

**EFECTO DE PLANTAS HOSPEDERAS EN LA INDUCCIÓN ENZIMÁTICA
DETOXIFICATIVA Y SUSCEPTIBILIDAD A PESTICIDAS EN *Bemisia tabaci*
(GENNADIUS).**

YOSENI MAYELI MARTINEZ MARTINEZ

**TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA
“ANTONIO NARRO”
SALTILLO, COAHUILA.**

DICIEMBRE DE 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**EFFECTO DE PLANTAS HOSPEDERAS EN LA INDUCCIÓN ENZIMÁTICA
DETOXIFICATIVA Y SUSCEPTIBILIDAD A PESTICIDAS EN *Bemisia tabaci*
(GENNADIUS).**

TESIS

PRESENTADA POR

YOSENI MAYELI MARTINEZ MARTINEZ

**Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como
requisito parcial para optar al grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

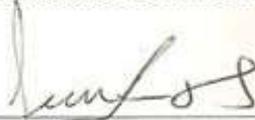
COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal



Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor



Dr. Jerónimo Landero Flores

Asesor



Dra. Yisa M. Ochoa Fuentes



Dr. Fernando Ruíz Zárate

Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila, México; Diciembre 2013.

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Que nunca me abandonó y siempre estuvo fortaleciéndome.

Al comité de asesores:

Dr. Ernesto Cerna Chávez, por su paciencia y apoyo en todo momento; Dr. Jerónimo Landeros Flores por sus consejos y amistad; Dra. Yisa Ochoa Fuentes, por su atención y tiempo.

Compañero:

Mc. Omegar Hernandez Bautista, por el apoyo estadístico en la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

A los dueños de mi corazón:

Amauri Jahaziel Díaz Martínez

Y

José Daniel Díaz González

A mis padres:

Por hacerme saber que siempre puedo contar con ellos.

A mis hermanos:

Inmer, Andersi Y Gaby, por ese lazo que siempre nos unirá, sin importar lo que pase.

A mis sobrinos:

Johanne y Alessandro, que los quiero muchísimo.

COMPENDIO

Efecto de plantas hospederas en la inducción enzimática detoxificativa y susceptibilidad a pesticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius).

POR

YOSENI MAYELI MARTINEZ MARTINEZ

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SALTILLO, COAHUILA, DICIEMBRE 2013**

DR. ERNESTO CERNA CHAVEZ –Asesor-

Palabras claves: Mosquita blanca, hospederos, pruebas bioquímicas, resistencia a insecticidas, enzimas detoxificativas.

Bemisia tabaci (gennadius) conocida como mosquita blanca se ha considerado desde los años 80 una de las plagas más problemáticas a nivel mundial, debido a los daños que ocasiona ; El directo que es como succionador de savia ocasionando debilitamiento de la planta e Indirecto como vector de numerosos virus, provocando a si perdidas millonaria en diversos cultivos. Es considerada una plaga polífaga debido a que se encuentra en cientos de hospederos. Esta plaga ha sido mayormente controlada con productos químicos de manera excesiva lo cual a ocasionado resistencia, el mecanismo usado es mediante enzimas capaces de detoxificar el toxico; Sin embargo también se ha considerado que el hospedero tiene gran influencia en la inducción a esta característica en insectos. Existen diversos reportes sobre la influencia de las plantas en la coevolución de los insectos o resistencia natural. Por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar la influencias en la inducción de enzimas detoxificativas en seis diferentes hospederos así como la variabilidad en la susceptibilidad de *B. tabaci*, de poblaciones recolectas del municipio de Villacorzo, Chiapas, donde se ha reportado la presencia de biotipo B. Mediante bioensayos se determinó la CI_{50} y el radio de resistencia (RR). Por lo que, los resultados nos muestran que el RR más elevado de mosquitas blancas contra el producto bifentrina fue de 7.27 y 11.40X para la maleza I y II. Para el producto imidacloprid los valores más altos los presento la maleza I, el tomate y la calabaza con 78.88, 78.70 y 72.72X respectivamente. Para el producto endosulfan los valores más altos los presento la maleza III con 3.90X y la maleza II con 3.35X. Y Donde se pudo observar cambios en los niveles de α y β -esterasas en las poblaciones de *B. tabaci* desarrolladas en las malezas *Solanum nigrum* y *Melampodium divaricatum*. Por lo que

se puede mencionar que el tipo de hospedero influye en la inducción de enzimas detoxificativas en la resistencia de *B. tabaci*.

ABSTRACT

Effects of host plants on detoxificative enzymes induction and susceptibility to pesticides of *Bemisia tabaci* (Gennadius)

BY

YOSANI MAYELI MARTINEZ MARTINEZ

MASTER IN SCIENCE

AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SALTILLO, COAHUILA, DECEMBER 2013

DR. ERNESTO CERNA CHAVEZ -Advisor-

Key words: Whitefly, insecticide resistance, host, biochemical tests, detoxifying enzymes.

Bemisia tabaci (Gennadius) known as whitefly has been considered since the 80's one of the most troublesome pests in the world, due to the damage caused. The live show is like sap sucker causing weakening of the plant and Indirect vector of many viruses, provoking if lost millions in various crops. Is considered a polyphagous pest is because hundreds of hosts. This disease has been largely controlled excessively chemicals which caused a resistance mechanism is used by the enzymes capable of detoxifying toxic. However it was also considered that the host has great influence on the induction of this feature in insects. There are several reports on the influence of the coevolution of plants or insects natural resistance. Therefore the aim of this investigation was to determine the influence on enzyme induction in six different hosts detoxificativas well as the variability in susceptibility of *B. tabaci* populations Villacorzo you collect the municipality of Chiapas , which has reported the presence of biotype B. Bioassays CL_{50} was determined , and the radius of resistance (RR). So , the results show that the highest RR whiteflies against bifenthrin product was 7.27 and 11.40X for weeds I and II . For product imidacloprid higher values I present them weeds , tomatoes and squash with 78.88 , 78.70 and 72.72X respectively. For product endosulfan higher values the weeds present and III with 3.90x 3.35X weed II. And where we observed changes in the levels of α and β - esterases in populations of *B. tabaci* developed in weeds *Solanum nigrum* and *Melampodium divaricatum* . As can be noted that the type of host influences detoxificativas enzyme induction in the resistance of *B. tabaci* .

ÍNDICE CONTENIDO

	PÁGINAS
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Generalidades de <i>Bemisia tabaci</i>	3
Origen.....	3
Distribución.....	3
Ubicación taxonómica.....	4
Biología y hábitos.....	4
Huevo.....	4
Ninfa.....	5
Adulto.....	5
Daños.....	5
Hospedero.....	6
Biotipo.....	7
Control cultural.....	7
Control biológico.....	8
Control químico.....	8

Resistencia.....	9
Resistencia por comportamiento.....	9
Resistencia morfológica.....	9
Resistencia fisiológica.....	10
Resistencia no metabólica.....	10
Resistencia metabólica.....	10
Enzimas.....	10
Resistencia natural.....	10
Interacción planta-insecto.....	11
Metabolitos secundarias.....	11
Reportes de aleloquímicos asociados a resistencia de insectos.....	12
ARTÍCULO CIENTIFICO I	
Variación en la susceptibilidad a insecticidas de <i>Bemisia tabaci</i> biotipo B alimentada sobre diferentes hospederos.....	13
ARTÍCULO CIENTIFICO II	
Efecto de plantas hospederas en la inducción enzimática detoxificativa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius).....	35
ARTÍCULO CIENTIFICO III	
Variación en la susceptibilidad e inducción enzimática detoxificativa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> por efecto de diferentes hospederos.....	48
CONCLUSIONES GENERALES.....	69
LITERATURA CITADA.....	70
APENDICE.....	76

INDICE DE CUADROS

Tabla 1	Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Bifentrina en tres hospederos de <i>Bemisia tabaci</i> (Gen).....	31
Tabla 2	Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Imidacloprid en tres hospederos de <i>Bemisia tabaci</i> (Gen).....	32
Tabla 3	Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Endosulfan en tres hospederos de <i>Bemisia tabaci</i> (Gen).....	33
Cuadro 1	Niveles máximos de absorbancia de β -esterasas en <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) desarrollada en seis hospederos	41
Cuadro 2	Niveles máximos de absorbancia de α -esterasas en <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) desarrollada en seis hospederos	42
Tabla I	Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Bifentrina en tres hospederos de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West).....	57
Tabla II	Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de endosulfan en tres hospederos de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West).....	58

Tabla III	Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Imidacloprid en tres hospederos de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West).....	59
Tabla IV	Niveles máximos de absorbancia para esterases en <i>Trialeurodes vaporariorum</i> , en tres hospederos.....	60
A.1	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de tomate para bifentrinas, a las 24 hrs.....	77
A.2	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza I para bifentrinas, a las 24 hrs.....	77
A.3	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza II para bifentrinas, a las 24 hrs.....	78
A.4	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de frijol para bifentrinas, a las 24 hrs.....	78
A.5	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza III para bifentrinas, a las 24 hrs.....	79
A.6	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de calabaza para bifentrinas, a las 24 hrs.....	79
A.7	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de tomate para imidacloprid , a las 24 hrs.....	80
A.8	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza I para imidacloprid , a las 24 hrs.....	80

A.9	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza II para imidacloprid , a las 24 hrs.....	81
A.10	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de frijol para imidacloprid , a las 24 hrs.....	81
A.11	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de frijol para imidacloprid , a las 24 hrs.....	82
A.12	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de calabaza para imidacloprid, a las 24 hrs.....	82
A.13	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de tomate para endosulfan , a las 24 hrs.....	83
A.14	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza I para endosulfan , a las 24 hrs.....	83
A.15	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza II para endosulfan , a las 24 hrs.....	84
A.16	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de maleza III para endosulfan , a las 24 hrs.....	84
A.17	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de frijol para endosulfan , a las 24 hrs.....	85
A.18	Mortalidad de ninfa de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) de líneas de campo de calabaza para endosulfan , a las 24 hrs.....	85

A.19	Valores promedio de absorbancia de α -esterasas en <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) desarrollada en seis hospederos.....	86
A.20	Valores promedio de absorbancia de β -esterasas en <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) desarrollada en seis hospederos.....	87
A.21	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de tomate para bifentrina , a las 24 hrs.....	88
A.22	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de nochebuena para bifentrina , a las 24 hrs.....	88
A.21	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de tabaco para bifentrina , a las 24 hrs.....	89
A.22	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de tomate para imidacloprid , a las 24 hrs.....	89
A.23	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de nochebuena para imidacloprid , a las 24 hrs.....	90
A.24	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de tabaco para imidacloprid , a las 24 hrs.....	90
A.25	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de tomate para endosulfan , a las 24 hrs.....	91
A.26	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de nochebuena para endosulfan , a las 24 hrs.....	91

A.27	Mortalidad de ninfa de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) de líneas de campo de tabaco para endosulfan , a las 24 hrs.....	92
A.28	Valores promedio de absorbancia de α -esterasas en <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) desarrollada en tres hospederos.....	93
A.29	Valores promedio de absorbancia de β -esterasas en <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (West) desarrollada en tres hospederos.....	94

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Comparación de los valores de CL ₅₀ de bifentrina, imidacloprid y endosulfan en seis diferentes hospederos de mosquita blanca.....	34
---	----

INTRODUCCION

Bemisia tabaci Gennadius (Hemiptera : Aleyrodidae) es una plaga de importancia mundial de la agricultura y cultivos ornamentales (Brown *et al* 1995; Oliveira *et al* .,2001 ; Boykin *et al* . 2007). En México, causa daños severos en las regiones hortícolas de Sinaloa, Sonora, Baja California, Nayarit, Guerrero, Jalisco, Chiapas y Tamaulipas en cultivos en invernadero como a campo abierto (Urias *et al*., 1995). Esto debido a que ocasiona daños directos e indirectos (Rodríguez y Cardona 2001) como succión de savia ocasionando el debilitamiento de la planta, y transmisión de virus. (Faria y Wraight 2001). Es una plaga altamente polífagas e invasiva , tanto de los cuales han desarrollado una fuerte resistencia generalizada a muchas clases de insecticidas (Cahill *et al* 1995 ; . Cahill *et al* . 1996 ; Dennehy y Williams 1997 ; Morin *et al*.,2002). La forma más importante de resistencia es la metabólica según Georghiou (1965), Consiste en la degradación de muchos compuestos nocivos que se encuentran en el ambiente a través de un sistema integrado de enzimas (López, 2008). De esta manera, los insectos que son resistentes pueden detoxificar o destruir la toxina más rápido que los insectos susceptibles (IRAC, 2013). Los principales sistemas enzimáticos responsables del metabolismo e inhibición de insecticidas son las oxidasas (Wilkinson, 1983), esterasas y carboxiesterasas (Yasutomi, 1983), glutation s-transferasas (Dauterman, 1983) y acetil colinesterasa (Hama, 1983). Y se ha propuesto que la susceptibilidad a insecticidas, así como los fenómenos de resistencia están asociados a factores genéticos y ambientales (Mascarenhas *et al* .,1998;Huang *et al* ., 2004). La complejidad de la planta y los productos químicos de defensa es uno de los mayores desafíos que insectos herbívoros se enfrentan, y ha sido propuesto como una de las principales fuerzas selectivas para la evolución de los insectos herbívoros

(Schoonhoven *et al.*, 2005; Yu (1982) a demostrado que el gusano cogollero en plantas huésped como frijol, el nabo, y mostaza a inducidos de 7 - a 10 veces, el aumento en la actividad GST con relación a la soya por su parte *B. tabaci* es una especie polífaga, pudiéndose localizar sobre 900 especies de plantas hospedantes cultivadas y silvestres (Polack, 2005). Por lo anterior queda como objetivo determinar el efecto del hospedero en la inducción de enzimas detoxificativas, y susceptibilidad a diferentes insecticidas sobre *B. tabaci*.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades de *Bemisia tabaci*

La mosca blanca, fue descrita hace mas de 100 años como una plaga en Grecia y desde entonces se ha convertido en una plaga importante que afectan la agricultura mundial (Naranjo *et al.*, 2004).

Origen

Las afiliaciones evolutivos de los taxones *Bemisia* dentro de la familia Aleyrodidae sugieren que puede tener su origen en el África tropical y fue introducido hace poco en el Neotrópico y sur de América (Campbell *et al.* ,1996). La evidencia también sugiere que *B. tabaci* puede ser nativa a India o Pakistán , donde se ha encontrado la mayor diversidad de las especies parasitoides , un criterio que tienen y ha sido considerado una buena indicación de un género epicentro (Brown *et al.* ,1995).

Distribución

Se encuentra en las regiones tropicales y templadas del mundo. En América, *B. tabaci* afecta al menos 23 cultivos, desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina y en todos los países del Caribe. En zonas neotropicales, estos incluyen frutales, hortalizas y ornamentales de gran importancia nutricional y económica tales como melón, sandía, uva, tomate, pepino, habichuela, frijón, papa, maní, algodón, soya, crisantemo y nochebuena (Hilje 1996; McAuslane 2000).

Ubicación taxonómica según (Gennadius, 1889).

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Sternorrhyncha

Super familia: Aleyrodoidea

Familia: Aleyrodidae

Subfamilia: Aleyrodinae

Género: Bemisia

Especie: *B. tabaci*

Biología y hábitos

Pertenecientes al orden hemíptera y a la familia Aleyrodidae, las moscas blancas son insectos pequeños de 1 a 3 mm de longitud (Triplehorn y Johnson, 2005). Presenta metamorfosis incompleta, tiene los siguientes estados de desarrollo durante su ciclo de vida: huevo, cuatro instares ninfales y adulto. La duración del ciclo total de huevo a emergencia del adulto es de 23 a 28 días, dependiendo de factores ambientales y biológicos. (Morales *et al.*, 2006).

Huevo: Es de forma oval y delgada (en punta), provisto de una especie de pedicelo, que le sirve de anclaje, ya que la hembra al ovipositar introduce esa estructura en el tejido de la planta. Son puestos en el envés de las hojas, algunas veces en grupos en círculos o semicírculos, dependiendo de la textura de la superficie de la hoja, por la hembra que oviposita mientras gira alrededor de su estilete introducido en el punto de alimentación. El periodo de incubación varía con la temperatura y la humedad, a 25 °C y 75% de HR la duración del estado de huevo es de seis a siete días (Morales *et al.*, 2006, López-Avila, 2004). La mayoría de estas especies son por partenogénesis arrenotoquia (Horowitz y Gerling, 1992).

Ninfa: Pasa por cuatro instares y un estado conocido como pupa al final del cuarto instar. Una vez eclosionado el huevo, emerge una pequeña ninfa que mide alrededor de 0,27 mm de largo, es móvil y se desplaza sobre la superficie de la hoja hasta que encuentra un lugar apropiado para alimentarse, introduce su pico y se fija allí donde transcurrirá el resto del estado de ninfa sin volverse a desplazar. Los instares se diferencian principalmente por cambios en el tamaño y la acumulación de sustancias cerosas sobre su cuerpo y durante el segundo y tercer estadio de ninfa el cuerpo es ovalado y de color amarillo-transparente, en el cuarto estadio comúnmente referido como “pupa”, los ojos y las alas blancas del adulto son visibles (Molinari,2007). Una vez terminado el estado de ninfa, que bajo las condiciones mencionadas, dura de 15 a 17 días, emerge el adulto por una abertura dorsal en forma de “T” invertida (Lopez-avila, 2005).

Adulto: Los adultos de *B. tabaci*, miden aproximadamente 0,85 a 1,2mm; las alas como el cuerpo están cubiertos por finas escamas cerosas, quedan al insecto un aspecto harinoso (aleyron=harina). En reposo permanecen con las alas plegadas y no son voladores muy activos (Molinari, 2007). Tienen una longevidad que puede situarse en 15 -4 días a 28 °C a 30.1 días a 16 °C

Daños Según Granados (2006)

Directos. Producidos por la succión de savia. En este proceso se inyectan bb toxinas a través de la saliva lo que ocasiona el debilitamiento de la planta y a veces manchas cloróticas.

Indirectos: Producidos por la secreción de melaza y posterior asentamiento de negrilla (*Cladosporium sp.*) en hojas, flores y frutos; lo que provoca asfixia vegetal.

Transmisión de virus. *Bemisia tabaci* transmite 7 grupos de virus diferentes, Begomovirus, Carla-virus, Ipomovirus y Crinivirus. De entre ellos los Begomovirus constituyen el grupo más importante de patógenos causantes de pérdidas significativas en muchos cultivos.

En algunos cultivos, tales como tomate, la presencia de un solo adulto de mosca blanca por planta es suficiente para causar el 100% de infección con geminivirus (Faria y Wraight, 2001).

Hospederos

B. tabaci ha sido registrada en más de 600 diferentes especies de plantas (Montículo y Halsey, 1978;) y su polífaga naturaleza ha sido documentado en todo el mundo (Bird, 1957 ; Burban *et al.* , 1992).

Un número grande de las plantas cultivadas y no cultivadas, anuales y perennes especies se reconocen como alimentación aceptable y / o hospederos reproductivos (Butler y Henneberry , 1986 ; Brown *et al.* , 1995) de la especies vegetales que figuran por montículo Halsey (1978) , el 50% pertenecen a cinco familias : Fabaceae , Asteraceae , Malvaceae , Solanaceae y Euphorbiaceae.

Sin embargo en los últimos años se han hecho de nuevos registros de hospederos por ejemplo: En Brasil , *B. tabaci* ha sido encontrada infestando una serie de nuevos cultivos y malezas hospederas (Lima *et al.* , 2000 ; . Oliveira *et al.* , 2000b) que incluyen: *Cleome spinosa* (Cleomaceae) , *Senna obtusifolia* (Fabaceae) , *Herisanthia hemoralis* (Malvaceae) , *Richardia grandiflora* , *Borreria verticilliata* (Rubiaceae) , *Waltheria indica*, *W. rotundifolia* (Sterculiaceae) , y *Stachytarpheta sanguinea* (Verbenaceae) (Oliveira *et al.* , 2000b) ; *Ambrosiacum Solanum* (Solanaceae) , *Pavonia cancellata* , *Herissantia crista* (Malvaceae) , *Diodia teres* (Rubiaceae) , y *Phyllanthus tenellus* (Euphorbiaceae). Mientras que en Estados unidos de América se han reportado *Hyperium perfolatum* (Hypericaceae) , *Valeriana officinalis* (Valerianaceae) , *Tanacetum parthenium* , *Echinacea pallida* , *E. purpurea* (Asteraceae) (Simmons *et al.* , 2000).

Biotipos

La existencia de biotipos de mosca blanca se propuso por los años 50s después de observar que eran difíciles de distinguir por el numeroso rango de hospederos, clima y adaptabilidad. Generalmente estos biotipos están descritos por: hospederos, fitotoxicidad, resistencia a pesticidas, morfología o comportamiento (Brown 1995; Hilge 2004; Pest Alert 2005). Al respecto, se han usado diversas técnicas principalmente electroforesis de esterases no específicas, técnicas moleculares como RAPD-PCR y análisis de genes específicos (18S rARN, 16S rADN) (Perring 2001). Se han identificado más de 24 biotipos de *B. tabaci* a través de diversas técnicas, entre las que el biotipo B ha sido determinado como una de las plagas más destructivas de plantas agrícolas (Perring, 2001). Sin embargo, en estos estudios se han usado diversas herramientas para los análisis moleculares e interpretación de los resultados, lo cual causa dificultad para poder compararlos y dar conclusiones (Oliveira *et al.* 2001).

El biotipo B (Costa & Brown 1991) es una variante particularmente agresiva *B. tabaci*. Tiene una gama de huéspedes muy amplio, es muy fecunda, y se dispersa a distancias relativamente largas (Brown 2000;). En México se ha reportado Biotipo B en las principales zonas productoras de hortalizas (Pacheco, 1985).

Control cultural

Casanova. A (1989) plantea que las siguientes medidas de control deben ponerse en práctica de una forma combinada para evitar grandes pérdidas económicas en sus cosechas:

- ✓ Cambiar fechas de siembra y distribución de restos de cosechas.
- ✓ Destruir las malezas hospederas del insecto y plantas con síntomas de virosis.
- ✓ Eliminar restos vegetales después de la cosecha y plantas espontáneas al cultivo.
- ✓ Rotación de cultivo.

Control biológico

El control biológico consiste en el uso intencional de enemigos naturales, para regular las poblaciones de organismos que han alcanzado el nivel plaga. Para *Bemisia tabaci* se han utilizado los siguientes organismos:

- ✓ De los seis géneros reportados como parasitoides de las moscas blancas, *Encarsia*, *Eretmocerus* y *Amitus*, *Encarsia formosa* Gahan son los más importantes (Vázquez, 2002; Lopez-Avila, 2001).
- ✓ Depredadores son escarabajos (Coccinellidae), chinches (Miridae, Anthocoridae), neurópteros (Chrysopidae, Coniopterygidae), ácaros (Phytoseiidae) y arañas (Araneae). (Gerling et al., 2001). Por ejemplo, *Catalinae*, *Delphastus* y *Serangiumparcesetosum* (Coccinellidae), *Macrolophus caliginosus* (Miridae), *Chrysoperla carnea* y *C. rufilabris* (Chrysopidae) (Gerling et al., 2001), dentro de los ácaros se han encontrado los géneros *Amblyseius* sp y *Typhlodromus* (Gerling, 2003).
- ✓ Y en entomopatogenos *Lecanicillium lecani* (Zimm.) atacando principalmente estados ninfales (Faria y Wright, 2001).

Control químico

Bemisia tabaci, hasta los años ochenta, no era considerada como plaga primaria, mismas que se podían controlar con aplicaciones oportunas de insecticidas sin causar pérdidas económicas considerables para los agricultores, sin embargo, en la actualidad son tan fuertes los daños que causa en los cultivos que es contemplada como la principal restricción en la producción agrícola (Ortega, 2008b). Desafortunadamente el uso indiscriminado de insecticidas ha dado lugar al desarrollo de resistencia (Naveed, 2006). Principalmente a insecticidas tradicionales como organofosforados, carbamatos y

piretroides de contacto y de acción sistémica (Morales *et al.*, 2006). Aunque la resistencia a imidacloprid ha sido relativamente de lento desarrollo, ha sido ahora identificado como un problema emergente en varias especies de plagas, entre las cuales ya se encuentra *B. tabaci* (Nauen y Denholm, 2005). Adquirirla tiene sus respectivos costos como lo son, la reducción de la fecundidad, Incremento en el tiempo de eclosión de los huevos para dar origen a nuevos individuos e incremento en el tiempo total de desarrollo del organismo (Baker *et al.*, 2007).

Resistencia

Resistencia puede definirse como un cambio heredable en la sensibilidad de una población de la plaga que se refleja en la incapacidad repetida de un producto para alcanzar el nivel previsto de control, cuando se utiliza de acuerdo con la recomendación de la etiqueta para que las especies de plagas (IRAC, 2013).

Georghiou (1965) clasificó la resistencia en tres tipos: por comportamiento, morfológica y fisiológica. Donde esta última según McNally (1962) es el tipo de resistencia más importante.

Resistencia por comportamiento: Es una disminución del contacto con el insecticida para aumentar la probabilidad de supervivencia en un entorno tratado con insecticida. Estos cambios pueden implicar una menor tendencia a entrar en las casas rociadas o una mayor tendencia a alejarse de las superficies tratadas una vez que se hace el contacto. Se trata de un mecanismo de resistencia menor en comparación con los otros mecanismos (Hemingway & Ranson, 2005)

Resistencia morfológica: La resistencia morfológica, es un mecanismo físico de resistencia y contempla muchos casos de penetración reducida que causan resistencia en los insectos la velocidad de penetración depende de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del integumento del insecto, las cuales varían considerablemente entre los estadios de vida y de una especie a otra. Una penetración demorada provee un mayor tiempo para la detoxificación de una dosis tomada (Brattsten *et al.*, 1986).

Resistencia fisiológica: Con fines de manejo, este tipo de resistencia se agrupa en dos mecanismos. Según Miller (1988)

Resistencia no metabólica: Son cambios en sensibilidad del sitio activo, en la tasa de penetración, almacenamiento o excreción, así como en el comportamiento o la forma de los insectos.

Resistencia metabólica: Cuando se involucran cambios enzimáticos en la vía metabólica del insecto llega a ser modificada detoxificándose el insecticida o negando el metabolismo del compuesto aplicado en su forma tóxica. La forma más importante de resistencia metabólica incluye la multifunción oxidasas, las glutatión s-transferasas y las esterasas.

Resistencia natural

La idea de que las poblaciones de organismos tienen la capacidad de evolucionar proviene originalmente de Aristóteles, quien notó que los organismos tenían grados de afinidad y diferenciación entre ellos, y que se podían colocar en una “escala natural” en cuya parte inferior estaban los seres más simples y en la parte superior los más complejos.

Se asumía que todos los seres vivos eran criaturas imperfectas pero que avanzaban hacia estados cada vez más perfectos (Solomon *et al.*, 2001).

Actualmente se sabe que las poblaciones de organismos cambian sus frecuencias génicas y genotípicas debido a la acción de varias fuerzas evolutivas en donde la más importante es la selección natural (Falconer, 1989).

Por lo tanto la quimiodiversidad de las plantas, o diversidad fitoquímica, es una característica de la vida en la Tierra. Los organismos vivos producen miles de estructuras de compuestos con bajo peso molecular. Se estima que se han descrito más de 200,000 estructuras (Harborne, 2000; Picherski & Gershenzon, 2002). Toda la diversidad fitoquímica implícita en esas matrices biológicas tienen efectos en los organismos que interactúan con las plantas (Langenheim, 1994; Poelman *et al.*, 2008). Dado a que enfrentan a múltiples herbívoros y patógenos simultánea o secuencialmente (Linhart, 1991), se piensa que los metabolitos secundaria que se encuentran actualmente

en las plantas son producto de la coevolución (difusa o directa) con sus enemigos naturales (herbívoros y plagas) y sus mutualistas (Iason *et al.*, 2011). Muchos insectos son capaces de desintoxicar tóxicos, potencialmente metabolitos secundarios, utilizando monooxigenasas del citocromo P450 y glutatión S-transferasas; por ejemplo, xantotoxina induce la expresión de P450 en *Helicoverpa zea* (Li, 2000).

Interacción insecto-planta

Las plantas han evolucionado hasta ser los organismos dominantes en nuestro planeta, de las que dependemos la mayoría de las especies. En su hábitat natural, las plantas reciben diferentes estímulos bióticos y abióticos simultáneamente, a los que responden. Las plantas terrestres son la fuente de alimento para una cantidad estimada en más de un millón de especies de insectos de diferentes grupos taxonómicos (Baldwin *et al.*, 2001) entre las cuales se encuentra *Bemisia tabaci* que se ha caracterizado por ser una especie polífaga con más de 900 plantas huésped (Polack, 2005). Por lo que ha quedado demostrado que el hospedero tiene gran influencia en el desarrollo de resistencia. Esto se debe a que las plantas producen una diversidad de metabolitos secundarios, o aleloquímicos, principalmente como defensa (Schoonhoven *et al.*, 2005)

Metabolitos secundarios

Las plantas pueden mediar las interacciones foliares mediante la inducción del metabolismo secundario (Bezemer *et al.*, 2003; Kaplan *et al.*, 2008a), que se consideran como desechos de los vegetales carentes de una función definida, sin embargo tiene una gran importancia como un todo (Taiz, 2002). Se clasifican en diferentes tipos: fenoles y terpenos, solo una tercera parte contienen metabolitos basados en el nitrógeno, como alcaloides o glucosinolatos (Harborne, 1997). Los fenoles son compuestos químicos con al menos un anillo aromático que contienen uno o más grupos hidroxilos (Strack, 1997); Mientras que los terpenos son compuestos que están constituidos por dos o más unidades de isopreno unidas y son la familia más amplia de compuestos en plantas (Connolly y Hill, 2001).

Los insectos pueden evitar el consumo de plantas tóxicas tan pronto como estén capaz de detectar visualmente, olfativamente o a través de contacto (Chapman, 2003).

Pueden producir cambios sutiles en las respuestas de defensas de las plantas, lo que resulta en una capacidad de tolerarlas.

La mezcla compleja de toxinas encontradas en muchas plantas puede dar efectos sinérgicos en la defensa contra la herbivoría. Por ejemplo, una combinación de dos monoterpenoides casi es 10 veces más tóxico a *Spodoptera litura* en tabaco.

Reportes de aleloquímicos asociados a resistencia de insectos

Glucosinatos, inhiben la respiración, y la detoxificación ocurre mediante Glutation s-transferasas, en *Myzus persicae* (Francis *et al.*, 2005) y Detoxification por P450s en *Drosophila melanogaster* (Fogleman, 2000); Flavonoides y acidos fenolicos, de igual manera disminuye o aumenta la respiración, *Pontania sp*, escapaza de secuestrar o desechar la toxina a través del tejido biliar (Nyman, 2000); Terpenoides se han encontrado *Spodoptera exigua* y si han encontrado genes represoros en las vías biosinteticas (Bede *et al.*, 2006).

**Variación en la susceptibilidad a insecticidas de *Bemisia tabaci* biotipo B
alimentada sobre diferentes hospederos**

(Con 3 tablas y 1 figura)

**Variation in susceptibility to insecticides of *Bemisia tabaci* B biotype fed on
different host**

E. Cerna-Chávez¹, Y. Martínez-Martínez², J Landeros-Flores¹, O. Hernández-Bautista¹
y Y M Ochoa-Fuentes*¹

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, Tel y Fax. 844 4110226. ²Estudiante de posgrado. Maestría en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, Tel y Fax. 844 4110226.

Titulo resumido: Variación en la susceptibilidad de *B. tabaci*

Palabras clave: Mosquita blanca, susceptibilidad a insecticidas, hospederos,

Autor para correspondencia:

Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Calzada Antonio Narro No 1923
CP 25315
Saltillo, Coahuila, México.
Tel.: (844) 11 02 26
E-mail: yisa8a@yahoo.com

Sistema operativo y procesador de palabras: Windows XP- Microsoft Word 2003

Variación en la susceptibilidad a insecticidas de *Bemisia tabaci* biotipo B alimentada sobre diferentes hospederos

Resumen. *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotipo B está catalogada como una de las plagas más importantes en la agricultura, debido al gran número de hospederos y a las pérdidas económicas que ocasiona. En los últimos años su control ha sido ineficiente, generando un gran número de aplicaciones por temporada, lo que ha provocado problemas de resistencia. Sin embargo se ha comprobado que en diversos artrópodos, no solamente el uso indiscriminado de plaguicidas ha generado este problema; Por lo que, el hospedero también puede influir en la inducción de una resistencia natural hacia los plaguicidas. Es por ello, que en la presente investigación tiene como objetivo conocer la susceptibilidad de poblaciones de *B. tabaci* desarrolladas en diferentes hospederos contra tres insecticidas de diferente grupo toxicológico. Para esto se recolectaron poblaciones de *B. tabaci*, en seis diferentes hospederos (tres cultivos y tres de maleza del Estado de Chiapas, México. Mediante bioensayos se determinó la CL_{50} y el radio de resistencia (RR). Por lo que, los resultados nos muestran que el RR más elevado de mosquitas blancas contra el producto bifentrina fue de 7.27 y 11.40X para la maleza I y II. Para el producto imidacloprid los valores más altos los presento la maleza I, el tomate y la calabaza con 78.88, 78.70 y 72.72X respectivamente. Para el producto endosulfan los valores más altos los presento la maleza III con 3.90X y la maleza II con 3.35X. Por lo anterior podemos mencionar que una alta tolerancia de *B. tabaci* a insecticidas, no solamente es debido al uso de plaguicidas, si no también está relacionado el tipo de hospedero, ya que este puede inferir en el desarrollo de una tolerancia natural.

Palabras clave: Mosquita blanca, susceptibilidad a insecticidas, hospederos,

Abstract: *Bemisia tabaci* (Gennadius) B Biotype is ranked as one of the most important pests in agriculture due to the large number of hosts and economic losses. In recent years, his control has been inefficient, generating a large number of applications per season, which has resistance problems. However it has been found that in many arthropods, not only the indiscriminate use of pesticides has generated this problem so, the host may also influence the induction of natural resistance to pesticides. Therefore, in this research the goal is to determine the susceptibility of populations of *B. tabaci* developed in different hosts against three different insecticides. Populations of *B. tabaci* were collected, in six different hosts (three cultures and three weeds) of Chiapas State, Mexico. Bioassays LC_{50} was determined and the ratio of resistance (RR). The results show that the highest RR whitefly against bifenthrin product was 7.27 and 11.40X for weeds I and II. For imidacloprid higher values present them I weeds, tomatoes and squash with 78.88, 78.70 and 72.72X respectively. For endosulfan higher values present weeds III with 3.90X and weed II 3.35X. Therefore we can mention that a high tolerance of *B. tabaci* to insecticide is not only to the use of pesticides, but also is related to the type of host, as this might interfere with the development of a natural tolerance.

Keywords: Whitefly, insecticide resistance, host

INTRODUCCIÓN

Bemisia tabaci (Gen.) (Homóptera: Aleyrodidae) Biotipo B provoca pérdidas económicas, siendo catalogada como una de las plagas más importantes del mundo (De Barro et al., 2005), En los estadios tanto de ninfas como adultos causan daño directo al succionar la savia, así como la secreción de mielecilla que propicia el desarrollo de hongos que dificultan la fotosíntesis afectando el vigor del hospedero. Sin embargo, el daño más severo lo causan como vectores de virus (Byrne y Bellows, 1990). En América constituye un grave problema desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina (Anderson, 1993; Caballero, 1993). En México, la especie *B. tabaci* es una de las plagas que más daño ocasiona primordialmente a los cultivos de hortalizas (Holguín-Peña et al., 2010), caracterizándose por ser una especie multivoltina, lo que ha dificultado el manejo integrado de esta plaga (Byrne y Bellows 1999). Por lo que, su control se ha basado principalmente en pesticidas; Sin embargo el uso indiscriminado de estos ha dado lugar al desarrollo de problemas de resistencia (Naeve, 2006). Aunado a lo anterior, se ha demostrado que los hospederos influyen en la susceptibilidad de ciertos artrópodos a pesticidas; Por lo que, el alimento puede influir en la susceptibilidad de dos formas, la primera es la cantidad y la calidad de alimento que se ve reflejado en el peso y tamaño del insecto; la segunda es a la presencia de metabolitos secundarios presentes en las plantas y que el insecto es capaz de asimilar, alterando su sistema enzimático de degradación de xenobióticos (Yu, 1982). Siendo *B. tabaci* es una especie polífaga, localizándose sobre 900 especies de plantas hospederas, tanto cultivadas como silvestres (Polack, 2005). Por lo anterior *B. tabaci* se muestra como una especie candidata a presentar una resistencia natural como resultado del hospedero. Por tal

motivo, el conocer el efecto del hospedero sobre la susceptibilidad a insecticidas en *B. tabaci*, puede ser utilizada como referencia en estudios de resistencia, dando evidencia teórica para el uso seguro y racional de los plaguicidas (Castle et al., 2009). Debido a lo anterior el objetivo de esta investigación es conocer el nivel de susceptibilidad de *B. tabaci* a tres insecticidas de diferente grupo toxicológico desarrolladas en diferentes hospederos

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Para el establecimiento del pie de cría de *B. tabaci*, se realizaron seis muestreos en el municipio de Villacorzo, Chiapas, con una elevación de 566 msnm, en el mes de noviembre de 2012. En la zona se ubicaron los siguientes cultivos y su maleza asociada infestados de *B. tabaci*, tomate (*Solanum lycopersicum*), maleza I (*Solanum nigrum*: Solanácea), frijol (*Phaseolus vulgaris*), Maleza II (*Melampodium divaricatum*: Asterácea), calabaza (*Cucurbita* spp) y Maleza III (*Heliotropium angiospermum*: Boraginácea). Para cada cultivo y maleza se recolectaron al menos 200 hojas infestadas con ninfas de *B. tabaci*, en 10 puntos al azar y se realizaron 100 pasadas con la red entomológica en un rango de 100 mts lineales para la captura de adultos. El material biológico recolectado se trasladó al invernadero de Parasitología Agrícola de la UAAAN, donde se colocaron en seis camas de siembra (una cama para cada cultivo y maleza) de 2.5 x 1 m, cubiertas con tela organza; cada cama contenía 50 plantas según cultivo y maleza. No se requirió trabajar retirando los adultos después de la ovoposición

ya que la diferenciación de los estadios ninfales es relativamente fácil. La cría de esta especie se realizó bajo condiciones de invernadero con 26 ± 4 °C de temperatura, HR del 70% y 14:10 h luz: oscuridad.

Los bioensayos, se realizaron de acuerdo con la técnica de inmersión de hoja para mosquita blanca con ligeras modificaciones (IRAC, 2009). Para ello, de cada una de las camas se seleccionaron hojas del estrato medio, que contuvieran 20 ninfas de cuarto estadio con el indicativo de ojos rojos y con al menos tres generaciones de alimentarse del hospedero; las hojas se sumergieron durante 5 s en la concentración respectiva de insecticida. Las hojas tratadas se dejaron secar en papel absorbente y posteriormente se colocaron en recipientes de plástico de 20 x 20 cm, con papel húmedo, las condiciones del bioensayo se realizaron a nivel laboratorio con condiciones controladas de 24 ± 2 °C de temperatura, 60 % de H.R. y 12:12 horas luz: oscuridad. Los insecticidas utilizados fueron seleccionados de acuerdo con el manejo reportado por los productores. Los insecticidas seleccionados fueron Bifentrina (Brigadier 20 P[®] 209 gr de i.a. L⁻¹, piretroide), Imidacloprid (Picador 70 PH[®] 350 gr de i.a. L⁻¹, neonicotinoide) y Endosulfan (Thiodan 35 CE[®] 350 gr de i.a. L⁻¹, clorado).

Para la preparación de las diferentes concentraciones se utilizó agua destilada y el producto bionex[®] como dispersante, en una proporción 1mL: 1L de agua. El intervalo de concentraciones utilizadas fue de 100, 250, 500, 1000, 1500 y 2000 ppm. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 h. Se consideró ninfa muerta aquella que presentaba los apéndices pegados al cuerpo, estaba deshidratada o no reaccionaba al estímulo del pincel. Se establecieron seis concentraciones de cada plaguicida para cada cultivo y maleza, además se realizaron tres repeticiones de cada bioensayo y cada repetición

incluyó un testigo de agua con bionex. El máximo nivel de mortalidad aceptable para el testigo fue del 10%; la mortalidad ocasionada por los diferentes insecticidas fue corregida por la mortalidad en el testigo mediante la fórmula de Abbott (1925). Una vez estimados los valores de Concentración Letal 50 (CL₅₀) de cada insecticida, por cultivo y maleza, los datos obtenidos se analizaron por un análisis Probit, mediante el método de máxima verosimilitud (Finney, 1971), utilizando el programa SAS system para Windows ver 9.0 (2002). Luego se calculo la Proporción de Resistencia (PR) para cada hospedero, tomando como el cociente el valor más bajo de CL₅₀ en cada uno de los insecticidas (Cerna et al., 2009).

RESULTADOS

En el Tabla 1, se muestran los valores de CL₅₀ del producto bifentrina en relación a las seis poblaciones en estudio. Como podemos observar, tomate (*Solanum lycopersicum*) presenta una CL₅₀ de 24.445 ppm y su maleza aledaña (Maleza I= *Solanum nigrum*) obtuvo una CL₅₀ de 177.765 ppm; para el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris*) fue de 150.792 ppm, mientras que para su maleza (Maleza II= *Melampodium divaricatum*) con 278.748 ppm, para la calabaza (*Cucurbita* spp) muestra una CL₅₀ de 144.145 ppm, mientras que su maleza (Maleza III= *Heliotropium angiospermun*) de 78.630 ppm. Como podemos observar la maleza II fue la que presento los valores más altos de CL₅₀ (278.748 ppm), seguida de la maleza I, el frijol y la calabaza. Mientras que los valores más bajos los presentaron el tomate y la maleza III con valores de 24.444 y 78.630 ppm respectivamente.

En el Tabla 2, podemos observar los valores de CL_{50} para el producto imidacropid en relación a las seis poblaciones. Para el caso de las poblaciones que tuvieron como hospedero al tomate presentan una CL_{50} de 179.595 ppm y la maleza I de 168.599 ppm; para el cultivo del frijol la CL_{50} fue de 102.122 ppm, mientras que para la maleza II fue de 2.282 ppm, la calabaza muestra una CL_{50} de 165.937 ppm, mientras que la maleza III de 85.105 ppm. Como podemos observar el tomate, la calabaza y la maleza I fueron las que presentaron los valores más altos de CL_{50} con 179.595, 165.937 y 168.599 ppm respectivamente. Mientras que el valor más bajo lo presentó la maleza II con un valor de 2.282 ppm.

Finalmente en el Tabla 3 podemos observar que la CL_{50} para tomate fue de 40.073 ppm, para la maleza I de 92.331, para las poblaciones desarrolladas en frijol la CL_{50} fue de 109.600 ppm, mientras que para la maleza II 134. 579 ppm; para la calabaza la CL_{50} fue de 85.760 ppm y para la maleza III de 156.523 ppm. Como podemos observar la maleza II y III fueron las que presentaron los valores más altos de CL_{50} (134. 579 y 156.523 ppm). Siendo el tomate el que presentó el valor más bajo con 40.073 ppm.

DISCUSIÓN

En relación a los resultados de CL_{50} con el producto bifentrina, podemos mencionar que la maleza II, seguida de la maleza I, el frijol y la calabaza fueron los que presentaron los valores más altos de CL_{50} (177.765 a 144.145 ppm). Mientras que los valores más bajos los presentaron el tomate y la maleza III con valores de 24.444 y 78.630 ppm respectivamente. Para los hospederos con los valores más altos de CL_{50} , como es el frijol, Morales (2000) menciona que son pocas las aplicaciones que se realizan en este cultivo; sin embargo el uso de piretroides es una estrategia que regularmente utilizan los

productores a inicios de ciclo de cultivo, con la finalidad de evitar la transmisión de virus. Utilizando para este fin las dosis altas recomendadas (Equivalente a 600 ppm). Resultado superior a lo reportado en nuestra investigación (150.792 ppm). Para la calabaza Riley y Tan (2003), reportan una CL_{50} para la bifentrina de 190.020 ppm en una línea de mosquita blanca; resultado superior en un 24% a los de nuestra investigación (144.145 ppm). Por otro lado podemos mencionar que los valores elevados de CL_{50} , encontrados en las poblaciones desarrolladas en las malezas (maleza I y II con valores de 177.775 y 278.748 ppm). Estos resultados sugieren que los hospederos tienen un efecto importante en la resistencia de *B. tabaci* a bifentrina. Al respecto Siegfried y Mullin (1989) y Martinson et al. (1991), mencionan que los factores ambientales que podrían influir en la creación de fenotipos resistentes, incluye a plantas huésped, la temperatura y la exposición subletal a insecticidas u otras toxinas. De este modo, Tian y Guo (1996) utilizando diferentes plantas hospederas como dieta en *Heliothis armígera*, encontraron respuestas diferenciales de este insecto a la deltametrina. Por otro lado, está la presencia de diferentes aleloquímicos o metabolitos secundarios reportados en estas plantas hospederas, como el zingibereno para *Melampodium divaricatum* y solasonina para *Solanum nigrum* (Simmons et al., 2004 y Correa y Bernal ,1990). Al respecto Hunter et al. (1994) encontraron que un aleloquímico (dihydrochalcone glycoside phloridzin) encontrado en el follaje del cultivo del manzano induce cambios en la respuesta de *Platynota idaeusalis* al insecticida organofosforado azinfos metil. Así mismo, estos metabolitos secundarios pueden influir en la activación de enzimas detoxificativas que suscitan cambios metabólicos en las mosquitas blancas hacia los insecticidas, tal como lo reportan (Brattsten et al. 1977 y Bush et al. 1993). Por otro lado

Tian y Guo (1996) utilizando diferentes plantas hospederas como dieta para evaluar la deltametrina en *Heliothis armígera*, encontraron un aumento general de actividad de esterasas afectado procesos metabólicos de detoxificación de este insecticida.

Para el producto imidacropid, las poblaciones que tuvieron como hospedero al tomate, la calabaza y la maleza I fueron las que presentaron los valores más altos de CL_{50} con 179.595, 165.937 y 168.599 ppm respectivamente. Mientras que el valor más bajo lo presento la maleza II con un valor de 2.282 ppm. Al respecto Gutiérrez et al., (2007) en una población de campo sobre tomate obtuvo una CL_{50} de 29.8 ppm, resultado que es 6 veces menor a lo reportado en este estudio (179.595 ppm). Mientras que, Liang et al. (2012), reportan una CL_{50} de 125.10 ppm después de siete generaciones de estar expuesta a neonicotinoides (nitenpyram e imidacloprid); siendo estos resultados un 30% menor a los reportados en esta investigación. En relación al cultivo de la calabaza Xie et al. (2010) trabajando con una población obtenida de cucurbitáceas y evaluando el producto neonicotinoide acetamiprid, reportaron una CL_{50} de 124 ppm, resultados inferiores en un 25% a los reportados en esta investigación. En relación a la maleza I el valor elevado de CL_{50} (168.599 ppm), puede ser debido a la presencia de los metabolitos secundarios que se han reportado con efecto insecticida como la solasonina, solanigrima, solasodamina, solamarina, glucoalcaloides, asparagina, taninos, saponinas, esteroides y triacotano (Correa y Bernal,1990). Así mismo podemos mencionar, que las poblaciones desarrolladas en tomate y calabaza que presentaron los valores más altos de CL_{50} ; Esto posiblemente se debe a que en el cultivo del tomate se realizan un elevado número de aplicaciones del producto por temporada. Al respecto, se han documentado

varias especies de insectos con resistencia a este insecticida. Por ejemplo, Zhao et al. (1995) en *Frankliniella occidentales* y Gorman et al. (2007) en *Trialeurodes vaporariorum* mencionando un incremento en la proporción de resistencia de 14 o 159 veces, dependiendo del número de aplicaciones por temporada. De este modo, Liang et al. (2012), reportan una CL₅₀ de 7.34 ppm en la F0 y de 125.10 ppm después de siete generaciones de estar expuesta a neonicotinoides (nitenpyram e imidacloprid).

Finalmente para el producto endosulfan la maleza II y III fueron las que presentaron los valores más altos de CL₅₀ (134.579 y 156.523 ppm). Siendo el tomate el que presentó el valor más bajo con 40.073 ppm. En relación a la maleza III (*Heliotropium angiospermum*), Smith y Culvenor (1981), mencionan que el género *Heliotropium* presenta una alta cantidad del metabolito pyrrodizilina, el cual tiene efectos contra insectos herbívoros. Al respecto Altieri et al. (1983), trabajando con *Heliotropium europaeum* en cultivos de leguminosas, redujeron alrededor del 70% las poblaciones de insectos plaga. Para la maleza II (*Melampodium divaricatum*), se ha encontrado que en la familia de las asteráceas presentan propiedades plaguicidas y plaguísticas (Schmutterer, 1990; Choi et al., 2003) encontrándose que en algunos géneros, los principios activos como trans-anetol, alilanol, B-cariofileno y tagetona, que han demostrado ser tóxicos e inhibidores de la reproducción y crecimiento en insectos (Weaver et al., 1997; Cestari et al., 2004 y Tomova et al., 2005).

Los efectos de las plantas hospederas sobre poblaciones desarrolladas en seis diferentes hospederos se presentan en las tablas 1, 2 y 3. Estos valores nos indican que hay un

pequeño efectos de plantas en relación a la tolerancia a los insecticidas. Los valores del Radio de proporción de resistencia (RR) de mosquitas blancas contra el producto bifentrina (Tabla 1). Podemos observar un RR de 7.27 y 11.40X para la maleza I y II con respecto a la población de tomate que fue el que presento el valor más bajo. Para el producto imidacloprid (Tabla 2) los valores de RR mas altos los presento la maleza I, el tomate y la calabaza con 78.88, 78.70 y 72.72X respectivamente. Para el producto endosulfan (Tabla 3) los valores más altos los presento la maleza III con 3.90X y la maleza II con 3.35X. Estos resultados sugieren que las plantas hospederas tienen un efecto importante en la resistencia de mosquita blanca (Figura 1). Ya sea encontrando respuestas diferenciales de este insecto a insecticidas por el desarrollo de las poblaciones en diferentes plantas huésped (Tian y Guo, 1996) además del incremento de enzimas detoxificativas como esterasas y epoxidasas afectado los procesos metabólicos. Así mismo los aleloquímicos o metabolitos secundarios reportados en estas especies de malezas, los cuales influyen en la tolerancia de las colonias de mosquita blanca a insecticidas. Hunter et al. (1994) mencionan que los diferentes aleloquímicos (o metabolitos secundarios) en plantas huéspedes han suscitado cambios metabólicos en mosquita blanca, tales como la activación o la inhibición metabólica, Por lo que, estos cambios en los procesos metabólicos podría provocar la diferencia observada en las respuestas a insecticidas en mosquita blanca desarrolladas en diferente planta hospedera.

CONCLUSIONES

Al respecto podemos concluir que el hospedero puede influir en la tolerancia a insecticidas de *Bemisia tabaci*, principalmente a la resistencia natural que es obtenida a través de las diferentes características fitoquímicas intrínsecas de cada una de las familias que le sirven como hospedero, proporcionándole la capacidad de detoxificar mediante el uso de enzimas, los diferentes plaguicidas.

REFERENCIAS

- Abbott, W. S (1925) A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Altieri M. A. and D. K. Letourneau (1983) Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop Protection*. 1(4):405-430.
- Anderson, P. K (1993) Un modelo para la investigación en mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius). In: Hilje, L. & Arboleda, O. Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y El Caribe. Turrialba: Ser. *Tec. Inf. Tec*, N.205: 27-33.
- Brattsten, L. B., C. F. Wilkinson., and T. Eisner (1977) Herbivore-plant interactions: mixed-function oxidases and secondary plant substances. *Science* (Washington, DC). 196: 1349-1352.
- Bush, M. R., Y.A.I. Abdel-Aal, K. Saito and G. C. Rock (1993) Azinphosmethyl resistance in the tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae): reversion,

diagnostic concentrations, associated esterases, and glutathione transferases.

Journal Economic Entomology. 86: 213-225.

Byrne, D. and T. Bellows (1991) Whitefly Biology. *Annual Review of Entomology* 36:431-457.

Castle S.J, N Prabhaker, T.J. Henneberry and N.C Toscano (2009) Host plant influence on susceptibility of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Bulletin Entomology Reserch* 99:263–273.

Caballero, R (1993) Moscas blancas neotropicales (Homóptera: Aleyrodidae): hospedantes, distribución, enemigos naturales e importancia económica. In: Hilje, L. & Arboleda, O. Las moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y El Caribe. Turrialba: Ser. *Téc. Inf. Téc*, N.205:10-15.

Cerna, E., Y. Ochoa, A. Aguirre, M. Badii, G. Gallegos y J. Landeros (2009) Niveles de resistencia en poblaciones de *Tetranychus urticae* en el cultivo de la fresa. *Revista Colombiana de Entomología* 35: 47-51

Cestari, I. M., S. J. Sarti, C. M. Waib and A. Castello (2004) Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). Scientific Note, *Neotropical Entomology* 33 (6): 805-807.

Choi W. I.; E. H. Lee, B. R. Choi., H. M. Park and Y. J. Ahn (2003) Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*. 96 (5): 1479-1484.

- Correa, Q y H Bernal (1990). Especies Vegetales Promisoras de los países del convenio Andres Bello. Baccharis, Bogota. SECAB. *Ciencia y Tecnología*. V. 5:170-236.
- De Barro, P. J (2005) Genetic structure of the whiterfly *Bemisia tabaci* in the Asia-Pacific region revealed using microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 14: 3695-3718.
- Finney, D. J (1971) Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press. Cambridge.
- Gorman, K., G. Devine, J. Bennison, P. Coussons, N. Punchard y I. Delhom (2007) Report of resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 63: 555-558.
- Gutiérrez-Olivares M., J.C. Rodríguez-Maciel, C. Llanderal-Cázares, A.P. Terán-Vargas, A. Lagunes-Tejeda, O. Díaz-Gómez (2007) Estabilidad de la resistencia a neonicotinoides en *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotipo b de San Luis Potosí, México. *Agrociencia* 41: 913-920.
- Holguín-Peña RJ, L.G. Hernández-Montiel, H. Latisnere-Barragan (2010) Identificación y distribución geográfica de *Bemisia tabaci* (Gennadius) y su relación con enfermedades begomovirales en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de Baja California, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*; 28: 58-60.
- Hunter, M. D., D. J Biddinger, E. J. Carlini, B. A. McPherson and L. A. Hull (1994) Effect of Apple leaf allelochemistry on tufted apple bud moth (Lepidoptera:

Tortricidae) Resistance to Azinphosmethyl. *Journal Economic Entomology*. 87: 1423-1429.

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2009. Susceptibility Test Methods Series: Method 5 “*Bemisia* spp”. En www.iraconline.org/documents/method5.pdf (fecha de consulta: octubre 08, 2012).

Liang P., Y. T. Tian, A. Biondi, N. Desneux y X. W. Gao (2012) Short-term and transgenerational effects of the neonicotinoid nitenpyram on susceptibility to insecticides in two whitefly species. *Ecotoxicology*. 21:1889–1898.

Martinson, T. E., J. P. Nyrop, T. J. Dennehy and. W. H. Reissig (1991) Temporal variability in repeated bioassays of field populations of European red mite (Acari: Tetranychidae): implications for resistance monitoring. *Journal Economic Entomology* 84: 1119-1127.

Morales, F. J (2000) Métodos de control de begomovirus del fríjol. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. F. J. Morales (ed.). Palmira, Valle del Cauca, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p. 133-154.

Naeev, M (2006) Estrategias de control para *Bemisia tabaci* (Gennadio) en algodón en el Punjab de Pakistán. Tesis doctoral, Universidad Bahauddin Zakariya, Multan.

Polack, L.A (2005) Manejo integrado de moscas blancas. Boletín Hortícola N° 31. EEA San Pedro INTA. 7 p.

- Riley, G. D. and W. Tan (2003) Host Plant Effects on Resistance to Bifenthrin in Silverleaf Whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 96(4):1315-1321.
- SAS Institute Inc (2002) Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- Schmutterer H (1990) Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*. 35: 271-719
- Siegfried B. D. and Mullin C. A (1989) Influence of alternative host plant feeding on aldrin susceptibility and detoxification enzymes in western and northern corn rootworms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 35: 155-164.
- Simmons, A. M. (1994) Ovipositions on vegetables by *Bemisia tabaci* (Homopterous: Aleyrodidae) Temporal and leaf surface factors. *Environ. Entomol.* 23:381-389.
- Smith L. W and C. C. Culvenor (1981) Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products*. 44:129-152.
- Tian, W. J. and Y. Y. Guo (1996) Effects of host plant on susceptible to deltamethrin and detoxication enzymes of *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal Economic Entomology*. 89: 11-14.
- Tomova B. S., J. S. Waterhouse and J. Doberski (2005) The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115 (1): 153-159.
- Xie W., S. Wang, Q. Wu, Y. Feng, H. Pan, X. Jiao, L. Zhou, X. Yang, W. Fu, H. Teng, B. Xu. and Y. Zhang (2010). Induction effects of host plants on insecticide

susceptibility and detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) *Pest Management Science*. 67(1):87-93

Weaver D. K., J. L. Zettler, C. D. Wells, J. E. Baker, W. Bertsch, and J. E. Throne (1997) Toxicity of fractionated and degraded mexican marigold floral extract to adult *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 90 (6): 1678-1683, 1997.

Yu, S. J (1982) Host plant induction of glutathione S-transferase in the fall armyworm. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 18: 101-106.

Zhao, G., W. Liu y J. Brown (1995) Insecticidal resistance in field and laboratory strains of western flower thrips (Thysanoptera:Thripidae). *Journal Economic Entomology* 88: 1164-1170.

Tabla 1.- Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Bifentrina en seis hospederos de *Bemisia tabaci* (Gen.).

Bifentrina							
Hospedero	n	g.l.	Ppm				
			CL ₅₀	RR	L. Fiduciales 95%	CL ₀₅	CL ₉₅
<i>Solanum lycopersicum</i>	420	6	24.444	1	7.295-47.346	0.946	631.51
<i>Phaseolus vulgaris</i>	420	6	150.792	6.16	46.086-260.644	11.649	1952
<i>Cucurbita spp</i>	420	6	144.145	5.89	133.250-198.639	7.628	2724
<i>Solanum nigrum</i>	420	6	177.765	7.27	59.656-302.657	5.500	5745
<i>Melampodium divaricatum</i>	420	6	278.748	11.40	103.240-479.083	16.522	4703
<i>Heliotropium angiospermun</i>	420	6	78.630	3.21	29.911-135.005	0.493	12525

n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad. RR: Radio de resistencia y Límites fiduciales = cinturones de confianza

Tabla 2.- Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de imidacloprid en seis hospederos de *Bemisia tabaci* (Gen.).

Imidacloprid							
Hospedero	n	g.l.	Ppm				
			CL ₅₀	RR	L. Fiduciales 95%	CL ₀₅	CL ₉₅
<i>Solanum lycopersicum</i>	420	6	179.595	78.70	137.758-221.738	15.411	2093
<i>Phaseolus vulgaris</i>	420	6	102.122	44.75	21.364-190.180	6.657	1567
<i>Cucurbita spp</i>	420	6	165.937	72.71	133.250-198.639	23.079	1193
<i>Solanum nigrum</i>	420	6	168.599	78.88	86.322-252.534	21.352	1331
<i>Melampodium divaricatum</i>	420	6	2.282	1	1.277 - 2.593	1.094	3.469
<i>Heliotropium angiospermun</i>	420	6	85.105	37.29	47.326-125.491	2.642	2741

n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad. RR: Radio de resistencia y Límites fiduciales = cinturones de confianza

Tabla 3.- Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de endosulfan en seis hospederos de *Bemisia tabaci* (Gen.).

Endosulfan							
Hospedero	n	g.l.	Ppm				
			CL ₅₀	RR	L. Fiduciales 95%	CL ₀₅	CL ₉₅
<i>Solanum lycopersicum</i>	420	6	40.073	1	1.47E-18-169.335	0.047	33745
<i>Phaseolus vulgaris</i>	420	6	109.600	2.73	8.447-234.297	3.533	3400
<i>Cucurbita spp</i>	420	6	85.760	2.14	6.39E-7-254.281	1.491	4931
<i>Solanum nigrum</i>	420	6	92.331	2.30	2.68E-6-280.953	0.440	19353
<i>Melampodium divaricatum</i>	420	6	134.579	3.35	15.250-271.045	6.194	2924
<i>Heliotropium angiospermun</i>	420	6	156.523	3.90	108.690-204.931	7.136	3433

n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad. RR: Radio de resistencia y Límites fiduciales = cinturones de confianza

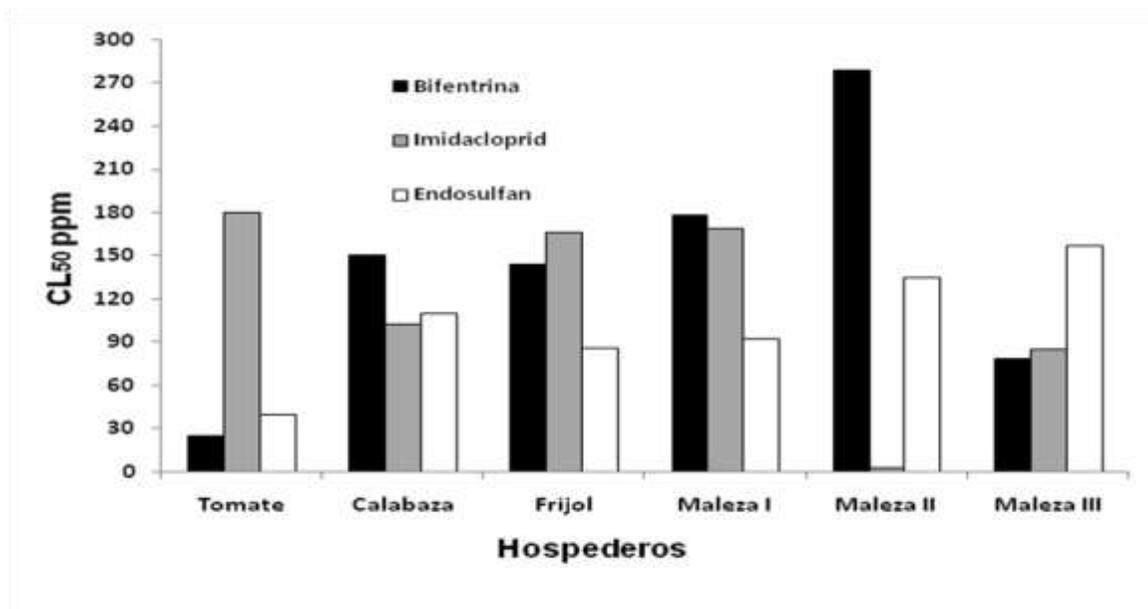


Figura 1.- Comparación de los valores de CL₅₀ de bifentrina, imidacloprid y endosulfan en seis diferentes hospederos de mosquita blanca.

1 **EFEECTO DE PLANTAS HOSPEDERAS EN LA INDUCCIÓN ENZIMÁTICA**
2 **DETOXIFICATIVA DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS)**
3 **EFFECTS OF HOST PLANTS ON DETOXIFICATIVE ENZYMES INDUCTION**
4 **OF *Bemisia tabaci* (GENNADIUS)**

5 Yoseni Martínez Martínez¹, Ernesto Cerna Chávez², Jerónimo Landeros Flores²,
6 Omegar Hernández Bautista² y Yisa Ochoa Fuentes*²

7 ¹Estudiante de posgrado. Maestría en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad
8 Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, Tel y Fax.
9 844 4110226. ²Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio
10 Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, Tel y Fax. 844 4110226.* Autor para
11 correspondencia: yisa8a@yahoo.com

12 **RESUMEN**

13 *Bemisia tabaci* (Gennaadius) es una de las plagas más importantes en la agricultura,
14 debido al gran número de hospederos y a las pérdidas económicas que ocasiona. En los
15 últimos años su control ha sido ineficiente, generando problemas de resistencia. Sin
16 embargo, se ha comprobado que el hospedero también puede influir en la inducción de
17 una resistencia natural hacia los plaguicidas. Es por ello, que en la presente
18 investigación el objetivo fue determinar los mecanismos y cambios en los niveles
19 enzimático detoxificativos de *Bemisia tabaci*, recolectada en seis diferentes hospederos
20 en el año 2012, en el estado de Chiapas. Se utilizó la Bifentrina para evaluar la
21 susceptibilidad de estas poblaciones y la realización de pruebas bioquímicas con el fin

1 de conocer los niveles de las enzimas α y β -esterasas, oxidasas y glutatión s-transferasas.
2 Donde se pudo observar cambios en los niveles de α y β -esterasas en las poblaciones de
3 *B. tabaci* desarrolladas en las malezas *Solanum nigrum* y *Melampodium divaricatum*.
4 Por lo que se puede mencionar que el tipo de hospedero influye en la inducción de
5 enzimas detoxificativas en la resistencia de *B. tabaci*.

6 **Palabras clave:** Mosquita blanca, susceptibilidad a insecticidas, hospederos y enzimas
7 detoxificativas,

8 En las últimas tres décadas, *B. tabaci* Biotipo B, ha causado pérdidas en agroecosistemas
9 en todo el mundo (Morales y Anderson 2001). En América constituye un grave
10 problema desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina (Anderson, 1993). En México,
11 la especie *B. tabaci* es una de las plagas que más daño ocasiona primordialmente a los
12 cultivos de hortalizas (Holguín-Peña *et al.*, 2010), al succionar la savia y la secreción de
13 mielecilla, que propicia el desarrollo de hongos que dificultan la fotosíntesis, afectando
14 el vigor del hospedero (Rodríguez y Cardona 2001). Sin embargo, el daño más severo lo
15 causan como vectores de virus (Byrne y Bellows 1990). Por lo que su control se ha
16 basado principalmente en el método químico; sin embargo el uso indiscriminado de los
17 plaguicidas, ha dado lugar al desarrollo de problemas de resistencia (Naeve, 2006). Así
18 mismo, se ha demostrado que también los hospederos tienen influencia en la resistencia
19 de ciertos artrópodos a pesticidas; Por lo que, el alimento puede influir en la tolerancia,
20 debido a la presencia de metabolitos secundarios en las plantas; provocando que al
21 ingerirlos los insectos, alteren sus sistemas enzimáticos de degradación de xenobióticos,
22 para poder asimilarlos (Yu, 1982). Este fenómeno de resistencia en *B. tabaci*, está

1 asociado a tres sistemas de detoxificación enzimático, como son esterasas,
2 monooxigenasas y glutatión s-transferasas, que son los más importantes mecanismos
3 bioquímicos del metabolismo de xenobióticos (incluyendo aleloquímicos y pesticidas)
4 (Ndakidemi y Dakora, 2003). En algunas investigaciones se ha encontrado a *B. tabaci*
5 con un alto grado de resistencia natural, debido a que es una especie polífaga,
6 localizándose sobre 900 especies de plantas hospederas, tanto cultivadas como silvestres
7 (Polack, 2005), mostrándose como una especie candidata a presentar resistencia, como
8 resultado de su adaptabilidad a una elevada gama de hospederos. Por tal motivo, el
9 conocer el efecto del hospedero sobre las enzimas detoxificativas, puede ser utilizada
10 como referencia en estudios de resistencia, dando evidencia teórica para el uso seguro y
11 racional de los plaguicidas (Castle *et al.*, 2009). Debido a lo anterior el objetivo de este
12 trabajo fue investigar el efecto de inducción enzimática detoxificativa, de seis plantas
13 hospederas sobre la susceptibilidad de *B. tabaci*.

14 El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Toxicología del Departamento de
15 Parasitología Agrícola de la UAAAN. Para el establecimiento del pie de cría de *B.*
16 *tabaci*, se realizaron seis muestreos en el municipio de Villacorzo, Chiapas, en el mes de
17 noviembre de 2012. En la zona se ubicaron los siguientes cultivos y su maleza asociada,
18 tomate (*Lycopersicum esculentum*), maleza I (Maleza I= *Solanum nigrum*: Solanácea),
19 frijol (*Phaseolus vulgaris*), Maleza II (*Melampodium divaricatum*: Asterácea), calabaza
20 (*Cucurbita* spp) y Maleza III (*Heliotropium angiospermun*: Boraginácea). El material
21 biológico recolectado se trasladó al invernadero de Parasitología Agrícola de la
22 UAAAN, donde se colocaron en seis camas de siembra (una cama para cada cultivo y
23 maleza). La cría se realizó bajo condiciones de invernadero con 26 ± 4 °C, HR del 70%

1 y 14:10 h luz: oscuridad. Se utilizó el producto bifentrina (Brigadier 20 P[®] 209 gr de i.a.
2 L⁻¹, piretroide), como indicador de la susceptibilidad mediante la técnica de bioensayo,
3 de acuerdo a la metodología de inmersión de hoja para mosquita blanca, con ligeras
4 modificaciones (IRAC, 2009). Utilizando ninfas de cuarto estadio con al menos tres
5 generaciones en el hospedero. Para la preparación de las diferentes concentraciones se
6 utilizó agua destilada y el producto bionex[®] como dispersante, en una proporción 1mL:
7 1L de agua. El intervalo de concentraciones utilizadas fue de 100, 250, 500, 1000, 1500
8 y 2000 ppm. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 h. Para determinar el nivel
9 enzimático, se utilizaron las seis poblaciones de cada uno de los hospederos, para
10 realizar cuatro pruebas, determinando a las enzimas α y β -esterasas, oxidasas y glutation
11 S-transferasas. Todas las pruebas se corrieron por triplicado en placas de 96 pozos y
12 leídas mediante el lector de microplacas Stat fax-2100[®]. Los reactivos utilizados fueron
13 solución amortiguadora de fosfato de potasio a 0.05 M y pH 7.2 (BFP), α o β -naftil
14 acetato (α o β NAF), o-dianisidina (OD), albúmina sérica bovina (ASB), homogeneizado
15 de ninfas (HM), dihidrocloruro de 3, 3', 5, 5'-tetrametil-bencidina (TMBZ) y glutatión
16 reducido (GR). Para esto, primero se determinó la cantidad de proteína, utilizando el
17 método de Bradford (1976) modificado por Brogdon (1984), usando como proteína de
18 referencia a la albúmina sérica bovina. Se evaluaron 10 diferentes concentraciones de
19 ninfas de cuarto estadio (0.5, 1, 5, 10, 15, 30, 50,100, 200, 300), cada una con ocho
20 repeticiones. Una vez que se determinó la cantidad de muestra en relación a la proteína
21 (100 ninfas de *B. tabaci* = 100 μ g de proteína/mL), se homogenizó en 100 μ L de BFP y
22 se diluyó a 1 mL (Brogdon, 1984). Se prepararon 90 muestras para cada una de las
23 líneas. Se determinaron los niveles de α -esterasas (α EST), β -esterasas (β EST), oxidasas

1 (Ox) y glutatión s-transferasas (GST), Se utilizaron las metodologías descritas por
2 Brogdon (Brogdon *et al.*, 1983, 1990 y 1997). Sin embargo para las Ox y GST los
3 niveles de lectura fueron más bajos que los controles por lo que se omitieron los
4 resultados. Para determinar los niveles enzimáticos; para las α y el β -esterasas, se
5 colocaron 100 μ L del HM a cada pocillo de la microplaca y 100 μ L de α o β NAF acetato
6 (Mezcla de 56 mg de α o β NAF en 20 mL de acetona y aforada a 100 mL con BFP) y se
7 dejó reaccionar 15 min. Se adicionaron 100 μ L de OD y se tomó la lectura usando el
8 filtro de 545 nm.

9 Los resultados del bioensayo se analizaron por un análisis Probit, mediante el método
10 de máxima verosimilitud (Finney, 1971), utilizando el programa SAS system para
11 Windows ver 9.0 (2002). Para las enzimas, se utilizaron los datos de las absorbancias,
12 donde se realizó una distribución de frecuencias y un Análisis de varianza de
13 clasificación simple y una prueba de Tukey (P= 0.05), utilizando el mismo programa
14 estadístico.

15 En el Cuadro 1, se muestran los valores de CL_{50} del producto bifentrina en relación a las
16 seis poblaciones en estudio.

17

18

19

20

1

2 **Cuadro 1.-** Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de
3 resistencia de Bifentrina en seis hospederos de *Bemisia tabaci* (Gen.).

Bifentrina					
Hospedero	n	g.l.	Ppm		
			CL₅₀	L. Fiduciales 95%	CL₉₅
<i>Solanum lycopersicum</i>	420	6	24.444	7.295-47.346	631.51
<i>Phaseolus vulgaris</i>	420	6	150.792	46.086-260.644	1952
<i>Cucurbita spp</i>	420	6	144.145	133.250-198.639	2724
<i>Solanum nigrum</i>	420	6	177.765	59.656-302.657	5745
<i>Melampodium divaricatum</i>	420	6	278.748	103.240-479.083	4703
<i>Heliotropium angiospermun</i>	420	6	78.630	29.911-135.005	12525

4 n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad. RR: Radio de resistencia y Límites
5 fiduciales = cinturones de confianza

6 En tomate (*Lycopersicum esculentum*) se presentó una CL₅₀ de 24.445 ppm y su maleza
7 asociada (Maleza I) obtuvo una CL₅₀ de 177.765 ppm; para el cultivo del frijol
8 (*Phaseolus vulgaris*) fue de 150.792 ppm, mientras que para su maleza (Maleza II) con
9 278.748 ppm, para la calabaza (*Cucurbita spp*) muestra una CL₅₀ de 144.145 ppm,
10 mientras que su maleza (Maleza III) de 78.630 ppm. Como podemos observar la maleza
11 II fue la que presentó los valores más altos de CL₅₀ (278.748 ppm), seguida de la maleza
12 I, el frijol y la calabaza.

1 En la cuadro 2 se presentan los valores máximos de absorbancia de la enzima β -esterasa,
 2 de poblaciones de *B. tabaci* desarrolladas en seis diferentes hospederos. Como se puede
 3 observar, la maleza II (*Melampodium divaricatum*) y la maleza I (*Solanum nigrum*),
 4 fueron las que presentaron los valores de absorbancia más elevados para las β -esterasas,
 5 con 2.2263 y 2.1167, el tomate presentó absorbancias de 1.5018 ubicándose en el
 6 segundo grupo, por la presencia de dicha enzima; las lecturas de la calabaza y la maleza
 7 III (1.2230 y 1.3952) formaron un tercer grupo; mientras que, el frijol mostró los valores
 8 más bajos (1.0205).

9 **Cuadro 2.** Niveles máximos de absorbancia de β -esterasas en *Bemisia tabaci*
 10 (Gennadius) desarrollada en seis hospederos

β-esterasas	
Hospederos	media \pm S. D.
<i>Solanum lycopersicum</i>	1.5018 \pm 0.295 b
<i>Phaseolus vulgaris</i>	1.0205 \pm 0.158 d
<i>Cucurbita spp</i>	1.2230 \pm 0.110 c
<i>Solanum nigrum</i>	2.1167 \pm 0.357 a
<i>Melampodium divaricatum</i>	2.2263 \pm 0,354 a
<i>Heliotropium angiospermum</i>	1.3952 \pm 0.535 c

11 ^{SD} Desviación Estándar

12 En la cuadro 3 se presentan los valores de absorbancia para α -esterasas. La maleza I
 13 presenta las lecturas más altas con 2.1061, seguido de tomate, calabaza y la maleza III

1 con valores de 1.4365, 1.2001 y 1.2242 respectivamente; el frijol y la maleza II fueron
2 los que presentaron los valores más bajos de absorbancia (0.9429 y 0.9585).

3 **Cuadro 3.** Niveles máximos de absorbancia de α -esterasas en *Bemisia tabaci*
4 (Gennadius) desarrollada en seis hospederos

α-esterasa	
Hospederos	media \pm S. D.
<i>Solanum lycopersicum</i>	1.4365 \pm 0.254 b
<i>Phaseolus vulgaris</i>	0.9429 \pm 0.243 c
<i>Cucurbita spp</i>	1.2001 \pm 0.237 b
<i>Solanum nigrum</i>	2.1061 \pm 0.350 a
<i>Melampodium divaricatum</i>	0.9585 \pm 0.391 c
<i>Heliotropium angiospermum</i>	1.2242 \pm 0.259 b

5 ^{SD} Desviación Estándar

6

7 En relación a los resultados de CL₅₀ con el producto bifentrina, podemos mencionar que
8 la maleza II, seguida de la maleza I, el frijol y la calabaza fueron los que presentaron los
9 valores más altos de CL₅₀ (177.765 a 144.145 ppm). Al respecto Zang *et al.* (2006)
10 encontró que poblaciones de mosquita blanca desarrolladas en cinco diferentes
11 hospederos (Algodón, tabaco, brócoli, calabaza y frijol) muestran diferencias en la
12 susceptibilidad a insecticidas. De este modo, Tian y Guo (1996) utilizando diferentes
13 plantas hospederas como dieta en *Heliothis armígera*, encontraron respuestas
14 diferenciales de este insecto a la deltametrina. Castle *et al.* (2009) encontraron una alta

1 correlación entre poblaciones de mosquita blanca desarrollada en brócoli y valores altos
2 de LC₅₀ a bifentrina. Para el caso de las malezas (I y II) podemos observar, que los
3 hospederos tienen un efecto importante en la resistencia de *B. tabaci* a bifentrina. Al
4 respecto Martinson *et al.* (1991), mencionan que los factores ambientales que podrían
5 influir en la creación de fenotipos resistentes, incluye a los metabolitos secundarios de la
6 plantas huésped; en el caso del zingibereno para *Melampodium divaricatum* y solasonina
7 para *Solanum nigrum* (Simmons *et al.*, 2004). Al respecto Hunter *et al.* (1994)
8 encontraron un aleloquímico (dihydrochalcone glycoside phloridzin) en el follaje del
9 cultivo del manzano, induce cambios en la respuesta de *Platynota idaeusalis* al
10 insecticida organofosforado azinfos metil. Así mismo, estos metabolitos secundarios
11 pueden influir en la activación de enzimas detoxificativas que suscitan cambios
12 metabólicos en las mosquitas blancas hacia los insecticidas (Bush *et al.* 1993). En
13 relación a la cantidad de enzima, Tian y Guo (1996) utilizando diferentes plantas
14 hospederas como dieta para evaluar la deltametrina en *Heliothis armígera*, obtuvieron
15 un aumento general de actividad de esterasas, afectado procesos metabólicos de
16 destoxificación de este insecticida. Estas enzimas son activas contra insecticidas
17 organofosforados y piretroides. Al respecto Oppenoorth y Van (1960). Encontraron una
18 alta actividad de esterasas y una menor susceptibilidad al insecticida azinfos metil de la
19 palomilla *Platynota idaeusalis* alimentada con brotes de manzana. Lindroth (1989),
20 reporta los efectos de larvas alimentadas en abedul y nogal, utilizando el intestino medio
21 para determinar la actividad de esterasas, encontrando que las larvas alimentadas en
22 nogal presentaron 1.8 veces mayor contenido de esterasas que las alimentadas en abedul.

1 CONCLUSION

2 Al respecto podemos concluir, que el hospedero puede influir en la tolerancia a
3 insecticidas de *Bemisia tabaci*, principalmente a la resistencia natural, que es obtenida a
4 través de las diferentes características fitoquímicas intrínsecas de cada una de las
5 familias que le sirven como hospedero, proporcionándole la capacidad de detoxificar
6 mediante el uso de enzimas, al observarse un incremento en la presencia de estas.

7 LITERATURA CITADA

- 8 Anderson, P. K.; 1993. Un modelo para la investigación en mosca blanca, *Bemisia*
9 *tabaci* (Gennadius). In: Hilje, L. & Arboleda, O. Las moscas blancas
10 (Homóptera: Aleyrodidae) en América Central y El Caribe. Turrialba: Ser.
11 Tec. Inf. Tec, N.205: 27-33.
- 12 Brogdon, W. G. 1984. Mosquito protein microassay-1, protein determinations from
13 small portions of single-mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry*
14 *and Physiology*. 79: 457-459.
- 15 Brogdon, W. G. y Dickinson, M. C. 1983. A microassay system for measuring esterase
16 activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid
17 chromatography eluate fractions. *Analytical Biochemistry*.131:499-503.
- 18 Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990. Microplate assay of glutathione s-transferase
19 activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comparative*
20 *Biochemistry and Physiology*. 96: 339-342.

- 1 Brogdon, W. G.; McAllister, J. C y Vulule, J. 1997. Hemeperoxidase activity measured
2 in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for
3 insecticide resistance. *Journal of the American Mosquito Control*
4 *Association*. 13: 233-237.
- 5 Bush, M. R.; Abdel-Aal Y.A.I.; Saito, K. and Rock, G. C. 1993. Azinphosmethyl
6 resistance in the tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae): reversion,
7 diagnostic concentrations, associated esterases, and glutathione transferases.
8 *J. Econ. Entomol.* 86: 213-225.
- 9 Byrne, D. and Bellows, T. 1991. Whitefly Biology. *Annual Review of Entomology*
10 36:431-457.
- 11 Castle, S.J.; Prabhaker, N.; Henneberry TJ and Toscano NC, Host plant influence on
12 susceptibility of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to insecticides.
13 *Bull Entomol Res* 99:263–273 (2009).
- 14 Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press. Cambridge.
- 15 Holguín-Peña, R.J.; Hernández-Montiel LG, Latisnere-Barragan H. 2010. Identificación
16 y distribución geográfica de *Bemisia tabaci* (Gennadios) y su relación con
17 enfermedades begomovirales en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de Baja
18 California, México. *Rev Mex de fitopatología*; 28: 58-60.
- 19 Hunter, M. D.; Biddinger D. J.; Carlini E. J.; McPherson B. A. and Hull L. A. 1994.
20 Effect of Apple leaf allelochemistry on tufted apple bud moth (Lepidoptera:

- 1 Tortricidae) Resistance to Azinphosmethyl. J. Econ. Entomol. 87: 1423-
2 1429.
- 3 IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2009. Susceptibility Test Methods
4 Series: Method 5 “*Bemisia* spp”. En [www.iraconline.](http://www.iraconline.org/documents/method5.pdf)
5 [org/documents/method5.pdf](http://www.iraconline.org/documents/method5.pdf) (fecha de consulta: octubre 08, 2012).
- 6 Lindroth, R. L. 1989. Chemical ecology of the luna moth, effect of host plant on
7 detoxification enzyme activity. J. Chem. Ecol. 15: 20 19-2029
- 8 Martinson, T. E.; Nyrop, J. P.; Dennehy, T. J. and. Reissig, W. H. 1991. Temporal
9 variability in repeated bioassays of field populations of European red mite
10 (Acari: Tetranychidae): implications for resistance monitoring. J. Econ.
11 Entomol. 84: 1119-1127.
- 12 Morales, F.J. y Anderson, P.K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-
13 transmitted geminiviruses in Latin America. Archives of Virology 146: 415-
14 441.
- 15 Naevev, M. 2006. Estrategias de control para Bemisia tabaci (Gennadio) en algodón en el
16 Punjab de Pakistán. Tesis doctoral, Universidad Bahauddin Zakariya,
17 Multan.
- 18 Ndakidemi P. A. and Dakora F. D. 2003. Legume seed flavonoids and nitrogenous
19 metabolites as signals and protectants in early seedling
20 development. *Functional Plant Biology* 30(7): 729-745.

- 1 Oppenoorth F. J. and Van A. K. 1960. Allelic genes in the housefly producing modified
2 enzymes that cause organophosphate resistance. *Science* 132:298–299.
- 3 Polack, L.A. 2005. Manejo integrado de moscas blancas. Boletín Hortícola N° 31. EEA
4 San Pedro INTA. 7 p.
- 5 Rodríguez, I y Cardona, C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia*
6 *tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el
7 Valle de Cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 21-26.
- 8 SAS Institute Inc. 2002. Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- 9 Simmons, A. M. 1994. Ovipositions on vegetables by *Bemisia tabaci* (Homopterous:
10 Aleyrodidae) Temporal and leaf surface factors. *Environ. Entomol.* 23:381-
11 389.
- 12 Tian, W. J. and Guo Y. Y. 1996. Effects of host plant on susceptible to deltamethrin and
13 detoxication enzymes of *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J.*
14 *Econ. Entomol.* 89: 11-14.
- 15 Yu, S. J. 1982. Host plant induction of glutathione S-transferase in the fall armyworm.
16 *Pestic. Biochem Physiol.* 18: 101-106.
- 17 Zang, L. S.; Chen, W. Q. and Liu S. 2006. Comparison of performance on different host
18 plants between the B biotype and a non-B biotype of *Bemisia tabaci* from
19 Zhejiang, China. *Entomol Exp Appl* 121:221–227.

VARIACIÓN EN LA SUSCEPTIBILIDAD E INDUCCIÓN ENZIMÁTICA
DETOXIFICATIVA DE *Trialeurodes vaporariorum* POR EFECTO DE
DIFERENTES HOSPEDEROS.

VARIATION IN SUSCEPTIBILITY AND ENZYME INDUCTION OF *Trialeurodes*
vaporariorum DETOXIFYING DUE TO DIFFERENT HOSTS.

Yoseni Mayeli MARTINEZ-MARTINEZ¹, Ernesto CERNA-CHÁVEZ², Jeronimo
LANDERO-FLORES², Yisa María OCHOA-FUENTES^{2*}, Omegar HERNANDEZ-
BAUTISTA².

¹Estudiante de posgrado. Maestría en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad
Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. C.P. 25315, Tel y Fax.
844 4110226. yoseni_17@hotmail.com

²Departamento Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,
Calzada A. Narro, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
jabaly1@yahoo.com*Autor para correspondencia: yisa8a@yahoo.com y
omegarhbautista@gmail.com

Trialeurodes vaporariorum es una plaga de cultivos en invernadero, debido a que ocasiona daños como succionador de savia y vector de virus. Principalmente el manejo se ha hecho con plaguicidas lo que ha provocado problemas de resistencia. Sin embargo se ha comprobado que en diversos artrópodos, no solamente el uso indiscriminado de plaguicidas ha generado este problema; si no que el hospedero también puede influir en la inducción de una resistencia natural hacia el control químico. Por lo tanto en la presente investigación tiene como objetivo conocer la susceptibilidad de poblaciones de *T. vaporariorum* en diferentes hospederos contra tres insecticidas de diferente grupo toxicológico. Se recolectaron poblaciones de *T. vaporariorum*, provenientes de tres hospederos, nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*), tomate (*S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*), y tabaco (*Nicotiana tabacum*). Mediante bioensayos se determinó la CL₅₀ y el radio de resistencia (RR). La realización de pruebas bioquímicas con el fin de

conocer los niveles de las enzimas α y β -esterasas, oxidasas y glutatión s-transferasas. Por lo que, los resultados nos muestran que el RR más elevado de mosquitas blancas contra el producto bifentrina fue de 3.6 y 2.9 X para tabaco y nochebuena. Para el producto endosulfan los valores más altos fueron para nochebuena con 3.2X y tabaco con 2.64X. Para el producto imidacloprid los valores más altos los presento nochebuena 3.27X y tabaco 2.64X. Y se pudo observar cambios en los niveles de α y β -esterasas en las poblaciones de *T. vaporariorum* desarrolladas en tabaco y nochebuena. Por lo que se puede mencionar que el tipo de hospedero influye en la inducción de enzimas detoxificativas en la resistencia de *T. vaporariorum*.

Palabras clave: mosquita blanca de los invernaderos, resistencia a insecticidas, enzimas detoxificativas

Abstract

Trialeurodes vaporariorum is a pest of greenhouse crops, causing damage as sap-sucking and virus vector, the main management has been done with pesticides, which has caused resistance problems. However it has been found that in many arthropods, this problem is not only generated by the indiscriminate use, the host may also influence the induction of natural resistance to chemical control. Therefore the objective of this research is to determine the susceptibility of *T. vaporariorum* populations in different hosts against three insecticides from different toxicology group. So *T. vaporariorum* populations were collected, from three hosts: poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*), tomato (*S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*), and tobacco (*Nicotiana tabacum*). The LC_{50} and resistance ratio (RR) was determined by bioassays. The biological tests allow

knowing the α and β esterases, oxidases and glutathione s-transferases enzymes levels. So, the results show that the highest RR of whiteflies against bifenthrin was 3.6 and 2.9 X, to tobacco and poinsettia, for endosulfan values were higher in poinsettia and tobacco with 3.2X and 2.64X, for imidacloprid, the highest values were presented in poinsettia with 3.27X and tobacco with 2.64X, respectively. Finally we observed changes in α and β -esterases levels in *T. vaporariorum* populations fed in tobacco and poinsettia, therefore we can mention that the type of host affects the *T. vaporariorum* resistance by detoxification enzyme induction.

Keywords: Greenhouse whitefly, insecticide resistance, host, detoxifying enzymes

INTRODUCCION

La mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum*, es considerada una de las principales plagas asociadas a cultivos hortícolas así como plantas ornamentales en ambientes protegidos (Mound y Halsey 1978). Capaz de reducir la productividad de la planta y la longevidad, así como vector de virus (Bi et al., 2002). El control tradicional de esta plaga se realiza utilizando insecticidas químicos, por ventajas como la facilidad de aplicación y su efecto rápido, sin embargo estos insecticidas químicos causan efectos negativos, como la generación de resistencia (De Vis, 2001). La susceptibilidad a insecticidas, así como los fenómenos de resistencia están asociados a factores genéticos y ambientales (Mascarenhas *et al.*, 1998; Ahmad et al. 2003). Dentro de los ambientales son las plantas las que influyen en la desintoxicación por medio de la amplia variedad de aleloquímicos que contienen (Gordon, 1961, We, *et al.*, 2005). Dentro de las enzimas de desintoxicación se incluyen tres principales super familias: las monooxigenasas del citocromo P450, la glutatión S-transferasa (GST) y las carboxilesterasas (COE) (Feyereisen, 2005). Esta forma de resistencia se ubica dentro de la metabólica considerada la más importante según Georghiou (1965). También se ha reportado que la Actividad de GST *B. tabaci* son provocadas por los cambios de huésped de diferentes especies que han sido alimentadas con algodón (Wang *et al.*, 2007; An *et al.* 2008). Esto nos hace estudiar a *T. vaporariorum* por el alto número de hospederos que son más de 200 especies de plantas hospedantes incluidas en más de 65 familias (Carapia-Ruiz, 2008). Por lo que el objetivo de este estudio, fue determinar si hay diferencias en la inducción de enzimas de detoxificación de *T. vaporariorum* así como la relación con insecticidas.

MATERIALES Y METODOS

Recolecta de material biológico

Se colecto material de invernaderos ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, de los cultivos de Nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), y Tomate (*Solanum lycopersicum var. Cerasiforme*), preferentemente libres de presión de selección por plaguicidas. Cada uno con presencia de ninfas de *T. vaporariorum*, de la cual se hizo su identificación mediante sus respectivas claves dicotómicas.

Bioensayos

Se realizaron de acuerdo con la técnica de inmersión de hoja para mosquita blanca con ligeras modificaciones (IRAC, 2009). Para ello, de cada una de las camas se seleccionaron hojas del estrato medio, que contuvieran 20 ninfas de cuarto estadio con el indicativo de ojos rojos y con al menos tres generaciones de alimentarse del hospedero; las hojas se sumergieron durante 5 s en la concentración respectiva de insecticida. Las hojas tratadas se dejaron secar en papel absorbente y posteriormente se colocaron en recipientes de plástico de 20 x 20 cm, con papel húmedo, las condiciones del bioensayo se realizaron a nivel laboratorio con condiciones controladas de 24 ± 2 °C de temperatura, 60 % de H.R. y 12:12 horas luz: oscuridad. Los insecticidas utilizados fueron seleccionados de acuerdo con el manejo reportado por los productores. Los insecticidas seleccionados fueron Bifentrina (Brigadier 20 P[®] 209 gr de i.a. L⁻¹, piretroide), Imidacloprid (Picador 70 PH[®] 350 gr de i.a. L⁻¹, neonicotinoide) y Endosulfan (Thiodan 35 CE[®] 350 gr de i.a. L⁻¹, clorado).

Para la preparación de las diferentes concentraciones se utilizó agua destilada y el producto bionex® como dispersante, en una proporción 1mL: 1L de agua. El intervalo de concentraciones utilizadas fue de 100, 250, 500, 1000, 1500 y 2000 ppm. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 h. Se consideró ninfa muerta aquella que presentaba los apéndices pegados al cuerpo, estaba deshidratada o no reaccionaba al estímulo del pincel. Se establecieron seis concentraciones de cada plaguicida para cada cultivo y maleza, además se realizaron tres repeticiones de cada bioensayo y cada repetición incluyó un testigo de agua con bionex. El máximo nivel de mortalidad aceptable para el testigo fue del 10%; la mortalidad ocasionada por los diferentes insecticidas fue corregida por la mortalidad en el testigo mediante la fórmula de Abbott (1925).

Luego se calculó la Proporción de Resistencia (PR) para cada hospedero, tomando como el cociente el valor más bajo de CL_{50} en cada uno de los insecticidas (Cerna et al., 2009).

Pruebas bioquímicas para estimar niveles de enzimas

Una vez teniendo las muestras se depositaron en tubos eppendorf, etiquetándole el número respectivo a sí como su hospedero del que procedía, fueron trasladados al departamento de parasitología agrícola en el laboratorio de Toxicología y puestos a una temperatura de -4°C . Para las tres colonias se utilizó una prueba bioquímica α -esterasas, β -esterasas, las cuales se corrieron por triplicado en placas de 96 pocillos y fueron leídas posteriormente mediante el lector de microplacas Stat fax-2100.

Determinación de Proteína

Se determinó la cantidad de *T. vaporariorum*, esta fue determinada por el método de Bradford (1976) modificado por Brogdon (1984), se utilizó la proteína albúmina sérica de bovino como referencia. Se usaron ninfas de cuarto estadio, de diez concentraciones diferentes en relación al número ninfas (0.5, 1, 5, 10, 15, 30, 50, 100, 200, 300), cada una con 8 repeticiones. Una vez que se determinó la cantidad de muestra en relación a la proteína (100 ninfas de *T.vaporariorum* = 100 µg de proteína/mL), se homogenizó en 100 µL de BFP y se diluyó a 1 mL (Brogdon 1984). Se prepararon 8 muestras para cada una de las poblaciones.

Estimación de los niveles de esterasas.

Para determinar los niveles de α y β -esterasas se empleó el método de Brogdon-Dickinson (1983). Para ello se colocaron 100 µL de la muestra de ninfas a cada pocillo, enseguida se depositaron 100 µL de una solución de 56 mg α o β naftil acetato diluida en 20 mL de acetona y aforada a 100 mL con buffer KPO_4 , la mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente por 10 min y posteriormente se le adicionaron 100 µL de dianisidina, preparada a una concentración de 1mg / mL de agua destilada, se mantuvo la mezcla por 2 min y se tomó la lectura de la placa, en un lector de microplacas Stat fax-2100 usando un filtro de 540 nm.

Análisis de resultados:

Bioensayos: Los datos fueron sometidos a un análisis Probit mediante el método de máxima verosimilitud (Finney, 1971) utilizando el programa SAS Ver 9.0 (Statistical Analysis System for Windows, 2007).

Pruebas de enzimas: Con las absorbancias de cada enzima, se realizó una distribución de frecuencias, donde la absorbancia es la variable y la frecuencia el número de muestras de ninfas. Por último, se realizó un Anova de clasificación simple y una prueba de Tukey ($P= 0.05$), utilizando el programa SAS system for Windows ver 9.0 (2007).

RESULTADOS

En el Tabla I, se muestran los valores de CL_{50} del producto bifentrina en relación a tres poblaciones en estudio. Como podemos observar, tomate (*Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*) presenta una CL_{50} de 164.408 ppm; para el cultivo de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*), fue de 591.677 ppm, para tabaco (*Nicotiana tabacum*) muestra una CL_{50} de 478.696 ppm. Como podemos observar la nochebuena fue la que presento los valores más altos de CL_{50} (591.677 ppm). Mientras que los valores más bajos los presentaron el tomate con 164.408 ppm.

Tabla I. Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Bifentrina en tres hospederos de *Trialeurodes vaporariorum* (West).

Bifentrina							
Cultivo	n	gl	Ppm.				
			CL₅₀	L. F. 95%	CL₀₅	CL₉₅	
<i>S. lycopersicum</i> var.							
<i>Cerasifome</i>	420	6	164.408	74.370- 255.048	31.698	3205	
<i>Euphorbia pulcherrima</i>	420	6	591.677	299.195-1200	22.523	1200	
<i>Nicotiana tabacum</i>	420	6	478.696	214.612-891.461	29.888	7667	

n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad y Límites fiduciales = cinturones de confianza.

En el Tabla II, podemos observar los valores de CL₅₀ para el producto imidacropid en relación a las tres poblaciones. Para el caso de las provenientes del tomate presentan una CL₅₀ 327.206 ppm; para el cultivo de la nochebuena la CL₅₀ fue de 1694 ppm, el tabaco muestra una CL₅₀ de 807.71 ppm. Como podemos apreciar la nochebuena fue el hospedero que presentó el valor más alto de CL₅₀ con 1694 ppm. Mientras que el valor más bajo lo presentó el tomate con un valor de 327.206 ppm.

Tabla II. Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de endosulfan en tres hospederos de *Trialeurodes vaporariorum* (West).

Endosulfan						
Cultivo	n	gl	Ppm.			
			CL ₅₀	L. F. 95%	CL ₀₅	CL ₉₅
<i>S. lycopersicum</i> var. <i>Cerasiforme</i>	420	6	327.206	63.367-695.555	25.452	4206
<i>Euphorbia pulcherrima</i>	420	6	1694	1162-3088	10.243	280041
<i>Nicotiana tabacum</i>	420	6	807.71	1858-17535	191.441	3408

n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad y Límites fiduciales = cinturones de confianza.

Por ultimo Tabla III podemos observar que la CL₅₀ para tomate fue de 353.991 ppm, siendo esto el más resultado más bajo; para las poblaciones desarrolladas en nochebuena la CL₅₀ fue de 1159 ppm el cual fue más alto; mientras que para tabaco la CL₅₀ fue de 936.368 ppm.

Tabla III. Concentraciones letales medias, cinturones de confianza y proporción de resistencia de Imidacloprid en tres hospederos de *Trialeurodes vaporariorum* (West).

Imidacloprid						
Cultivo	n	g.l.	Ppm.			
			CL ₅₀	L. F. 95%	CL ₀₅	CL ₉₅
<i>S. lycopersicum</i> var. <i>Cerasiforme</i>	420	6	353.991	130.062-648.931	34.398	3643
<i>Euphorbia pulcherrima</i>	420	6	1159	823.893-1744	360.998	3722
<i>Nicotiana tabacum</i>	420	6	936.368	405.901-3551	172.397	5086

n: Número de ninfas de cuarto estadio de *B. tabaci*, g.l.: Grados de libertad y Límite fiduciales cinturones de confianza.

En la tabla IV se presentan los valores máximos de absorbancia obtenidos de esterases de poblaciones de *T. vaporariorum* obtenidas en tres hospederos. Como puede observarse, las α -esterasas de *Euphorbia pulcherrima* con absorbancias de 1.25475 a 0.502, y para *Nicotiana tabacum* de 1.17058 a 0.372 siendo estas las lecturas más altas mientras que en Tomate (*S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*), fueron absorbancias que oscilaron 0.66433 a 0.113.

Así mismo también se pueden apreciar (tabla IV) las lecturas de la enzima β -esterasa donde registraron la mayores absorbancias en *Nicotiana tabacum* que fueron de 2.51971 a 0.405 y en el segundo grupo *Euphorbia pulcherrima* de 1.7175 a 0.405, y en última posición *S. lycopersicum* var. *Cerasiforme* se ubicaron entre 1.158 a 0.224 de absorbancias siendo estos los más bajos.

Tabla IV. Niveles máximos de absorbancia para esterasas en *Trialeurodes vaporariorum* , en tres hospederos.

Contenido de esterasas		
Cultivo	α -esterasas	β -esterasas
<i>S. lycopersicum</i> var. <i>Cerasiforme</i>	0.66433 ± 0.113^{sd_b}	1.158 ± 0.224^{sd_c}
<i>Euphorbia pulcherrima</i>	1.25475 ± 0.502^{sd_a}	1.7175 ± 0.405^{sd_b}
<i>Nicotiana tabacum</i>	1.17058 ± 0.372^{sd_a}	2.51971 ± 0.405^{sd_a}

SD: Desviación estándar

DISCUSION

En cuanto a los resultados de Cl_{50} para el producto Bifentrina, donde nochebuena y tabaco presentaron los valores más altos y el valor más bajo se registro para tomate. Para esto Xie *et al.*, (2010) reportan diferente susceptibilidad para cinco distintos cultivos (nochebuena, pepino, algodón, tomate y col) de poblaciones de *B. tabaci* criadas en invernadero. Como podemos observar en la tabla I, en tomate (*S. lycopersicum* var. *Cerasiforme*) obtuvimos una cl_{50} de 164.408 ppm, Santilla-ortega (2001) reportan una Cl_{50} de 11 ppm en este mismo cultivo, según Young-Joon *et al.*, (2004), si el valor del RR es menor a 10 la población es susceptible al compuesto evaluado, por lo que esto nos indica que la nuestra (164.408) presenta resistencia de 15X. En cuanto a nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) la CL_{50} fue de 591.677 ppm, Martínez *et al.*, (2009) encontró una Cl_{50} de 84.32 ppm lo que significa que casi un 86 % más tolerable la nuestra. Por último en tabaco (*Nicotiana tabacum*) obtuvimos una CL_{50} de 478.696 ppm la cual existen registros de que se puede deber a la composición química de este hospedero.

Para el producto endosulfan observamos que tomate tiene una CL_{50} de 327.206 ppm la cual fue la más baja; para esto (D Silva *et al.*, 2009) reporta una CL_{50} de 162.70 ppm, de una población colectada en invernadero de *B.tabaci* y una CL_{50} de 295.22 ppm en algodón, por lo que podemos hacer mención que el hospedero influye de manera significativa en la susceptibilidad a este producto. La encontrada en nochebuena una CL_{50} de 1694 ppm mientras que en tabaco (*Nicotiana tabacum*) CL_{50} 936.368 ppm.

Finalmente los resultados de imidacloprid donde igualmente tomate ocupa el valor más bajo con una CL_{50} 353.991 ppm, lo cual nos indica que es resistente, comparando con (Gorman *et al.*, 2007) encontró 159 veces más resistente en *T. vaporariorum* sobre una línea susceptible con lo que podemos decir que la nuestra (353.991 ppm); mientras que en nochebuena, fue una CL_{50} 1159 ppm, para esto Xie *et al.*, (2010) encontró una cl_{50} de 129 ppm para *B. tabaci* por lo que podemos deducir que la población en estudio presenta un 89 % más tolerancia. En cuanto a tabaco podemos observar una CL_{50} de 936.368 ppm, como nos podemos dar cuenta es en tabaco es donde existe resistencia, seguido por nochebuena. La resistencia para este grupo toxicológico está reportada como inestable (Kristensen *et al.*, 2000; Sayyed *et al.*, 2000; Bailo *et al.*, 2004).

Niveles enzimáticos

De acuerdo a los resultados presentados en la tabla IV, nos podemos dar cuenta que las α -esterasas están en mayor presencia en nochebuena y tabaco con absorbancias de 1.25475 a 0.502 y 1.17058 a 0.372 respectivamente, y las β -esterasas fueron lecturas de 2.51971 a 0.405 para Tabaco, lo cual es altamente factible ya que existe relación con las

concentraciones letales por que fueron estos los hospederos con resultados más altos en los productos evaluados.

En caso de los resultados de esterases para tabaco y noche buena, en relación a bifentrina donde la Cl_{50} fue 591.677 y 478.696 ppm respectivamente, ubicándolos como los hospedero con mayor presencia de esterases, concuerda con Erdogan *et al.*, (2008) menciona que el grupo de esterases constituyen el principal mecanismo de defensa para el grupo de los piretroides. Ahora bien cómo podemos observar los resultados entre hospederos son altamente diferentes entre cada uno de los insecticidas, lo cual coincide con Godfrey & Fuson (2001) que demostraron que pueden ocurrir cambios en la respuesta de un insecto a diferentes xenobióticos, que provienen de diferencias interespecíficas e intraespecíficas de las plantas hospederas. Esto se debe a los aleloquímicos que afectan la actividad enzimática detoxificante (Mao *et al.*, 2006). Francis *et al.*, 2005 reporta a *Myzus persicae* capaz de detoxificar aleloquímico como glucosinatos, mediante enzimas Glutathion s-transferasas. En relación a esto también el gusano cortador, *Peridroma saucia* aumento de 45 veces en el citocromo la actividad de la enzima P-450 como resultado de la alimentación en hojas de menta (Yu *et al.*, 1979). Del mismo modo también en tabaco, *Manduca sexta* no puede distinguir entre los dos compuestos de sabor amargo, un no- tóxicos compuesto fenólico (salicina) y un alcaloide tóxico (cafeína), porque la misma vía de señalización de amargura se activa por tanto los compuestos son ingeridos por el huésped (Glendinning *et al.*, 2002)

CONCLUSION

Por lo tanto podemos concluir que *Trialeurodes vaporariorum*, presenta tolerancia a los tres productos estudiados sin embargo los hospederos juegan un papel muy importante para que se pueda dar este fenómeno, principalmente a la resistencia natural. Atraves de las propiedades bioquímicas que pueden presentar los hospederos .

LITERATURA CITADA

- Abott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Abou-Setta M. M. y Childers, C. C. A modified leaf arena technique for rearing Phytoseiid or tetranychid mites for biological studies. *Florida Entomology*, 70: 245-248, 1987
- Ahmad, S., L. B. Brattsten, C. A. Mullin y S. J. YU. 1986. Enzymes involved in the metabolism of plant allelochemicals. *En* : L. B. Brattsten & S. Ahmad (eds.), *Molecular Aspects of Insect-Plant Associations* . Plenum Press, New York, pp. 73-151.
- An Z, Chu D, Guo D, Fan Z, Tao Y, Liu G, Zhang Y. 2008 Effects of host plant on activities of some detoxification enzymes in *Bemisia tabaci* biotype B. *Acta Ecologica Sinica*, 28, 1536-1543.
- Bailo, I., K. Brüggem, A. Elbert, C. Nagel, R. Nauen, H. Rauen, D. Rogers, B. Springer, and R. Steffens. 2004. Resistance management to neonicotinoids. Bayer CropScience. 82 p
- Bi, J. L., Toscano, N. C., and Ballmer, G. R. 2002. Seasonal population dynamics of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) on strawberries in Southern California. *J. Econ. Entomol.* 95:1179-1184

- Bradford MM 1976 A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Brogdon, W. G. and C. M. Dickinson. 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 WG (1984) Mosquito protein microassay-1, protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology* 79: 457-459
- Carapia-Ruiz VE.2008. Taxonomía y diagnosis. En: moscas blancas: temas selectos sobre su manejo. México, D. F: Mundi Prensa México, S. A. de C.V. 7-18.
- Cerna, E., Y. Ochoa, A. Aguirre, M. Badii, G. Gallegos y J. Landeros (2009) Niveles de resistencia en poblaciones de *Tetranychus urticae* en el cultivo de la fresa. *Revista Colombiana de Entomología* 35: 47-51
- D Silva L. Omoto C. Ervino Bleicher E. Patrick M dourado.2009.Monitoramento da Suscetibilidade a Inseticidas em Populações de Bemisia. *Neotropical Entomology* 38(1):116-125.tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil.

- De Vis R.M.J. 2001. Biological control of whitefly on greenhouse tomato in Colombia: *Encarsia formosa* or *Amitus fuscipennis* Ph.D. thesis, Wageningen University, The Netherlands.
- Dittrich, V., S. Uk, and G. H. Ernst. 1990. Chemical control and insecticide resistance of whiteflies, pp. 263-285. In D. Gerling [ed.], *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept Ltd., Andover, United Kingdom.
- Feyereisen, R. (2005) Insect cytochrome P450. In *Comprehensive Molecular Insect Science* (Gilbert, L.I. et al., eds), pp. 1-77, Elsevier
- Finney, D. J. 1971. *Probit analysis*. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge
- Glendinning, J.I. 2002. Contribution of different taste cells and signaling pathways to the discrimination of "bitter" taste stimuli by an insect. *J. Neurosci.* 22, 7281-7287.
- Francis, F. et al. 2005. Glutathione S-transferases in the adaptation to plant secondary metabolites in the *Myzus persicae* aphid. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 58, 166-174.
- Godfrey, L.G. & K. J. Fuson. 2001. Environmental and Host Plant Effects on Insecticide Susceptibility of the Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae). *The Journal of Cotton Science* 5:22-29
- Gordon, H. T. 1961. Nutritional factors in insect resistance to chemicals. *Annu. Rev. Entomol.* 6: 27-54.
- Gorman, K., G. Devine, J. Bennison, P. Coussons, N. Punchard, and I. Delhom. 2007. Report of resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in

Trialeurodes vaporariorum (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 63: 555-558

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2009. Susceptibility Test Methods Series: Method 5 “*Bemisia* spp”. En www.irac.org/documents/method5.pdf (fecha de consulta: octubre 08, 2012)

Kristensen, M., M. Knorr, A. G. Spencer, and J. B. Jespersen. 2000. Selection and reversion of azamethiphos-resistance in a field population of the housefly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), and the underlying biochemical mechanisms. *J. Econ.entomol.* 93: 1788-1795.

McAscarenhas, V. J., J. B. Graves, B. R. Leonards y E. Burris. 1998. Susceptibility of field population of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to commercial and experimental insecticides. *Journal of Economic Entomology* 91: 827-833.

Martínez-Fernández E, J. César García-Montalvo, Patricia Martínez-Jaimes, Andrés Alvear- García.2009. Efecto de algunos productos sobre las ninfas de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) en plantas de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzch).Universidad de Morelos, México.

Mound, L.A.; Halsy, S.H. 1978. Whitefly of the world. A systematic catalog of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. British Museum (Natural History) and John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto. 340 pp

- Ndakidemi, P. A. & Dakora, F. D. 2003. Legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signals and protectants in early seedling development. *Functional Plant Biology* 30(7): 729-745
- Mao, W. et al. 2006. Remarkable substrate-specificity of CYP6AB3 in *Depressaria pastinacella*, a highly specialized caterpillar. *Insect Mol. Biol.* 15, 169–179
- Rauch, N., y R. Nauen. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 54:165-176.
- Sayyed, A. H., J. Ferré, and D. J. Wright. 2000. Mode of inheritance and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in diamondback moth (*Plutella xylostella*) populations from Malaysia. *Pest Manag. Sci.* 56: 743-748
- Wang H, Li X, Zhang N.2007.Effects of host shifts on the carboxylesterase and acetylcholinesterase activities in *Bemisia tabaci*. In: *Annual Meeting of China Society of Plant Protection*. Beijing, China. pp. 25-30. (in Chinese).
- Wen, Z. Baudry J ,Berenbaum MR ,Schuler MA. 2005. Leu mutation in the SRS1 region of an insect cytochrome P450 (CYP6B1) compromises substrate turnover via changes in a predicted product release channel. *Protein Eng. Des. Sel.* 18, 191–199. Society of Chemical Industry.
- Xie W., S. Wang, Q. Wu, Y. Feng, H. Pan, X. Jiao, L. Zhou, X. Yang, W. Fu, H. Teng, B. Xu. and Y. Zhang.2010.Induction effects of host plants on insecticide

susceptibility and detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) *Pest Management Science*. 67(1):87-93

Yu, S. J., R. E. Berry, and L. C. Terriere. 1979. Host plant stimulation of detoxifying enzymes in a phytophagous insect. *Pestic. Biochem. Physiol.* 12: 280D284.

CONCLUSIONES GENERALES

Bemisia tabaci, si presento un aumento en cuanto a la variación a las susceptibilidad de los diferentes insecticidas donde *Solanum nigrum* y *Melampodium divaricatum* fueron los que presentaron una relación a la cantidad de esterasas.

El hospedero si puede puede causar un efecto en la inducción de enzimas detoxificativas.

LITERATURA CITADA

- Baker MB, Alyokhin A, Porter AH, Ferro DN, Dastur SR, Galal N. 2007 Persistence and inheritance of costs of resistance to imidacloprid in Colorado potato beetle. *Journal of Economic Entomology*; 100: 1871-1879
- Baldwin, I. T.; Halitschke, R.; Kessler, A.; Schittko, U. 2001. Merging molecular and ecological approaches in plant–insect interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 351–358.
- Bezemer, T.M., Wagenaar, R., Van Dam, N.M., Wackers, F.L. 2003. Interactions between above- and belowground insect herbivores as mediated by the plant defense system. *Oikos* 101:555-562.
- Bede, J.C. et al. 2006. Caterpillar herbivory and salivary enzymes decrease transcript levels of *Medicago truncatula* genes encoding early enzymes in terpenoid biosynthesis. *Plant Mol. Biol.* 60, 519–531
- Nyman, T. and Julkunen-Tiitto, R. Manipulation of the phenolic.
- Brattsten L. B., C. V: Holyoke, J. R. Leeper and K. F. Raffa. 1986. Insecticide resistance: Challenge to pest management and basic research. *Science*. 2: 1255-1260.
- Brown, J. K. 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector-begomovirus complexes. *Virus Res.* 71: 233-260

- Brow, J; Bedford, I; Bird, J; Costa, H; Frohlich, D; Markham, P. 1995. Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biochemical Genetics* 33:205-213.
- Casanova. A; Diegues. J. Determinación del número de infestación de la Mosca Blanca en el cultivo del tomate. *Ciencia y Técnica de la Agricultura. Volumen II.* 1989.
- Costa, h. s., and j. k. brown. 1991. Variation in biological characteristics and in esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci* (Genn.) and the association of one population with silverleaf symptom development. *Ent. Exp. Appl.* 61: 211-219
- Connolly J.D y Hill R. A.200. Dictionary of terpenoids. 3 vols. Vol 1: mono-and sesquiterpenoids. Vol. 2 : D i-and higher Terpenoids. Vol.. 3: Indexes
- Chapman, R.F. 2003 Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 48, 455–484
- Fogleman, J.C. 2000 Response of *Drosophila melanogaster* to selection for P450-mediated resistance to isoquinoline alkaloids. *Chem. Biol. Interact.* 125, 93–105
- Faria, M.; Wraight, S. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop protection* 20: 767 – 778
- Francis, F. et al. 2005. Glutathione S-transferases in the adaptation to plant secondary metabolites in the *Myzus persicae* aphid. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 58, 166–174.

- Granados, G. 2006. Plan de acción para el manejo de moscas blancas Recuperado de http://www.sfe.go.cr/Plagas%20y%20Enfermedades/Planes_de_Accion/Plan_de_accion_moscas_blancas.pd.
- Harborne J.B .1991. Biochemical plant ecology. *Plant Biochemistry*. Pp. 503-516
- Harborne, J. B. 2000. Arsenal for survival: Secondary plant products. *Taxon* 49: 435-449
- Hemingway, J.; Ranson H.2005.Biology of disease vectors. Chapter 41.Chemical Control of Vectors and Mechanisms of Resistance. Second Edition. Elsevier Academic Press. 785 p
- Hilje, L. 2004. Conocimiento Bioecológico como fundamento para el manejo de la Mosca Blanca (*Bemisia Tabaci*): Experiencias en América Latina. CATIE. Turrialba, CR. 9 p
- Hilje, L. 1996. Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 150 p.
- Iason, G.R., O'Reilly-Wapstra, J. M., Brewer, M.J., Summers, R. W., & Moore, B. D. 2011. Do multiple herbivores maintain chemical diversity of Scots pine monoterpenes. *Phil. Trans. Roy. Soc. B* 366: 1337-1345
- Langenheim, J. H. 1994. Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. *J. Chem. Ecol.* 20: 1223-1280
- Langenheim, J. H., Macedo, C. A., Ross, M. K., & Stubblebine, W. H. 1986. Leaf development in the tropical leguminous tree *Copaifera* in relation to microlepidopteran herbivory. *Biochem. Syst. Ecol.* 14: 51-59.

- Li XC, Berenbaum MR, Schuler MA: Molecular cloning and expression of CYP6B8: a xanthotoxin-inducible cytochrome P450 cDNA from *Helicoverpa zea*. *Insect Biochem Mol Biol* 2000,30:75-84.
- Linhart, Y. B. 1991. Disease, parasitism and herbivory - Multidimensional challenges in plant evolution. *Trends in Ecology Evolution* 6: 392-396
- López-Ávila, A. 2005. Natural enemies. Chapter 4, pp. 27-36 in: Cock, M.J.W. (Ed). *Bemisia tabaci*. a literature Survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. 121 pp. CAB International institute of Biological Control, Ascot, UK.
- Molinari, A.M. (1); Gonsebatt, G. (2); David, M.F. (3) y Perotti, E. (4), 2007 Mosca Blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) Nen cultivos de soja, IINTEEA
- Nyman, T. and Julkunen-Tiitto, R. (2000) Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* 97, 13184–13187.
- Taiz, L., and Zeiger, E. *Plant Physiology*. Boston: Sinauer Associates, 2002, p.p 171-175
- Kaplan, I., Halitschke, R., Kessler, A., Rehill, B.J., Sardanelli, S., Denno, R.F. 2008a. Physiological integration of roots and shoots in plant defense strategies links above- and belowground herbivory. *Ecology Letters* 11:841-851
- Pest Alert Fdacs-DPI. 2005. Primera notificación del biotipo Q de *Bemisia tabaci* en Estados Unidos. Florida, EEUU. Consultado 23 octubre. 2013. Disponible en: <http://www.pestalert.org/espanol/viewArchNewsStory.cfm?nid=339>
- Perring TM, The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot* 20:725–737 (2001).

- Pichersky, E., & Gershenzon, J. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 237-243.
- Poelman, E. H., van Loon, J. J. A., & Dicke, M. 2008. Consequences of variation in plant defense for biodiversity at higher trophic levels. *Trends in Plant Science* 13: 534-541.
- Mcauslane, H. 2000. Sweet potato whitefly B Biotype or silverleaf whitefly www.nysaea.cornell.edu/ent/biocontrol/parasitoids/whitefly. Fecha última revisión: 22 octubre 2013.
- Morales, F.; Cardona, C.; Bueno J.; Rodriguez I. 2006. Manejo de integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por moscas blancas. CIAT, DFID Y Tropical White Fly IPM Project
- Naveed Muhammad. 2006. *Estrategias de gestión para Bemisia tabaci (Genadio) EN algodón en el Punjab de Pakistán*. Tesis doctoral, Universidad Bahauddin Zakariya, Multan.
- Ortega Ald. Las arvenses y su Interacción con las moscas blancas. En: moscas blancas: temas selectos sobre su manejo. México, D. F: Mundi Prensa México, S. A. de C.V. 2008(b): 19-27.
- Strack D. (1997). Phenolic Metabolism. *Plant biochemistry*, pp. 338-416
- Pacheco M.F. (1985) Plagas de los cultivos agrícolas en Sonora y Baja California. SARH/INIA/CIANO. México. 414 pp
- Poelman, E. H., van Loon, J. J. A., & Dicke, M. 2008. Consequences of variation in plant defense for biodiversity at higher trophic levels. *Trends in Plant Science* 13: 534-541.

Pichersky, E., y Gershenzon, J. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 237-243

Triplehorn CA, Johnson NF. Borror and delong's introduction to the study of insects, 7a edición. Belmont, CA: Thomson books/Cole, 2005. 318

APENDICE A

Cuadro A1.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de tomate para bifentrinas, a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	Mortalidad
2000	60	1	59	98.333333
1500	60	1	59	98.333333
1000	60	0	60	100
500	60	6	54	90
250	60	8	52	86.666667
100	60	13	47	78.333333

Cuadro A2.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza I para bifentrinas, a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	Mortalidad
2000	60	2	59	93.333333
1500	60	12	59	93.333333
1000	60	11	60	80
500	60	22	54	81.666667
250	60	29	52	63.333333
100	60	33	47	51.666667

Cuadro A3.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza II para bifentrinas, a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	4	56	93.333333
1500	60	7	53	88.333333
1000	60	17	43	71.666667
500	60	28	32	53.333333
250	60	35	25	41.666667
100	60	38	22	36.666667

Cuadro A4.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de frijol para bifentrinas, a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	60	100
1500	60	7	53	88.333333
1000	60	7	53	88.333333
500	60	11	49	81.666667
250	60	28	32	53.333333
100	60	33	27	45

Cuadro A5.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza III para bifentrinas, a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	7	53	88.333333
1500	60	14	46	76.666667
1000	60	12	48	80
500	60	16	44	73.333333
250	60	17	43	71.666667
100	60	28	32	53.333333

Cuadro A6.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de calabaza para bifentrinas, a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	2	58	96.666667
1500	60	14	46	76.666667
1000	60	12	48	80
500	60	21	39	65
250	60	27	33	55
100	60	28	32	53.333333

Cuadro A7.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de tomate para imidacloprid , a las 24 hrs

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	Mortalidad
2000	60	2	60	96.6666667
1500	60	5	53	96.6666667
1000	60	9	43	91.6666667
500	60	16	27	85
250	60	22	25	73.3333333
100	60	40	22	63.3333333

Cuadro A8.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza I para imidacloprid , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	Mortalidad
2000	60	1	59	98.3333333
1500	60	3	57	95
1000	60	15	45	75
500	60	20	40	66.6666667
250	60	33	27	45
100	60	32	28	46.6666667

Cuadro A9.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza II para imidacloprid , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	60	100
1500	60	2	58	96.666667
1000	60	6	54	90
500	60	15	45	75
250	60	20	40	66.666667
100	60	26	34	56.666667

Cuadro A10.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza III para imidacloprid , a las 24 hrs.

Expuestos	Número de individuos			%
	Vivos	Muertos	Mortalidad	
60	4	56	93.333333	
60	5	55	91.666667	
60	10	50	83.333333	
60	8	52	86.666667	
60	19	41	68.333333	
60	29	31	51.666667	

Cuadro A11.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de frijol para imidacloprid , a las 24 hrs.

Número de individuos			% Mortalidad
Expuestos	Vivos	Muertos	
60	0	60	100
60	2	58	96.666667
60	6	54	90
60	15	45	75
60	20	40	66.666667
60	26	34	56.666667

Cuadro A12.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de calabaza para imidacloprid , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	3	57	95
1500	60	6	54	90
1000	60	19	41	68.333333
500	60	22	38	63.333333
250	60	30	30	50
100	60	35	25	41.666667

Cuadro A13.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de tomate para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	5	55	91.666667
1500	60	13	47	78.333333
1000	60	20	40	66.666667
500	60	26	34	56.666667
250	60	27	33	55
100	60	34	26	43.333333

Cuadro A14.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza I para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	14	46	76.666667
1500	60	13	47	78.333333
1000	60	12	48	80
500	60	15	45	75
250	60	16	44	73.333333
100	60	36	24	40

Cuadro A15.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza II para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	1	59	98.333333
1500	60	4	56	93.333333
1000	60	12	48	80
500	60	18	42	70
250	60	27	33	55
100	60	28	32	53.333333

Cuadro A16.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de frijol para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	2	58	96.666667
1500	60	4	56	93.333333
1000	60	15	45	75
500	60	15	45	75
250	60	21	39	65
100	60	29	31	51.666667

Cuadro A17.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de maleza III para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	3	57	95
1500	60	6	54	90
1000	60	12	48	80
500	60	17	43	71.666667
250	60	28	32	53.333333
100	60	32	28	46.666667

Cuadro A18.- Mortalidad de ninfa de *Bemisia tabaci* (Gennadius) de líneas de campo de calabaza para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	1	59	98.333333
1500	60	7	53	88.333333
1000	60	12	48	80
500	60	16	44	73.333333
250	60	25	35	58.333333
100	60	34	26	43.333333

Cuadro A19.- Valores promedio de absorbancia de α -esterasas en *Bemisia tabaci* (Gennadius) desarrollada en seis hospederos.

α - esterazas					
Maleza III	Calabaza	Frijol	Maleza II	Maleza I	Tomate
1.218	0.84	1.003	2.342	1.409	1.123
1.274	0.647	2.625	2.025	1.334	1.196
1.291	0.758	1.011	2.625	1.038	1.013
1.04	0.883	0.616	1.476	1.386	1.135
1.143	0.822	0.622	1.643	1.302	1.014
1.033	0.769	0.639	1.815	1.534	1.262
1.735	0.987	0.974	2.347	1.233	1.184
1.287	1.011	0.913	2.234	1.41	1.266
1.134	1.808	0.988	2.807	1.488	1.104
1.461	0.88	0.882	1.976	1.821	1.266
1.114	0.84	0.827	1.934	1.734	1.176
1.133	0.961	0.87	2.012	1	1.03
1.226	1.004	0.777	1.952	1.41	1.658
1.236	1.009	0.761	2.177	1.558	1.083
1.141	1.01	0.769	2.829	1.523	2.03
1.157	0.742	0.871	2.266	2	1.113
1.104	0.737	0.831	1.86	1.573	1.2
1.133	0.75	1.043	1.583	1.223	1.047
1	0.883	0.838	1.799	1.376	1.169
1.99	0.756	0.912	2.126	1.245	1.077
1.033	0.895	0.871	2.306	1.96	1.062
0.978	1.15	1.411	1.913	1.374	1.132
0.907	1.17	1.017	2.41	1.424	1.87
1.035	1.319	0.933	2.091	1.123	1.171

Cuadro A20.- Valores promedio de absorbancia de β -esterasas en *Bemisia tabaci* (Gennadius) desarrollada en seis hospederos.

β - esterassas					
Maleza III	Calabaza	Frijol	Maleza II	Maleza I	Tomate
2.474	1.238	0.85	1.919	1.676	1.516
2.923	1.29	0.9	1.732	2.482	1.109
1.738	1.235	0.953	1.96	1.86	1.218
1.666	1.28	1.098	2.332	2.428	1.255
1.59	1.269	0.999	2.239	2.53	1.219
1.664	1.139	1.026	2.409	1.747	1.28
1.062	1.386	0.839	2.244	1.671	1.262
1.064	1.425	0.908	2.373	1.668	1.315
1.025	1.211	0.994	2.893	1.766	1.106
0.686	1.284	0.883	2.051	2.717	1.6
0.717	1.262	0.671	2.249	2.476	1.3
0.693	1.333	0.874	2.584	2.641	1.49
1.133	0.944	1.12	1.767	1.998	1.968
0.897	1.103	1.302	1.616	1.9951	1.79
1.011	1.266	1.384	1.966	1.884	1.769
1.13	1.241	1.09	1.935	1.705	1.58
1.428	1.254	1.1	1.7492	1.73	1.45
1.513	1.256	1.05	2.014	1.9	1.466
1.461	1.24	0.983	2.581	2.311	1.43
1.075	1.02	1.077	2.402	2.484	1.439
1.374	1.052	0.986	2.832	2.573	1.36
1.65	1.13	1.167	2.494	2.206	2.02
1.76	1.275	1.25	2.51	2.108	1.998

Cuadro A21.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tomate para bifentrina , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	60	100
1500	60	0	53	88.3333333
1000	60	12	55	91.6666667
500	60	17	43	71.6666667
250	60	28	39	65
100	60	32	23	38.3333333

Cuadro A22.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tomate para bifentrina , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	47	78.3333333
1500	60	0	53	88.3333333
1000	60	12	36	60
500	60	17	23	38.3333333
250	60	28	24	40
100	60	32	12	20

Cuadro A23.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tabaco para bifentrina , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	60	100
1500	60	0	53	88.3333333
1000	60	12	43	71.6666667
500	60	17	30	50
250	60	28	25	41.6666667
100	60	32	17	28.3333333

Cuadro A24.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tomate para imidacloprid , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	55	91.6666667
1500	60	0	31	51.6666667
1000	60	12	21	35
500	60	17	8	13.3333333
250	60	28	2	3.3333333
100	60	32	0	0

Cuadro A25.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de nochebuena para imidacloprid , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	58	96.6666667
1500	60	0	38	63.3333333
1000	60	12	10	16.6666667
500	60	17	11	18.3333333
250	60	28	10	16.6666667
100	60	32	7	11.6666667

Cuadro A26.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tabaco para imidacloprid , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			%
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	57	95
1500	60	0	56	93.3333333
1000	60	12	39	65
500	60	17	27	45
250	60	28	25	41.6666667
100	60	32	19	31.6666667

Cuadro A27.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tomate para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	60	0	34	56.6666667
1500	60	0	28	46.6666667
1000	60	12	27	45
500	60	17	18	30
250	60	28	13	21.6666667
100	60	32	14	23.3333333

Cuadro A28.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de nochebuena para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
8000	60	1	59	98.3333333
6000	60	14	46	76.6666667
4000	60	34	26	43.3333333
2000	60	54	6	10
1500	60	53	7	11.6666667
1000	60	53	7	11.6666667
500	60	53	7	11.6666667
250	60	57	3	5
100	60	55	5	8.3333333

Cuadro A29.- Mortalidad de ninfa de *Trialeurodes vaporariorum* (West) de líneas de campo de tabaco para endosulfan , a las 24 hrs.

Ppm	Número de individuos			% Mortalidad
	Expuestos	Vivos	Muertos	
2000	20	19	18	90
1500	18	19	19	105.555556
1000	13	14	12	92.3076923
500	10	9	8	80
250	8	9	8	100
100	6	6	7	116.666667

Cuadro A30.- Valores promedio de absorbancia de α -esterasas en *Trialeurodes vaporariorum* (West) desarrollada en tres hospederos.

α -Esterasas		
Tomate	Nochebuena	Tabaco
0.87	0.59	0.825
0.81	0.814	0.574
0.701	0.93	0.494
0.667	0.56	1.059
0.68	0.599	1.233
0.527	0.579	1.143
0.81	1.968	1.348
0.766	1.839	1.161
0.781	1.66	1.331
0.604	0.907	1.064
0.593	2.236	1.052
0.603	1.245	0.93
0.828	1.002	1.679
0.804	0.819	1.929
0.749	1.02	1.89
0.532	1.263	1.311
0.609	1.3	1.584
0.607	1.494	1
0.614	1.675	1.12
0.519	1.972	0.823
0.548	1.751	0.96
0.652	1.512	1.433
0.575	0.867	0.706
0.495	1.512	1.445

Cuadro A31.- Valores promedio de absorbancia de β -esterasas en *Trialeurodes vaporariorum* (West) desarrollada en tres hospederos.

β - Esterasas		
Tomate	Nochebuena	Tabaco
1.84	2.487	1.953
1.649	2.094	2.087
1.02	2.194	1.407
1.048	1.468	2.012
1.088	1.644	2.231
1.069	1.471	1.998
1.166	2.546	2.252
1.233	2.323	2.509
1.23	2.478	2.463
1.061	1.344	2.65
1.058	1.233	2.929
1.055	1.434	2.978
1.353	1.443	2.56
1.299	1.545	2.68
1.306	1.77	2.76
1.327	1.567	2.889
1.067	1.675	2.89
1.171	1.654	2.903
0.922	1.413	2.768
0.997	1.425	2.87
0.947	1.567	2.98
1.008	1.589	2.583
0.987	1.622	2.69
0.891	1.234	2.431