

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



**Comparación de las Líneas de Respuesta a Fenpyroximate y la
Cantidad de Proteína de Diferentes Líneas de *Tetranychus urticae*
Koch.**

POR:

OMAR GARCÍA ÁNGEL

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Abril del 2006.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**Comparación de las Líneas de Respuesta a Fenpyroximate y la
Cantidad de Proteína de Diferentes Líneas de *Tetranychus urticae*
Koch.**

PRESENTADA POR:

OMAR GARCÍA ÁNGEL

TESIS

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

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

APROBADA

ASESOR PRINCIPAL

DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES

ASESOR

MC. ERNESTO CERNA CHÁVEZ

ASESOR

ING. JUAN RAMÍREZ MORALES

ASESOR

ING. OSMAR VENTURA LÓPEZ LÓPEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

MC. ARNOLDO OYERVIDES GARCÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila., México, Abril del 2006

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por haberme concedido la oportunidad de vivir, darme salud, sabiduría pero sobre todo las fuerzas para seguir adelante y ser cada día mejor, le doy gracias también por la oportunidad de conocer a todas esas personas, que de una u otra forma influyeron en mi y estado de animo, durante este tiempo de lucha y sacrificios.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Por abrirme sus puertas y brindarme las facilidades permitidas para terminar mis estudios de licenciatura.

Al Dr. Jerónimo Landeros Flores. Por su apoyo, sugerencias, correcciones y la gestión de tramites necesarios para la realización de este trabajo, por su amistad y el buen estado de animo que lo caracteriza.

Al MC. Ernesto Cerna Chávez. Por su tiempo dedicado para el correcto avance de la investigación, por los materiales proporcionados y por sus valiosas aportaciones sugerencias y correcciones para la realización de este trabajo.

Al MC. Carlos Enrique Ail Catzim. Por haberme dado la oportunidad de desarrollar este trabajo, así como por sus atinados consejos, confianza y amistad, además de su valiosa colaboración para la realización de este trabajo.

Al ING. Juan Ramírez Morales. Por la buena disposición en la conceptualización del presente trabajo.

Al Ing. Osmar Ventura López López. Por sus enseñanzas y consejos sobre la investigación.

Al Ing. Claudio Ríos Velasco por su amistad, apoyo y confianza durante la realización del presente trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres:

Sr. Humberto García López.
Sra. Juventina Ángel Chávez.

Por haberme dado la vida, el apoyo incondicional durante toda mi formación profesional, que representa para mi la mejor herencia. Además de los consejos y ejemplos que me han dado de la vida y la confianza que depositaron en mi para que yo sea una persona de bien. Gracias por su tiempo, su amor. Por enseñarme la verdadera esencia de la amistad y el respeto al ser humano. Los amo y los respeto.

El poder y la persona misma desaparecerán, pero la virtud de unos grandes padres vivirá para siempre.

A mis hermanos:

Por el cariño que nos une y la buena vibra y su apoyo que me han ayudado siempre a seguir adelante en los momentos difíciles.

A mi abuelo:

Sr. Ignacio Ángel García

Por sus consejos y experiencias sobre la vida, pero sobre todo el apoyo a la familia. Por el cariño y por el respeto que se merece Gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS -----	vii
ÍNDICE DE FIGURAS -----	xi
INTRODUCCIÓN -----	1
REVISIÓN DE LITERATURA -----	3
Generalidades -----	3
Importancia económica -----	3
Distribución mundial -----	5
Distribución en México -----	5
Ubicación taxonómica -----	6
Morfología -----	6
Biología y hábitos-----	10
Alternativas de control -----	12
Control cultural -----	12
Control biológico -----	12
Control químico -----	15
Resistencia -----	16
Tipos de resistencia -----	18
Resistencia por comportamiento -----	18
Resistencia morfológica -----	19
Resistencia fisiológica -----	20

Resistencia de <i>T.urticae</i> a acaricidas-----	21
Métodos para la detección de la resistencia-----	23
Métodos indirectos-----	25
Cuantificación de proteína-----	29
MATERIALES Y MÉTODOS -----	31
Ubicación del experimento -----	31
Material biológico -----	31
Bioensayos -----	32
Criterio de muerte -----	33
Análisis estadístico -----	34
Cuantificación de proteína -----	34
Equipo y material de laboratorio-----	34
Intención de la curva estándar-----	34
Preparación de los homogenatos-----	34
Cuantificación de proteína por el método de Brogdon (1984) -----	35
Análisis de los resultados-----	35
RESULTADOS -----	36
CONCLUSIONES -----	54
LITERATURA CITADA -----	55
APÉNDICE -----	65

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1	Concentración letal, limites fiduciales y valor de la pendiente de diferentes líneas de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch. A las 24 horas de exposición al producto fenpyroximate.-----37
2	Coefficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de <i>T. urticae</i> . Expuestas 24 horas al producto fenpyroximate.-----38
3	Concentración letal, limites fiduciales y valor de la pendiente para la línea susceptible (Bajo presión de selección) y de la línea de campo (Sin presión de selección) de hembras adultas de <i>T. urticae</i> . Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 15 días del primer muestreo.-----40
4	Coefficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de <i>T. urticae</i> a 15 días del primer muestreo.-----41

- 5 Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente para la línea susceptible (Bajo presión de selección) y de la línea de campo (Sin presión de selección) de hembras adultas de *T. urticae*. Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 30 días del primer muestreo. -----43
- 6 Coeficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de *T. urticae* a 30 días del primer muestreo.-----44
- 7 Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente para la línea susceptible (Bajo presión de selección) y de la línea de campo (Sin presión de selección) de hembras adultas de *T. urticae*. Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 45 días del primer muestreo.-----46
- 8 Coeficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de *T. urticae* a 45 días del primer muestreo.-----47
- 9 Comparación de la CL_{50} de una línea susceptible a través de cuatro muestreos bajo presión de selección. -----49
- 10 Comparación de la CL_{50} de una línea de campo a través de cuatro muestreos bajo presión de selección.-----49

11	concentraciones de proteína para la línea susceptible y de campo en los diferentes muestreos.-----	51
12	Análisis de varianza para la cuantificación de proteína de una línea susceptible y otra de campo para cuatro fechas de muestreo.-----	53
13	Comparación de medias por la prueba de Tukey-----	53
A1	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea susceptible Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas.-----	66
A2	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea susceptible Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 15 días del primer muestreo.-----	66
A3	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea susceptible Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 30 días del primer muestreo.-----	67
A4	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea susceptible Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 45 días del primer muestreo.-----	67
B1	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea de campo realizada para determinar la CL ₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas.-----	68

B2	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea de campo realizada para determinar la CL ₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas, a 15 días del primer muestreo.-----	69
B3	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea de campo realizada para determinar la CL ₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas, a 30 días del primer muestreo.-----	70
B4	Mortalidad de hembras adultas de <i>T. urticae</i> de la línea de campo realizada para determinar la CL ₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas, a 45 días del primer muestreo.-----	71
C1	Valores de absorbancia de <i>T. urticae</i> para la línea susceptible.-----	72
C2	Valores de absorbancia de <i>T. urticae</i> para la línea de campo.-----	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Líneas de respuesta concentración–mortalidad, de Fenpyroximate sobre la susceptible y de campo de <i>T. urticae</i> a las 24 horas. -----	línea 39
2	Líneas de respuesta concentración–mortalidad, de Fenpyroximate sobre la susceptible (Bajo presión de selección) y una línea de campo (Sin presión de selección) a 15 días del primer muestreo.-----	línea 42
3	Líneas de respuesta concentración–mortalidad, de Fenpyroximate sobre la susceptible (Bajo presión de selección) y una línea de campo (Sin presión de selección) a 30 días del primer muestreo.-----	línea 45
4	Líneas de respuesta concentración–mortalidad de Fenpyroximate sobre la susceptible (Bajo presión de selección) y una línea de campo (Sin presión de selección) a 45 días del primer muestreo.-----	línea 48
5	Curva estándar para la cuantificación de proteína por el método de ----- -----	Brogdon. ---- 50

INTRODUCCIÓN

Actualmente la producción de cultivos a escala mundial se ve limitada por diferentes factores, siendo los principales de tipo fitosanitario como son las plagas y enfermedades. Los ácaros juegan un papel importante en la vida del hombre ya que causan daños en plantas, animales y al mismo humano. Los vegetales se ven atacados por especies de la familia Tetranychidae, la cual es la más importante como plaga dentro de los cultivos agrícolas y ornamentales (Calza, 1971).

La arañita roja *Tetranychus urticae* Koch se ha reportado en 180 especies de plantas cultivadas en invernaderos o en condiciones de campo (Kim *et al.*, 2004), causando marchitamiento y desecación de follaje y la muerte de las plantas Gould (1987). Esta especie es la plaga más importante en plantíos de fresa en México (Badii *et al.*, 2000). Esta especie reduce la producción de fresa de un 10-15% en California y hasta en un 50% en Florida (Decou, 1994).

Por otro lado, el control de *T. urticae* se realiza principalmente con acaricidas y en consecuencia esta especie ha desarrollado resistencia a la mayoría de los productos que se utilizan para su combate (Devine *et al.*, 2001).

Este problema de la resistencia, es una consecuencia de los malos manejos de los acaricidas, debido al uso de mezclas, utilización indiscriminada de nuevas moléculas y el afán incansable del productor de emplear nuevos acaricidas más

potentes, lo que provoca cambios metabólicos en el organismo de *T. urticae*. (Pradt, 1978).

El monitoreo de la resistencia es esencial en el manejo de insecticidas y acaricidas, es por ello, que se han desarrollado varias metodologías para detectar este fenómeno; tal es el caso de pruebas de concentraciones múltiples expresada en términos de concentración letal media (CL₅₀), perfiles de ADN que muestran a los genes responsables de la resistencia a plaguicidas; así como, las pruebas bioquímicas que determinan la actividad y cantidad de las enzimas responsables de este fenómeno. Por lo que, la determinación y cuantificación de proteína contenida en tejidos y fluidos puede ser usada como referencia para cuantificar diversos componentes en el sistema biológico.

Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue comparar las líneas de respuesta de una línea susceptible de *T. urticae* y una línea de campo, así como determinar la cantidad de proteína de ambas líneas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades.

El ácaro de dos manchas, arañita roja o ácaro de invernaderos, *Tetranychus urticae* Koch antes formaba parte de un complejo de cerca de 59 sinónimos descritos para diferentes plantas hospederas. Una revisión de la familia Tetranychidae publicada en 1955 (Pritchard y Backer citados por Jeppson *et. al.*, 1975), incluía 53 sinónimos para *Tetranychus telarius* (nombre inicial de este complejo). Estos se reportan atacando a más de 150 especies de cultivos, siendo difícil saber con exactitud las especies de plantas dañadas únicamente por *T. urticae* sin embargo, se sabe que esta especie es un serio problema en frutos deciduos, árboles de sombra y arbustos especialmente de climas templados (Jeppson *et. al.*, 1975).

Importancia económica.

T. urticae ha aumentado su importancia debido a que es un acaro cosmopolita y muy polífago, dado que afecta prácticamente a todos los cultivos protegidos, cultivos al aire libre, y gran número de especies espontáneas. Su importancia se debe parcialmente a que los nuevos pesticidas han reducido sus enemigos naturales, y/o han hecho a las plantas más favorables para su desarrollo y parcialmente debido también a que ajustan sus mecanismos de resistencia a una velocidad alarmante a una gran variedad de agentes químicos de control.

Debido a que esta especie presenta un rango amplió de hospederos, podemos mencionar que los daños o lesiones provocados son similares en todas las especies

vegetales atacadas por esta plaga. Little (1972) la menciona como plaga en una gran diversidad de cultivos como; algodón, frijol, pepino, arbustos, flores, jardines caseros, etc; menciona además que su daño lo ocasionan al alimentarse del envés de las hojas, raspando y succionando la savia, las arañitas se cubren con una seda fina que cuando las infestaciones son severas, logran cubrir por completo la planta, a su vez se reporta que *T. urticae* inverna en plantas de porte bajo y que las violetas son plantas favorables para empezar su infestación luego de invernar. Las condiciones favorables de desarrollo son temperaturas altas y secas (Mac Gregor y Gutiérrez, 1983). Sobrino y Pacheco (1989) la reportan como plaga muy importante en berenjena, calabacita, melón pepino, tomate y fresa.

Fröhlich y Rodehald (1970) mencionan que *T. urticae* es muy destructivo en tabaco y que en algodón puede ocasionar la muerte de la planta pocas semanas después del ataque, el daño se presenta con hojas moteadas de blanco, las que se tornan amarillas o rojas y caen prematuramente. Según las condiciones ambientales, se presentan entre 12 y 16 generaciones por año.

Otero (1992), señala que la importancia de los ácaros fitófagos como plagas agrícolas ha ido en aumento. De ser organismos poco conocidos presentes en muchos cultivos, pero de importancia secundaria, en tiempos recientes han surgido como plagas extremadamente dañinas que han obligado a tomar medidas para su control y han estimulado a desarrollar actividades de investigación para conocer diversos aspectos sobre su taxonomía, biología, y ecología.

Distribución mundial

Tetranychus urticae se encuentra ampliamente distribuida en el mundo principalmente en zonas templadas (Milley y Conell citados por Cruz., 1984). Esta especie se le ha reportado en árboles frutales deciduos en la región boreal de Estados Unidos de América y Europa (Tuttle y Baker, 1968). Mullin (1984) indica que *T. urticae* se encuentra atacando cultivos de frijol, papa, maíz, y algodón en el estado de Michigan, E.U.A. Doreste (1988), señala que en Venezuela *T. urticae* ataca al cultivo de tomate, melón y berenjena.

Distribución en México.

En México se encuentra una amplia distribución de ácaros parásitos en todo el país (Quintanilla, 1978). *T. urticae* se le reporta ocasionando daños económicos en las zonas freseras de Irapuato, Guanajuato y Zamora, Michoacán y en menor grado en Jalisco, México, Puebla y Querétaro (Telliz y Castro, 1973). En los estados de Puebla, Morelos, México y Guanajuato ocasionando pérdidas en fresa, papaya y cacahuate (Estebanes, 1989). Yáñez (1989), menciona que en el estado de México *T. urticae* afecta la calidad de la flor del crisantemo al deformar sus pétalos.

Ubicación taxonómica

Tetranychus urticae de acuerdo a Krantz (1978), se ubica en los siguientes taxa:

Phyllum: Artropoda

Subphyllum: Chelicerata

Clase: Acárida

Orden: Acariformes

Suborden: Prostigmata

Superfamilia: Tetranychoida

Familia: Tetranychidae

Subfamilia: Tetranychinae

Tribu: Tetranychini

Género: *Tetranychus*

Especie: *urticae* Koch.

Morfología.

El ciclo de vida de *T. urticae* comprende las fases de huevecillo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto (Jeppson *et. al.*, 1975).

Huevo.-Los huevecillos de *T. urticae* miden en promedio entre 110 y 150 μm . Son de color translucido a opaco blanquecino y cambian a color café conforme se va desarrollando el embrión, la superficie del córion es lisa con leves irregularidades.

En la última etapa de desarrollo embrionario se presenta un cono respiratorio que se proyecta sobre la superficie del huevecillo (Crooker, 1985; Monthes y seitz,

citados por Crooker, 1985), estudiando la anatomía del huevecillo, han determinado que ésta consiste en una capa granular exterior, una capa densa media y una capa interna transparente. Están conectados estigmas embrionarios de estructura complicada que penetran la red del huevo durante la fase contractiva de la banda germinal, a una parte altamente especializada de la membrana intermedia que cubre el embrión, ésta membrana tiene numerosas perforaciones las cuales forman un plastrón de aire de 0.2 a 0.3 entre la pared del huevecillo y el embrión.

En 1949, Cagle (citado por Nelson y Stafford, 1972) estudió los efectos de la temperatura sobre el periodo de incubación de los huevecillos, reportando que a 24° C el periodo de incubación era de tres días, mientras que necesitaban 21 días a una temperatura de 11° C.

Larva.-Las larvas son redondeadas y poseen tres pares de patas. Al emerger del huevo son blancas y únicamente se les notan las manchas oculares de color rojo carmín. Conforme pasa el tiempo se tornan de color verde claro y las manchas dorsales de color gris se empiezan a volver aparentes. Los peritremas tienen forma de bastón y están en posición dorsal al final de las setas propodosomales anteriores. (Jeppson *et. al.*, 1975)

Ninfa.- Posee dos estadios ninfales, **Protoninfa Y Deutoninfa**. En ambos son del mismo color que las larvas, aunque las manchas en los laterales del dorso aparecen más grandes y nítidas. Poseen cuatro pares de patas.

La diferencia entre ambos estadios radica en el tamaño, mayor en la deutoninfa. En este estado se pueden ya diferenciar según las formas que ninfas que darán origen a hembras, y cuales son las precursoras de los machos, siendo las hembras de mayor tamaño, más voluminosas y redondeadas.

Protoninfa.- La protoninfa es de forma ovalada, mas grande que la larva, posee cuatro pares de patas y es de color verde claro a amarillo oscuro con manchas dorsales bien definidas, la parte superior del cuerpo se redondea y al igual que las larvas pueden tejer “telaraña” y los peritremas adquieren forma de hoz. (Jeppson *et al.*, 1975; Hernández, 1978).

Una vez que ha terminado la protoninfa sigue un estado de reposo conocido como; **Deutocrisalis**. Esto es igual que la **Protoceisalis**, con la única diferencia de que tiene cuatro pares de patas y es de mayor tamaño. (Hernández, 1978)

Deutoninfa.- La deutoninfa es muy similar a la protoninfa, y la diferenciación se dificulta; comúnmente es más oscura. En esta etapa se puede reconocer el sexo ya que hay de dos tipos, unas presentan mayor tamaño, la parte posterior del cuerpo redondeada originan hembras. Las que originan a los machos son mas pequeños y con la parte posterior del cuerpo gradualmente mas angosta.

Al terminar su desarrollo se inactiva y pasa a otro estado de reposo conocido como: **Teliocrisalis** (Hernández, 1978).

Adulto Hembra.- La hembra es oblonga, mas grande y de color verde olivo (Jeppson *et al.*, 1975). Al principio es blanca con dos manchas dorsales bien limitadas, el abdomen presenta 26 setas dorsales lanceoladas y curvadas hacia atrás. La parte posterior del cuerpo es redondeada y más grande que el macho, con una mayor capacidad de producción de telaraña. Los ojos son rojo carmín y en sus últimos días de vida presenta una coloración café clara, las manchas negras se tornan rojizas y el cuerpo da la apariencia de pérdida de agua (Jeppson *et al.*, 1975; Hernández, 1978).

Adultos Machos.- El macho adulto es de coloración más pálida que la hembra, comúnmente de color crema, es más pequeño que la hembra, con la parte posterior del cuerpo gradualmente mas angosta a medida que se acerca a la parte distal del opistoma, las manchas dorsales son casi imperceptibles y de color gris (Jeppson *et al.* 1975; Kranz, 1978; Hernández, 1978)

El primer tarso presenta cuatro pares de setas táctiles y dos sensoriales próximas a las duplex proximales. La primer tibia presenta nueve setas táctiles y cuatro sensoriales.

Biología y hábitos

En sus tres estados inmaduros, se alimentan y entre cada una de esas fases, presentan periodos de quiescencia, llamados Protocrisalida, Deutocrisalida, y Teliocrisalida. El macho de estas especies tenía un número de cromosomas haploide

y la hembra diploide. Actualmente se conoce que esta especie tiene tres pares de cromosomas y presentan partenogénesis de tipo arrhenotokia (Helle y Pijacker, 1985). Viven en colonias bajo la superficie de las hojas, conteniendo cada colonia centenares de individuos. El término "ácaros araña" proviene de la tendencia a producir una telaraña en las hojas infestadas. Esta red es una forma fácil de distinguirlos de otros tipos de ácaros (Walter, 1975).

Tetranychus urticae, también llamado arañuela roja, son plagas de las plantas de cultivo, más frecuentes en condiciones de sequedad y calor. Cuando los ácaros son muy numerosos, producen una telaraña que cubre las áreas infestadas y se extiende de hoja en hoja, hasta recubrir la totalidad de la planta.

Los ácaros succionan la savia. La pérdida de clorofila conduce primero a un moteado blanquecino o amarillento en la superficie superior de las hojas y eventualmente a una decoloración uniforme, bronceada o amarillenta, defoliación, e incluso a la muerte de la planta (Walter, 1975).

Sánchez *et al.*, (1979) menciona que *T. urticae* al alimentarse de plantas, ocasiona la reducción del contenido de la clorofila y daño físico al mesófilo esponjoso y de empalizada, siendo que en los tejidos afectados los estomas tienden a permanecer cerrados, lo que disminuye la tasa de respiración.

Jeppson *et al.* (1975) menciona que el daño causado por los ácaros a las plantas debido a sus hábitos alimenticios dependen, generalmente de las condiciones del ambiente, estado fisiológico de la planta y de la naturaleza de las sustancias inyectadas.

Jepson *et al.* (1975) Señalan que la temperatura umbral mínima de desarrollo es de 12 °C, la máxima de 40 °C y la optima de 30 a 32 °C; además, mencionan que un ciclo de vida completo dura de 8 a 12 días y que una hembra tiene un promedio de vida de 30 días, y en este tiempo de posita de 90 a 110 huevecillos. Shin *et al.* (1976) determinaron que el ciclo completo de *T. urticae* en laboratorio requiere 7.5 días a 27 ± 1 °C y de $95 \pm 5\%$ de humedad relativa; además, mencionan que el tiempo medio de generación fue de 16 días y que cada hembra deposita en promedio 7.97 huevecillos/día. Según Kranz *et al.* (1978) una generación se completa en 9.5 días a 30 °C o en 22 días a 18 °C.

Alternativas de control.

Debido a la problemática que ocasiona *T. urticae* se han practicado una serie de acciones de control para mantener bajas sus poblaciones. A continuación se señalan algunos métodos de control usados para regular las poblaciones de ácaros, entre los cuales están; el control cultural, biológico y químico.

Control cultural.

El control cultural consiste en la labranza del suelo. Este método ayuda a que las poblaciones de hembras invernantes del suelo se reduzcan, así mismo eliminar malezas cercanas al cultivo, ya que estas actúan como hospederos alternos para el acaro, sobre todo si son malezas emparentadas taxonomicamente con el cultivo. Al respecto Media (2000) menciona que una forma de control es destruir las malezas alrededor del campo tras la cosecha o antes de la resiembra y que no es aconsejable la destrucción de las malezas colindantes durante la temporada de cultivo, ya que esto obliga a los ácaros a emigrar al campo, además se deben seleccionar variedades de semillas con resistencia a la araña roja.

Control biológico.

Este método de control se ha practicado desde hace mucho tiempo y consiste en usar y/o dejar actuar a los enemigos naturales de una plaga, para así mantener sus fluctuaciones poblacionales por debajo de los umbrales económicos.

Los enemigos naturales son agentes muy importantes en la reducción o regulación de las poblaciones de ácaros que se alimentan de las plantas; entre los agentes mas importantes están ácaros, insectos y en algunos casos pueden presentarse entomopatógenos (Jeppson, 1975)

Según Krantz (1971), dentro de las principales familias de ácaros predadores debe citarse a Phytoseiidae, Ascidae, Anystidae, Cheyletidae, Bdellidae y Cunaxidae, siendo los miembros de Phytoseiidae los más importantes como

depredadores de tetranychidos. Al respecto Gould (1966) y Goowin (1984), hacen mención de la especie *Phytoseiulus persimilis* es un predador efectivo de *T. urticae* Koch.

Algunos reportes acerca de trabajos referente al control biológico, son el de Oatman (1977) citado por Doreste (1984), quien demostró que poblaciones de *T. urticae* en fresa podían ser reducidas significativamente con la liberación en masa de *Phytoseiulus persimilis* y *Amblyseius californicus*; ambos de la familia Phytoseiidae. Por otra parte Helle & Sableéis (1985), mencionan que *P. persimilis* es el depredador más usado en invernaderos para el control de *T. urticae*. Actualmente, se usa este depredador en USA, Canadá, Rusia, Japón, Israel y otros países. *P. persimilis* se emplea comercialmente sobre el chile, tomate, pepino, berenjena y fresa, además sobre algunas plantas ornamentales, rosal, crisantemo, con algún grado de éxito en control biológico de *T. urticae* (Badii, *et al.*, 2000).

Oatman *et al* (1974) mencionan que en el cultivo de la fresa, la relación entre las poblaciones de ácaros predadores y presas, han contribuido a reducir la densidad de la población de la última; además, reporta que existen siete especies de insectos predadores y varias especies de fitoseidos, principalmente *Metaseiulus occidentales* Nesbutta; estos predadores ayudan a mantener las poblaciones de *T. urticae* a un nivel bajo.

Tirado (1977), señala a cuatro especies de ácaros predadores: *Amblyseius elongatus* como predador de tetranychidos y eriófidos, *Cunaxa taurus* predador de

tetranychidos, *Bdella mexicanus* y *B. longicornis* sobre varias especies de ácaros fitófagos.

Jerónimo (1980) citado por Bravo *et al.* (1989) llevó a cabo un estudio sobre la capacidad de depredación *Orius tristicolor* (white) y *O. thyestes* sobre *T. urticae*; donde observó que la densidad poblacional de enemigos naturales por planta para mantener a las poblaciones de *T. urticae* por debajo del umbral económico es de 15 ejemplares.

Un reporte anónimo (1980) citado por Bravo *et al.* (1989) señala que la familia Phytoseiidae agrupa a 43 géneros de ácaros predadores que son efectivos sobre *T. urticae* en una variedad de cultivos; también reporta a *hippodamia* como un buen predador ya que un solo ejemplar en estado de larva consume 5000 arañas rojas.

Dentro de los insectos depredadores de *T. urticae* los escarabajos del género *Stethorus* (Coccinelidae) y los trips de seis manchas de la familia Thripidae *Scolothrips sexmaculatus* han ofrecido buen control de poblaciones altas de arañas rojas (Badii *et al.*, 2000).

Por otra parte Carner y Canerday (1968), citados por Burges y Husey (1971) observaron al hongo *Metharrizium fresinnii* y *Agistem fiehneri* parásita a *Tetranychus spp.*

Control químico

La mayoría de los insecticidas, aun cuando no tenga suficiente toxicidad para causar la muerte de los ácaros, pueden en muchos casos provocar cierta irritación, que se manifiesta con una dispersión de las colonias, aumento de su capacidad reproductiva o acortamiento del ciclo de vida, lo que se debe no solo a la acción directa del producto sobre el acaro, sino también en forma indirecta a la alteración de la savia de la planta hospedera, al provocar cambios en la relación potasio: calcio (Doreste, 1984)

El control químico se ha usado desde los albores de la agricultura y constantemente se ha tenido que buscar sustancias con mayor capacidad de control y menor grado de toxicidad para el hombre y el ambiente (Velasco y Pacheco, 1968).

El problema de la resistencia es básicamente de selección de organismos resistentes dentro de una población a determinados productos; esto se ve favorecido por la frecuencia de las aplicaciones, la repetición del tipo de compuesto usado y el ciclo de vida de la especie; los ácaros tienen gran capacidad para desarrollar resistencia ante diferentes productos, sobre todo cuando son de composición química similar y se aplican con frecuencia (Bravo *et al.*, 1989).

Se ha comprobado que los géneros *Panonychus* y *Tetranychus* son capaces de desarrollar rápidamente resistencia a diferentes acaricidas Doreste, (1984).

Uno de los primeros acaricidas utilizados fue la Naftalina, para uso en invernadero. Posteriormente bajo condiciones de campo se utilizo el azufre y el aceite de petróleo (Velasco y Pacheco, 1968). Asi como la utilización del sulfuro para el control de ácaros fitófagos de importancia agrícola por el año de 1920 (Jefferson *et al.*, 1956).

A partir de 1930 se desarrollaron los dinitrofenoles, siendo los primeros acaricidas orgánicos, sin embargo, estos compuestos, presentaba problemas de fototoxicidad a las plantas (Jeppson *et al.*, 1975)

Resistencia

Debido al uso constante de plaguicidas, a las que se han sometido organismos plaga, han causado cambios metabólicos en su sistema, con los cuales han desarrollado resistencia a varios grupos de tóxicos, debido también a un amplio rango de características biológicas, genéticas, etológicas y de manejo que han dado resistencia y de aquí que existan grados variables de evolución.

El concepto de resistencia a insecticidas es complejo y controvertido, ya que es un fenómeno muy relativo (Brattsten, 1989).

Busvine (1971) menciona que el termino resistencia se utiliza para de signar poblaciones de insectos que han desarrollado la habilidad de tolerar dosis de toxico que serian letales para una población normal de la misma especie. Por su parte,

Metcalf (1983) indica que la resistencia a insecticidas parece ser el resultado inevitable de la selección intensiva de una población de insectos que cuentan con una reserva genética substancial que incorpora, por lo general a bajas frecuencias, hábeles que le confieren aptitud para sobrevivir en un ambiente contaminado con insecticida.

Brown, (1941), definió a la resistencia como el desarrollo de una habilidad adicional en una raza de insectos de tolerar dosis de tóxicos que son letales para la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie. La FAO (1979) enmarca la resistencia, como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos, a no ser afectada por la aplicación de insecticidas.

Lagunes y Villanueva (1994) técnicamente definen a la resistencia como la habilidad complementaria y hereditaria propia de un individuo o conjunto de ellos, que los capacita fisiológica y etológicamente, para bloquear la acción tóxica de un insecticida por medio de mecanismos metabólicos y no metabólicos, y en consecuencia, sobrevivir a la exposición de dosis que para otros sería letal.

La resistencia de un producto químico puede ser el resultado de diferentes factores: disminución en la penetración, incremento en el almacenamiento o aumento de excreción o ambos, metabolismo alterado y sensibilidad alterada de posición. Todos o algunos de estos mecanismos pueden operar en el mismo organismo y ser responsable de la resistencia al insecticida. (Oppernoorton y Wellin, 1976)

Tipos de resistencia

Georghiou (1965) clasificó la resistencia en tres tipos: por comportamiento, morfológica y fisiológica.

Resistencia por comportamiento. Se refiere a los patrones de comportamiento que contribuyen a la resistencia, estos pueden ser hábitos tales como la preferencia a descansar en áreas no tratadas con insecticidas en lugar de áreas tratadas, o bien la detección del insecticida y la tendencia a evitarlo antes de ponerse en contacto con él (Carrillo, 1984).

Los ácaros se esconden bajo la telaraña en donde se alimentan y ovipositan, sirve también para dar protección contra factores climáticos adversos, enemigos naturales, acaricidas y puede marcar una especie de territorialidad contra individuos fitoparasitos de otras especies (Gerson, 1985) citado por Ramírez, 2004).

Si una población no emigra, adquiere más rápidamente resistencia, mientras que una población emigrante la adquiere lentamente, debido a que no está expuesta continuamente al insecticida (Soberanes, 1998) citado por Ramírez, 2004.

Resistencia morfológica. Se presenta cuando alguna característica morfológica ocasiona la resistencia, por ejemplo, una menor área de exposición al tóxico (Soberanes, 1998) citado por Ramírez, 2004.

Lagunes y Villanueva (1994) mencionan que se presenta cuando alguna característica morfológica ocasiona la resistencia. Barbera (1976) menciona como ejemplo cuando las estructuras cuticulares (pubescencia, ceras, etc.) no permiten que el toxico penetre el integumento del insecto.

La resistencia morfológica, también se conoce como 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.- Lagunes y Villanueva (1994) mencionan que es le tipo de resistencia más importante; los insectos adquieren resistencia de dos formas. Por adicción de un mecanismo de protección y por insensibilidad en el sitio de acción. Según McNally (1962) es el tipo de resistencia más importante; por su parte Perry (1956) indica que los principales factores fisiológicos que intervienen en este tipo de resistencia son:

1. Destoxificación enzimática.
2. Protección contra la inhibición de la fosforilación
3. Reducción de la permeabilidad de la cutícula

4. diferencias de la penetración y movimiento del toxico a partir del punto de contacto con el organismo
5. almacenamiento de los tóxicos en tejidos no sensitivos

En el desarrollo de la resistencia a algún producto toxico no necesariamente actúan al mismo tiempo todos los factores anteriores; dependerá de la especie del insecto y del toxico (McNally, 7962).

Resistencia de *T. urticae* a Acaricidas

El control de *T. urticae* a nivel mundial es realizado principalmente con acaricidas en consecuencia esta especie ha desarrollado resistencia a compuestos de diferentes grupos toxicológicos (Devine *et al.*, 2001).

La resistencia en ácaros fue primeramente observada en la arañita de dos manchas, al selenosulfito potásico de amonio por Compton y Kearns en 1937, citado por Luna (1993). Posteriormente a la introducción de acaricidas órganofosforados en 1947, paration y TEPP, con excelente control de ácaros, aunque posteriormente en 1949 se manifestó resistencia a estos acaricidas. Posteriormente para 1950, fueron reportados en Europa y Estados Unidos causando resistencia en ácaros en rosal

(Jeppson et al., 1975, citado por Georghiou y Saito, 1983). También se ha reportado la resistencia a Dicofol, tetradifon y otros (Croft y Van Der Bann, 1988).

Croft *et al.* (1984) encontró poblaciones resistentes de *Tetranychus urticae* en fresa en el este de los estados unidos a Fometonato de 117 veces y a Cyhexatin 17 veces a una concentración letal de 50%.

En 1984 Dennehy encontró poblaciones de *Tetranychus urticae* con habilidad para sobrevivir a altas concentraciones de Dicofol, en algodón del valle de San Joaquín California.

En 1957 fueron introducidos a Australia los acaricidas Dicofol y Tetradifon, y la resistencia a estos compuestos fue confirmado en 1968 (Unwin, 1973) en 1970 fueron introducidos a este país los compuestos organoestanosos para el control de *Tetranychus urticae*, que posteriormente se reportaron los primeros problemas de resistencia a estos compuestos (Edge y James, 1982).

Edge (1986) confirmó en pruebas de laboratorio de la resistencia de *Tetranychus urticae* a Cyhexatin en huertas de manzano y pera en Australia. Reporta también que Cyhexatin confiere una resistencia cruzada a Azociclotin y Oxido de fenbutatin.

Ferguson (1991) evaluó la resistencia cruzada positiva a Amitraz, Bromopropilato y Clorobenzilato. Una moderada resistencia negativa hacia

clorpirifos; y menciona que el mecanismo de resistencia a Dicofol parece ser el incremento de destoxificación metabólica.

Miller *et al.*, en (1985) menciona que se documentó la resistencia de *Tetranychus urticae* a Cyhexatin en fresa en el valle del Pájaro en California que significaba de 2.1 aplicaciones anuales en 1974 a 5.2 en 1979. En cuanto a fometoato comenta que en 1982 se documentó por primera vez un marcado incremento de la resistencia.

En Japón a mediados de 1990, se reporta que la eficacia de los acaricidas Fenpyroximate y pyridaben en el control de *Tetranychus urticae* comenzó a declinar, posteriormente la resistencia fue documentada (Goka, 1998).

En Corea se reporta la resistencia de *Tetranychus urticae* a los productos Abamectin, Acequinocyl, Bifenazate, Emamectin-Benzooate, Etoxazole, Milbemectin en cultivos de rosas de invernadero de las localidades de Buyo, Gumi, Gimhae (Lee *et al.*, 2003).

En México Estrada y Sánchez (1990) reportan a *T. urticae* resistente a los Acaricidas Clorobenzilato, Dicofol, Endosulfan, Oxidemeton Metilico, Ometoato, Ethion, Fosalone Y Propargite, en la región productora de clavel de Villa Guerrero del Estado de México

Métodos Para La Detección De La Resistencia

La resistencia se puede considerar como un proceso inevitable, debido a la presión de selección continua que se sigue ejerciendo con las aplicaciones de insecticidas (Brattsten, 1989)

Staezt, (1985) menciona que para el manejo de la resistencia a insecticidas y acaricidas es esencial el monitoreo de resistencia y que además se requiere de técnicas efectivas para detectarla en etapas tempranas de desarrollo. Este desafío debe despertar la conciencia de los investigadores, para estar preparados y dar un manejo eficiente, previniendo su desarrollo y en el peor de los casos encausando la resistencia a caminos desconocidos Lagunes y Villanueva (1994).

La resistencia a insecticidas es una consecuencia de cambios genéticos que alteran procesos bioquímicos cuantitativamente o cualitativamente. Dichos cambios ocurren a nivel individual, pero se hacen aparentes en toda una población de insectos cuando la proporción de resistencia sea tal que se refleje en una falla en el control (Devonshire, 1990).

Convencionalmente, se ha detectado la resistencia mediante pruebas de susceptibilidad a insecticidas, también llamados bioensayos. Los bioensayos se basan en pruebas de dosis-mortalidad, usualmente se realizan en laboratorio (Lagunes y Villanueva, 1994).

Banki (1978) señala al bioensayo como un procedimiento experimental en el que se pretende determinar la efectividad biológica de un plaguicida. Por su parte, Busvine (1971) menciona que el termino bioensayo, en el sentido amplio, cubre todos los experimentos en los que la potencia de un insecticida se mide con referencia de una colonia estandarizada de insectos, y agrega que el termino también cubre a aquellos casos en los que el insecto se usa como una herramienta para medir pequeñas cantidades de insecticida, sobre un substrato dado.

La definición de bioensayo esta influenciada por el campo del conocimiento al que se dedica el que hace la definición; en una de las descripciones mas amplias al respecto, Finney (1971) se refiere a el como el ensayo biológico, y lo define como la medición de la potencia de cualquier estimulo físico, químico, biológico, fisiológico o psicológico, por medio de las reacciones que este produce sobre la materia viva. Por su parte, Hubert (1980) lo consigna como un conjunto de procedimientos en el que se determina la cantidad o fuerza de un agente o estímulo mediante la respuesta de un sujeto.

Métodos Indirectos: Bioquímicos.- En el ensayo indirecto consiste en dar a grupos de organismos dosis estándar registrando las respuestas obtenidas en cada caso, en estos ensayos interesa el número de respuesta en cada nivel de dosis. En los bioensayos indirectos la respuesta puede ser de dos tipos: cuantitativa (susceptible de medición) o cualitativa (respuesta de todo o nada). De una manera simple puede decirse que el ensayo cualitativo es el tipo de experimento de mayor

empleo en toxicología, ya que involucra la determinación de la relación entre la dosis y el porcentaje de respuesta (Finney, 1971; Hubert, 1980).

Los métodos bioquímicos son indirectos, ya que correlacionan un alto nivel de una enzima o una reacción enzimática específica, con la resistencia comprobada de cierta colonia de insectos; pueden ser cualitativos o cuantitativos, generalistas o altamente específicos, según la metodología utilizada. Ya existen métodos específicos para diversas enzimas (Lagunes y Villanueva, 1994).

A continuación se exponen los métodos que se utilizan en la detección de resistencia.

- A. Colorimetría.
- B. Electroforesis.
- C. Técnicas Con Isótopos Radioactivos.
- D. Técnicas Inmunoenzimáticas

a) Colorimetría:- La colorimetría es utilizada para medir una concentración en una sustancia de interés. La medida usada comúnmente en estas pruebas es la absorbancia de la luz. La ley de las masas nos dice que si un soluto absorbe la luz en una longitud de onda en particular, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la sustancia en la solución. Un dispositivo llamado un espectrofotómetro se utiliza para medir y/o para registrar absorbancia en unidades

cuantificables. Así como la utilización de diferentes reactivos y un colorante que puedan marcar la diferencia en una determinada reacción (Stoscheck, 1990).

b) Electroforesis.- Mediante la electroforesis es posible separar moléculas biológicas en dependencia fundamentalmente de su carga bajo la influencia de un campo eléctrico. Se dio una visión general de la electroforesis en geles de poliacrilamida para proteínas en condiciones nativas o desnaturizadas, se incorporaron nuevos conocimientos tomados de la literatura reciente a los conceptos tradicionales de este método, como son la adición de compuestos de restricción de la difusión y que aumentan la estabilidad de los geles. Se ejemplificó el comportamiento anómalo de algunas proteínas en la determinación del peso molecular por electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturizadas (García, 2001).

c) isótopos radioactivos.- para medir la hidrólisis de los organofosforados, se utiliza un insecticida radiomarcado con el isótopo tritio (^3H) que se sintetiza comúnmente en los grupos etil- ^3H o metil- ^3H ; se pone en incubación con un homogenado de la muestra de insectos inmerso en un amortiguador de fosfatos, se desnaturizan las proteínas en ácido perclórico, se extrae la mezcla en cloroformo y se mide mediante un contador de centelleo líquido (Devonshire, 1977; Devonshire y Sawicki, 1979).

d) Técnicas inmunoenzimáticas

Las técnicas inmunoenzimáticas tienen varias ventajas con respecto a los métodos anteriores: alta especificidad para la molécula a detectar, reacción calorimétrica fácilmente cuantificable, sin correcciones por peso del insecto y un aumento considerable en la cantidad de muestras procesables por día (Lagunes y Villanueva, 1994).

El análisis de inmunoabsorbencia ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) es un método poderoso para detectar una proteína expresada por un transgén. Utiliza anticuerpos que reaccionan específicamente con el producto proteico del transgén, y aunque se lleva a cabo en el laboratorio, puede adaptarse para uso en el campo sin una gran cantidad de equipo las tiras de ELISA, que funcionan según los mismos fundamentos que el análisis de laboratorio, están disponibles comercialmente. Los investigadores pueden efectuar análisis de detección de proteínas en el campo a un costo moderado (Rebosán, 2004)

Un inmunoensayo utiliza inmunoglobulina específica (IgG) para la molécula a identificar; la IgG se produce al inyectar al torrente sanguíneo de un mamífero (regularmente conejos), la molécula de interés (antígeno) altamente purificada, para que su sistema inmunológico lo trate de repeler mediante la producción de anticuerpos, los cuales se extraen de la sangre y constituyen la inmunoglobulina específica (IgG).

En la inmunodifusión en agar, se utilizan cajas de petri preparadas con gel de agar, se elabora un pozo de aproximadamente cinco milímetros de profundidad al

centro y otros seis alrededor, equidistantes; en el centro se coloca el antisuero, formando una banda anillada en la zona intermedia entre el homogenado positivo y el pozo central (Devonshire, *et al.*, 1986).

El ensayo de inmunoabsorbencia con enzimas conjugadas (ELISA) no es práctico, ya que la esterasa E4 retiene su actividad enzimática al estar unida con la IgG; por tanto, es mejor usar técnicas menos complicadas.

El ensayo en inmunoplaaca se basa en la adsorción de la IgG en las paredes de poliestireno de una inmunoplaaca y en la unión selectiva de la IgG con la enzima E4, a partir de un homogenato crudo del cuerpo de una insecto, y de esta manera la cantidad de esterasa se observa por el cambio de color logrado con el azul rápido B.

Con la inmunoplaaca de microtitulación de 96 pozos y un homogenizador múltiple que agita simultáneamente a los 96 pozos, se logran procesar 1000 áfidos día⁻¹ (Devonshire *et al.*, 1986) citado por lagunes y Villanueva, (1994),

Cuantificación de proteína

La determinación y cuantificación de proteína contenida en tejidos y fluidos puede ser usada como referencia para cuantificar diversos componentes en el sistema biológico (Lee *et al.*, 2003).

Al respecto Mourya *et al.* (2002), trabajando con la porción cefálica del mosquito *Aedes aegypti*, identificaron mutantes en relación al color de ojos de una población, mediante métodos espectrofotométricos y de cuantificación de proteína.

Arilla *et al.* (2002), reportan que los alergénicos del grupo 1 y 5 que más afectan a los humanos y los cuales son producidos por las plantas gramíneas del tipo de *Dactylis glomerata*, se pueden cuantificar en base al contenido de proteína del polen.

Otro aspecto importante en relación a las diferencias de proteína entre líneas susceptibles y las provenientes de campo, esta en relación a la presión de selección por medio de plaguicidas; por lo que, no se descarta la posibilidad de que presenten variantes genéticas en cuanto al peso y tamaño por desarrollar mecanismos de resistencia. Al respecto Georghiou y Taylor (1977) citan que la evolución de la resistencia en poblaciones de campo esta dada por factores genéticos, biológicos y de manejo; afectando ciclos biológicos, reproductivos, así como peso y tamaño de los individuos.

De este mismo modo Charoenviriyaphap *et al.* (2003) reportan para una línea susceptible del mosquito *A. minimus* un decremento en el contenido de proteína a medida que esta colonia de mosquitos estuvo sujeta a presión de selección con deltametrina.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del experimento.

La presente investigación se llevo acabo en el Departamento de Parasitología, Agrícola, en el laboratorio de acarologia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Material biológico.

El material biológico utilizado para este estudio fueron dos líneas de *T. urticae*. La primera fue una línea susceptible obtenida de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; La cual se mantuvo bajo presión de selección cada 15 días con el producto Fenpiroximate, hasta llegar a los 45 días, esto con la finalidad de observar las diferencias en cuanto a las lineas de respuesta y el contenido de proteína. El sustrato utilizado para el desarrollo de esta colonia fueron plantas de frijol las cuales se mantuvieron en una de las cámaras bioclimaticas del departamento de parasitología, bajo condiciones controladas, a una temperatura de $25 \pm 2^{\circ}$ C y humedad relativa entre 60–70%, con luz permanente a través de bulbos fluorescentes.

La segunda línea utilizada de *T. urticae*, fue colectada en invernaderos con plantas de rosal en Villa Guerrero Estado de México, esta línea fue trasladada a la

Universidad, en donde se mantuvieron durante 45 días sin presión de selección, esto con la finalidad de observar las diferencias en cuanto a las líneas de respuesta y el contenido de proteína. Esta línea se mantuvo en una cámara bioclimática del departamento de parasitología, manteniendo la población sobre el sustrato y las condiciones climáticas similares a la línea susceptible.

Bioensayos

El método de bioensayo empleado en el desarrollo de la investigación fue el de inmersión en hoja (FAO, 1974).

Los bioensayos constaron de seis tratamientos para la línea de campo y cinco tratamientos para la línea susceptible, así como de un testigo, con tres repeticiones, donde cada foliolo representa una repetición, para ambas líneas respectivamente.

Se seleccionaron tres foliolos de frijol con un mínimo de 20 ácaros adultos hembra por foliolo a los cuales se les corto el borde y se contabilizaron las hembras contenidas en estos, con el apoyo de un microscopio de disección, para después sumergirlos por cinco segundos en las diferentes dosis, para la realización de las concentraciones, se partió de una solución madre usando agua como solvente.

Después de tratar dichos foliolos se colocaron en papel absorbente para quitar el exceso de humedad y posteriormente colocarlos en charolas de plástico que contenían una esponja saturada de agua para evitar el escape de los ácaros.

Criterio de muerte

Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 horas después de la aplicación. Se tomó como criterio de muerte a los ácaros que no presentaron movimiento (inmovilidad total) al ser estimularlos con un cabello fino (pincel) o que no se desplazaron más allá del tamaño de su cuerpo.

En los tratamientos en donde el testigo presento mortalidad, esta fue corregida mediante la formula propuesta por abbott (1925).

$$\% \text{ Mort. Corr.} = \left(\frac{\% \text{ Mort. trat.} - \% \text{ Mort. testigo}}{100 - \% \text{ Mort. testigo}} \right) \times 100$$

Donde: % mort.corr.= mortalidad corregida (%)

% mort.trat. = mortalidad en el tratamiento (%)

% mort.testigo = mortalidad en el testigo (%)

Recomendando descartar los resultados de un bioensayo cuando la mortalidad en el tratamiento testigo rebase el 15%.

Análisis estadístico.

Los resultados fueron analizados con el programa PC Probit, obteniendo la CL₅₀, CL₉₅, líneas de respuesta Dosis-mortalidad, ecuaciones de predicción y limites fiduciales.

Cuantificación de proteína

Equipo y material de laboratorio.- Para la cuantificación de proteína se realizó por colorimetría, a través del Kit-II de Bio-Rad (Azul Brillante de Comassie G-250 como colorante), la Albúmina Serica Bobina (BSA) como proteína de referencia. Las lecturas de absorbancia se realizaron mediante un lector de microplacas Stat-Fax 2100 (Awareness Technology, Palm City, Florida); así como la utilización de pipetas multicanales Rainin (Rainin Instrument Co. Inc., Emeryville, California) y microplacas de 96 posos de fondo plano (Bio-Rad México).

Obtención de la curva estándar.- Se utilizó la BSA como proteína de referencia para la formación de una curva estándar. Para trazar la curva de referencia se utilizaron cinco concentraciones de BSA que variaron de 0.005 a 0.7 mg/mL de proteína, según el rango lineal.

Preparación de los homogenatos.- Obtenida la curva de referencia con SBA, se procedió a correr las pruebas con la arañita de dos manchas, para la preparación de los homogenatos se utilizó el diluyente buffer fosfato de potasio.

Estos homogenatos consistieron en una concentración de 30 ácaros, cada una con 10 repeticiones. Cada repetición se colocó en tubos Eppendorf de 1.5 mL agregándole 100 μ L del solvente (buffer o agua) y triturándolos con un homogenizador de tejidos, se aforó a 1 mL con la adición de 900 μ L diluyente.

Cuantificación de proteína por el método de Brogdon (1984).- El cual consiste en colocar 20 μL de BSA o del homogenato, se colocó por triplicado en la placa, se le agregó 80 μL de buffer de fosfato, así como 200 μL de colorante diluido (1:4 colorante: agua), mezclándose la suspensión a 120 vibraciones / minuto y la lectura a T_0 con filtro de 630 nm.

Análisis de los resultados.- Los resultados obtenidos de la cuantificación de proteína, se analizaron mediante un análisis estadístico completamente al azar y se compararon las medias por el método de Tukey, utilizando el paquete estadístico de la Universidad de Nuevo león.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados de cada una de las líneas utilizadas para cada bioensayo realizado en el presente estudio, con la siguiente secuencia. Valores de la CL_{50} , CL_{95} , así como la presentación de sus límites fiduciales y la pendiente, para cada línea empleada. Esto con la finalidad de tener una secuencia más lógica, en la interpretación y discusión de los resultados obtenidos en este estudio. Cabe señalar que los resultados de los bioensayos aparecen en el apéndice.

PRIMER MUESTREO: Determinación de CL_{50} ; Línea Susceptible Y Campo

Dosis letal media

La CL_{50} se determinó para ambas líneas expuestas a fenpyroximate, realizando las observaciones de mortalidad a las 24 horas. A continuación en el cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos de ambas líneas. Como se puede observar la CL_{50} de la línea susceptible fue de 65.14 ppm y la de campo fue de 724.01 ppm, observando que la diferencia en relación a la dosis es muy marcada. Sato *et al.* (2004) donde trabajaron con resistencia cruzada y estabilidad del producto fenpyroximate en la especie *T. urticae*, mencionando una CL_{50} de 3.74 ppm, la cual es diferente a la reportada en esta investigación.

CUADRO 1. Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente de diferentes líneas de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch. A las 24 horas de exposición al producto fenpyroximate.

MUESTREO 1					
Línea	n	Ppm			pendiente
		CL₅₀	Límites fiduciales 95%	CL₉₅	
Susceptible	321	65.14	(58.7393-75.7055)	299.68	1.809±2.636
Campo	405	724.01	(684.7664-762.7128)	1538.42	2.860±3.315

n: Número de hembras adultas de *T. urticae*,

Valores de X^2 , r^2 , y grados de libertad.

En el cuadro 2 se presentan los coeficientes de correlación (r^2) para líneas de regresión concentración–mortalidad de la línea de susceptible y de campo a las 24 horas, donde se puede observar que los valores estimados son de 0.9964 y 0.9930, para la línea susceptible y de campo respectivamente.

Los valores de la ji-cuadrada (X^2) obtenidos en este muestreo representan una probabilidad de 99 %.

CUADRO 2. Coeficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de *T. urticae*. Expuestas 24 horas al producto fenpyroximate.

MUESTREO 1				
Línea	g.l.	r²	X²	Probabilidad
Susceptible	3	0.996431965	0.4636	0.114832
Campo	4	0.993057642	0.1450	0.297110

g.l.: Grados de libertad, r²: Coeficiente de determinación y X²: ji cuadrada.

Líneas de respuesta concentración–mortalidad y límites fiduciales

En la figura 1 se expone la línea de respuesta concentración-mortalidad, para la línea susceptible y resistente a las 24 horas de exposición a fenpyroximate; en relación a la recta que corresponde a la línea susceptible a las 24 horas. Donde se puede observar una CL₅₀ de 65.14 ppm y CL₉₅ de 299.68 ppm para la línea susceptible, mientras que la recta para la línea de campo se obtuvo una CL₅₀ de 724.01 ppm y una CL₉₅ 1538.42 por lo anterior se concluye que en base a la respuesta de las líneas concentración-mortalidad; para la línea susceptible, la población de ácaros tiene una tendencia mas homogénea que la obtenida para la línea de campo. (Lagunes y Villanueva, 1994) menciona que a mayor pendiente, mas homogeneidad y a menor pendiente, mas heterogeneidad.

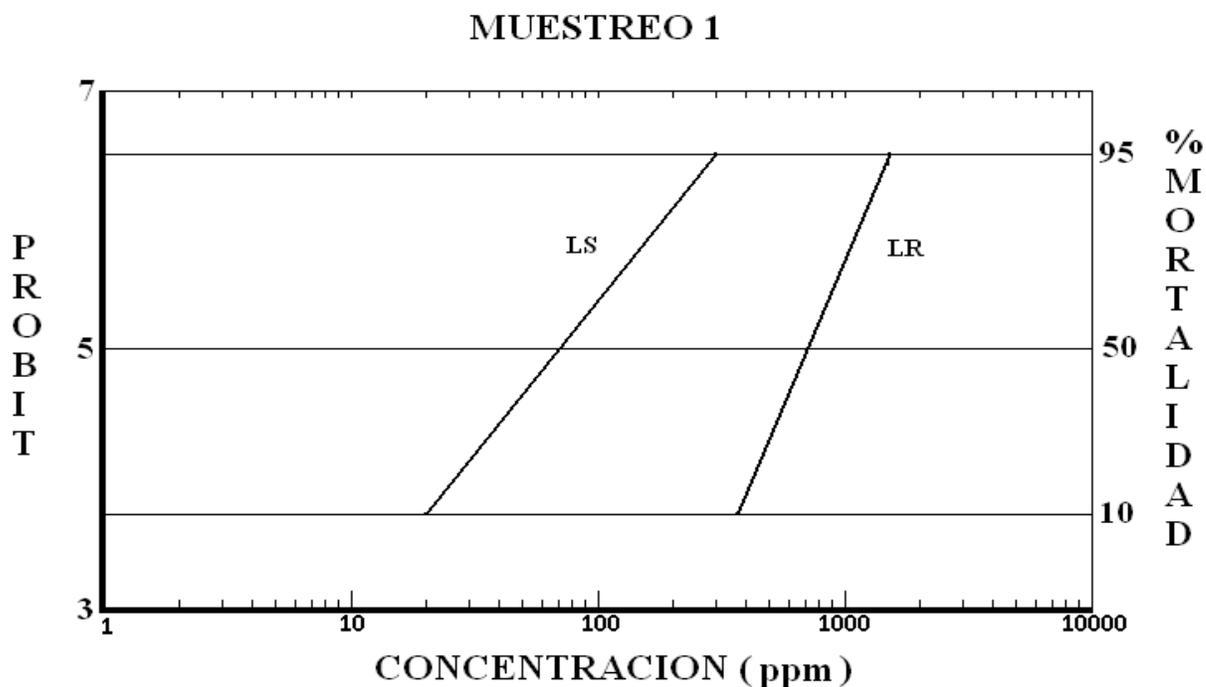


FIGURA 1. Líneas de respuesta concentración–mortalidad, de Fenpyroximate sobre la línea susceptible y de campo de *T. urticae* a las 24 horas.

SEGUNDO MUESTREO: Determinación de CL_{50} de Línea Susceptible (Bajo presión de selección) Y línea de Campo (Sin presión de selección) a 15 días del primer muestreo

Concentración letal media

A continuación se detallan los resultados con respecto a la CL_{50} de la línea susceptible bajo presión de selección con el producto fenpyroximate a los 15 días después de la primera aplicación. En el cuadro 3 se muestran los resultados, se obtuvo una CL_{50} de 77.90 y 651.20 ppm para la línea susceptible y de campo respectivamente.

CUADRO 3. Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente para la línea susceptible (Bajo presión de selección) y de la línea de campo (Sin presión de

selección) de hembras adultas de *T. urticae*. Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 15 días del primer muestreo.

MUESTREO 2					
Línea	n	Ppm			pendiente
		CL ₅₀	Límites fiduciales 95%	CL ₉₅	
Susceptible	300	77.90	(73.1174-82.7640)	183.25	1.889±2.694
Campo	443	651.20	(618.0420-675.3844)	1094.89	2.860±3.315

n: Número de hembras adultas de *T. urticae*,

Valores de X^2 , r^2 , grados de libertad.

En el cuadro 4 se representan los coeficientes de correlación (r^2) para líneas de regresión concentración-mortalidad para la línea de susceptible y de campo donde se pueden observar que los valores estimados 0.9997 y 0.9993 para susceptible y campo respectivamente, los valores de correlación para los dos productos se consideran altos, tendiendo a una recta bien definida. En cuanto a la probabilidad de ocurrencia los valores de la ji-cuadrada son bajos en comparación con los valores de tabla, por lo que se consideran confiables con una buena línea de regresión.

CUADRO 4. Coeficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de *T. urticae* a 15 días del primer muestreo.

MUESTREO 2				
Línea	g.l.	r²	X²	Probabilidad
Susceptible	3	0.999790412	0.0369	0.114832
Campo	4	0.999381085	0.6732	0.297110

g.l.: Grados de libertad, r²: Coeficiente de determinación y X²: ji cuadrada.

Líneas de respuesta concentración-mortalidad y límites fiduciales.

En la figura 2 se expone la línea de respuesta concentración-mortalidad, las ecuaciones de predicción, para la línea susceptible y de campo, así como una representación gráfica; en referencia a la recta correspondiente 15 días después del primer muestreo se obtuvo una CL₅₀ de 77.90 ppm y CL₉₅ de 183.25 ppm para la línea susceptible y en la recta que respecta a la línea de campo se obtuvo una CL₅₀ de 651.20 ppm y CL₉₅ de 1094.89 ppm. Esto indica que en base a la respuesta de las líneas concentración-mortalidad, en ambos casos la población de ácaros tiene una tendencia heterogénea en respuesta al tiempo de exposición al toxico.

Por otro lado, los resultados obtenidos de la exposición a los 15 días, nos muestra que son estadísticamente diferentes debido a que no presentan traslape entre ellos. y existe un aumento de DL₅₀ en la línea susceptible , y una disminución en la Cl₅₀ de la línea de campo.

MUESTREO 2

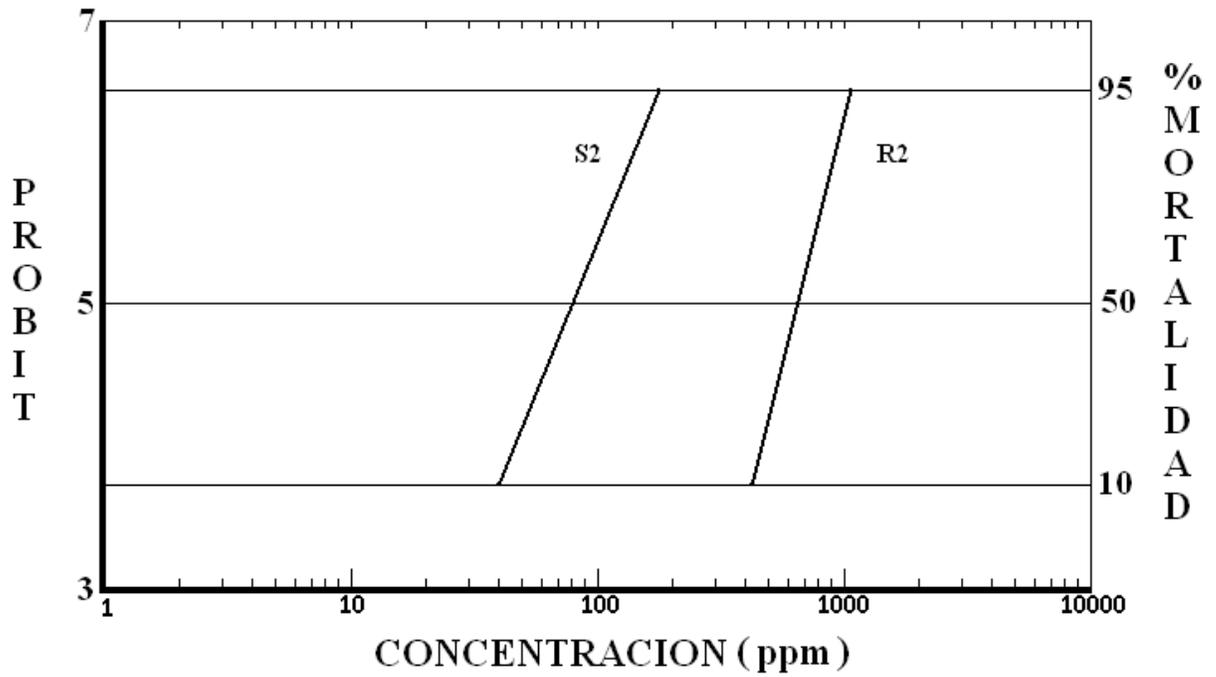


FIGURA 2. Líneas de respuesta concentración–mortalidad, de Fenpyroximate sobre la línea susceptible (Bajo presión de selección) y una línea de campo (Sin presión de selección) a 15 días del primer muestreo.

TERCER MUESTREO: Determinación de CL₅₀ de Línea Susceptible (Bajo presión de selección) Y línea de Campo (Sin presión de selección) a 30 días del primer muestreo

Concentración letal media

Los resultados con respecto a la CL₅₀ de las líneas analizadas en este estudio. En el cuadro 5 se muestran los resultados, obteniéndose una CL₅₀ de 96.20 y 586.15 ppm para la línea susceptible y de campo respectivamente.

CUADRO 5. Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente para la línea susceptible (Bajo presión de selección) y de la línea de campo (Sin presión de selección) de hembras adultas de *T. urticae*. Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 30 días del primer muestreo.

MUESTREO 3					
Línea	n	Ppm			pendiente
		CL₅₀	Límites fiduciales 95%	CL₉₅	
Susceptible	297	96.20	(91.4432-102.8660)	199.94	1.982±2.759
Campo	427	586.15	(561.1974-607.6687)	1035.69	2.766±3.260

n: Número de hembras adultas de *T. urticae*,

Valores de X², r², grados de libertad.

En el cuadro 6 se representan los coeficientes de correlación (r^2) para líneas de regresión concentración-mortalidad para la línea de susceptible y de campo donde se pueden observar que los valores estimados son de 0.9989 y 0.9977 para susceptible y campo respectivamente, los valores de correlación para los dos productos se consideran altos, tendiendo a una recta bien definida y por consiguiente un análisis confiable.

CUADRO 6. Coeficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de *T. urticae* a 30 días del primer muestreo.

MUESTREO 3				
Línea	g.l.	r^2	X^2	Probabilidad
Susceptible	3	0.998908475	0.0957	0.114832
Campo	4	0.997755312	0.6047	0.297110

g.l.: Grados de libertad, r^2 : Coeficiente de determinación y X^2 : ji cuadrada.

Líneas de respuesta concentración-mortalidad y límites fiduciales.

En la figura 3 se expone la línea de respuesta concentración-mortalidad, para la línea susceptible y de campo a los 30 días después del primer muestreo, en las cuales se obtuvo una CL_{50} de 96.20 ppm y CL_{95} de 199.94 ppm para la línea susceptible y en la recta que respecta a la línea de campo se obtuvo una CL_{50} de 586.15 ppm y CL_{95} de 1035.69 ppm. Esto indica que

en ambos casos la población de ácaros tiene una tendencia heterogénea, esto en base a la respuesta de las líneas concentración-mortalidad.

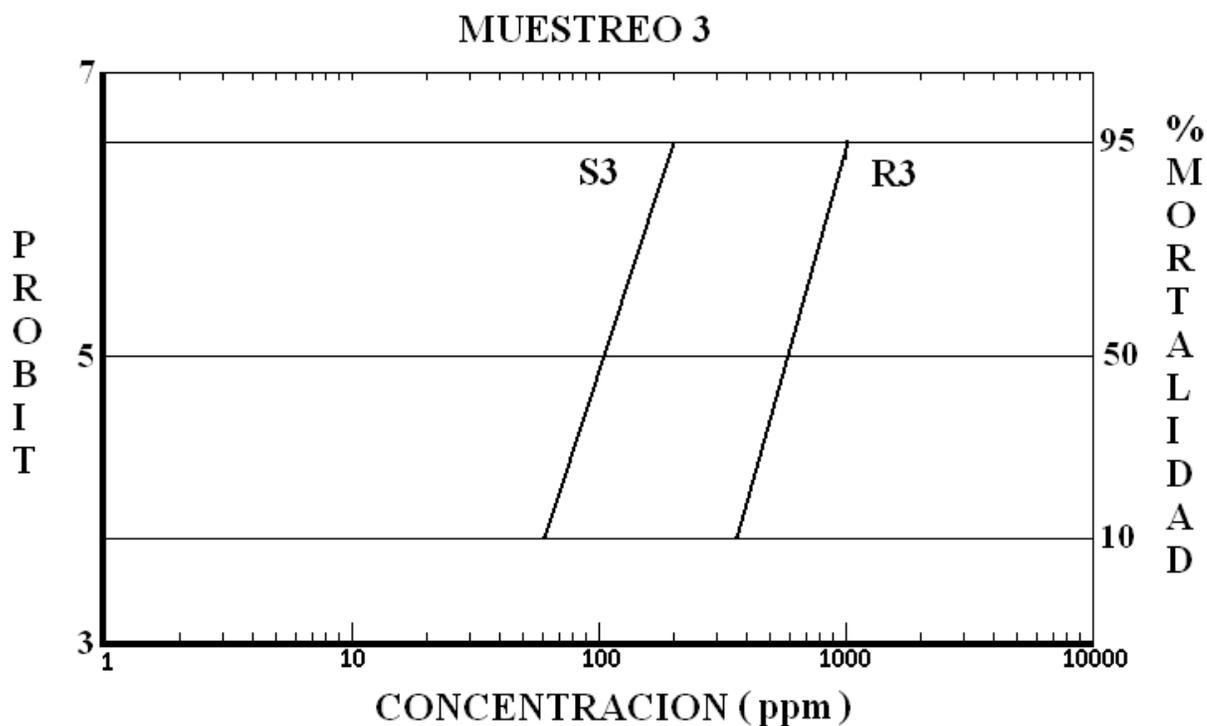


FIGURA 3. Líneas de respuesta concentración–mortalidad, de Fenpyroximate sobre la línea susceptible (Bajo presión de selección) y una línea de campo (Sin presión de selección) a 30 días del primer muestreo.

CUARTO MUESTREO: Determinación de CL_{50} de Línea Susceptible (Bajo presión de selección) Y línea de Campo (Sin presión de selección) a 45 días del primer muestreo

Concentración letal media

Los resultados con respecto a la CL_{50} de la línea susceptible bajo presión de selección con el producto fenpyroximate a los 45 días a partir de la primera aplicación, en el cuadro 7 se muestra el resultado que fue una CL_{50} de 113.47 ppm, mientras que para la línea de campo fue de 520.72 ppm.

CUADRO 7. Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente para la línea susceptible (Bajo presión de selección) y de la línea de campo (Sin presión de selección) de hembras adultas de *T. urticae*. Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 45 días del primer muestreo.

MUESTREO 4					
Línea	n	Ppm			pendiente
		CL_{50}	Límites fiduciales 95%	CL_{95}	
Susceptible	314	113.47	(107.6202-121.4108)	246.16	2.054 \pm 2.809
Campo	412	520.72	(497.4850-540.0144)	900.91	2.715 \pm 3.230

n: Número de hembras adultas de *T. urticae*,

Valores de X^2 , r^2 , grados de libertad.

En el cuadro 8 se representan los coeficientes de correlación (r^2) para líneas de regresión concentración-mortalidad para las líneas analizadas en este estudio, a

los 45 días después del primer muestreo. En este se pueden observar que los valores estimados 0.9973 y 0.9960 para susceptible y campo respectivamente.

Cuadro 8. Coeficiente de correlación, ji-cuadrada, grados de libertad y probabilidad de las líneas de regresión concentración-mortalidad estimadas para las diferentes líneas de hembras adultas de *T. urticae* a 45 días del primer muestreo.

MUESTREO 4				
Línea	g.l.	r²	X²	Probabilidad
Susceptible	3	0.997347089	0.1243	0.114832
Campo	4	0.996087213	0.8417	0.297110

g.l.: Grados de libertad, r²: Coeficiente de determinación y X²: ji cuadrada.

Líneas de respuesta concentración-mortalidad y límites fiduciales.

En la figura 4 se expone la línea de respuesta concentración-mortalidad, para la línea susceptible y de campo a los 45 días después del primer muestreo. En referencia a la recta se obtuvo una CL₅₀ de 113.47 ppm y CL₉₅ de 246.16 ppm para la línea susceptible y en la recta que respecta a la línea de campo se obtuvo una CL₅₀ de 520.72 ppm y CL₉₅ de 900.91 ppm. Esto nos indica que en base a la respuesta de las líneas concentración-mortalidad, en ambos casos la población de ácaros tiene una tendencia heterogénea. Lo cual nos dice que son estadísticamente diferentes, además no existe traslape entre las líneas dosis-mortalidad.

MUESTREO 4

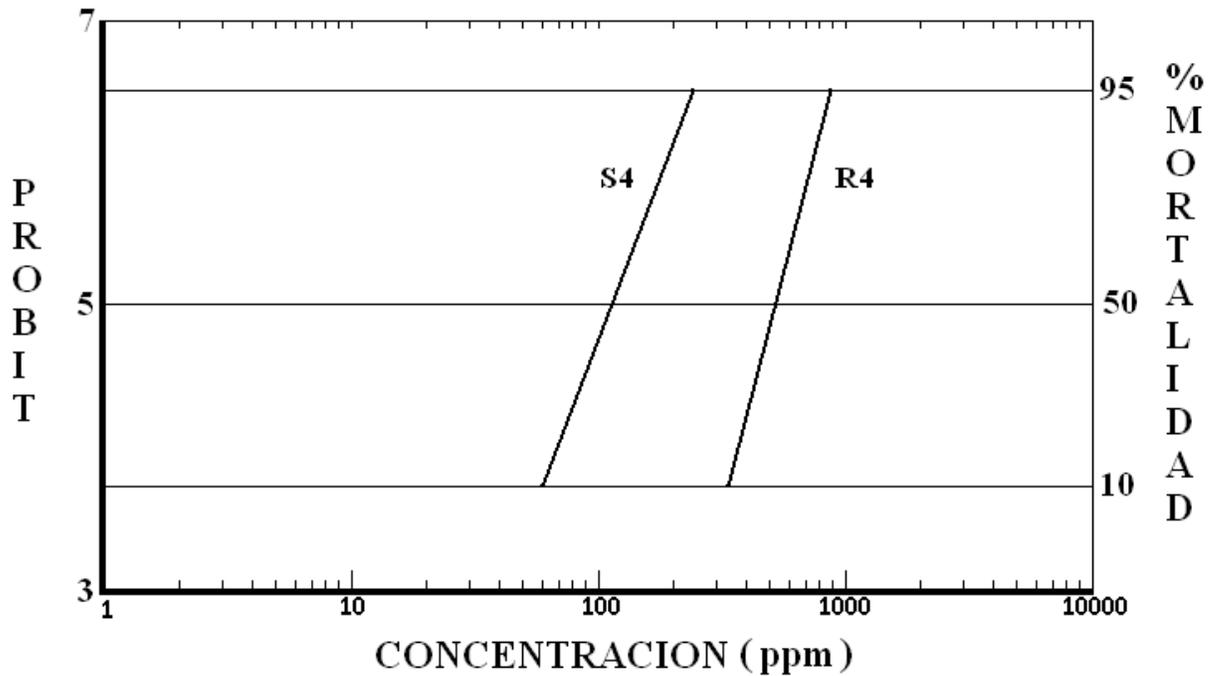


FIGURA 4. Líneas de respuesta concentración–mortalidad de Fenpyroximate sobre la línea susceptible (Bajo presión de selección) y una línea de campo (Sin presión de selección) a 45 días del primer muestreo.

Con la finalidad de poder comparar los resultados de la CL_{50} de cada uno de los cuatro muestreos en donde fue sometida la línea susceptible a presión de selección con el producto Fenpyroximate. Como se puede observar, en el cuadro 9, se muestra muy claramente el incremento en la cantidad de partes por millón, en donde el primer muestreo presenta una CL_{50} de 65.14 ppm hasta 113.47 ppm para el muestreo 4. Por lo que podemos mencionar que la tolerancia a este producto se puede incrementar hasta 1.7419.

CUADRO 9. Comparación de la CL_{50} de una línea susceptible a través de cuatro muestreos bajo presión de selección.

65.14	77.90	96.20	113.47
-------	-------	-------	--------

65.14	1	1.1959	1.4768	1.7419
77.90	0.8362	1	1.2349	1.4566
96.20	0.6771	0.8098	1	1.1795
113.47	0.5741	0.6865	0.8478	1

Por otro lado al analizar la línea de campo, dejando esta por 60 días sin presión de selección encontramos un decremento considerable en 0.7192 X, para el muestreo 4. Sin embargo expresada en términos de porcentaje encontramos apenas 28.18% de decremento en la tolerancia a Fenpyroximate.

CUADRO 10. Comparación de la CL₅₀ de una línea de campo a través de cuatro muestreos bajo presión de selección.

	724.01	651.20	586.15	520.72
724.01	1	0.8994	0.8096	0.7192
651.20	1.1118	1	0.9001	0.7996
586.15	1.2352	1.1110	1	0.8884
520.72	1.3904	1.2506	1.1257	1

Cuantificación De Proteína

Obtención de la curva estándar.- Recordando que se utilizó la BSA como proteína de referencia para la formación de la curva estándar y para trazar esta se

utilizaron cinco concentraciones de BSA que variaron de 0.005 a 0.7 mg/mL de proteína, según el rango lineal. Como se puede observar en la figura 5 los rangos lineales se muestran de 0.01 a 0.7 mg/ml proteína, por lo que esta dentro del rango establecido por el autor.

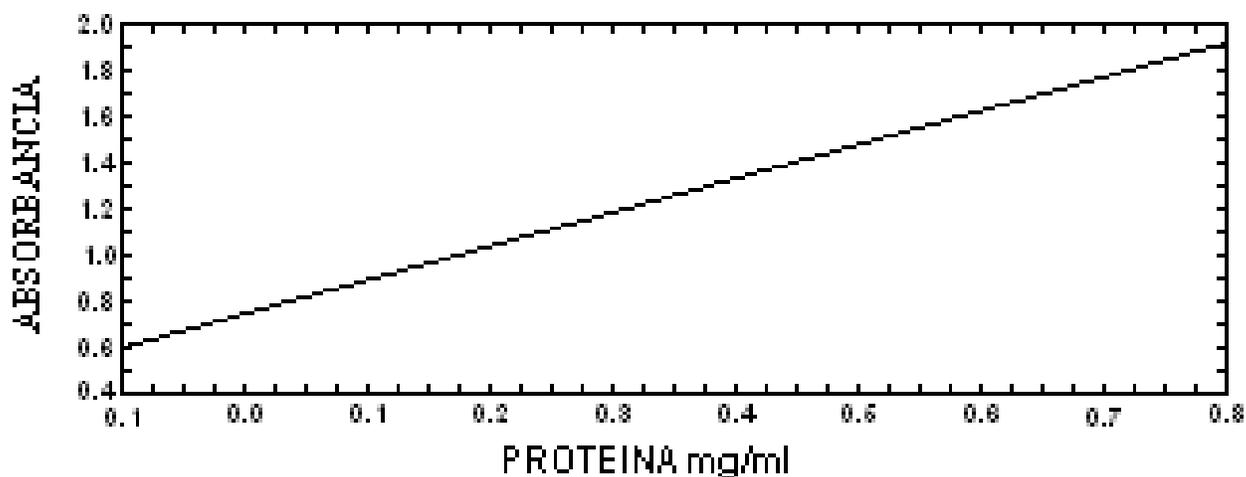


FIGURA 5. Curva estándar para la cuantificación de proteína por el método de Brogdon.

Cuantificación de la proteína

Una vez que se estableció la curva estándar de referencia se procedió a la cuantificación de proteína de los homogenatos de *T. urticae*, como se menciona anteriormente estos homogenatos consistían de 30 ácaros. Se procedió a transformar el valor de la absorbancia (Valores obtenidos se muestran en el apéndice) a contenido de proteína. Utilizando para ello la curva de referencia de la BSA.

En el cuadro 11 se muestran los valores del contenido de proteína para las dos líneas (Susceptible y de campo) así como los diferentes muestreos. Pudiendo observar que los datos

obtenidos son muy similares, Siendo el valor mas chico de 1.5173 y el mas grande de 1.8771 mg/mL de proteína, presentando una diferencia en términos de porcentaje del 19.16%.

CUADRO 11. concentraciones de proteína para la línea susceptible y de campo en los diferentes muestreos.

LÍNEA SUSCEPTIBLE										
Número De Muestra										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Muestreo										
1	1.5338	1.5173	1.5523	1.5543	1.5687	1.5893	1.6057	1.5728	1.7312	1.6551
muestreo										
2	1.7640	1.6222	1.7188	1.7229	1.8730	1.6736	1.7723	1.7558	1.8607	1.8771
Muestreo										
3	1.6098	1.6160	1.6160	1.7435	1.6489	1.6448	1.7065	1.7394	1.6489	1.5872
muestreo										
4	1.6962	1.6366	1.6469	1.6571	1.7312	1.7003	1.6900	1.6736	1.6571	1.7805
LÍNEA DE CAMPO										
Número De Muestra										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Muestreo										
1	1.7085	1.6489	1.6880	1.6839	1.7065	1.6489	1.7250	1.7250	1.6900	1.6859
muestreo										
2	1.7373	1.6633	1.7353	1.6366	1.7065	1.7003	1.6489	1.6798	1.6839	1.6530
Muestreo										
	1.6818	1.6736	1.6201	1.6571	1.7188	1.6859	1.7085	1.6571	1.7969	1.7846

3										
muestreo										
4	1.6818	1.6736	1.6201	1.6571	1.7188	1.6859	1.7085	1.6571	1.7969	1.7846

ANVA del contenido de proteína

En base a los resultados del contenido de proteína (Cuadro 11) se realizó un ANVA completamente al azar, donde los tratamientos del 1 al 4 correspondían a la línea susceptible; mientras que los tratamientos del 5 al 8 correspondían a la línea de campo.

A continuación podemos ver que existe diferencia estadística entre los tratamientos, encontrando una F calculada, superior a la tabulada.

CUADRO 12. Análisis de varianza para la cuantificación de proteína de una línea susceptible y otra de campo para cuatro fechas de muestreo.

ANALISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	7	0.166290	0.023756	8.7205	0.000
ERROR	72	0.196136	0.002724		
TOTAL	79	0.362427			

C.V. = 3.11 %

En relación a la comparación de medias podemos observar que en términos generales la línea de campo mostró resultados estables (Cuadro 13), mientras que para la línea susceptible los resultados fueron un tanto heterogéneos, ya que dentro de esta línea encontramos al tratamiento con el contenido de proteína mas alto, sin embargo también podemos encontrar al tratamiento con el contenido de proteína mas bajo.

CUADRO 13. Comparación de medias por la prueba de Tukey

TRATAMIENTO	MEDIA
2	1.7640 A
7	1.6985 B
5	1.6911 B
4	1.6869 B
6	1.6845 B
8	1.6779 BC
3	1.6561 C
1	1.5881 D

Por lo anterior podemos mencionar que el contenido de proteína no se ve afectado por factores extrínsecos a la fisiología del acaro, como la posible tolerancia o susceptibilidad hacia los plaguicidas.

CONCLUSIONES

En base a los resultados de las comparaciones de la CL_{50} de las líneas susceptible y de campo a través de los cuatro muestreos realizados se concluye que:

- 1.- La línea susceptible utilizada en este estudio al ser sometida bajo presión de selección incrementa su CL_{50} 1.74X.
- 2.- Para la línea de campo utilizada en este estudio, al ser mantenida durante un periodo de 60 días sin presión de selección, su CL_{50} disminuye en 0.71X.
- 3.- En lo referente al contenido de proteína la línea susceptible el contenido de proteína es más heterogéneo ya que se encontró los valores mas altos, pero también los mas bajos.
- 4.- En lo referente al contenido de proteína la línea de campo, en términos generales es mas estable que la línea susceptible.
- 5.- Por lo anterior podemos mencionar que el contenido de proteína no se ve afectado por factores extrínsecos a la fisiología del acaro, como la posible tolerancia o susceptibilidad hacia los plaguicidas a este intervalo de tiempo (45 días).

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925, A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18:265-267.
- Arilla M.C., Ibarrola I., Eraso E., Martínez A. y Asturias J. A. 2002. Inmunoensayo para la cuantificación de Dac g 1 en extractos de polen. *Alergol. Inmunol. Clin.* 17: 231-237
- Badii, H. M., Flores, E. A., Galán, W.L. 2000. Fundamentos y perspectivas del Control Biológico. Universidad Autónoma de Nuevo Leon. P 462.
- Bánki, L 1978. Bioassay of pesticidas in the laboratory; Research and Quality control. *Académiai Kiadó. Budapest, Hungary.* p 475.
- Barbera, C. 1976. Pesticidas Agrícolas. 3ª.Edición. Edit. Omega. Barcelona, España. Pp 43-45.
- Brattsten L. B. 1989. Insecticide resistance: Research and management: *Pestic. Sci.* 26: 329-332.
- Brattsten L. B, Holyoke C. V, Leeper J. R, Raffa K. F. 1986. Insecticide resistance: challenge to pest management and Basic Research. *Science.* 2:1255-1260.
- Bravo, M. H., Gonzáles, H. H., López, C. J. 1989. Plagas De Frutales En México. Ed. Montecillo. Colegio De Postgraduados. Pp 14-16.
- Brogdon W. G. 1984a. Mosquito protein microassay-I, protein determination from small portions of single-mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 79B: 457-460.

- Brown, A.W.A and R. Pal. 1941. Insect Resistance in Arthropods. World Health Organization. Ginebra, Suiza.
- Burges, H. D. and N. W. Husey. 1971. Microbial control of insects and mites. Academic Press. London. p 861.
- Busvine, J. R 1971. A Critical Review of the Techniques for testing insecticides. 2nd. ed. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. p 345.
- Calza, R.; E.A. Bulisani y S. Miyasaka. 1971. Efecto de algunos acaricidas sobre el ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Bragatia 30:1X-X
- Carrillo, R. H. 1984. Análisis de acción conjunta de insecticidas en larvas del gusano cogollero del maíz (J.E. Smith) (Lepidóptera: Noctuide) Tesis de maestría en ciencias. Centro de entomología y acarología. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México, Pp 82.
- Chareonviriyaphap T., Rongnoparut P., Chantarumporn P. y Bangs M. J. 2003. Biochemical detection of pyrethroid resistance mechanisms in *Anopheles minimus* in Thailand. Journal of Vector Ecology. Pp 108-116.
- Croft, B. A., R. W. Miller, R. D. Nelson and P. H. Westigard. 1984. inheritance of early-stage resistance to formentanate and cyhexatin in *Tetranychus urticae* Koch. (Acarina: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 77: 574-578.
- Croft, B. A. and H. E. Van de Baan. 1988. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mite. Exp. Appl. Acarol. 4: 277-300.
- Crooker, A. 1985. Embryonic and juvenile development. In: Helle & Sabelis (Ed.) World crop pests - Spider mites. Their biology, natural enemies and control. Vol. I B. Elsevier - Amsterdão, Pp 149-163.

- Cruz, M. P. 1984 Ácaros fitófagos de los principales cultivos de México. En, G. J. Vera, E. Pardo y A. Lagunes. Ed. Colegio de Postgraduados Chapingo, México. Pp 250-260.
- Decou, G. C. 1994. Biological control of the two-spotted spider mite (Acarina: Tetranychidae) on commercial strawberries in Florida with *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae). *Florida Entomologist* 77: 33-41.
- Dennehy T. J. and Granett J. 1984. Monitoring dicofol-resistance spider mites (Acari: Tetranychidae) in California cotton. *J. Econ. Entomol.* 77: 1386-1392.
- Devine, G. J., M. Barber and I. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to metil-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest. Manag. Sci.* 57: 443-448.
- Devonshire, A. L. 1977. The Properties of a Carboxylesterase From the Peach-Potato Aphid, *Myzus persicae* (Sulz.) and its Role in Conferring Insecticide Resistance. *Biochem. J.* 167: 675-683.
- Devonshire, A. L. and R. M. Sawicki. 1979. Insecticide-resistant *Mizus persicae* as an Example of Evolution by Gene Duplication. *Nature.* 280: 140-141.
- Devonshire, A. L. 1990. Biochemical and Molecular Genetic Analysis of Insect Populations Resistant to Insecticides. Proceedings. Brighton Crop Protection Conference. Pest and Diseases. Pp 889-896.
- Doreste, S: E. 1984. Acarología. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (IICA). San José, Costa Rica. p 410.
- Doreste, S: E. 1988. Acarología. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Ed. Fanny de la T. San José, Costa Rica. p 210.

- Edge, V. E. and D. G. James. 1982. Detection of cyhexatin resistance in twospotted mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in Australia. J. Aust. Entomol. Soc. 21: 198-204.
- Edge, V. E. and D. G. James. 1986. Organo-tin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in Australia. J. Econ. Entomol. 79: 1477-1483.
- Estébanes, M. L. 1989. Ácaros en frutales del estado de Morelos. Instituto de biología de la UNAM. Y Dirección General de Sanidad y Protección Forestal SARH México DF. p 360.
- Estrada, C. S. y G. M. Sánchez. 1990. Niveles de susceptibilidad de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a ocho acaricidas en el cultivo de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) en la región de Villa Guerrero México. Rev. Chapingo. 15: 145-148.
- FAO. 1979. Resistencia de las plagas a los plaguicidas y evaluación de pérdidas agrícolas. Informe de la Segunda Reunión de Expertos (6/2) AGP; Roma. p 67.
- Fergusson-Kolmes, L. A., J. G. Scot, and T. J. Dennehy. 1991. Dicofol resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): crass-resistance and pharmacokinetics. J. Econ. Entomol. 84: 41-48.
- Finney, D. J. 1971. Probit Análisis. 3rd. Edition. cambridge univ. press. Great Britain. p 333.
- Fröhlich, G. y W. Rodewalt. 1970. Enfermedades y plagas de las plantas tropicales, descripción y lucha. UTEHA. México. p 376.
- García, P. H. M. 2001 Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia. Laboratorios BETERÁ. La Habana.
- Gerson, U. 1985. Other predaceous mites and spiders, p. 205-10. *In*: W. Helle & M. W. Sabelis (eds.), Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam, vol. 1B.

- Georghiou, G. P. 1965. Genetic studies on insecticide resistance. *Adv. Pest Control Res.* 6: 171.
- Georghiou G. P. and Taylor C. E. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323.
- Georghiou, G. P. and T. Saito. 1983. Resistance to pesticides. Plenum Press. New York. p 809.
- Goka, K. 1998. Mode inheritance of resistance to three new acaricides in the Kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai* Kishuda (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 22:699-708.
- Goodwin, S. 1984. Laboratory evaluation of pesticides on an Australian strain of the Chilean predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot. *Acarology* 2: 647-654.
- Gould, J. H. 1966. Large scale commercial control of *Tetranychus urticae* Koch on cucumbers by the predator *Phytoseiulus persimilis*. In: Proceedings of the 2nd International Congress of Acarology.
- Gould, J. H. 1987. Protected crops. In Burn A. J., T. H. Croaker And Jepson, P. (eds) Integrated Pest Management. Academic. Press, New York, USA. Pp 404-405.
- Helle, W. y L. P. Pinacker. 1985. Parthenogenesis, chromosomes and sex. En Tiell y sabelis, Edits: Spider mites Biology, Natural Enemies and control. Vol. 1: Elsevier. Sci. Pub. Co. Pp 129-138.
- Hernández, M., J. R. 1978. Ciclo biológico de la arena roja (*Tetranychus urticae* Koch) en el laboratorio sobre cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum monifolium*). Tesis profesional. Depto. de Parasitología Agrícola. E. N. A. Chapingo, Méx.
- Hubert, J. J. 1980. Bioassay. Kendall/Hunt Pub. Co. U. S. A. p 164.

- Jefferson, R. L., J. G. Bald and F. S. Morishita. 1956. Effect of vapam on *Rhyzoglyphus*, mites and gladiolus diseases. J. Econ. Entomol. 49 (5): 548-589.
- Jeppson, H. B., H. H. Keifer y E. W. Baker. 1975. Mites injurious to economic plants. Univ. of Calif. Press. Riverside. Pp 614.
- Kim, M. D. y Shin and K. Cho. 2004. An assessment of the chronic toxicity of fenpyroximate and pyridaben to *Tetranychus urticae* using a demographic bioassay. Appl. Entomol. Zool. 39 (3) 401-409.
- Krantz, G. W. 1971. A. Manual of Acarology. O. S. U. Book Stores Inc. Corvallis, Oregon.
- Krantz, G. W. 1978. A. Manual of Acarology. Oregon State University. Book Stores Inc. Secon edition. Corvallis, Oregon. USA. p 509.
- Lagunes-Tejeda, A. y Villanueva-Jiménez J. A. 1994. Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo Estado de México. Pp152 ,157-175.
- Lee S. H., Suh J. K. and Li M. 2003. Determination of bovine serum albumin by its enhancement effect of Nile blue fluorescence. Bull. Korean Chem. Soc. 24: 45-48.
- Lee, Y. S., M. H. Song, K. S. Ahn, K. Y. Lee, J. W. Kim and G. H. Kim. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. J. Asia-Pacific Entomol. 6(1): 91-96.
- Little, V. A. 1972. General applied entomology. Harper & Row. Publishers, Inc., Third Edition. New York. p 527.
- Little, T. M. y F. J. Hills. 1975. Métodos estadísticos para investigación en la agricultura. Ed. Trillas, S.A. México. p 270.

- Luna B. J. 1993. Determinación de Líneas de Respuesta Dosis-mortalidad del Ácaro *Tetranychus urticae*. A Acaricidas en la Zona de Abasolo Guanajuato. Tesis de licenciatura UAAAN. Saltillo, Coahuila. México.
- Mac Gregor, R. And O. Gutierrez. 1983. Guía de Insectos Nocivos para la agricultura en México. Alambra Mexicana, S: A. México. p 166.
- McNally, R. D. 1962. Mechanisms of insect resistance are manifold and highly efficient. *Agric. Chemicals*. 17: 22-23.
- Medina, W. M. 2000. Plagas Y Enfermedades De Chiles Y Pimientos; Guía De Identificación Y Manejo. The Chile Pepper Institute y New Mexico State University (CAHE).
- Metcalf, R. L. 1983. Implications and Prognosis of Resistance to Insecticides. In Georghiu, G. P. and T. Saito (Eds.) 1983. *Pest Resistance to Pesticidas*. Plenum Press. New Cork. Pp 702-729.
- Miller, R. W., B. A. Croft and R. D. Nelson. 1985. Effects of early season immigration on cyhexatin and formetanate resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). on strawberry in central California. *J. Econ. Entomol.* 78: 1379-1388.
- Mourya D. T., Barde P. V., Ghokale M. D., Mishra A. C., Padbidri V. S., Jaykumar P. C. y Shouche Y. 2002. Rapid method for confirming the identity of red eye and rosy eye colour mutants of *Aedes aegypti* mosquito. *Current Science*. 83: 119-120.
- Mullin C. A. 1984. Host-related alterations of detoxications enzymes in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Environ. Entomol.* 12(4): 1278-1282.

- Nelson, R. D. and E. M. Stafford. 1972. Effects of gamma radiation on the biology and population suppression of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Hilgardia*. 41: 229-341.
- Oatman, E. R. et al 1974. Effect of phorate on the twospotted spider mite, associated predators, and aphids on strawberry in Southern California. *Environ. Entomol.* 3(4): 624-644.
- Oppenoorth, F. J. and W. Welling. 1976. Biochemistry and Physiology of Resistance. In: (Wilkinson, C.F. ed.). *Insecticide Biochemistry and Physiology*. Plenum Press, New York. Pp 507-551.
- Otero, C. G. 1992. Manejo fitosanitario de hortalizas en México. En S. Anaya, N. Bautista y B. Domínguez Edit. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. Pp 136-151.
- Perry, A. S. 1956. Factor associated with DDT resistance in the house fly, *Musca domestica* L. *Tenth International Congress of Entomol.* 2: 157-172.
- Pradt, G. E. 1978. Basis for selectivity of acaricidas. Chapter. *Pesticides selectivity*. Ed. Marsell Dekker in New York. USA. p 585.
- Quintanilla, H. R. 1978. *Acaros Fitófagos*. Edit. Hemisferio sur. Buenos Aires Argentina. p 344.
- Rebosán, O. y R. Rivera. 2004. *Flujo Genético: Qué significa para la Biodiversidad y los Centros de Origen*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV Irapuato)
- Sanchez, F.V., J.A.W. Gimán and I.P. Ting. 1979. Morphological responses of strawberry leaves to infestations of two spotted spider mite. *J. Econ. Entomol.* 72: 710- 713.

- Sato, M. E., T. Miyatam M. Da Silva, A. Raga and M. F. De Souza Filho. 2004. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Koch). *Pakistan J. Biol. Sci.* 5(10): 1074-1076.
- Sobrino, I. E. y V. E. Pacheco. 1989. Tratado de Horticultura herbácea, hortalizas de flor y de fruto. Aedos. Barcelona, España. p 151.
- Staetz, C. A. 1985. Susceptibility of *Heliothis virescens* (F) (Lepidoptera: Noctuidae) to Permethrin from Across the Cotton Belt: A Five-Years Study. *J. Econ. Entomol.* 78: 505-510.
- Stoscheck, 1990. Cuantificación del CM. de la proteína. *Métodos en enzimología Experimental Biosciences.* 182: 50-69.
- Teliz, O. D. y F. J. Castro. 1973. El cultivo de la fresa en México. Folleto de Divulgación No. 48, INIA-CIAB. México. P 102.
- Tirado, R., J. A. 1977. Identificación de algunos ácaros asociados con plantas ornamentales en Tenango de las Flores, Puebla. Tesis profesional. E. N. A. Chapingo, México.
- Tuttle, M. D. y E. W. Baker. 1968. Spider mites of southwestern United States, and a revision of the family Tetranychidae. The University Arizona Press. P 129.
- Unwin, B. 1973. Chemical resistance in populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) from apple orchards in N. S. W. Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.* 12: 59-67.
- Velazco, H. Y F. Pacheco. 1968. Biología, morfología y evaluación tóxica de acaricidas en la araña roja de la fresa *Tetranychus telarius*. L. *Agrociencia* 3: 43-45.

Walter E. 1975. Urban Entomology. Division of Agricultural Sciences University of California Berkeley. Pp 548-549.

Yanez, A. G. 1989. Respuesta de 6 variedades de crisantemo (*Crisantemum morifolium* Ramat). Al ataque de araña roja (*Tetranychus urticae* Koch). Dpto. de Parasitología Agrícola. UACH. Chapingo, México.

APÉNDICE

CUADRO A1. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea susceptible
Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas.

SUSCEPTIBLE MUESTREO 1					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	61	59	2	3.278688525	0
80	66	25	41	62.12121212	60.837185410
70	64	30	34	53.12500000	51.536016950
60	63	34	29	46.03174603	44.202313694
50	59	35	24	40.67796610	38.667049700
40	69	46	23	33.33333333	31.073446330

CUADRO A2. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea susceptible
Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 15 días del primer muestreo.

SUSCEPTIBLE MUESTREO 2					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	51	49	2	3.921568627	0
100	48	14	34	70.83333333	69.64285714
90	50	19	31	62.00000000	60.44897959
80	51	24	27	52.94117647	51.02040816
70	51	29	22	43.1372549	40.816326531
60	49	32	17	34.69387755	32.02832153

CUADRO A3. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea susceptible
Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 30 días del primer muestreo.

SUSCEPTIBLE MUESTREO 3					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	61	58	3	4.918032787	0
110	57	20	37	64.9122807	63.09739867
100	59	27	32	54.23728814	51.87025132
90	60	32	28	46.66666667	43.90804598
80	59	37	22	37.28813559	34.044418469
70	62	45	17	27.41935484	23.66518354

CUADRO A4. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea susceptible
Expuestas a fenpyroximate durante 24 horas a 45 días del primer muestreo.

SUSCEPTIBLE MUESTREO 4					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	65	62	3	4.615384615	0
130	61	22	39	63.93442623	62.18931782
120	64	28	36	56.25000000	54.13306452
110	63	31	32	50.79365079	48.41269841
100	63	37	26	41.26984127	38.428059396
90	63	39	22	34.92063492	31.77163338

CUADRO B1. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea de campo realizada para determinar la CL₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas.

RESISTENTE MUESTREO 1					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	68	63	5	7.352941176	0
1000	70	17	53	75.71428571	73.78684807
800	69	27	42	60.86956522	57.76397516
750	66	30	37	56.06060606	52.57335257
700	68	32	35	51.47058824	47.619047619
650	69	38	31	44.92753623	40.55670577
600	63	38	25	39.68253968	34.89543966

CUADRO B2. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea de campo realizada para determinar la CL₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas, a 15 días del primer muestreo.

RESISTENTE MUESTREO 2					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	68	65	3	4.411764706	0
850	61	23	51	83.60655738	82.84993695
800	63	16	47	74.6031746	73.43101343
750	66	22	44	66.66666667	65.12820513
700	62	25	37	59.67741935	57.816377171
650	62	30	32	51.61290323	49.37965261
600	61	34	27	44.26229508	41.68978562

CUADRO B3. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea de campo realizada para determinar la CL₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas, a 30 días del primer muestreo.

RESISTENTE MUESTREO 3					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	77	73	4	5.194805195	0
750	69	14	55	79.71014493	78.59837205
700	73	21	52	71.23287671	69.65659598
650	71	28	43	60.56338028	58.40246961
600	70	33	37	52.85714286	50.273972603
550	71	38	33	46.47887324	43.54620876
500	73	47	27	36.98630137	33.53349597

CUADRO B4. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* de la línea de campo realizada para determinar la CL₅₀ de fenpyroximate a las 24 horas, a 45 días del primer muestreo.

RESISTENTE MUESTREO 4					
Concentración en ppm	Número De Individuos			% Mortalidad	% M Corregida
	Expuestos	Vivos	Muertos		
TESTIGO	76	70	6	7.894736842	0
700	68	11	57	83.82352941	82.43697479
650	67	15	52	77.6119403	75.69296375
600	68	16	47	69.11764706	66.47058824
550	71	31	40	56.33802817	52.595573441
500	69	35	34	49.27536232	44.92753623
450	69	41	28	40.57971014	35.48654244

CUADRO C1. Valores de absorbancia de *T. urticae* para la línea susceptible.

LÍNEA SUSCEPTIBLE				
	MUESTREO 1	MUESTREO 2	MUESTREO 3	MUESTREO 4
MUESTRA 1	0.746	0.858	0.783	0.825
MUESTRA 2	0.738	0.789	0.786	0.796
MUESTRA 3	0.755	0.836	0.786	0.801
MUESTRA 4	0.756	0.838	0.848	0.806
MUESTRA 5	0.763	0.911	0.802	0.842
MUESTRA 6	0.773	0.814	0.800	0.827
MUESTRA 7	0.781	0.862	0.830	0.822
MUESTRA 8	0.765	0.854	0.846	0.814
MUESTRA 9	0.842	0.905	0.802	0.806
MUESTRA 10	0.805	0.913	0.772	0.866

CUADRO C2. Valores de absorbancia de *T. urticae* para la línea de campo.

LÍNEA DE CAMPO

	MUESTREO 1	MUESTREO 2	MUESTREO 3	MUESTREO 4
MUESTRA 1	0.831	0.845	0.818	0.812
MUESTRA 2	0.802	0.809	0.814	0.825
MUESTRA 3	0.821	0.844	0.788	0.816
MUESTRA 4	0.819	0.796	0.806	0.815
MUESTRA 5	0.830	0.830	0.836	0.833
MUESTRA 6	0.802	0.827	0.820	0.803
MUESTRA 7	0.839	0.802	0.831	0.805
MUESTRA 8	0.839	0.817	0.806	0.821
MUESTRA 9	0.822	0.819	0.874	0.822
MUESTRA 10	0.820	0.804	0.868	0.809
