0.567	0.391	0.511	0.574	0.365	0.189	0.006	0.009	0.018
8	0.030	0.019	0.040	0.005	0.506	0.299	0.579	0.703	0.418	0.227	0.555	0.347	0.420	0.453	0.683	0.425	0.479	0.013	0.011	0.018
9	0.045	0.014	0.033	0.011	0.448	0.355	0.479	0.549	0.347	0.225	0.347	0.594	0.613	0.449	0.506	0.567	0.117	0.015	0.018	0.014
10	0.048	0.016	0.041	0.008	0.398	0.369	0.554	0.773	0.402	0.237	0.480	0.552	0.414	0.601	0.597	0.589	0.362	0.009	0.011	0.017
x	0.042	0.022	0.035	0.006	0.438	0.374	0.565	0.609	0.460	0.236	0.468	0.510	0.450	0.536	0.570	0.367	0.209	0.019	0.014	0.023

Cuadro 22. Intervalos de frecuencia del contenido de β -Esterasas de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.

Intervalos de frecuencia β -Esterasas																							
Interv.	de	a	Poblaciones																				Total
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	1.959	2.273	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
2	2.274	2.587	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
3	2.588	2.901	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
4	2.902	3.215	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	0	0	0	0	0	1	0	8	
5	3.216	3.529	10	10	10	10	10	10	10	10	9	10	1	10	8	10	10	10	10	10	9	187	
Rebasan el umbral			10	10	10	10	10	10	10	10	9	10	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	196
% = Prop. Resist.			100	100	100	100	100	100	100	100	90	100	70	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98

Cuadro 23. Intervalos de frecuencia del contenido de Oxidasas de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.

Intervalos de frecuencia Oxidasas																							
Interv.	De	a	Poblaciones																				Total
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	0.309	0.525	0	2	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	13	
2	0.526	0.742	3	0	1	0	1	0	2	2	0	0	0	9	0	0	0	2	0	0	0	26	
3	0.743	0.958	4	3	2	0	6	1	5	0	3	1	6	0	1	2	3	5	2	4	0	49	
4	0.959	1.175	3	5	7	2	3	7	3	0	7	6	3	0	8	8	7	3	7	6	9	95	
5	1.176	1.392	0	0	0	8	0	2	0	0	0	3	1	0	1	0	0	0	1	0	1	17	
Revasan el umbral			4	6	7	10	6	10	5	0	9	10	9	0	10	10	9	7	10	8	10	1	141
% = Prop. Resist.			40	60	70	100	60	100	50	0	90	100	90	0	100	100	90	70	100	80	100	10	71

Cuadro 24. Intervalos de frecuencia del contenido de Glutation S-Transferasas de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.

Intervalos de frecuencia Glutation S-Transferasas																							
Interv.	de	A	Poblaciones																		Total		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18		19	20
1	0.000	0.034	8	9	10	10	3	7	8	10	5	8	2	8	0	2	7	8	1	8	10	9	133
2	0.035	0.067	2	1	0	0	5	2	2	0	5	2	8	1	9	6	3	2	6	2	0	1	57
3	0.068	0.101	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	3	0	0	0	9
4	0.102	0.135	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0.136	0.169	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Rebasan el umbral			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	3
% = Prop. Resist.			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	10	0	0	10	0	0	0	1.5

Cuadro 25. Intervalos de frecuencia del contenido de Acetilcolinesterasa de las 20 poblaciones y su proporción de resistencia.

Intervalos de frecuencia Acetilcolinesterasa																							
Interv.	De	a	Poblaciones																		Total		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18		19	20
1	0.000	0.178	10	10	10	10	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	5	10	10	10	79
2	0.179	0.356	0	0	0	0	0	6	0	1	1	7	2	2	1	0	0	2	3	0	0	0	25
3	0.357	0.534	0	0	0	0	10	4	4	2	8	1	4	2	7	6	2	4	2	0	0	0	56
4	0.535	0.712	0	0	0	0	0	0	5	4	1	0	4	6	2	4	8	2	0	0	0	0	36
5	0.713	0.890	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Rebasan el umbral			0	0	0	0	4	2	10	7	5	0	6	7	2	10	10	3	1	0	0	0	67
% = Prop. Resist.			0	0	0	0	40	20	100	70	50	0	60	70	20	100	100	30	10	0	0	0	34