

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



CÁMARA PORTÁTIL PARA EVALUAR INSECTICIDAS SISTÉMICOS EN
Bactericera cockerelli (Sulc.)

Tesis

Que presenta CAROLINA DELGADO LUNA
como requisito parcial para obtener el Grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASIOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Junio 2020

CÁMARA PORTÁTIL PARA EVALUAR INSECTICIDAS SISTÉMICOS EN
Bactericera cockerelli (Sulc.)

Tesis

Elaborada por CAROLINA DELGADO LUNA como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Sergio René Sánchez Peña
Asesor Principal



Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor



Dr. Oswaldo García Martínez
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera de la Fuente
Subdirector de Postgrado
LIAAN

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por abrirme sus puertas y brindarme la oportunidad de seguir creciendo.

A mi comité de tesis compuesto por los doctores Sergio René Sánchez Peña, Ernesto Cerna Chávez y Oswaldo García Martínez, por compartirme su conocimiento y apoyarme siempre que lo necesité.

Al CONACYT gracias por confiar en las mentes con amor por la ciencia y brindarles el apoyo para avanzar hacia sus metas.

A mis compañeros de generación de maestría; Ana María González Merino, Omar Jiménez Pérez, José Jonathan Guadarrama y José Ángel Gutiérrez Ramírez que siempre me brindaron su más sincero apoyo y amistad. Así mismo gracias a mis compañeros de la cámara siete, Moisés Felipe, Renato Villegas Luján y Francisco Javier López Monzón por su apoyo y los buenos momentos de convivencia y humor.

A mis padres Enrique Delgado González y Catalina Luna Hernández, por su apoyo incondicional y motivarme a cumplir mis sueños.

A mis hermanas María Inés Delgado Luna y Ana Karen Delgado Luna por motivarme y apoyarme moralmente en todo momento

Pero en especial, gracias a la persona que confió y vio en mí la capacidad de lograr lo que hoy está plasmado en esta tesis. Por brindarme su apoyo incondicional y ayudarme a creer en mí y en que soy capaz de lograr todo lo que me proponga.

Dedicatoria

A mis hijos: Enrique y Daniel

Posiblemente en este momento sus pequeñas mentecitas no logren comprender lo que su simple presencia significa en mi vida. Sin embargo, espero que para cuando sean capaces y miren atrás, se den cuenta de la gran motivación que son para mí. Espero un día poder ser su ejemplo, de que siempre se puede luchar y trabajar por lo que se quiere sin importar las circunstancias.

Gracias mis niños, por llegar a mi vida y llenarla de alegrías.

Índice

Agradecimientos.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Lista de cuadros.....	viii
Lista de figuras.....	x
Resumen.....	xii
Abstract.....	xiii
Introducción.....	1
OBJETIVOS.....	3
Revisión de literatura.....	4
Bioensayo de aplicación a suelo.....	4
Bioensayo hidropónico.....	4
Bioensayo de inmersión en placas Petri.....	5
Bioensayo de inmersión en invernadero.....	5
Planta de Tomate.....	5
<i>Bactericera cockerelli</i>	6
Materiales y métodos.....	8
Material utilizado para el armado de la Cámara Portátil.....	8
Armado de la Cámara Portátil.....	8
Planta de Tomate.....	10
Insectos.....	10

Colorantes.....	10
EVALUACIONES REALIZADAS.....	11
OBJETIVO 1. Determinar la capacidad de la hoja para translocar las sustancias de interés y colocarlas a disposición de consumo del insecto.....	11
EXPERIMENTO 1. Efecto de diferentes colorantes de grado alimenticio en foliolos y ninfas, para determinar la capacidad de los foliolos para translocar sustancias.....	11
EXPERIMENTO 2. Efecto de dos diferentes concentraciones de colorante azul en ninfas de segundo y tercer estadio.....	12
Insecticida.....	12
EVALUACIONES REALIZADAS.....	13
OBJETIVO 2. Determinar la actividad del insecticida sistémico Imidacloprid contra ninfas en esta cámara.....	13
EXPERIMENTO 3. Efecto de concentraciones subletales de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer instar.....	13
Experimento 4. Efecto de concentraciones altas de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer estadio.....	13
OBJETIVO 3. Determinar la actividad del insecticida sistémico imidacloprid contra adultos en esta cámara.....	14
EXPERIMENTO 5. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid en solución sobre adultos en cámaras con plántula.....	14
EXPERIMENTO 6. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid sobre adultos en cámaras con plántula y sustrato.....	15
Análisis Estadístico.....	15
Resultados y discusión.....	17

OBJETIVO 1. Determinar la capacidad de la hoja para translocar las sustancias de interés y colocarlas a disposición de consumo del insecto.....	17
EXPERIMENTO 1. Efecto de diferentes colorantes de grado alimenticio en foliolos y ninfas, para determinar la capacidad de los foliolos para translocar sustancias.....	17
Experimento 2. Efecto de dos diferentes concentraciones de colorante azul en ninfas de segundo y tercer estadio.....	18
Discusión.....	19
OBJETIVO 2. Determinar la actividad del insecticida sistémico Imidacloprid contra ninfas en esta cámara.....	23
EXPERIMENTO 3. Efecto de concentraciones subletales de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer instar.....	23
Experimento 4. Efecto de concentraciones altas de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer estadio.....	25
Discusión.....	26
OBJETIVO 3. Determinar la actividad del insecticida sistémico imidacloprid contra adultos en esta cámara.....	27
EXPERIMENTO 5. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid en solución sobre adultos en cámaras con plántula.....	27
EXPERIMENTO 6. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid sobre adultos en cámaras con plántula y sustrato.....	29
Discusión.....	30
Conclusiones.....	35
Literatura citada.....	36

Lista de cuadros

- Cuadro 1.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de tratamientos con diferentes colorantes de grado alimenticio.....17
- Cuadro 2.** Mortalidad registrada en los tratamientos con diferentes colorantes de grado alimenticio. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$).....17
- Cuadro 3.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de tratamientos con dos diferentes concentraciones de colorante azul.....18
- Cuadro 4.** Mortalidad registrada en los tratamientos con dos diferentes concentraciones de colorante azul. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$).....19
- Cuadro 5.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de los tratamientos de concentraciones subletales de imidacloprid en ninfas.....24
- Cuadro 6.** Mortalidad registrada en los tratamientos de concentraciones subletales de imidacloprid. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)24
- Cuadro 7.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de los tratamientos de concentraciones letales de imidacloprid en ninfas.....25
- Cuadro 8.** Mortalidad registrada en los tratamientos de concentraciones letales de imidacloprid. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$).....25
- Cuadro 9.** Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo) en los tratamientos en cámaras con planta sin sustrato..28

Cuadro 10. Mortalidad registrada en los tratamientos de cámaras con planta de tomate expuesta al insecticida en solución. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$).....28

Cuadro 11. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo) de los tratamientos en cámaras con planta y sustrato...29

Cuadro 12. Mortalidad registrada en los tratamientos de cámaras con planta de tomate expuesta a sustrato con insecticida. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$).....30

Lista de figuras

Figura 1. Cámara portátil utilizada en los experimentos. Base A y B de la cámara, orificio (a) y orificio (b) ubicados en la base A , orificio (a) localizado en la base B , tubo criovial con tapa (C) y tapa del tubo con orificio (D), vista de cámara portátil armada completa (E).....	9
Figura 2. Mortalidad en los tratamientos con diferentes colorantes de grado alimenticio.....	18
Figura 3. Mortalidad en tratamiento de dos diferentes concentraciones de colorante azul.....	19
Figura 4. Vista de hojas al término del experimento con colorantes.....	21
Figura 5. Presencia de colorante azul en las hojas.....	22
Figura 6. Ninfas de <i>B. cockerelli</i> con (b) y sin colorante (a).....	22
Figura 7. Cuerpo de ninfa con presencia de colorante azul en su interior.....	23
Figura 8. Mortalidad en tratamientos de concentraciones subletales.....	24
Figura 9. Mortalidad en tratamientos de concentraciones altas de imidacloprid en ninfas.....	26
Figura 10. Apariencia de folíolos al término del experimento 4.....	27
Figura 11. Mortalidad en los tratamientos con cámaras con planta de tomate expuesta al insecticida en solución	29
Figura 12. Mortalidad en los tratamientos con cámaras con planta de tomate expuesta al sustrato con insecticida.....	30
Figura 13. Mortalidad de adultos en cámaras sin sustrato a las 48 horas.....	33
Figura 14. Apariencia de plantas al término del experimento en cámaras sin sustrato.....	33

Figura 15. Cámara portátil con planta y sustrato, en concentración alta de imidacloprid al término del experimento.....34

Resumen

Es importante evaluar la efectividad de los productos químicos utilizados en el control de insectos plaga a través de bioensayos de susceptibilidad, en los cuales los insectos son expuestos al insecticida que se desea evaluar durante un periodo de tiempo, con el fin de encontrar una relación estímulo-respuesta. Las herramientas utilizadas en el monitoreo de la resistencia y efectividad biológica de insecticidas deben ser flexibles y de bajo costo para que puedan implementarse en áreas remotas y con pocos recursos. Por lo anterior en el presente trabajo se utilizó a *Bactericera cockerelli* (Sulc. 1909) (Hemiptera: Triozidae) el cual, es el insecto plaga más importante de las solanáceas en EE. UU., México, Nueva Zelanda y países de centro América. A causa del fuerte impacto económico que tiene este insecto plaga, los insecticidas se han convertido en la principal herramienta para controlar la enfermedad que transmiten. El uso intensivo de estos productos puede generar resistencia en el insecto, debido a esto es necesario desarrollar herramientas que sean flexibles y de bajo costo que ayuden a obtener información base sobre el grado de resistencia a los productos. El objetivo del presente trabajo fue determinar la utilidad de una cámara portátil para realizar bioensayos con insecticidas sistémicos. Se usó imidacloprid para estudiar su efecto en ninfas y adultos de *B. cockerelli* probando que es una herramienta útil en la evaluación de este tipo de productos químicos, sobre ninfas y adultos de *B. cockerelli*.

El resultado obtenido es línea base para la evaluación de diferentes insecticidas en otros insectos plaga.

Palabras clave: Cámara portátil, bioensayo, Insecticida sistémico, *Bactericera cockerelli*, tomate.

Abstract

It is important to evaluate the efficacy of the chemical products used to control pest insects through susceptibility bioassays, in which insects are exposed to the insecticide that you want to evaluate over a period of time, to find a stimulus-response relationship. The tools used to monitor the resistance and biological effectiveness of insecticides must be flexible and inexpensive so that they can be implemented in remote areas with few resources. Therefore, in this work, *Bactericera cockerelli* (Sulc. 1909) (Hemiptera: Triozidae) was used, which is the most important insect pest of nightshades in the USA, Mexico, New Zealand and countries of Central America. Due to the strong economic impact of this insect pest, insecticides have become the main tool to control the disease they transmit. The intensive use of these products can generate resistance in the insect, due to this it is necessary to develop tools that are flexible and of low cost that help to obtain basic information on the degree of resistance to the products. The objective of the present work was to determine the utility of a portable chamber to carry out bioassays with systemic insecticides. Imidacloprid was used to study its effect in nymphs and adults of *Bactericera cockerelli* (Sulc. 1909) (Hemiptera: Triozidae) proving that it is a useful tool in the evaluation of this type of chemical products, on nymphs and adults of *B. cockerelli*.

The result obtained can be a baseline for the evaluation of different insecticides in other pest insects.

Key words: chamber portable, bioassay, systemic insecticide, *Bactericera cockerelli*, tomato.

Introducción

Para poder implementar los insecticidas exitosamente en un programa integrado de plagas, se debe realizar una evaluación cuidadosa de la eficacia de los plaguicidas disponibles (Prabhaker *et al.*, 2006) Es importante evaluar la efectividad de estos productos químicos a través de bioensayos de susceptibilidad, en los cuales los insectos son expuestos al plaguicida que se desea evaluar, con el fin de encontrar una relación estímulo-respuesta. (Busvine 1971, Banki 1978, Hubert 1980, Lagunes *et al.*, 2009). En general las herramientas usadas en el monitoreo de la resistencia y efectividad biológica de insecticidas deben ser flexibles y de bajo costo para que puedan implementarse en áreas remotas y con pocos recursos. En el caso específico de insecticidas sistémicos, las evaluaciones de su efectividad biológica deben de tomar en cuenta las particularidades de su modo de acción: movimiento del insecticida en la planta y a través del suelo o follaje; velocidad de movimiento; concentración del insecticida en diferentes partes de la planta; residualidad, etc.

Liu y Trumble (2005) usaron plantas de tomate en macetas; una semana después de haber tratado el suelo con imidacloprid para evaluar la interacción de resistencia entre variedades de tomate e insecticidas, en el desarrollo y supervivencia de *B. cockerelli*. Echegaray y Rondón (2017) evaluaron la actividad residual y efecto de diferentes insecticidas en ninfas y adultos de *B. cockerelli* sobre plantas de papa (*Solanum tuberosum*) en condiciones controladas de invernadero. Para las evaluaciones con adultos utilizó una cámara clip en las hojas, para el confinamiento de los insectos. Prabhaker *et al.*, 1995, 1997 desarrollaron un bioensayo hidropónico para evaluar mortalidad y desarrollo de resistencia a imidacloprid en *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) (Homoptera: Aleyrodidae) Utilizaron plantas de algodón (*Gossypium hirsutum*) con dos hojas verdaderas y raíz, colocadas dentro de pequeños contenedores donde se colocaron las concentraciones a evaluar. Los insectos fueron confinados en pequeñas cámaras clips colocadas sobre las hojas. Posteriormente Prabhaker *et al.*, (2006) realizaron modificaciones en este mismo bioensayo para evaluar

mortalidad en *Homalodisca coagulata* (Say) (Hemiptera: Cicadellidae) sobre brotes de cítricos. Un bioensayo debe simular el contacto transitorio entre el insecto y el insecticida (Sternberg *et al.*, 2014). En el presente trabajo se utilizó a *B. cockerelli*, que es la plaga más importante de las solanáceas en EE. UU., México, Nueva Zelanda y países de Centro América (Munyanza 2015). *B. cockerelli* es vector de enfermedades en plantas de papa, chile (*Capsicum annuum*) y tomate (Melgoza-Villagómez *et al.*, 2018). En el caso del cultivo de tomate la enfermedad es conocida como “permanente del tomate”, los síntomas que presenta la enfermedad son; reducción del crecimiento y tamaño, decoloración de las hojas apicales, desarrollo de meristemas axilares, enchinamiento, atrofia, enrollamiento y necrosis de los tejidos hasta el colapso de la planta (Mendoza *et al.*, 2018, Delgado *et al.*, 2019). En el cultivo de papa a la enfermedad se le conoce como “Zebra chip” se caracteriza por brotes morados a cloróticos, oscurecimiento radial del tubérculo, lo que ocasiona pérdida en la calidad de freído y sabor mermando su calidad comercial, en ocasiones las plantas enfermas llegan a presentar tubérculos aéreos (Crosslin y Munyanza 2009). En Chile los síntomas son; crecimiento apical clorótico o verde pálido, hojas acucharadas o ahuecadas, acortamiento de entrenudos y retraso en el crecimiento general de las plantas (Munyanza *et al.*, 2009).

Debido al fuerte impacto económico que tiene este insecto plaga, los insecticidas se han convertido en la principal herramienta para controlar la enfermedad. Actualmente para su control se lleva a cabo el uso intensivo de insecticidas tales como; Carbofuran, Ciantraniliprole, Dinotefuran, Fenpropatrin, Imidacloprid, Pyriproxyfen, Spiromesifen, Spirotetramat y Thiametoxan, (Vega *et al.*, 2008, Dávila *et al.*, 2012; Echegaray *et al.*, 2016; Echegaray y Rondón 2017). El uso indiscriminado de estos químicos puede generar resistencia en el insecto plaga. Para conocer el grado de resistencia a los productos, es necesario desarrollar una herramienta flexible y de bajo costo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la utilidad de la cámara portátil en la evaluación de la efectividad biológica de insecticidas sistémicos contra *B. cockerelli*.

Objetivos específicos

1. Determinar la capacidad de la hoja para translocar las sustancias de interés y colocarlas a disposición de consumo del insecto.
2. Determinar la actividad del insecticida sistémico Imidacloprid contra ninfas en esta cámara.
3. Determinar la actividad del insecticida sistémico imidacloprid contra adultos en esta cámara

Revisión de literatura

Bioensayo de aplicación a suelo

Ésta es una de las técnicas más utilizadas, la cual consiste en aplicar las concentraciones a evaluar en el suelo cerca del tallo de la planta. El tiempo de absorción puede variar dependiendo de las características fisicoquímicas del suelo entre otros factores. En general se utilizan plantas jóvenes en macetas, que son utilizadas después de tratar el suelo con las concentraciones a evaluar. El tiempo de absorción puede ser de 48 horas, posteriormente los insectos adultos son colocados y confinados en pequeñas cámaras clips sobre las hojas de la planta, el registro de mortalidad se puede realizar a partir de las 24 horas de exposición (Prabhaker *et al.*, 1995, 1997; Echegaray y Rondón, 2017). Para evaluaciones sobre estadios juveniles, las plantas con suelo tratado son colocadas dentro de jaulas de cría. Posteriormente las observaciones se realizan sobre las ninfas emergidas (Liu y Trumble 2005 y 2007; Szczepaniec *et al.*, 2019).

Bioensayo hidropónico

Este bioensayo fue desarrollado por Prabhaker *et al.*, en 1997. Las semillas son germinadas en vermiculita, cuando presentan hipocotilos, se transfieren a un tanque hidropónico para su mayor crecimiento. Cuando las plantas están en su etapa de dos hojas verdaderas, se transfieren a recipientes de 1000 mL, donde se colocan las concentraciones de insecticida sistémico en solución. Las plantas se dejan por 24 horas para permitir la absorción del insecticida, transcurrido el periodo de absorción se colocan adultos sobre hojas. Las hojas con adultos se colocan dentro de jaulas clip para su confinamiento. Este bioensayo puede ser adaptado para realizar evaluaciones en otros insectos y plantas (Prabhaker *et al.*, 1999).

Bioensayo de inmersión en placas Petri

Esta técnica fue diseñada para la evaluar insecticidas de contacto, a la cual se le ha realizado hecho diversas modificaciones y adaptaciones para trabajar con diferentes especies de insectos. El bioensayo consiste en sumergir discos de hojas durante 30 segundos en las concentraciones a evaluar, posteriormente se dejan secar durante una hora. Cuando los discos están listos se colocan dentro de las placas Petri, donde previamente se ha colocado agar. Para evaluaciones con adultos, estos son anestesiados con dióxido de carbono y posteriormente colocados dentro de las placas Petri sobre los discos de hoja. El registro de mortalidad se realiza a las 24 horas de colocar los insectos, se considera muerto al individuo que no reacciona al estímulo con un pincel de punta fina (Prabhaker *et al.*,2006).

Bioensayo de inmersión en invernadero

Consiste en rociar completamente la planta o sumergir las hojas sin desprenderlas por 30 segundos en las concentraciones a evaluar, posteriormente se dejan secar por completo. En estas hojas tratadas previamente se colocan cámaras clip con un número determinado de adultos dentro, el registro de mortalidad se realiza a las 24 horas. (Prabhaker *et al.*,2006, Echegaray y Rondón 2017).

Planta de Tomate

El cultivo de tomate (*L. esculentum*), pertenece a la familia de las solanáceas. Es una planta herbácea de hojas imparimpinnadas, tallo largo y voluble, con sistema radicular pivotante, profundo y poco ramificado. Sus flores se agrupan en inflorescencias simples o ramificadas que varía entre 5 y 12. Los frutos inicialmente son verdes y se van tornando rojos conforme van madurando. Desde

la siembra hasta la cosecha el transcurren entre tres meses y medio a cuatro, dependiendo de la variedad y condiciones del medio ambiente. Se cultiva en zonas templadas y cálidas, la temperatura optima es de 20 a 24°C. Prefiere suelos profundos, mullidos, bien aireados y con buena proporción de materia orgánica, con pH ligeramente ácido (Blancard, 2011).

Bactericera cockerelli

B. cockerelli, conocido como pulgón saltador, psílido de la papa y el tomate, o salerillo, es una plaga de metamorfosis incompleta, de gran importancia en cultivos de solanáceas debido a que ocasiona daños directos al alimentarse de la planta e indirectos al ser vector de la bacteria Candidatus Liberibacter solanacearum, o Lso (Badii *et al.*, 2000, Vargas *et al.*, 2011). El ciclo de vida se completa entre 25 a 33 días, con una temperatura optima de 26-27°C y 60-70% de humedad relativa. Las hembras ovipositan entre 300 y 500 huevecillos en 21 días aproximadamente, en los bordes o parte inferior de las hojas, preferentemente en el estrato medio de la planta (Pack 1930, Knowlton y James 1931, Bravo *et al.*, 2006, Abdullah 2008, Vargas-Madríz *et al.*, 2011).

Huevo

Son ovoides un filamento en uno de sus extremos, que los adhiere a la superficie de las hojas. Miden en promedio de 0.42 mm de largo por 0.21 mm de ancho; recién ovipositados son casi transparentes, y van cambiando de color anaranjado-amarillento en su emergencia; son depositados separados en el envés de la hoja o cerca del borde de la misma (Marín *et al.*, 1995, Gómez *et al.*, 2008).

Ninfa

Presenta cinco estadios ninfales, cuerpo oval, dorso-ventralmente aplanados, ojos bien definidos, antenas con rinarios (órganos sensores). Conforme alcanza diferentes estadios los rinarios son más notorios y aumentan en número. Alrededor del cuerpo presentan sectosetas, estructuras cilíndricas con un filamento ceroso. El abdomen tiene un poro anal por donde secretan la mielesilla o salerillo como se le conoce comúnmente. A partir del tercer estadio ninfal se comienzan a apreciar los paquetes alares, mientras que en el quinto tienen coloración verde claro y se aprecia bien definida la segmentación entre cabeza, tórax y abdomen. El abdomen es semicircular, con un par de espiráculos en cada uno de los primeros cuatro segmentos (Marín *et al.*, 1995, Gómez *et al.*, 2008).

Adulto

Recién emergidos son amarillo o verde claro, con alas blancas. Los adultos maduros tienen una coloración café oscura o negra, antenas filiformes y alas transparentes. Las hembras presentan cinco segmentos abdominales visibles, más el segmento genital donde se ubica un pequeño ovipositor. En la parte media dorsal tienen una mancha en forma de Y invertida. Los machos adultos presentan seis segmentos abdominales, más el genital que se encuentra plegado sobre la parte media dorsal del abdomen. En contraste a las hembras los machos carecen de la mancha en forma de Y invertida y en el dorso se observan los genitales en forma de pinza (Marín *et al.*, 1995, Gómez *et al.*, 2008).

Materiales y métodos

Material utilizado para el armado de la Cámara Portátil

La cámara utilizada está basada en el diseño propuesto por el ing. Álvaro Romero, con modificaciones: La cámara se construyó con las siguientes partes: dos bases (**A** y **B**) circulares de placa Petri de poliestireno transparente de 90 mm de diámetro y 17 mm de altura, un tubo criovial (**C**) de 5 mL con tapa de rosca (Marca: Corning, Modelo: PD1013), tela de organza, papel parafilm de 10 cm x 30 m (Marca: Bemis, Modelo: PM-996), silicón y plastilina

Armado de la Cámara Portátil

En el fondo de la base **A** de la placa Petri se practicó un orificio de 1.5 cm de diámetro (**a**). En la pared de esta misma base se practicó un orificio del diámetro de la tapa del tubo criovial (**b**). El orificio **a** fue cubierto con tela organza; esta fue sellada con silicón. En el fondo de la base **B** sólo se practicó un orificio de 1.5 cm de diámetro (**a**) y se cubrió con tela de organza. En la tapa del tubo criovial se hizo un orificio (**D**) 1 cm con la ayuda de un cautín. La tapa del tubo criovial fue ingresada en el orificio **b** y sellada con silicón a la base **A** de la placa Petri. Finalmente, la base **B** fue colocada sobre la base **A**, y ambas bases fueron unidas con el papel parafilm.

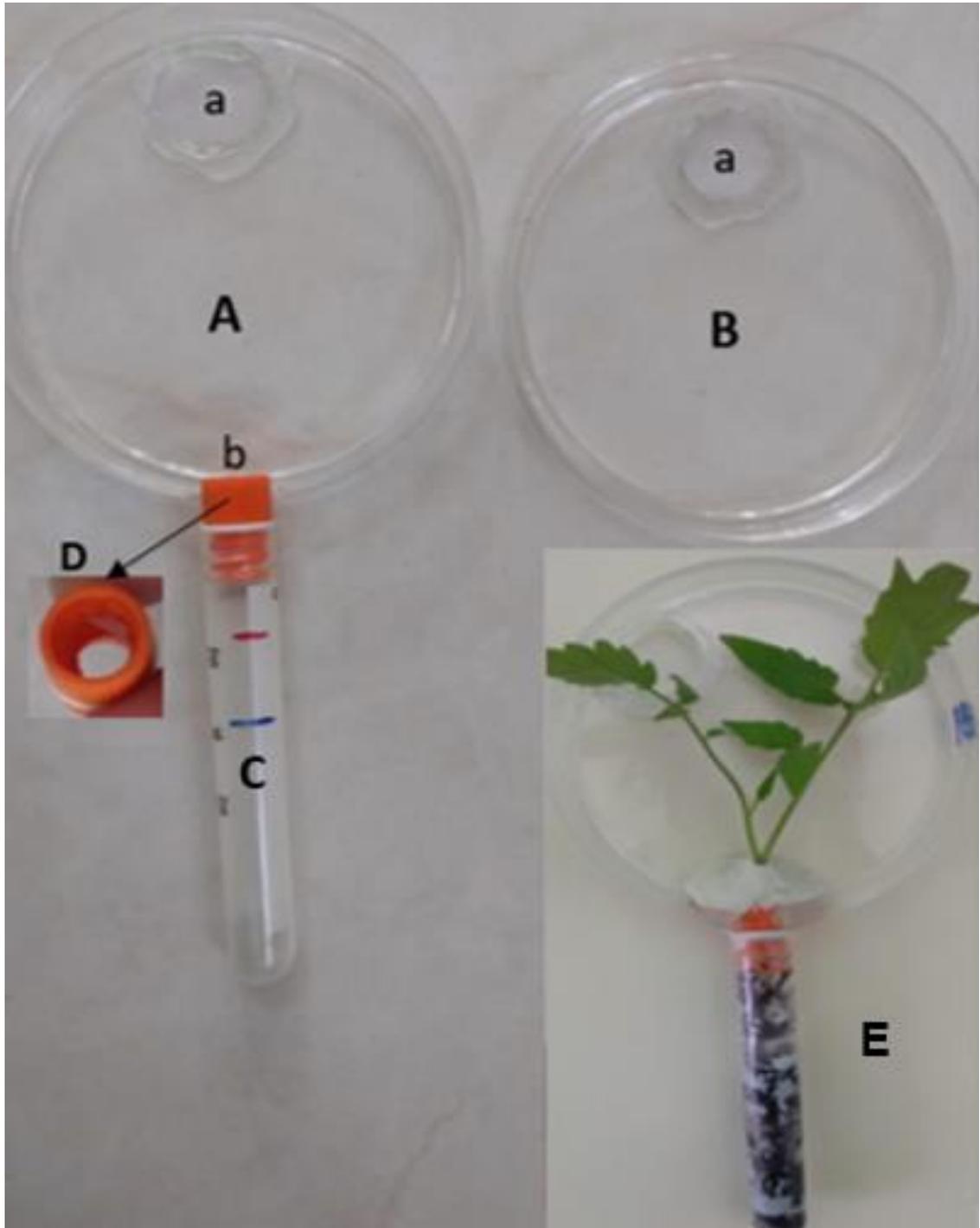


Figura 1. Cámara portátil utilizada en los experimentos. Base **A** y **B** de la cámara, orificio **(a)** y orificio **(b)** ubicados en la base **A**, orificio **(a)** localizado en la base **B**, tubo criovial con tapa **(C)** y tapa del tubo con orificio **(D)**, vista de cámara portátil armada completa **(E)**

Planta de Tomate

Las plantas de tomate se sembraron en macetas con sustrato peat moss de la marca comercial Premier Tourbe®; (Saltillo, Coahuila), se regaron cada tercer día y se mantuvieron en jaulas de cría. En los experimentos se utilizaron hojas del estrato medio de la planta, para los bioensayos con ninfas y plantas de cinco semanas para bioensayos con adultos.

Insectos

Se estableció una colonia de *B. cockerelli* a partir de adultos recolectados en invernaderos establecidos dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; éstos fueron trasladados al laboratorio de parasitología agrícola y confinados en jaulas de cría, con plantas de tomate para su reproducción.

Colorantes

Para los experimentos de translocación de sustancias, se utilizaron colorantes de grado alimenticio como indicadores de translocación e ingestión de sustancias por el insecto. En los colores; rojo (ingredientes del colorante; agua, propilenglicol, colorante artificial N° 17, colorante artificial rojo N° 14 y propilparabeno), verde (ingredientes del colorante; agua, propilenglicol, colorante artificial amarillo N° 4, colorante artificial azul N° 1 y propilparabeno) y azul (ingredientes del colorante; agua, propilenglicol, colorante artificial N° 1, colorante artificial rojo N°17 y propilparabeno) de la marca comercial McCormick® (México, México, Kino, 54879, Ant. Carr. México-Cuautitlán No. 31, Km. 31.5, Col. Loma Bonita, Cuautitlán).

EVALUACIONES REALIZADAS

OBJETIVO 1. Determinar la capacidad de la hoja para translocar las sustancias indicadoras (colorantes) y colocarlas a disposición de consumo del insecto.

EXPERIMENTO 1. Efecto de diferentes colorantes de grado alimenticio en folíolos y ninfas, para determinar la capacidad de los folíolos para translocar sustancias

El experimento tuvo como objetivo determinar la capacidad de los folíolos para translocar sustancias indicadoras y colocarlas a disposición de consumo del insecto. Por lo tanto, se utilizaron colorantes de grado alimenticio como indicadores de traslocación e ingestión del insecto en folíolos tratados. Se evaluó el efecto de los diferentes colorantes en las pruebas sobre ninfas de segundo y tercer estadio de *B. cockerelli*. Se utilizaron colorantes de grado alimenticio (McCormick®, Cuautitlán, México), como sigue: rojo (ingredientes del colorante: agua, propilenglicol, colorante artificial N° 17, colorante artificial rojo N° 14 y propilparabeno), verde (ingredientes del colorante; agua, propilenglicol, colorante artificial amarillo N° 4, colorante artificial azul N° 1 y propilparabeno) y azul (ingredientes del colorante; agua, propilenglicol, colorante artificial N° 1, colorante artificial rojo N°17 y propilparabeno). Los colorantes fueron evaluados a una concentración de 0.001 mL/mL agua, junto con un testigo absoluto (agua). Esta concentración se seleccionó ya que una de las concentraciones más bajas que es detectada fácilmente de manera visual. Cada tratamiento consistió de cinco repeticiones (cinco cámaras con un foliolo y 10 ninfas de *B. cockerelli*). Para ello, las cámaras fueron armadas de la siguiente manera: el foliolo terminal fue sumergido en una solución de hipoclorito al 1% durante 30 segundos y en agua purificada por otros 30 segundos. Después, fue colocado sobre papel absorbente hasta retirar el exceso de agua, y se registró su peso. Enseguida, el peciolo se insertó en el orificio de la tapa del tubo criovial, se colocó plastilina en este orificio para sellarlo y evitar el filtrado de líquido. A continuación, la base A y B de la placa Petri fueron unidas con el papel Parafilm. Finalmente, se vertieron 4.5 mL

del tratamiento a evaluar en el tubo del criovial. Este fue unido a la base de la placa Petri. Previo a esto, el pedúnculo del foliolo fue ingresado en el tubo. A las 24 h, se revisó la presencia del colorante y se colocaron 10 ninfas de segundo y tercer estadio en el foliolo. Posteriormente, se registró la mortalidad de las ninfas a las 24, 48 y 72 horas. Las ninfas que no respondieron al estímulo de un pincel de punta fina fueron consideradas como muertas.

EXPERIMENTO 2. Efecto de dos diferentes concentraciones de colorante azul en ninfas de segundo y tercer estadio

Con base en el resultado obtenido en el experimento 1, este experimento tuvo como objetivo determinar las concentraciones de colorante azul, que permiten ser detectadas visualmente y al mismo tiempo tienen un efecto menos tóxico sobre ninfas de segundo y tercer estadio de *B. cockerelli*. Para ello, se analizaron las siguientes concentraciones: 0.001 y 0.0005 mL colorante/mL agua, y un testigo absoluto (agua). Cada tratamiento consistió de 10 repeticiones (cámaras). El desarrollo del experimento y registro de mortalidad fue similar a lo realizado en el experimento 1.

Insecticida

En las pruebas de efectividad se usó el insecticida sistémico imidacloprid (N-[1-[(6-Chloro-3-pyridyl) methyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl] nitramida) de la marca comercial Picus® 350 SC (suspensión concentrada, 350g i.a/L, FMC Agroquímica de México), (Av. Vallarta #6503 Local A1 – 6, Col. Ciudad Granja Zapopan, Jalisco, México).

EVALUACIONES REALIZADAS

OBJETIVO 2. Determinar la actividad del insecticida sistémico Imidacloprid contra ninfas en esta cámara.

EXPERIMENTO 3. Efecto de concentraciones subletales de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer instar

En el presente trabajo se utilizó el concepto de concentración subletal de Desneux *et al.*, 2007, de França *et al.*, 2017 y Margus *et al.*, 2019, en donde se refieren a las concentraciones subletales como aquellas que se encuentra por debajo de la concentración letal media. Otra definición es, que una concentración subletal es aquella que no induce una mortalidad aparente en la población experimental (de França *et al.*, 2017). Con base en los resultados obtenidos en el experimento 2, el presente experimento tuvo como objetivo evaluar concentraciones subletales de imidacloprid para determinar la concentración que produjera un efecto de mortalidad menor al 50%. El colorante fue utilizado para confirmar que los folíolos absorbiesen las soluciones a evaluar. Para ello, se prepararon los siguientes tratamientos: 0.05 mL/L de agua, 0.016 mL/L de agua, 0.016 mL/L de agua y 0.001 mL colorante/mL agua (testigo), el colorante fue utilizado para demostrar que los folíolos absorbieron las soluciones a evaluar. Cada tratamiento consistió de 10 repeticiones (cámaras). El desarrollo del experimento y registro de mortalidad fue similar a lo realizado en el experimento 2.

Experimento 4. Efecto de concentraciones altas de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer estadio

Con base en el resultado obtenido en el experimento 3, este experimento tuvo como objetivo determinar el efecto del insecticida imidacloprid, en dosis más altas a las evaluadas en el experimento 3, combinado con colorante azul en ninfas de segundo y tercer estadio de *B. cockerelli*. Por lo tanto, se evaluaron los siguientes tratamientos: 0.3 mL /L de agua, 0.15 mL/L de agua, 0.05 mL/L de agua, 0.001

mL colorante/mL agua y agua (testigo absoluto). Cada tratamiento consistió de 10 repeticiones (cámaras) con 10 ninfas cada repetición. El desarrollo del experimento y registro de mortalidad fue similar a lo realizado en el experimento 3.

OBJETIVO 3. Determinar la actividad del insecticida sistémico imidacloprid contra adultos en esta cámara

EXPERIMENTO 5. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid en solución sobre adultos en cámaras con plántula

El experimento tuvo como objetivo determinar la mortalidad en adultos de *B. cockerelli* ocasionada por el insecticida imidacloprid en la cámara portátil. En este experimento se optó por retirar el colorante y usar plántula en lugar de folíolos de tomate, ya que en pruebas preliminares se observó que los adultos no se alimentaban de folíolos con presencia de colorante. Se utilizó plántula de cinco semanas de edad con 3-4 hojas jóvenes, la raíz se retiró con un corte diagonal en la base. El peso de la plántula fue registrado para homogenizar el tamaño. El tallo de la planta se insertó por el orificio (**b**) de la tapa del criovial, donde se colocó plastilina para sellarlo y evitar que se filtrara líquido a la parte superior de la cámara. Para los bioensayos se establecieron cuatro tratamientos; agua (testigo), 0.3 mL /L de agua, 0.24 mL/L de agua, 0.15 mL/L y 0.05 mL/L de agua, con 10 repeticiones cada uno. Se colocaron 4.5 mL de solución en cada tubo y posteriormente se unió a la parte superior de la cámara, las plántulas se dejaron por 24 horas para permitir que absorbieran las soluciones. Transcurrido el tiempo de absorción, se colocaron 20 adultos de *B. cockerelli* por repetición con la ayuda de un aspirador, finalmente se unieron las dos bases de placa Petri con papel Parafilm. Se registró la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas, considerando como muerto al insecto que no mostro reacción a un leve golpeo con los dedos en la parte superior de la cámara, se observó el aspecto de la plántula durante el periodo de evaluación del experimento.

EXPERIMENTO 6. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid sobre adultos en cámaras con plántula y sustrato

Con base en las observaciones y resultados obtenidos en el experimento anterior, este experimento tuvo como objetivo determinar la mortalidad en adultos de *B. cockerelli* ocasionada por el insecticida imidacloprid en la cámara portátil, agregando sustrato peat moss en el tubo, con el objetivo de disminuir el efecto de fitotoxicidad observado en las plantas del experimento anterior. El sustrato peat moss está formado de materia orgánica con una consistencia ligera y esponjosa, utilizado en la horticultura para la germinación y propagación de diferentes tipos de plantas (Kitir *et al.*, 2018). Al igual que en el experimento anterior se utilizó planta de cinco semanas de edad con 3-4 hojas jóvenes, la raíz se retiró con un corte diagonal en la base. El peso de la plántula fue registrado para homogenizar el tamaño. El tallo de la planta se insertó por el orificio (b) de la tapa del criovial, donde se colocó plastilina para sellarlo y evitar que se filtrara líquido a la parte superior de la cámara. Para los bioensayos se establecieron cuatro tratamientos; agua (testigo), 0.3 mL /L de agua, 0.24 mL/L de agua, 0.15 mL/ L y 0.05 mL/L de agua, con 10 repeticiones cada uno. Se colocaron 3 gramos de sustrato y 4 mL de solución en cada tubo, enseguida se unió a la parte superior de la cámara las plántulas se dejaron por 24 horas para permitir que absorbieran las soluciones. Transcurrido el tiempo de absorción, se colocaron 20 adultos de *B. cockerelli* por repetición con la ayuda de un aspirador, finalmente se unieron las dos bases de placa Petri con papel Parafilm. El registro de mortalidad fue similar a lo realizado en el experimento 5.

Análisis Estadístico

Los datos de mortalidad fueron sometidos a análisis estadístico de normalidad y homogeneidad (Shapiro-Wilks y Barlett). Al no cumplirse este requisito, los datos se transformaron para la normalización utilizando el procedimiento de raíz cuadrada de arcoseno antes del análisis. Las estadísticas que se presentan en las tablas se refieren a los datos no transformados. La prueba de Schneider-Orelli

también se realizó cuando fue apropiado (corrección de mortalidad cuando la mortalidad del testigo fue mayor al 5%). La diferencia significativa se determinó mediante la prueba de HSD de Tukey con un nivel de significancia de 0.05.

Los datos fueron sometidos a un ANOVA de dos factores con medidas repetidas en un factor (tiempo), y una comparación de medias en el paquete estadístico SPSS (versión 9).

Resultados y discusión

OBJETIVO 1. Determinar la capacidad de la hoja para translocar las sustancias de interés y colocarlas a disposición de consumo del insecto.

EXPERIMENTO 1. Efecto de diferentes colorantes de grado alimenticio en folíolos y ninfas, para determinar la capacidad de los folíolos para translocar sustancias

El tratamiento rojo presentó un porcentaje de mortalidad del 86%, mientras que los tratamientos testigo, azul y verde se mantuvieron por debajo del 12% (Figura 3). El ANOVA indicó una diferencia estadística significativa (P -valor=0.0001) (cuadro 1), entre los tratamientos. Los tratamientos testigo, azul y verde, no fueron diferentes estadísticamente entre ellos (cuadro 2).

Cuadro 1. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de tratamientos con diferentes colorantes de grado alimenticio

Análisis de Varianza				
Origen	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Significancia
Tiempo	0.169	0.084	28.14	0.0001
Tiempo * Tratamiento	0.275	0.046	15.27	0.0001

Cuadro 2. Mortalidad registrada en los tratamientos con diferentes colorantes de grado alimenticio. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)

Tratamiento	Medias	
Testigo	0.8	B
Azul	0.8	B
Rojo	17.2	A
Verde	1.2	B

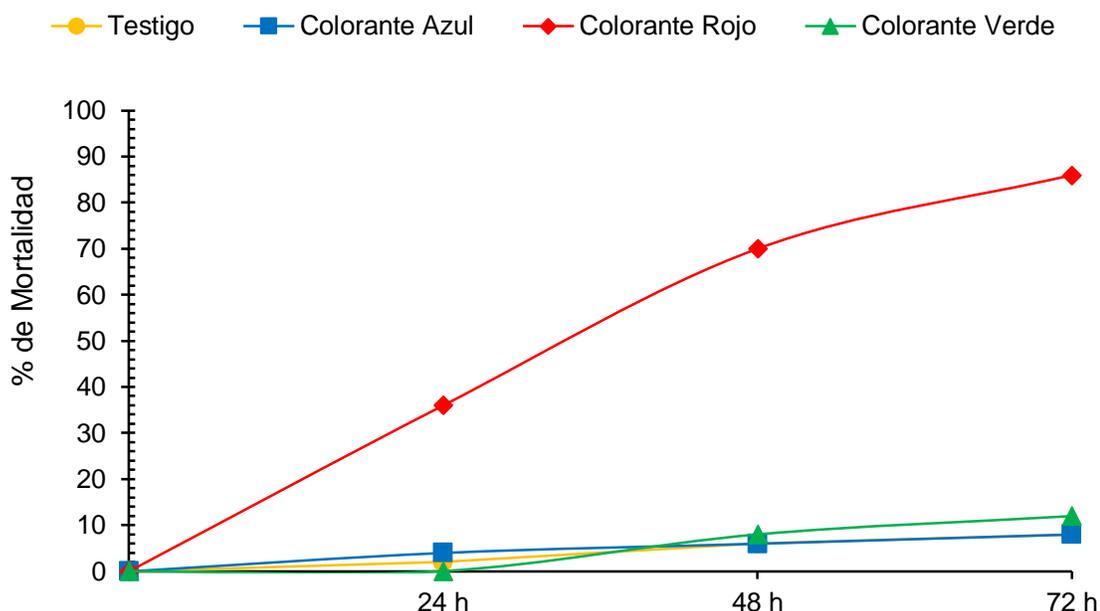


Figura 2. Mortalidad en los tratamientos con diferentes colorantes de grado alimenticio

Experimento 2. Efecto de dos diferentes concentraciones de colorante azul en ninfas de segundo y tercer estadio

El tratamiento 0.0005mL/mL presento un porcentaje de mortalidad del 41%, mientras que los tratamientos testigo y 0.001mL/mL se mantuvieron por debajo del 10% (Figura 3). El ANOVA indico una diferencia estadística significativa (P -valor=0.0001) (cuadro 3), entre los tratamientos. Los tratamientos testigo y 0.001mL/mL, no fueron diferentes estadísticamente entre ellos (cuadro 4).

Cuadro 3. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de tratamientos con dos diferentes concentraciones de colorante azul

Análisis de Varianza				
Origen	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Significancia
Tiempo	0.239	0.119	7.879	0.001
Tiempo * Tratamiento	0.062	0.015	1.021	0.405

Cuadro 4. Mortalidad registrada en los tratamientos con dos diferentes concentraciones de colorante azul. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)

Tratamiento	Medias	
Testigo	0.11	B
0.0005mL/mL	0.5	A
0.001mL/mL	0.05	B

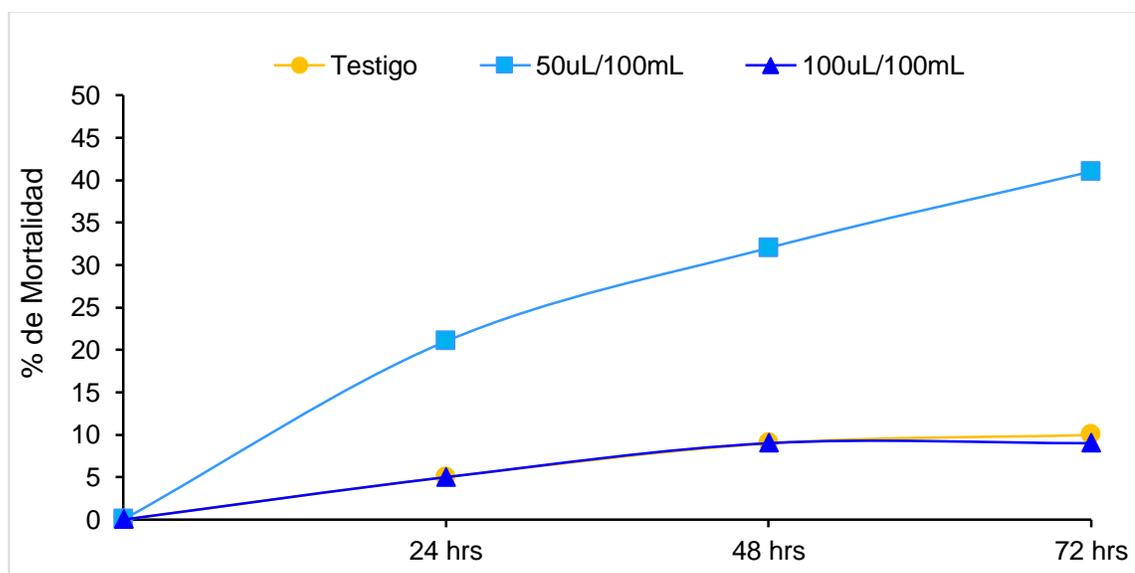


Figura 3. Mortalidad en tratamiento de dos diferentes concentraciones de colorante azul

Discusión

El uso de colorantes como marcadores o indicadores en insectos se ha utilizado en investigaciones previas sobre diferentes especies de insectos como; *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae), *Drosophila* (Fallén, 1823) (Diptera: Drosophilidae) y *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). En todos los casos mencionados se ha demostrado que los colorantes como la rodamina B y algunos colorantes de grado alimenticio, no tienen un efecto tóxico sobre el insecto en el que se han utilizado (Blanco *et al.*, 2006; Vespór *et al.*, 2015;

Johnson *et al.*, 2017). De los colorantes de grado alimenticio evaluados en este trabajo, se observó que los colorantes verde y azul no tenía efecto tóxico sobre las ninfas, mientras que el colorante rojo mostro un efecto tóxico muy alto sobre las ninfas y folíolos. Esto concuerda con lo reportado por Kalaw *et al.*, 2002 quien probó diferentes colorantes alimenticios sobre *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae), para determinar el efecto sobre la longevidad y rendimiento en el apareamiento. Es importante evaluar diferentes colorantes debido a que algunos pueden dañar el material vegetal, no colorear a los insectos o el insecto no pueda digerirlos (Johnson *et al.*, 2017).

Para las pruebas realizadas en este trabajo se descartó el colorante verde debido a que este no se lograba percibir en los folíolos, donde se colocó. Caso contrario del colorante azul, el cual se podía observar en los folíolos como pequeñas venaciones de color azul (Figura 5). Las ninfas colocadas en tratamientos con colorante azul, tomaron ese color (Figura 6 y 7), la cual se mantuvo incluso aun después de morir y secarse. (Figura 4). Es importante señalar que las ninfas en sus últimos estadios toman una coloración verde de manera natural, sin embargo, al ser alimentadas con folíolos tratados con colorante azul estas se observaban de un color verde-azulado, que al momento de ser observadas al microscopio se puede distinguir claramente la tonalidad azul tomada por el consumo del colorante.

En su mayoría la tinción de insectos se ha realizado de manera directa mediante alimentos sólidos o líquidos mezclados con el colorante. Kalaw *et al.*, (2002) y Vesper *et al.*, (2015), evaluaron el efecto de colorantes de grado alimenticio, como una alternativa para ensayos de longevidad y comportamiento de apareamiento en *Drosophila*, para ello utilizaron un alimento solido con diferentes colorantes de grado alimenticio. La rodamina B es uno de los colorantes más utilizado para marcar insectos, Jhonson *et al.*, (2017) utilizaron esponjas con agua y miel mezclada con rodamina B, para marcar el líquido seminal en machos de *Aedes aegypti*. Esta misma técnica fue utilizada por Blanco *et al.*, (2006) para teñir machos de *H. virescens*, para estudios de apareamiento. Las ninfas de tratamientos con colorantes se tiñeron de forma indirecta ya que el colorante tuvo

que ser absorbido por el folíolo y translocarlo para que las ninfas pudieran teñirse de azul. Mascari y Foil (2009) tiñeron de forma indirecta larvas y adultos de *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) con roedores alimentados con cebo combinado con rodamina B.

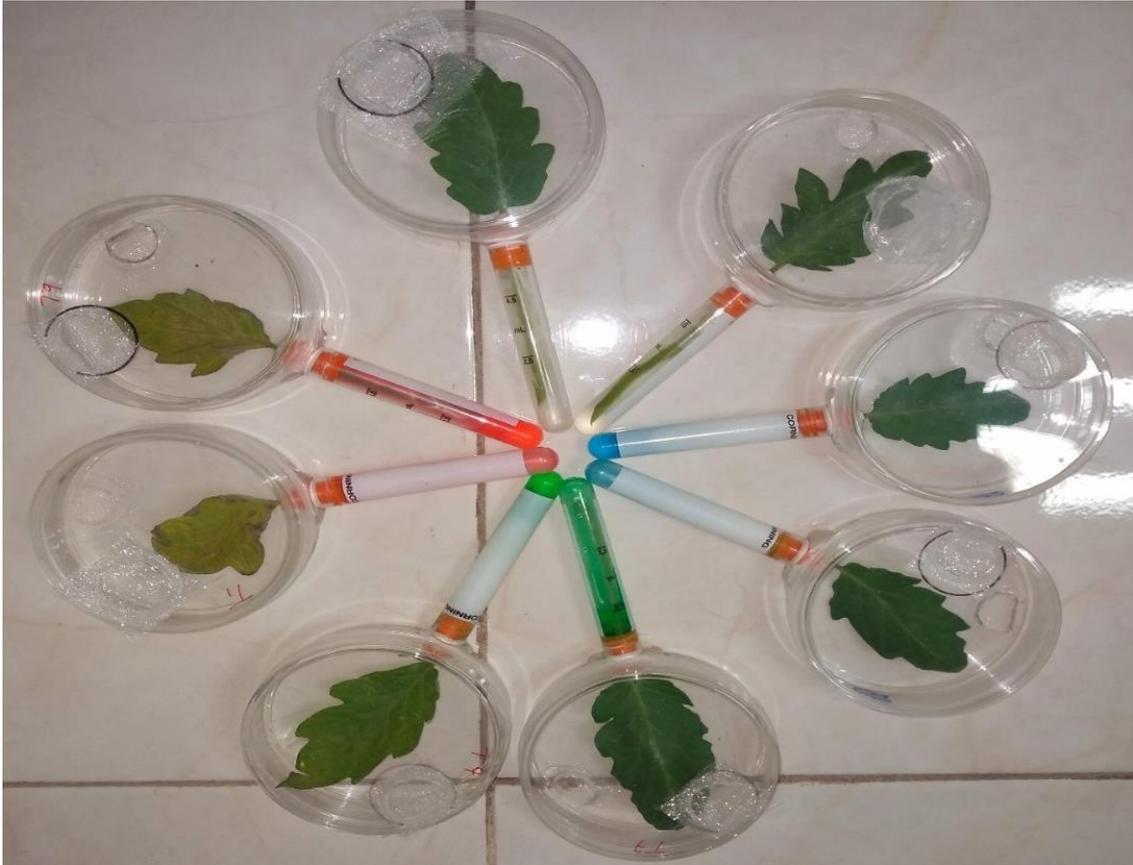


Figura 4. Vista de hojas al terminó del experimento con colorantes



Figura 5. Presencia de colorante azul en las hojas

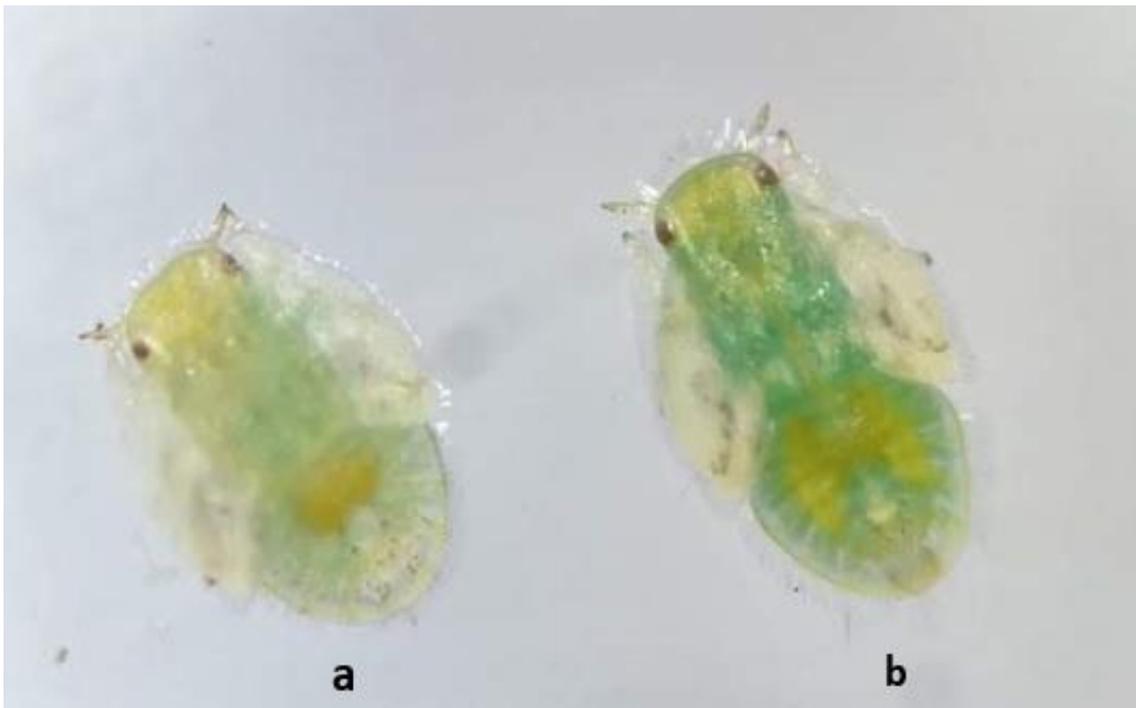


Figura 6. Ninfas de *B. cockerelli* sin (a) y con colorante (b)



Figura 7. Cuerpo de ninfa con presencia de colorante azul en su interior

OBJETIVO 2. 2. Determinar la actividad del insecticida sistémico Imidacloprid contra ninfas en esta cámara.

EXPERIMENTO 3. Efecto de concentraciones subletales de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer instar

Los tratamientos evaluados presentaron un porcentaje de mortalidad similar, sin embargo, el tratamiento 0.05mL + C presentó un porcentaje de mortalidad mayor al 20%, mientras que los tratamientos, 0.016mL + C, 0.005mL + C y testigo presentaron un porcentaje menor al 10% (Figuran 8). El ANOVA no mostró diferencia estadística significativa entre los tratamientos en la interacción tiempo * tratamiento (P-valor=0.115) (cuadro 5 y 6).

Cuadro 5. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de los tratamientos de concentraciones subletales de imidacloprid en ninfas

Análisis de Varianza				
Origen	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Significancia
Tiempo	0.011	0.005	2.52	0.088
Tiempo * Tratamiento	0.02	0.003	1.56	0.115

Cuadro 6. Mortalidad registrada en los tratamientos de concentraciones subletales de imidacloprid. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)

Tratamiento	Medias	
0Testigo	0	A
0.05mL + C	0.11	A
0.016mL + C	0.03	A
0.005mL + C	0	A

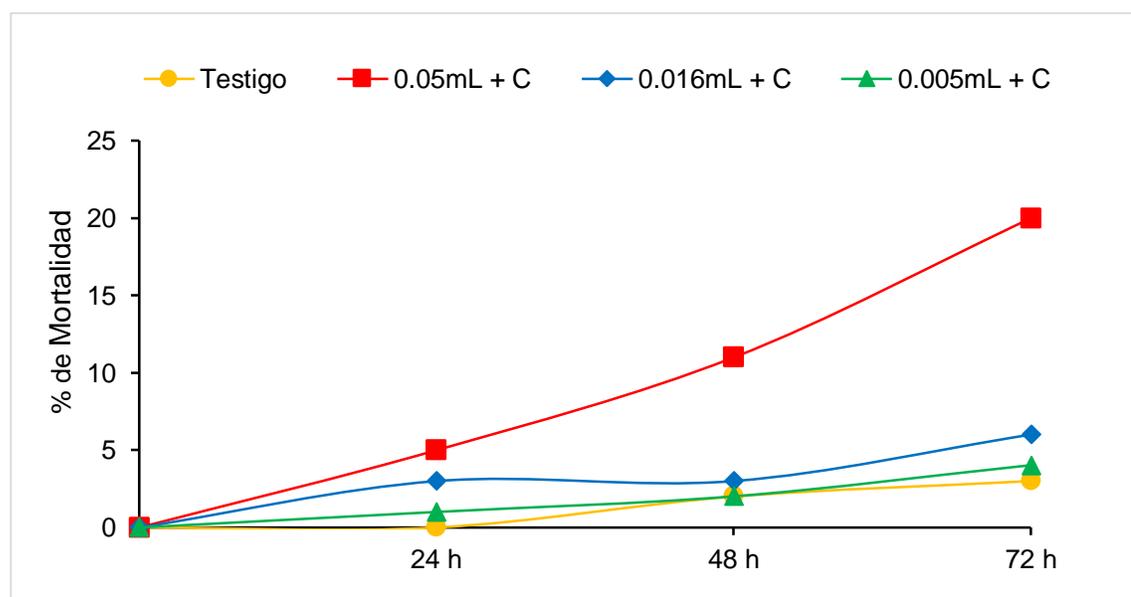


Figura 8. Mortalidad en tratamientos de concentraciones subletales

Experimento 4. Efecto de concentraciones altas de imidacloprid en ninfas de segundo y tercer estadio

Los tratamientos 0.3 mL/L y 0.15 mL/L presentaron porcentaje de mortalidad del 100 y 98 % respectivamente (Figura 9). El ANOVA indico una diferencia estadística significativa (P-valor0.0001), entre los tratamientos interacción * tiempo (cuadro 7), los tratamientos Testigo Absoluto, Testigo Colorante y 0.05mL/L, no fueron diferentes estadísticamente entre ellos (cuadro 8)

Cuadro 7. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo), de los tratamientos de concentraciones letales de imidacloprid en ninfas

Análisis de Varianza				
Origen	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Significancia
Tiempo	3.48	1.744	105.975	0.0001
Tiempo *				
Tratamiento	3.106	0.388	23.501	0.0001

Cuadro 8. Mortalidad registrada en los tratamientos de concentraciones letales de imidacloprid. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)

Tratamiento	Medias	
Testigo Absoluto	0.08	B
Testigo Colorante	0.11	B
0.3mL/L	1	A
0.15 mL/L	1	A
0.05mL/L	0.24	B

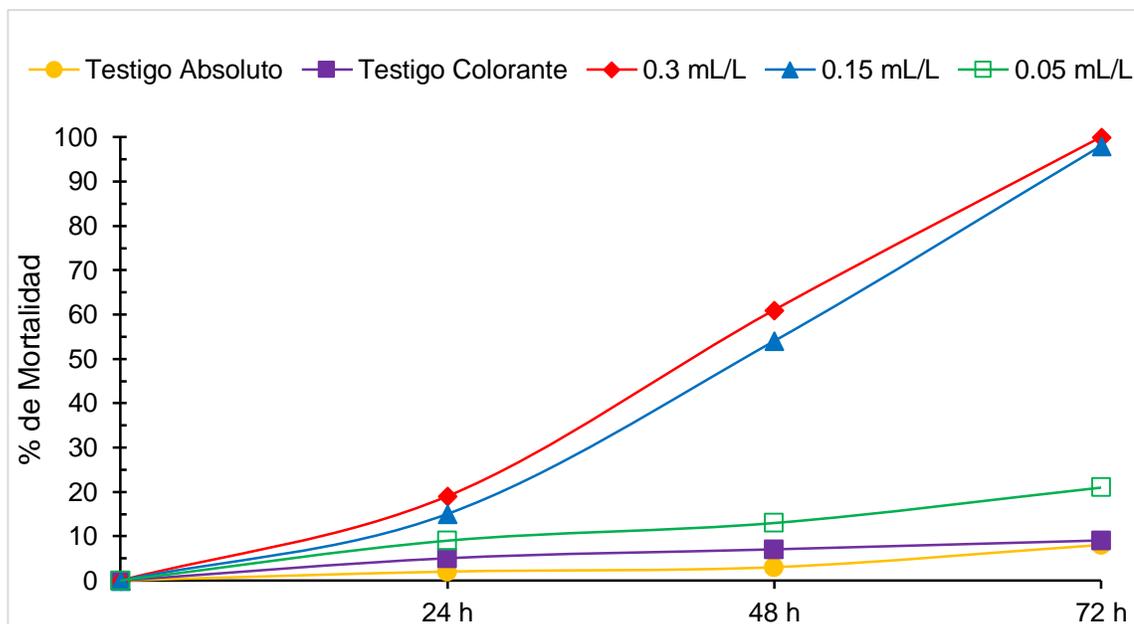


Figura 9. Mortalidad en tratamientos de concentraciones altas de imidacloprid en ninfas

Discusión

El desarrollo de bioensayos en esta cámara permitió observar la efectividad biológica del insecticida imidacloprid, en ninfas y adultos cada 24 horas durante 72 horas. El uso de foliolos para evaluar el efecto de imidacloprid en ninfas, facilitó la observación y registro de mortalidad. En los tratamientos de concentraciones subletales no se encontró diferencia entre los tratamientos. Sin embargo, el objetivo de este bioensayo fue encontrar una concentración en la cual se observará un efecto mortalidad, de la cual partir para así establecer concentraciones más altas para los siguientes experimentos. Debido a que las observaciones se realizaron por 72 horas, no se observó si estas concentraciones subletales afectaban de alguna otra forma a las ninfas de *B. cockerellik*. Sin embargo, se tienen reportes de que las concentraciones subletales aunque no ocasionan una mortalidad arriba de la media en las poblaciones experimentales, tienen otros efectos sobre los insectos expuestos, como reducción en Fecundidad, fertilidad, cambios en la proporción de sexos,

deformidades, cambios en el comportamiento, reducción en el desarrollo y tasa de vida (Desneux *et al.*, 2007; de França *et al.*, 2017; Margus *et al.*, 2019). En el experimento dos la mortalidad aumento de forma variable 48 horas después de haber colocado las ninfas dentro de la cámara portátil. Esto concuerda con lo reportado por Liu y Trumble (2005), quienes indican que el imidacloprid tiene un control consistente sobre ninfas de *B. cockerelli* al ser evaluado de manera sistémica con un bioensayo de aplicación a suelo. Szczepaniec *et al.*, (2019), reportan que el imidacloprid ocasiono una mortalidad arriba del 60% en ninfas de *B. cockerelli* en plantas con suelo tratado usadas una semana después de su aplicación. Aunque en el experimento con dosis altas de imidacloprid se obtuvieron resultados estadísticos significativos, es importante señalar que se observó un efecto de fitotoxicidad sobre foliolos jóvenes, sin embargo cuando se utilizaron foliolos del estrato medio la planta no se observó este mismo efecto de fitotóxico (Figura 10). Por lo tanto, se estandarizo el uso de foliolos de estrato medio, para evitar fitotoxicidad en los foliolos.



Figura 10. Apariencia de folios al termino del experimento 4

OBJETIVO 3. Determinar la actividad del insecticida sistémico imidacloprid contra adultos en esta cámara

EXPERIMENTO 5. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid en solución sobre adultos en cámaras con plántula

La mortalidad registrada a las 24, 48 y 72 horas fue diferente cada cada uno de los registros (Figura 11), el tratamiento 0.3mL/L y 0.15mL/L ocasiono un porcentaje de mortalidad mayor, respecto al generado en los tratamientos testigo y 0.05mL/L.

El ANOVA indico una diferencia estadística altamente significativa (P-valor=0.0001) (cuadro 9), entre los tratamientos a través del tiempo. La mortalidad media incremento con el aumento de las concentraciones de imidacloprid (cuadro 10).

Cuadro 9. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo) en los tratamientos en cámaras con planta sin sustrato

Análisis de Varianza				
Origen	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Significancia
Tiempo	9.126	4.563	158.026	0.0001
Tiempo * Tratamiento	3.121	0.521	18.016	0.0001

Cuadro 10. Mortalidad registrada en los tratamientos de cámaras con planta de tomate expuesta al insecticida en solución. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)

TRATAMIENTO	MEDIAS	
Testigo	0	C
0.3mL/L	15	A
0.15mL/L	14.2	A
0.05mL/L	8	B

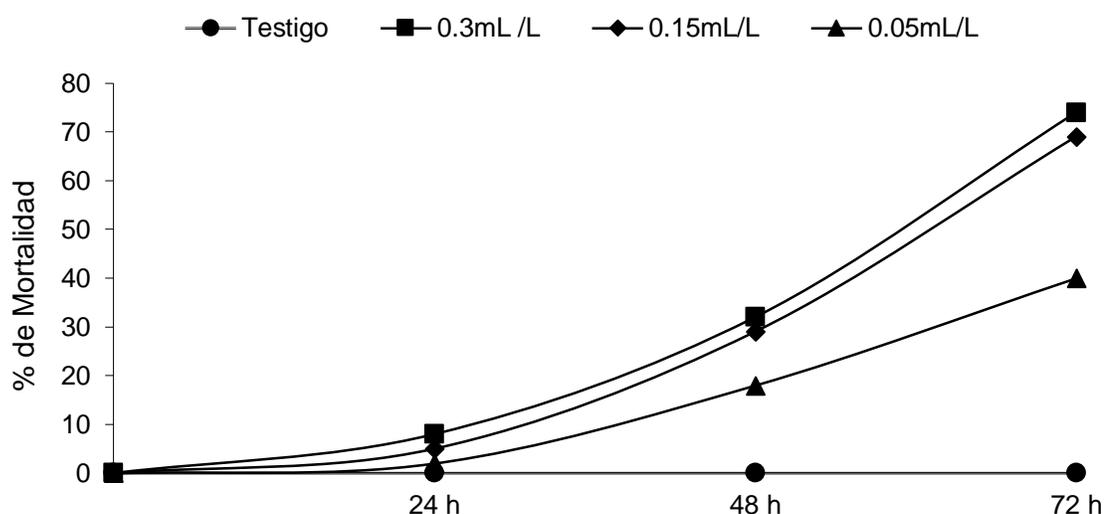


Figura 11. Mortalidad registrada en los tratamientos de cámaras con planta de tomate expuesta al insecticida en solución

EXPERIMENTO 6. Efecto de diferentes concentraciones de imidacloprid sobre adultos en cámaras con plántula y sustrato

La mortalidad registrada a las 24, 48 y 72 horas fue diferente cada cada uno de los registros (Figura 14), el tratamiento 0.3mL/L ocasiono un porcentaje de mortalidad mayor, respecto al generado en los tratamientos testigo, 0.15mL/L y 0.05mL/L. El ANOVA indico una diferencia estadística altamente significativa (P -valor=0.0001) (cuadro 11), entre los tratamientos a través del tiempo. La mortalidad media incremento con el aumento de las concentraciones de imidacloprid (cuadro 12).

Cuadro 11. Análisis de varianza de dos factores con medidas repetidas en un factor (Tiempo) de los tratamientos en cámaras con planta y sustrato

Análisis de Varianza				
Origen	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Significancia
Tiempo	7.32	3.661	187.72	0.0001
Tiempo *	4.14	0.69	35.383	0.0001
Tratamiento				

Cuadro 12. Mortalidad registrada en los tratamientos de cámaras con planta de tomate expuesta a sustrato con insecticida. Las medias seguidas por la misma letra no son diferentes significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05\%$)

TRATAMIENTO	MEDIAS	
Testigo	0	B
0.3mL/L	15	A
0.15mL/L	14.2	A
0.05mL/L	8	B

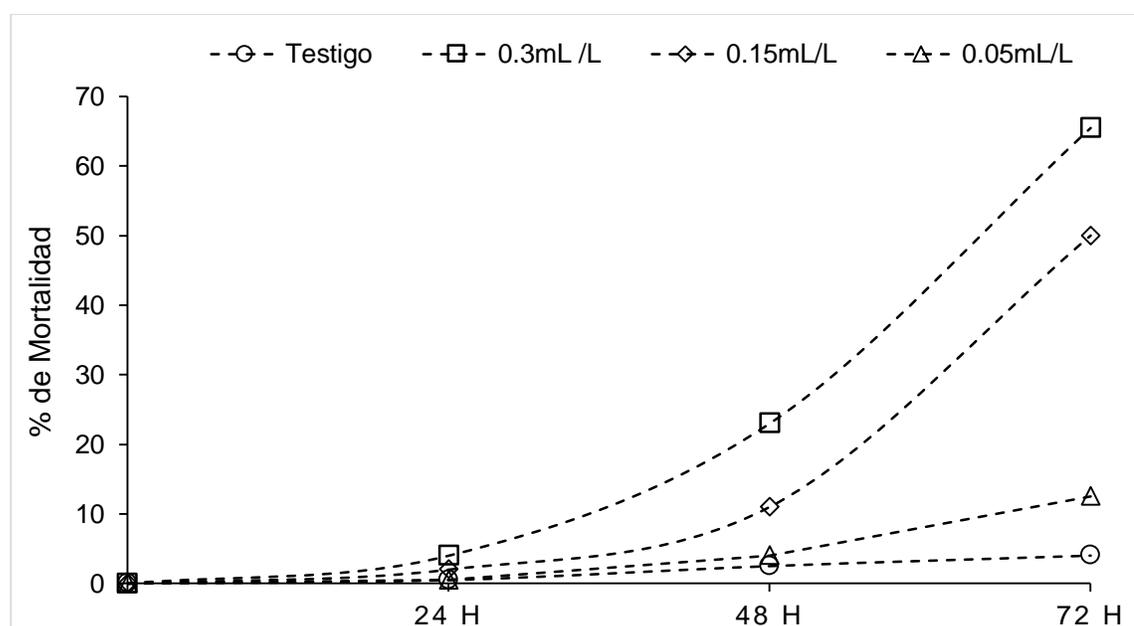


Figura 12. Mortalidad en los tratamientos de cámaras con planta de tomate expuesta al sustrato con insecticida

Discusión

En los experimentos en adultos con y sin sustrato, la mortalidad aumento de forma variable a partir de las 48 horas, después de haber colocado los adultos dentro de la cámara portátil. Esto concuerda con lo reportado por Prabhaker *et al.*, (2006) quienes evaluaron el efecto de imidacloprid sobre *H. coagulata* en brotes de cítricos, de forma sistémica mediante un bioensayo hidropónico.

Anteriormente Prabhaker *et al.*, en 1997 usaron este mismo bioensayo hidropónico para comparar los resultados obtenidos contra un bioensayo aplicado a suelo, en ambos se observó una mortalidad significativa sin diferencias entre los resultados. Ambos bioensayos se realizaron simultáneamente durante dos generaciones de mosca blanca (*B. argentifolii*), en plantas de algodón con dos hojas verdaderas. El periodo de absorción para ambos bioensayos (con y sin sustrato) fue de 24 horas, el registro de mortalidad se realizó 24 horas después de exponer los adultos a las plántulas tratadas. Este periodo de absorción se puede considerar corto en comparación a otros bioensayos, donde igual se han evaluado insecticidas sistémicos. Un ejemplo de esto, son los trabajos realizados por Liu y Trumble en 2005 y posteriormente en 2007 donde utilizaron plantas de tomate con suelo tratado con imidacloprid una semana antes de iniciar los bioensayos. Esta misma metodología fue seguida por Szczepaniec *et al.*, en 2019, para la evaluación de incidencia de resistencia a neonicotinoides en *B. cockerelli* sobre plantas de tomate. Previamente ya se ha utilizado esta metodología con un tiempo de absorción de 48 horas, con resultados similares a los obtenidos en un bioensayo hidropónico donde el tiempo de absorción fue de 24 horas (Prabhaker *et al.*, 1997). Por otro lado, es importante señalar que las observaciones se realizaron bajo microscopio sin necesidad de abrir las cámaras portátiles, para el registro de mortalidad durante las 72 horas de evaluación. Anteriormente ya se han utilizados cámaras clips con diferentes objetivos de evaluación. Por ejemplo, Echegaray en 2017 uso cámaras clips para confinar adultos de *B. cockerelli*, para evaluar su respuesta a diferentes insecticidas sobre plantas de papa bajo condiciones de invernadero. Mientras que Prabhaker *et al.*, (1997) usaron pequeñas cámaras clips para confinar moscas blancas (*B. argentifolii*) en hojas de algodón para evaluaciones de mortalidad y desarrollo de resistencia por imidacloprid en laboratorio. Posteriormente en 2006 Prabhaker *et al.*, usaron estas mismas cámaras clips sobre hojas de cítricos para evaluar mortalidad en *H. coagulata*. Sin embargo, al estar las hojas unidas a las plantas, puede dificultarse un poco la manipulación y observación del comportamiento del insecto dentro de esta.

Aunque en los dos experimentos se obtuvieron resultados altamente significativos es importante señalar que cuando se realizaron las evaluaciones sin sustrato, las plántulas presentaron fitotoxicidad. Entre mayor fue la concentración, mayor fue el daño ocasionado y menor el tiempo en presentarse. Los síntomas comenzaron en los márgenes de las hojas y avanzaron hacia la parte media. Prabhaker *et al.*, (1997) en su bioensayo hidropónico con plantas de algodón, que absorbieron sistémicamente el insecticida a través de las raíces, no reportan síntomas de fitotoxicidad sobre las hojas de las plantas tratadas. Posteriormente en 2006 Prabhaker *et al.*, realizaron algunas modificaciones en este bioensayo hidropónico para evaluaciones de imidacloprid sobre *H. coagulata* en brotes de cítricos, igual no se reportó fitotoxicidad en los brotes durante el periodo de evaluación. Sin embargo, previamente ya se ha demostrado que el imidacloprid se concentra en los márgenes de la hoja en plantas de cítricos (Langdon *et al.*, 2018). En las evaluaciones con sustrato no se observó fitotoxicidad durante el tiempo que duro el bioensayo (96 horas). Los experimentos se realizaron con plantas muy pequeñas por lo que el uso de sustrato pudo haber regulado la absorción y retención de insecticida (Byrne *et al.*, 2012, Szczepaniec *et al.*, 2019).

Aunque los bioensayos realizados en esta cámara, se realizaron con un solo insecticida sistémico, los resultados obtenidos pueden ser una línea base para la evaluación de diferentes insecticidas en otros insectos plaga. Las técnicas de evaluación para insecticidas deben simular el contacto real que existe entre el insecticida, planta e insecto, deben proporcionar información valiosa, que permita establecer una base sobre la sensibilidad de los insectos plaga a los productos químicos usados para su control (Brent, 1986). En conclusión, el desarrollo de bioensayos en esta cámara permitió observar la efectividad biológica del insecticida imidacloprid en adultos de *B. cockerelli*. Así mismo permitió unificar el número de insectos y las concentraciones evaluadas. Los resultados obtenidos pueden ser una línea base para la evaluación de diferentes insecticidas en otros insectos plaga.



Figura 13. Mortalidad de adultos en cámaras sin sustrato a las 48 horas



Figura 14. Apariencia de plantas al termino del experimento en cámaras sin sustrato



Figura 15. Cámara portátil con planta y sustrato, en concentración alta de imidacloprid al término del experimento

Conclusiones

La presencia de colorante en los folios y ninfas fue indicador de que los foliolos de tomate mostraron tener la capacidad de absorber y translocar las soluciones colocadas en el tubo de la cámara y colocarlas a disposición del consumo del insecto, además de ser un marcador económico visible en hojas y ninfas.

El insecticida imidacloprid registro una actividad significativa tanto para ninfas como para adultos de *B. cockerelli*.

El desarrollo de bioensayos utilizando la cámara portátil evaluada en el presenta trabajo permitió observar la absorción y translocación de las sustancias de interés y la efectividad biológica del insecticida imidacloprid en ninfas y adultos.

Los resultados obtenidos en este trabajo pueden ser línea base para la evaluación de diferentes insecticidas en otros insectos plaga.

Literatura citada

- Abdullah, N. M. M. (2008). Life history of the potato psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) in controlled environment agriculture in Arizona. *African Journal of Agricultural Research*, 3(1), 060-067.
- Badii, M. H., A. E. Flores, H. Quiroz, R. Foroughbakhch, y R. Torres. 2000, *Fundamentos y Perspectivas de Control Biológico. Manejo integral de plagas (MIP)*, pp. 417-432.
- Banki, L. 1978. *Bioassay of Pesticides in the Laboratory: Research and Quality Control*. Akademiai Kiado, Hungary. 475 p.
- Blancard, D. (2011). *Enfermedades del tomate*. Mundi-Prensa Libros.
- Blanco, C. A., Perera, O., Ray, J. D., Taliercio, E., & Williams III, L. (2006). Incorporation of rhodamine B into male tobacco budworm moths *Heliothis virescens* to use as a marker for mating studies. *Journal of Insect Science*, 6(1), 5.
- Bravo, L. G. A., G. G. Galindo, y D. R. M. Amador. 2006. *Tecnología de producción de chile seco*. (INIFAP) Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria. Centro de Investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental Zacatecas. 5: 110.
- Brent, K. J. 1986. Detection, monitoring and risk assessment. In *Pesticide resistance: strategies and tactics for management*, National Research Council. National Academy Press, Washington, DC. pp. 298-312
- Busvine, J. R. 1971. *A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides*. 2nd. Ed. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. 345 p.
- Byrne, F. J., Urena, A. A., Robinson, L. J., Krieger, R.I., Docola, J., Morse, J. G., 2012. Evaluation of neonicotinoid, organophosphate and avermectin trunk injections for the management of avocado thrips in California avocado groves. *Pest Manag.Sci.*68, 811–817
- Crosslin, J. M., & Munyaneza, J. E. (2009). Evidence that the zebra chip disease and the putative causal agent can be maintained in potatoes by grafting and in vitro. *American Journal of Potato Research*, 86(3), 183-187.
- Dávila-Medina, Miriam Desireé, Cerna Chávez, Ernesto, Aguirre Uribe, Luis Alberto, García Martínez, Oswaldo, Ochoa Fuentes, Yisa María, Gallegos Morales, Gabriel, & Landeros Flores, Jerónimo. (2012) Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc.) en Coahuila, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(6), 1145-1155.

- Delgado-Ortiz, J. C., Beltrán-Beache, M., Cerna-Chávez, E., Aguirre-Urbe, L. A., Landero-Flores, J., Rodríguez-Pagaza, Y., & Ochoa-Fuentes, Y. M. (2019). *Candidatus Liberibacter solanacearum* patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22.
- de França, S. M., Breda, M. O., Barbosa, D. R., Araujo, A. M., & Guedes, C. A. (2017). The sublethal effects of insecticides in insects. *Biological control of pest and vector insects*, 23-39.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106.
- Echegaray, Erik & C Vinchesi, A & Rondon, Silvia & Alvarez, Juan & McKinley, Norman. (2016). Potato Psyllid (Hemiptera: Triozidae) Response to Insecticides Under Controlled Greenhouse Conditions. *Journal of economic entomology*. 110. 142-149.
- Echegaray, E. R., & Rondon, S. I. (2017) Incidence of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) under different pesticide regimes in the lower Columbia Basin. *Journal of economic entomology*, 110(4), 1639-1647.
- Gomez, M. R., Cesar, E. S., Rivera, J. M., Flores, J. R., Salgado, J. H., & Mendez, J. P. (2008). Evaluacion de insecticidas alternativos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* By L.) (Homoptera: Triozidae) en el cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.). *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 7(1), 47-56.
- Hubert, J. J. 1980. *Bioassay*. Kendall Hunt Pub. Co. USA. 164 p.
- Johnson, B. J., Mitchell, S. N., Paton, C. J., Stevenson, J., Staunton, K. M., Snoad, N., ... & Ritchie, S. A. (2017). Use of rhodamine B to mark the body and seminal fluid of male *Aedes aegypti* for mark-release-recapture experiments and estimating efficacy of sterile male releases. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(9), e0005902.
- Kalaw, V., Drapeau, M. D., Long, A. D. Effects of food coloring on longevity and viability of *Drosophila melanogaster*. *Dros. Inf. Serv.* 85, 128-129 (2002).
- Kitir, N., Yildirim, E., Şahin, Ü., Turan, M., Ekinci, M., Ors, S., ... & Ünlü, H. (2018). Uso de turba en horticultura. *Turba*, 75.
- Knowlton, G. F., and M. J. James. 1931. Studies on the biology of *Paratrioza cockerelli* (Sulc). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 24: 283-291.
- Lagunes-Tejeda, Ángel, Rodríguez-Maciél, J. Concepción, & De Loera-Barocio, Juan C. (2009). Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México. *Agrociencia*, 43(2), 173-196.
- Langdon, K. W., Schumann, R., Stelinski, L. L., & Rogers, M. E. (2018). Spatial and temporal distribution of soil-applied neonicotinoids in citrus tree foliage. *Journal of economic entomology*, 111(4), 1788-1798.

- Liu, D., & 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.
- Liu, D., & Trumble, J. T. (2005). Interactions of plant resistance and insecticides on the development and survival of *Bactericera cockerelli* [Sulc](Homoptera: Psyllidae). *Crop Protection*, 24(2), 111-117.
- Margus, A., Piironen, S., Lehmann, P., Tikka, S., Karvanen, J., & Lindström, L. (2019). Sublethal pyrethroid insecticide exposure carries positive fitness Effects Over Generations in a Pest insect. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- MARÍN, J. A.; GARZÓN, T. J. A.; BECERRA, F. A.; MEJÍA, A. C.; BUJANOS, M. R.; BYERLY, M. K. F., 1995. "Ciclo biológico y morfología del salerillo *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) (Homoptera: Psyllidae) vector de la enfermedad permanente del jitomate en el Bajío". *Catie, Manejo Integrado de Plagas, Revista Técnica No. 38*, 25-32 p.
- Mascari, T. M., & Foil, L. D. (2009). Evaluation of rhodamine B as an orally delivered biomarker for rodents and a feed-through transtadial biomarker for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of medical entomology*, 46(5), 1131-1137.
- Melgoza-Villagómez, Claudia María, León Sicairos, Claudia del Rosario, López Valenzuela, José Ángel, Hernández Espinal, Luis Alberto, Velarde Félix, Sixto, & Garzón Tiznado, José Antonio. (2018) Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Bactericera cockerelli* Sulc asociada con enfermedades en tomate, chile y papa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(3), 499-509.
- Mendoza-Herrera, A., Lévy, J., Harrison, K., Yao, J., Ibanez, F. & Tamborindeguy, C. (2018). Infection by 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' haplotypes A and B in *Solanum lycopersicum* 'MoneyMaker'. *Plant Disease*, 102, 2009-2015.
- Munyaneza, J. E., Sengoda, V. G., Crosslin, J. M., Garzon-Tiznado, J. A., & Cardenas-Valenzuela, O. G. (2009). First report of "Candidatus *Liberibacter solanacearum*" in tomato plants in Mexico. *Plant Disease*, 93(10), 1076-1076.
- Munyaneza, J. E. (2015). Zebra chip disease, *Candidatus Liberibacter*, and potato psyllid: A global threat to the potato industry. *American Journal of Potato Research*, 92(2), 230-235.
- Pack, H. J. 1930. Potato psyllid. *Utah Agric. Expt. Stn. Bull.* 216: 21.
- Prabhaker, N., Castle, S., Byrne, F., Henneberry, T. J., & Toscano, N. C. (2006). Establishment of baseline susceptibility data to various insecticides for *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae) by comparative bioassay techniques. *Journal of economic entomology*, 99(1), 141-154.

- Prabhaker, N., Toscano, N. C., Castle, S. J., & Henneberry, T. J. (1997). Selection for imidacloprid resistance in silverleaf whiteflies from the Imperial Valley and development of a hydroponic bioassay for resistance monitoring. *Pesticide Science*, 51(4), 419-428.
- Prabhaker, N., Toscano, N., Castle, S., & Henneberry, T. (1995). Assessment of a hydroponic bioassay for evaluation of imidacloprid against whiteflies. In *Proceedings Beltwide Cotton Conferences (addendum)* (pp. 72-73).
- Sternberg, E. D., J.L. Waite and B.T. Matthew. 2014. Evaluating the efficacy of biological and conventional insecticides with the new 'MCD bottle' bioassay. *Malaria Journal* 13: 1-9.
- Szczepaniec, A., Varela, K. A., Kiani, M., Paetzold, L., & Rush, C. M. (2019). Incidence of resistance to neonicotinoid insecticides in *Bactericera cockerelli* across Southwest US. *Crop protection*, 116, 188-195.
- Vargas-Madríz, H., Bautista-Martínez, N., Vera-Graziano, J., García-Gutiérrez, C., & Chavarín-Palacio, C. (2011). Life and fertility table of *Bactericera cockerelli* (Sulc) on two varieties of tomato in a greenhouse. *Southwestern Entomologist*, 36(4), 413-422.
- Vega-Gutiérrez, Marco T., Rodríguez-Maciel, J. Concepción, Díaz-Gómez, Ovidio, Bujanos-Muñiz, Rafael, Mota-Sánchez, David, Martínez-Carrillo, J. Luis, Lagunes-Tejeda, Ángel, & Garzón-Tiznado, José A. (2008) Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones mexicanas del salerillo, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Agrociencia*, 42(4), 463-471.
- Verspoor, R. L., Heys, C., & Price, T. A. (2015). Dyeing Insects for behavioral assays: the mating behavior of anesthetized *Drosophila*. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (98), e52645.