

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Detección de Enzimas Asociadas a la Tolerancia a Insecticidas en Poblaciones
Homocigóticas de *Trichogramma pretiosum* Riley
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

Por:

FAVIO SAUL LÓPEZ ARELLANO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Detección de Enzimas Asociadas a la Tolerancia a Insecticidas en Poblaciones
Homocigóticas de *Trichogramma pretiosum* Riley

(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

Por:

FAVIO SAÚL LÓPEZ ARELLANO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor Principal



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes

Coasesor



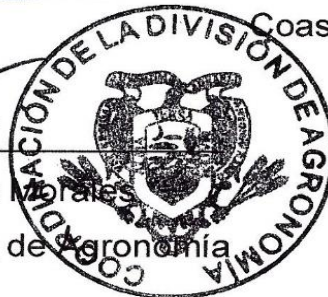
Dr. Jerónimo Landeros Flores

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Junio 2018

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a **Dios** por no dejarme caer, por darme fuerzas para continuar en los proyectos de mi vida, por ayudarme a nunca perder la fe y las esperanzas, por permitirme estar aquí hoy en este momento y disfrutar este nuevo logro en mi vida, por la familia que me has dado en tu amor, que me brinda su apoyo en todo momento, por darme salud, fortaleza y guiar mis pasos durante mi desarrollo profesional.

A **Toda mi Familia** en general que a pesar de la distancia y el tiempo que estuve lejos de mi hogar, siempre me brindaron su apoyo, comprensión y dedicación durante esta etapa en mi vida.

A mi **ALMA TERRA MATER** por abrirme las puertas del conocimiento y formar parte de esta gran institución, donde fue mi segundo hogar, a todos mis compañeros y maestros quienes invirtieron su dedicación y tiempo, que formaron parte de este proceso en mi desarrollo profesional y orgullosamente ejercer la profesión más noble y antigua que es la agricultura.

Al **Departamento de Parasitología** y a todo su cuerpo académico, que con sus enseñanzas y consejos me formaron profesionalmente.

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez** por darme la oportunidad y confianza para realizar este proyecto.

A la **Dra. Yisa María Ochoa Fuentes** por formar parte del jurado como sinodal y al apoyo para la realización y revisión de tesis.

Al **M.C. Antonio Orozco Plancarte** por todas sus enseñanzas y consejos que me brindó durante la realización de este proyecto.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

A aquellos que con amor
Me brindaron su confianza y calor
Imaginándome grande cuando aún era pequeño
Sabiendo que el tiempo

Podría convertir su sueño en realidad
Ahora una ilusión ha culminado
Desde hoy soy alguien más
Respondiendo a sus anhelos y desvelos
Entendiendo hoy su labor y agradezco
Su infinita dedicación

A mi papa **Santiago López Blancas** y a mi mama **Beatriz Arellano Serrano** a quienes les debo todo lo que soy, por todos los valores y enseñanzas que me inculcaron, por su dedicación, esfuerzo y sacrificio que pasaron para que yo pudiera concluir mis estudios, por ser lo más importante para mí, por todo el amor y cariño que me brindan siempre serán mi razón para seguir adelante.

A mi Hermano **Samuel López Arellano** y a mi Hermana **Diana López Arellano** que siempre estuvieron al pendiente de mí, apoyándome en los momentos buenos y malos que pase, porque a pesar de la distancia siempre me brindaron su cariño y comprensión en esta etapa de mi vida.

A mis **Tíos** y **Tías** que siempre me dieron ánimos para continuar, por su apoyo, comprensión y buenos deseos, los quiero mucho.

A mi Abuelo el **Sr. Bulmaro López Sánchez** y mi Abuela **Sra. Jacinta Blancas Jurares** por su confianza y por ser un ejemplo para mi vida, por todos los valores y consejos que me inculcaron desde pequeño, gracias por enseñarme a ganarme las cosas con dedicación y esfuerzo.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIA	IV
ÍNDICE GENERAL.....	V
INDICÉ DE FIGURAS.....	VII
INDICÉ DE CUADROS.....	VIII
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Objetivo general.....	3
Objetivo específico	4
Hipótesis	4
Justificación	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
<i>Trichogramma pretiosum</i>	5
Distribución geografía.....	5
Ubicación taxonómica.....	6
Hábitos alimenticios	7
Biología	7
Descripción Morfológica	8
Ciclo de vida <i>Trichogramma pretiosum</i>	8
Hospederos	10
Importancia económica	10
Control biológico	11
Importancia del control biológico.....	11
Uso de insecticidas en la agricultura	12
Desventajas de insecticidas.....	13
Descripción de insecticidas usados.....	14
Buprofezin.....	14
.....	15
.....	15
Características	15
Modo de acción.....	15

Abamectina.....	16
Características	16
Modo de acción.....	17
Resistencia de los insectos a los insecticidas	17
Tipos de resistencia	18
Factores que influyen en el desarrollo de resistencia.....	19
Tipos de enzimas.....	21
Importancia.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Ubicación del experimento.....	22
Material biológico y origen	22
Diagrama del experimento.....	24
Preparación de reactivos.....	25
Preparación de homogenatos	25
Cuantificación de proteína	26
Interpretación de resultados	26
Pruebas bioquímicas	27
Cuantificación de los niveles de enzimas (α -Esterasas y β -Esterasas) no específicos..	27
Preparación de reactivos.....	27
Preparación de homogenatos	28
Lectura de absorbancias	28
Análisis estadístico.....	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
Determinación de curva estándar de proteína.....	29
Conclusiones.....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35

INDICÉ DE FIGURAS

Figura 1. <i>Trichogramma pretiosum</i>	6
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Trichogramma pretiosum</i>	9
Figura 3. Estructura de Buprofezin	15
Figura 4. Estructura de Abamectina	16
Figura 5. Descripción ilustrada de resistencia (IRAC)	20
Figura 6. Ubicación del experimento	22
Figura 7. Selección de poblaciones <i>T. pretiosum</i>	24
Figura 8. Selección de huevecillos <i>T. pretiosum</i>	24
Figura 9. Etiquetado.....	24
Figura 10. Poblaciones identificadas.....	24
Figura 11. Colocación de reactivos	24
Figura 12. Poblaciones tratadas	24
Figura 13. Condiciones apropiadas.....	24
Figura 14. Preparación de homogenatos	26
Figura 15. Curva estándar de proteína	29

INDICÉ DE CUADROS

Cuadro 1. Hospederos de <i>Trichogramma pretiosum</i>	10
Cuadro 2. Medias de absorbancia por tratamiento de α -Esterasas.....	30
Cuadro 3. Medias de absorbancia por línea de α -Esterasas	31
Cuadro 4. Medias de absorbancia por tratamiento de β -Esterasas.....	32
Cuadro 5. Medias de absorbancia por línea de β -Esterasas	33

RESUMEN

El uso de agentes biológicos ha sido uno de los métodos más eficaces y seguros para el control de plagas, enfermedades y malezas agrícolas. Utilizar organismos vivos con objeto de controlar las poblaciones de otro organismo, como lo es el de *Trichogramma pretiosum* R. para el control de huevecillos de larvas de lepidópteros, como son: *Helicoverpa zea*, *Alabama argillacea*, *Trichoplusia ni*, *Plutella xylostella*, *Spodoptera frugiperda*, *Diaphania nitidalis*, *Diaphania hyalinata*, *Manduca sexta*. Un método que en la agricultura se considera como biorracional o amigable para el ambiente.

Aunque el control biológico no es el único método para controlar las plagas, se menciona que el control químico resulta ser más eficaz que lo natural. Por lo que los agricultores prefieren utilizar productos químicos para el control de plagas de insectos, desconociendo los efectos adversos que estos ocasionan.

Por otra parte, el uso inadecuado o mal manejo de productos químicos llevan a una cierta alteración en los individuos plaga denominada resistencia o tolerancia. Debido a esto se considera la posibilidad de que los insectos benéficos como es el caso de *Trichogramma* sp., tengan contacto con moléculas insecticidas en muy pocas cantidades las cuales no ocasionan un efecto letal, pero si estimulan el desarrollo de enzimas detoxificativas. Por lo que, en el presente trabajo, trata de comprobar la presencia de enzimas asociadas a la tolerancia a insecticidas en individuos benéficos, por lo anterior el objetivo del presente trabajo es cuantificar los niveles de enzimas α -Esterasas y β -Esterasa no específicas presentes en poblaciones homocigóticas de *Trichogramma pretiosum* R., mediante el uso de pruebas bioquímicas.

Palabras clave: Control, Biológico, *Trichogramma*, Tolerancia, Insecticidas

Correo electrónico: saul9596@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El género *Trichogramma* pertenece a un grupo de himenópteros parasitoides de huevos de insectos muy utilizado en programas de control biológico de plagas, principalmente contra lepidópteros. Se le conoce desde hace más de 150 años este género fue descrito por Westwood en 1833 en la actualidad comprende alrededor de 150 especies (Moreno y Pérez, 2002).

Como en el caso de otros taxones de importancia económica, la sistemática y taxonomía del grupo tienen gran relevancia. De entre todos los Chalcidoidea, Superfamilia a la que pertenece (Formada enteramente por parasitoides), las especies del género *Trichogramma* probablemente han sido y son las más utilizadas a nivel mundial en control biológico de plagas, especialmente *T. evanescens* Westwood, *T. dendrolimi* Matsumura, *T. pretiosum* Riley, *T. brassicae* Bezdenko y *T. nubilale* Hubner. Debido a su importancia, han sido más estudiados que cualquier otro parasitoide. Asimismo, no se conoce hoy en día ningún hábitat terrestre no polar que carezca de representantes de este género, siendo por tanto un género cosmopolita. Este hecho tiene una gran influencia en los programas de control biológico, sea cual sea la estrategia elegida para llevarlo a cabo y especialmente si se trata de la inoculativa, ya que la tendencia actual en este sentido que gira en torno al empleo de especies nativas siempre que sea posible, puesto que están mejor adaptadas al medio que las exóticas. En cualquier programa bien concebido, debemos ser capaces de identificar taxonómicamente esa fauna nativa y distinguirla de la que es empleada en el programa de control biológico (sea exótica o no). De esta manera es posible controlar la identidad de la población introducida y evaluar el éxito del programa (Smith, 1996).

Trichogramma es un insecto inofensivo, puesto que solo parasita y destruye las plagas en estado larvario, sin atacar especies benéficas y en estado adulto se alimenta con el néctar de las flores y otros líquidos en cantidad insuficiente para causar daños al ser humano, a los animales o a las plantas, ya que con una pequeña gota pueden alimentarse cientos de ejemplares. La principal importancia en el desarrollo humano radica en la inocuidad alimenticia y la garantía de que muchas

plagas pueden ser controladas sin necesidad de recurrir a la utilización de productos químicos. Esto contribuye a la producción de alimentos a bajo costo contribuyendo con la soberanía alimentaria (Torres, 1993).

En la actualidad, en México se conoce una rica y diversa fauna de Tricogramátidos superior a la conocida en Norteamérica, debido a que en nuestro país confluyen dos regiones zoogeográficas bien representadas: la región Neártica y la región Neotropical, coincidiendo con una alta riqueza y diversidad de otros grupos de Chalcidoidea (González y Hernández, 2000).

En nuestro país estas avispidas se liberan en 1.5 millones de hectáreas anualmente (Van Lenteren y Bueno, 2003). El número de centros reproductores de *Trichogramma* en México, Rodríguez y Arredondo (1999) citan a 47 centros que reproducían y/o comercializaban las especies: *T. pretiosum*, *T. exiguum* Pinto y Platner, *T. minutum* Riley, *T. atopovirilia* Oatman y Platner, *T. platneri* Nagarkatti y *T. pinto* Voegelé, siendo la más común *T. pretiosum*, en tanto que en el 2003 se citan 34 centros de producción (Anónimo, 2004).

Al revisar los trabajos relativos a *Trichogramma*, presentados en ocho reuniones y once congresos nacionales de control biológico de 1976 a 2001, se encontró que solo el 15% (14 estudios) indican las especies de este género y el 85% (78 estudios) no, refiriéndose sólo a *Trichogramma*, *Trichogramma* sp. O *Trichogramma* spp. Esto refleja el posible desconocimiento de las especies por los autores de los estudios referidos y la necesidad de contar con un mejor conocimiento taxonómico de este grupo de parasitoides (García *et al.* 2005).

Objetivo general

Cuantificar los niveles de enzimas α -sterasas y β -sterasa presente en poblaciones homocigóticas de *Trichogramma pretiosum* R.

Objetivo específico

Cuantificar enzimas α -sterasas y β -sterasas en 10 poblaciones homocigóticas de *Trichogramma pretiosum* R. bajo la presencia de insecticidas Abamectina y Buprofezin contra un testigo (sin insecticida).

Hipótesis

Las poblaciones homocigóticas de *Trichogramma pretiosum*. Mostraran algún incremento significativo de niveles de enzimas α -sterasas y β -sterasa que son enzimas detoxificativas de moléculas insecticidas.

Justificación

El nuevo enfoque del control de plagas se dirige hacia otras alternativas de protección de cultivos, incluyendo poco a poco el uso de organismos benéficos al mismo tiempo que se usan agroquímicos, el uso de enemigos naturales ha sido uno de los muchos métodos de control de plagas, un método capaz de reducir los niveles de población de dicha plaga en un porcentaje razonable para llegar a su estabilidad ecológica. Cada vez o más común, el uso de insecticidas para el control de plaga, junto a la liberación de enemigos naturales, sin embargo el contacto los insecticidas pudiera alterar la fisiología del insecto benéfico en promover la tolerancia a dichos productos, por lo que no se descarta la posibilidad que los insectos benéficos adquieran resistencia para sobrevivir.

REVISIÓN DE LITERATURA

Trichogramma pretiosum

T. pretiosum es una de las especies de insectos más ampliamente distribuidas en Norteamérica, parasita un número amplio de huevecillos de mariposas y palomillas. Ha sido reproducido en 18 géneros de Lepidópteros (Knutson, 1998).

Distribución geografía

Su distribución geográfica va del sureste de Canadá a Argentina. También se conoce en las islas Hawaianas y Australia. *T. pretiosum* es más encontrado comúnmente en la agricultura y hábitats naturales, particularmente en el sureste de Estados Unidos en donde aparece asociado a estas áreas de naturales (Pinto, 1998).

Esta especie ha sido encontrada en ocho estados del norte de México (Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas) colectadas sobre algodón (*Gossypium sp.*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), chile serrano (*Capsicum annuum*), Col (*Brassica oleracea*), Girasol (*Helianthus annuus*), Maíz (*Zea mays*), Naranja (*Citrus X sinensis*), Nogal (*Juglans regia*), Soja (*Glycine max*) y Tomate (*Solanum lycopersicum*) (García et al. 2011).

Ubicación taxonómica

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hymenoptera

Suborden: Apocrita

Superfamilia: Chalcidoidea

Familia: Trichogrammatidae

Género: ***Trichogramma***

Especie: ***T. pretiosum***



Figura 1. *Trichogramma pretiosum*

Hábitos alimenticios

Según el comité estatal de sanidad vegetal de Guanajuato, 2005. Al momento que la hembra oviposita, inyecta una sustancia con la que probablemente, inicia la predigestión de los materiales nutritivos del huevo y la muerte del embrión del insecto parasitado, iniciando así la nutrición del embrión del *Trichogramma sp.*; Después de haber ovipositado puede escurrir algo del contenido del huevo lacerado y esto sirve de alimento de la hembra adulta de *Trichogramma sp.* Si los adultos tienen disponibilidad de polen, néctar o miel es factible que logren vivir alrededor de 5 a 7 días; Pero si no hay alimento, la mayoría de los Trichogramatidos puede morir entre 1 y 3 días dependiendo las inclemencias del tiempo.

Biología

(Alencar *et al.* 2000). La hembra adulta de *Trichogramma sp.* parasita principalmente huevos de palomillas y mariposas. Sin embargo ciertas especies de *Trichogramma sp.* También parasitan huevos de escarabajos (Coleópteros), moscas (Dipteros), chinches (Hemípteros), avispas (Hymenopteros) y crisopas y sus parientes (Neuróptera). Las diversas especies de *Trichogramma sp.* parasitan los huevos de alrededor de 200 especies de insectos.

La hembra adulta usa pistas químicas y visuales para localizar un huevo de gusano elotero (*Helicoverpa zea*). Las pistas químicas, llamadas Kairomonas están sobre las escamas de la palomilla las cuales se adhieren al huevo al momento de la ovipostura. Algunos de estos químicos son también feromonas sexuales de *H. zea*. La forma y el color del huevo también pueden ser guías visuales para la avispa.

La avispa hembra pone 2 a 3 huevos en el huevo de otro insecto antes de que éste cambie de color debido a la maduración del embrión del insecto huésped. De 1 a 3 días después de haberse ejecutado el parasitismo, el huevo huésped cambia a color oscuro, aquí la larva de *Trichogramma sp.* Ya se está alimentando

del huevo. A partir del 4º al 8º día el huevo se pone negrozco y la larva de *Trichogramma sp.* Se transforma en pupa. Del 8º al 9º día emerge la avispa adulta. Debido a su ciclo de vida tan corto es posible que el *Trichogramma sp.* Tenga más de 20 generaciones al año.

Descripción Morfológica

El *Trichogramma ps.* Es un insecto de color amarillo con manchas pardas en el mesosoma y dorso de los fémures, metasoma más oscuro en el tercio apical, con coloración parda más extensa; antenas largas y delgadas, longitud de la seta más larga 2.7 – 3.7 abecés tan larga como el ancho máximo de la antena (Clave, 1995).

Ciclo de vida *Trichogramma pretiosum*

Según el protocolo de producción de *Trichogramma pretiosum* (Hernández, 2017).

El ciclo biológico de este parasitoide es corto y generalmente es completado en 8 días. A las 24 horas de parasitado el huevo del hospedero de *Trichogramma* emerge una larva pequeña que puede durar 5 días para convertirse en pupa que alcanza su estado adulto a los 2 días.

Tiene una capacidad de vuelo de 71 metros en 48 horas dependiendo del viento, puede llegar hasta 100 metros.

El ciclo de vida es de 8 a 15 días. Pasa por diferentes estadios: huevo, 3 instares larvales, pupa y adulto.

Inmediatamente después de la emergencia busca al macho para cupular y esta inicia la parasitación, actuando sobre los huevos recién puestos (blancos de 1

a 3 días de postura) de los insectos plagas, al parasitarlo no eclosiona la larva del insecto sino un nuevo *Trichogramma*.

Al parasitar el huevo cambia de color, de blanco a negro a los 3 ò 4 días.

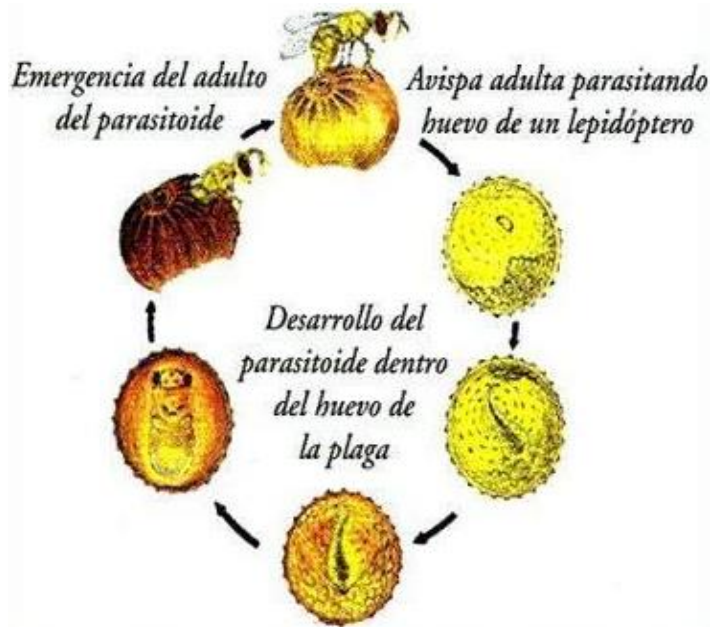


Figura 2. Ciclo de vida de *Trichogramma pretiosum*

Hospederos

Según el comité estatal de sanidad vegetal de Guanajuato, 2005.

Cuadro 1. Hospederos de *Trichogramma pretiosum*

Nombre común	Nombre científico
Gusano bellotero	<i>Helicoverpa zea</i>
Langosta medidora	<i>Alabama argillacea</i>
Falsa langosta medidora	<i>Trichoplusia ni</i>
Palomilla del repollo	<i>Plutella xylostella</i>
Cogollero	<i>Spodoptera frugiperda</i>
Gusano de las cucurbitáceas	<i>Diaphania nitidalis</i>
Gusano de las cucurbitáceas	<i>Diaphania hyalinata</i>
Gusano de la soja	<i>Anticarsia gemmatilis</i>
Gusano cachudo	<i>Manduca sexta</i>
Gusano del repollo, rábano y lechuga	<i>Leptophobia aria</i>
Plaga de los granos almacenados	<i>Sitotroga cerealella</i>

Importancia económica

Como en el caso de otros taxones de importancia económica, la sistemática y taxonomía del grupo tienen gran relevancia. De entre todos los Chalcidoidea, Superfamilia a la que pertenece formada enteramente por parasitoides, las especies del género *Trichogramma* probablemente han sido y son las más utilizadas a nivel mundial en control biológico de plagas, especialmente *T. evanescens*, *T. dendrolimi*, *T. pretiosum*, *T. brassicae* y *T. nubilale* (Smith, 1996).

Debido a su importancia, han sido bastante más estudiados que cualquier otro parasitoide. Asimismo, no se conoce hoy en día ningún hábitat terrestre no polar que carezca de representantes de este género, siendo por tanto un género cosmopolita. Este hecho tiene una gran influencia en los programas de control

biológico, sea cual sea la estrategia elegida para llevarlo a cabo y especialmente si se trata de la inoculativa, ya que la tendencia actual en este sentido gira en torno al empleo de especies nativas siempre que sea posible, puesto que se supone que están mejor adaptadas al medio que las exóticas. (Loxdale y Lushai, 1998).

Control biológico

La mayor parte de los proyectos de control biológico de plagas, en los que se utilizan himenópteros como enemigos naturales, se desarrollan con especies del suborden Apocrita pertenecientes a la Serie Parasítica. Este hecho se debe, fundamentalmente, a que las especies de himenópteros parasitoides son relativamente fáciles de criar en el laboratorio y pueden, por tanto, ser utilizadas contra las plagas (Polidori, 2017)

Muchos de los caracteres que se emplearon inicialmente para separar especies de *Trichogramma* resultaron ser poco fiables debido a su plasticidad. Todavía actualmente podemos encontrar en la bibliografía ejemplos de estudios morfométricos y de relaciones alométricas. Los datos obtenidos de esta manera se procesan mediante análisis multivariante para discriminar anatómicamente especies cercanas. Basso *et al.* (1999) separaron dos morfotipos de *Trichogramma* en base a las medidas de seis caracteres morfológicos: *T. pretiosum* y *T. exiguum*. Rodríguez *et al.* (1996) intentaron establecer o aclarar la identidad taxonómica de algunas poblaciones de *Trichogramma*.

Importancia del control biológico

Los parasitoides se diferencian de los verdaderos parásitos, los cuales dependen de un hospedante vivo para su supervivencia y no necesariamente le causan la muerte, tienen un tamaño menor que el de su hospedante, y son de otra clase taxonómica. Son los enemigos naturales más utilizados en los programas de

control biológico de plagas insectiles. La mayoría (85%) son del orden Hymenoptera y unos pocos (15%) son Dípteros, SENASA (2016).

Entre los insectos benéficos más importantes para el control de Lepidópteros están los parasitoides de huevos del género *Trichogramma*. Estos son avispidas diminutas que atacan los huevos de las polillas y mariposas. Su importancia en el control biológico radica en la facilidad con que se pueden producir masivamente, utilizando polillas de granos almacenados, y en la facilidad de liberarlos en el campo para el control de Lepidópteros, con altos niveles de control, OBA (2005).

Uso de insecticidas en la agricultura

El impacto de los plaguicidas sobre los ecosistemas agrícola ha demostrado que estos productos influyen en la diversidad de especies, en la cadena alimentaria, en el flujo de energía, ciclos de nutrientes, genética de los organismos y en general en la estabilidad del sistema. Por otro lado la falta de conocimiento en cuanto al uso de los plaguicidas y los efectos adversos de estos en la salud humana y del medio ambiente, además de los deseos por mejorar los rendimientos de las cosechas, han llevado a los productores agrícolas en el mundo, a dosificar mal los productos químicos con todos los riesgos que esto significa. Esta situación existente en el mundo se agudiza cuando los productores agrícolas no siguen las recomendaciones técnicas del fabricante, en cuanto al tipo de producto, la dosis a aplicar para cada plaga y cultivo o en el momento de aplicación, (Pérez, 2007).

La intensificación de la agricultura, motivada por la necesidad de proveer productos agrícolas a una población cada día creciente, trae como consecuencia la proliferación de plagas y enfermedades. La alta presión de los diferentes problemas fitosanitarios y su manejo inadecuado, conducen a que éstos ejerzan un impacto negativo no sólo en las cosechas, sino en el suelo, el agua y en la calidad del agroecosistema. Por ello, día a día, es fundamental que los productores realicen un manejo integrado de plagas, partiendo del diagnóstico adecuado e incorporando

prácticas como el uso de estrategias de control biológico, control botánico y prácticas de manejo cultural, entre otras. (Rosquete, 2011).

Ventajas de insecticidas

- suelen ser selectivos
- Actúan rápidamente.
- Pueden ser usados poco antes de la cosecha
- Su acción es inmediata
- Puede acabar con distintos tipos de plagas.
- Desaparece lentamente.
- Poca sensibilidad a factores ambientales.
- Se produce ampliamente a nivel mundial (Brambila, 2015).

Desventajas de insecticidas

- Matan incluso a los enemigos naturales de las plagas.
- Los insectos desarrollan resistencia al insecticida, después es necesario usarlo en mayor cantidad.
- Lenta degradación por lo cual alteran el balance de la naturaleza.
- Alta peligrosidad.
- El manejo de estos compuestos lleva consigo riesgos de intoxicación.
- Es necesario hacer aplicaciones constantemente.
- Los resultados del control biológico no son tan rápidos como se espera.
- Dificultades de producción a nivel mundial (Prezi, 2015).

Los factores fisicoquímicos de los componentes de los insecticidas son de suma importancia por su interacción química y física sobre el organismo plaga y el medio ambiente lo que nos permite conocer los efectos negativos y los beneficios de estos productos; Las propiedades de algunas sustancias químicas, tales como los plaguicidas, implican cierto nivel de riesgo tanto al medio ambiente como a la salud humana; De acuerdo a la información revisada, es innegable por un lado la relativa eficiencia de los insecticidas químicos pero por otro lado nuevas y mejores alternativas se hacen presentes como los productos naturales (Cancela, 2017).

Descripción de insecticidas usados

La Abamectina es un insecticida, acaricida y antihelmíntico de acción translaminar ampliamente utilizado en la agricultura. Su modo de acción afecta al sistema nervioso de los insectos provocando en última instancia su muerte, (Farmex, 2011).

Buprofezin es un insecticida que se usa para controlar plagas, como las cochinillas, los saltos de hojas y la mosca blanca en los cultivos de hortalizas. Es un regulador de crecimiento, que actúa como un inhibidor de la síntesis de quitina, (Terralia, 2008).

Buprofezin

Identificación: (Inecc, 2008).

- nombre químico: 2-tert-butylimino-3-isopropil-5-fenil-3,4,5,6-tetrahidro-2H-1,3,5-tiadiazin-4-ona,
- nombre común: Buprofezin,

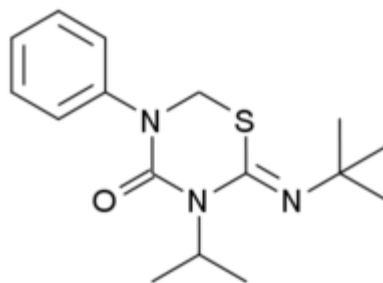


Figura 3. Estructura de Buprofezin

Características

Inhibidor de la síntesis de la quitina. Insecticida y acaricida regulador del crecimiento, persistente, con actividad por ingestión, contacto e inhalación. No es sistémico pero es moderadamente citotrópico. Normalmente su acción se deja sentir durante el estado de ninfa; aun cuando no posee una marcada actividad sobre adultos, sí impide la puesta. Su efecto residual puede durar hasta 30 días. Actúa más lentamente con temperaturas bajas. Perturba a la vez la formación de la quitina y el metabolismo de las prostaglandinas ligadas al proceso de regulación hormonal de la hidroxiecdisona (hormona de la muda). No muestra una rápida acción: tarda unos 7 días en controlar las ninfas. La mayoría muere en el cambio de muda. No mata insectos adultos directamente pero elimina la puesta y el desarrollo embrionario. Es eficaz contra Homópteros. Es inocuo sobre diversos parásitos y depredadores de plagas tales como *Cales*, *Encarsia* y fitoseidos por lo que es adecuado para programas de lucha integrada (Elba *et al*, 2017).

Modo de acción

Persistente, de contacto y estomacal. No se transloca en la planta. Inhibe hormonalmente la síntesis de quitina o muda, en ninfas y larvas y la oviposición en adultos (Cruz *et al*. 2017).

Abamectina

Identificación: (ROTAM, 2005).

- nombre químico: mezcla conteniendo más del 80% de avermectina B1a y menos del 20% de avermectina B1b.
- nombre común: abamectin (ANSI, ISO).
• códigos alfanuméricos: CA DPR Chem Code 2254. CAS 65195-55-3 (B1a). CAS 65195-56-4 (B1b). CAS: 71751-41-2 (mezcla). CIPAC 495. MK 0936. PC Code 122804

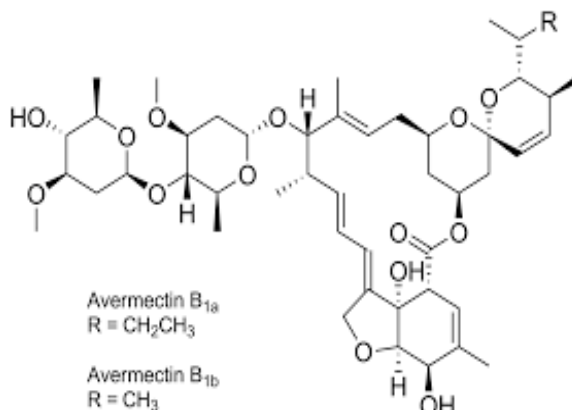


Figura 4. Estructura de Abamectina

Características

Pentaciclonas con actividad insecticida y acaricida producidas por *Streptomyces avermitilis*, de acción traslaminar y sistémica localizada, de amplio espectro. Actúan estimulando la liberación presináptica del inhibidor neurotransmisor, ácido úrico, desde las terminales nerviosas y potenciando su fijación a los receptores postsinápticos entre ellos el receptor glutamato. En los artrópodos impide la transmisión de señales en las conexiones neuromusculares por el mismo mecanismo de amplificación de la acción del ácido α -aminobutírico, a través de un aumento de la permeabilidad de la membrana al calcio. Los insectos sensibles

quedan paralizados irreversiblemente y mueren. A diferencia de la mayoría de los insecticidas no afecta al sistema colinérgico (IRET, 2006).

Modo de acción

Sistémico local con efecto translaminar, de residualidad media, penetra por hojas y se acumula cerca del sitio de ingreso; no protege tejido nuevo producido después de la aplicación. En Insectos: actúa por contacto dermal e ingestión, penetra a través de la cutícula del insecto durante la aplicación o con residuos sobre las partes tratadas, y también por la ingestión de tejido tratado (Nufarme, 2012).

Resistencia de los insectos a los insecticidas

Las plagas usualmente son manejadas y controladas con productos químicos, pero estos organismos son dinámicos, tienen ciclos reproductivos frecuentes, con una gran capacidad de adaptación; por lo que el uso frecuente de insecticidas, hace que se exprese una habilidad genética en ciertos individuos, y esta característica les permite sobrevivir a la aplicación continua a un insecticida. Este proceso parte de la evolución misma, se explica como la expresión de genes de baja frecuencia asociados a resistencia que están presentes en la población o que se producen por mutaciones (Ordeñana, 2002).

La resistencia es un cambio, heredable, en la susceptibilidad de una población de insectos que provoca el fracaso repetido de un producto insecticida para alcanzar el nivel adecuado de control cuando éste es usado de acuerdo a las recomendaciones de la etiqueta para dicha plaga (IRAC, 2011).

Tipos de resistencia

- **Resistencia cruzada:**

En el desarrollo de resistencia ocurre el fenómeno de “resistencia cruzada”, es decir la presión de selección de un insecticida incrementa la resistencia de la población a otro producto que no fue usado en la selección, generalmente hay cierto grado de resistencia cruzada entre productos de la misma clase (Herrera, 1963).

- **Resistencia metabólica:**

Los insectos resistentes pueden detoxificar o destruir la toxina más rápido que los susceptibles. Es el mecanismo más común de resistencia (IRAC, 2011).

- **Resistencia por comportamiento:**

Los insectos resistentes pueden detectar el peligro y evadir la acción de la toxina. Los insectos se dejan de alimentar o pasan a zonas de la planta o el lote donde el insecticida no está presente, (Carrillo, 1984)

- **Resistencia en el sitio de acción:**

El blanco donde el insecticida actúa en el insecto puede sufrir alguna modificación que le impida su unión, reduciendo o eliminando su efecto (Villa *et al*, 2003).

- **Resistencia morfológica:**

Mecanismo físico dado de la formación de estructuras cuticulares, no permiten que el toxico penetre la cutícula del insecto, la velocidad de

penetración dependerá de las características del insecticida y de las propiedades del integumento del insecto la cual varía considerablemente entre los estadios de vida (Barbera, 1989).

- **Resistencia a la penetración del insecticida:**

Los insectos resistentes pueden absorber más lentamente el insecticida debido a una cutícula externa con barreras que demoran su penetración (Mohammad *et al*, 2007).

- **Resistencia fisiológica:**

Esta puede ser de dos formas, no metabólico por la sensibilidad de sitio de acción, resistencia de derribo, Acetilcolinesterasa insensible, penetración reducida, mayor almacenamiento y excreción (Vais *et al*, 1997). Metabólica por la adición de sistemas enzimáticos donde los insecticidas son metabolizados y transformados en productos menos tóxicos (Lagunés y Villanueva, 1994).

Factores que influyen en el desarrollo de resistencia

La selección natural permite a algunos insectos pre-adaptados con genes de resistencia sobrevivir a las aplicaciones de insecticidas y pasar esa característica a su descendencia (Monge, 1986). A través de la aplicación continua de insecticidas con el mismo modo de acción, la selección de los individuos resistentes continúa por lo que la proporción de insectos resistentes en la población aumenta, mientras que los individuos susceptibles son eliminados por el insecticida (Sawicki, 1968).

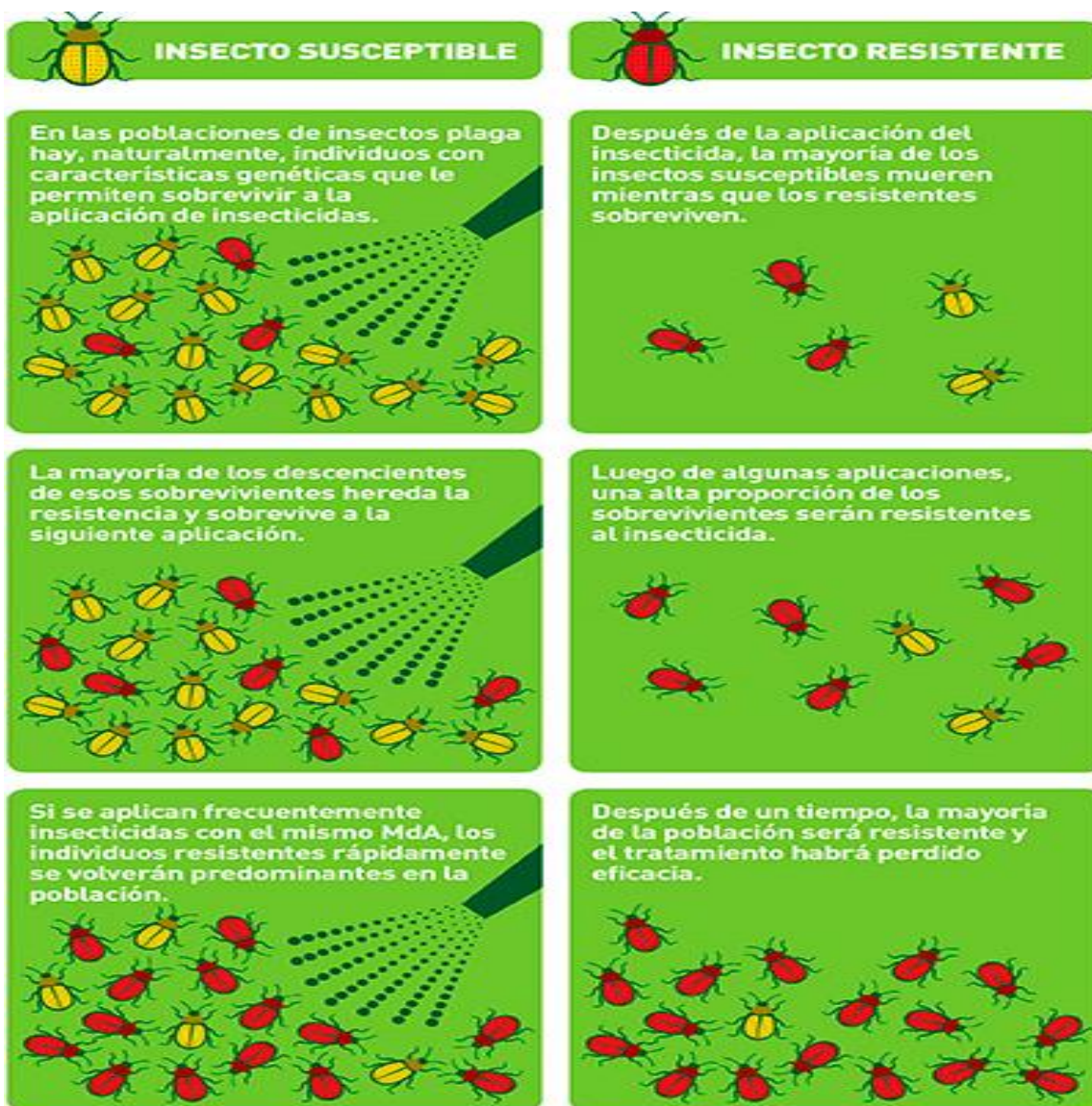


Figura 5. Descripción ilustrada de resistencia (IRAC)

Tipos de enzimas

(Landeros *et al.* 2010) Las esterasas son enzimas que hidrolizan los ésteres de cadena de los ácidos grasos y se encuentran en cantidad variable en muchas células sanguíneas. Existen muchas clases de esterasas diferentes fundamentalmente en el sustrato sobre el que actúan y en los niveles de pH óptimo.

- ✓ α -esterasas
- ✓ β -esterasas
- ✓ Oxidasas
- ✓ Glutación S-transferasas
- ✓ Acetilcolinesterasa
- ✓ Acetilcolinesterasa insensible

Importancia

Las enzimas que intervienen en la resistencia son enzimas de la desintoxicación tales como la función mixta oxidasa y la glutatión transferasa. Además se suman los mecanismos bioquímicos, mecanismos de penetración y patrones de comportamiento que adquieren los insectos para evadir los insecticidas lo que contribuye a la resistencia. La resistencia en muchos insectos se debe en parte a un aumento de los niveles de la función mixta oxidasa y a un aumento de su actividad. (Plapp, 1976).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

Laboratorio de toxicología, Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

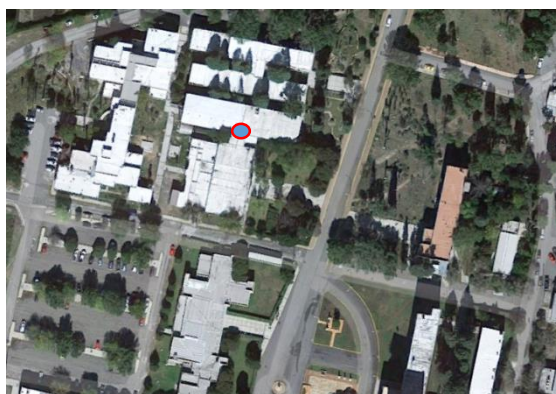


Figura 6. Ubicación del experimento

Material biológico y origen

Se utilizaron 10 líneas homocigóticas de *T. pretiosum*, provenientes de la colección de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, obtenidas del aislamiento de hembras de manera individual y copulando con su propia progenie (hermanos completos) durante nueve generaciones, con un coeficiente de consanguinidad de 87% (Li, 1955 y Guzmán *et al.*, 2014), aisladas y reproducidas en tubos de ensaye. Para el incremento de las poblaciones se hizo en tubos de ensaye (150X15 mm), en donde se colocaron tiras de papel amarillo cuyas dimensiones (120X10 mm) con huevecillos de *Sitotroga cerealella* Olivier, agregando la mayor cantidad de hembras para la oviposición, sellando la cavidad del tubo con un tapón de algodón, colocadas en condiciones de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ con humedad relativa de $70\pm 10\%$ y 16:8 (luz:oscuridad) esto se realizó para cada una de las líneas.

Por otra parte, para la realización del experimento a las 10 líneas homocigóticas se aislaron en tubos de ensaye (150X15 mm) obteniendo 3

repeticiones por cada línea mismas que se incrementaron en los mismos tubos hasta formar poblaciones de más de 10,000 insectos. Una vez formadas las poblaciones se procedió a clasificar de las 3 repeticiones por cada línea la primera repetición se utilizó como testigo (sin insecticida), la segunda repetición se utilizó para tratarla con el insecticida Abamectina (Agrimec 1.8% CE) y la tercer repetición para tratarla con el insecticida Buprofezin (Applaud 40% SC), donde se aplicó la dosis comercial (500 ppm) en diferentes estadios del insecto (huevo, larva, pupa y adulto) en repetidas ocasiones, posteriormente de los organismos emergidos o sobrevivientes de cada población se incrementaron hasta formar nuevamente cada población con más de 10,000 insectos para realizar el experimento, obteniendo 30 poblaciones en total.

Diagrama del experimento

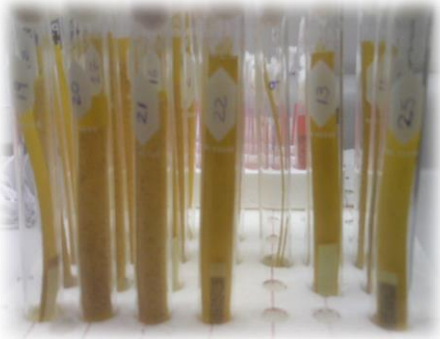


Figura 7. Selección de poblaciones *T.*



Figura 8. Selección de huevecillos *T. pretiosum*

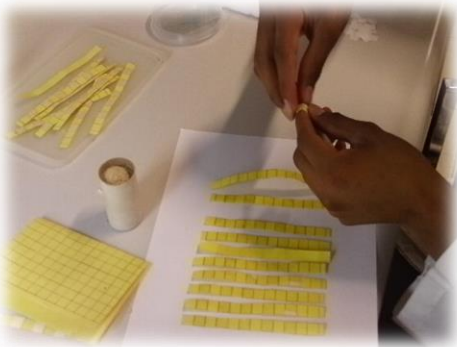


Figura 9. Etiquetado

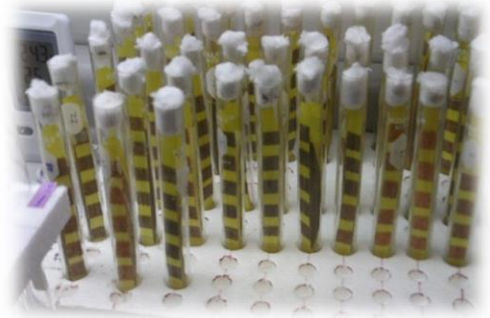


Figura 10. Poblaciones identificadas



Figura 11. Colocación de reactivos



Figura 12. Poblaciones tratadas

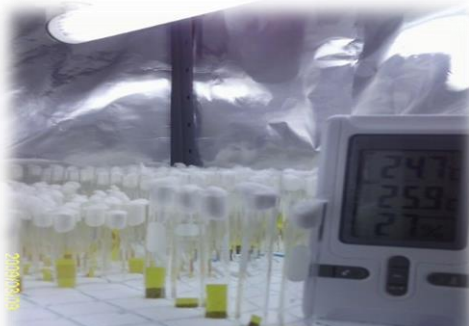


Figura 13. Condiciones apropiadas

Determinación de curva estándar de proteína

La determinación y cuantificación de proteína contenida en tejidos y fluidos es la base para la realización de las pruebas bioquímicas Brogdon, 1984, es por ello que se determinó la cantidad de insectos a utilizar para la realización de la curva estándar de proteína utilizando la técnica modificada por (Cerna *et al.*, 2012). Dicha técnica consiste en utilizar insectos de una población susceptible que no haya sido tratada bajo la influencia de insecticidas, con la finalidad de cuantificar una proteína de referencia “Albumina sérica bovina” (BSA) por lo que para cumplir con este requisito se utilizó una de las líneas homocigóticas testigo (sin insecticida) realizando una serie de procedimientos como se describe a continuación.

Preparación de reactivos

Para la preparación en cuanto los reactivos utilizados para calibrar la curva estándar se utilizó solución Buffer de fosfatos disolviendo en 200 mL de agua destilada estéril 1.32 g de fosfato de potasio monobásico (KPO_4) y 0.34 g de fosfato de potasio dibásico (K_2PO_4), posteriormente se preparó el Reagente diluyendo 20 mL del colorante (Reagente) en 80 mL de agua destilada estéril pasando por papel filtro y almacenando en un frasco de color ámbar, así mismo estas dos soluciones fueron conservadas en refrigeración a 4°C.

Preparación de homogenatos

Se procedió a colocar en tubos eppendorf de 1.5 mL 14 muestras con diferente cantidad de insectos: 5, 10, 20, 30, 50, 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 cada muestra con 2 repeticiones, posteriormente se agregó a cada muestra 0.4 mL de diluyente Buffer de fosfatos en seguida se macero con un

homogenizador de tejidos utilizando un pistilo por muestra finalmente se aforo a 1 mL añadiendo 0.6 mL de Buffer de fosfatos.



Figura 14. Preparación de homogenatos

Cuantificación de proteína

Con los reactivos y homogenatos antes mencionados se procedió a tomar la lectura de absorbancias por lo que se utilizaron microplacas de 96 pozos, en cada cavidad se agregó 20 μ L de homogenato, así mismo se añadió 80 μ L de Buffer de fosfatos y 200 μ L de colorante diluido (Reagente), este procedimiento se realizó por triplicado para cada repetición, en seguida se colocó cada placa en el lector de placas (BIO-TEK) para medir la absorbancia con un filtro de 630 nm.

Interpretación de resultados

A los datos arrojados por el lector de placas, se les obtiene la media de cada repetición (tres pozos), mediante la ecuación de la curva estándar de referencia del método de Brogdon (1984) dada por la interpolación de μ g/mL de proteína y la absorbancia, se obtuvieron analíticamente los valores comprendidos en un rango establecido por el autor. La ecuación de la recta fue: $y = - 0.5033 + 0.7249 (x)$; donde se sustituyen los valores de las medias de las absorbancias, obteniendo los valores de μ g/mL de proteína, fueron tabuladas y se obtuvo la media del contenido de

proteína, comparándolas para decidir la cantidad de insectos a emplear para la determinación de enzimas.

Pruebas bioquímicas

Cuantificación de los niveles de enzimas (α -Esterasas y β -Esterasas) no específicos

Esta prueba mide los niveles de α -Esterasas y β -Esterasas no específicas presentes en los homogenatos de cada línea homocigótica.

Preparación de reactivos

Buffer de fosfatos: se disuelve 1.7 g de fosfato de potasio monobásico (KPO_4) y 6.6 g de fosfato de potasio dibásico (K_2PO_4) en 1000 mL de agua destilada estéril. Se preparó O-Dianisidina (Fast-blue) diluyendo 50 mg de Fast-blue en 50 mL de agua destilada estéril y almacenado en un frasco de vidrio color ámbar de 100 mL, este reactivo se preparó al momento de realizar la prueba y se desechó al terminar debido a su fácil degradación. Así mismo se preparó α -Naphthyl (1-Naphthyl) disolviendo 56 mg de (1-Naphthyl) en 20 mL de acetona más 80 mL de agua destilada estéril, finalmente se preparó β -Naphthyl (2-Naphthyl) disolviendo 56 mg de (2-Naphthyl) en 20 mL de acetona más 80 mL de agua destilada estéril, estos últimos reactivos fueron almacenados en frascos de vidrio color ámbar de 100 mL y colocados en refrigeración a 4°C.

Preparación de homogenatos

Se procedió a colocar en tubos eppendorf de 1.5 mL 30 muestras (poblaciones homocigóticas) con 500 insectos cada muestra con 4 repeticiones, posteriormente se agregó a cada muestra 0.4 mL de diluyente Buffer de fosfatos en seguida se maceró con un homogenizador de tejidos utilizando un pistilo o macerador por muestra, finalmente se aforó a 1 mL añadiendo 0.6 mL de Buffer de fosfatos, posteriormente se colocaron en refrigeración a 4°C para su posterior uso.

Lectura de absorbancias

En placas de 96 pozos se procedió a realizar la reacción entre la fuente de proteína (homogenatos) y los reactivos antes mencionados por lo que en cada pozo se le agregaron: 100 μ L de homogenato, 100 μ L de α o β -Naphthyl (según el caso) se dejó en reposo 10 minutos, transcurrido el tiempo se añadieron 100 μ L de Fast-blue se dejó reaccionar por 2 minutos realizando este procedimiento por duplicado para todas las muestras y de inmediato se tomó la lectura de absorbancias en el lector de placas (BIO-TEK) con un filtro de 540 nm.

Análisis estadístico

Los resultados de absorbancias arrojados por el lector (BIO-TEK) leídos con un filtro de 540 nm según la enzima se analizaron estadísticamente mediante SAS-System con un diseño completamente al azar y comparando las medias por el método de Tukey ($p=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como podemos observar en la figura se muestra la curva estándar de proteína lo que representa la cantidad de insectos que se utilizaron para la estandarización, por lo que se determinó la cantidad de 500 insectos para cada población en estudio, observando que esta cantidad apenas alcanza el valor de la absorbancia de referencia 0.12, nuestro resultado difiere con lo reportado por Cerna et al. (2013), donde utilizó 10 insectos de *Bactericera cockerelli*, fueron requeridos como fuente de enzima, esta diferencia puede deberse al tamaño y peso del insecto razón por la cual se utilizaron 500 Trichogrammas.

Determinación de curva estándar de proteína

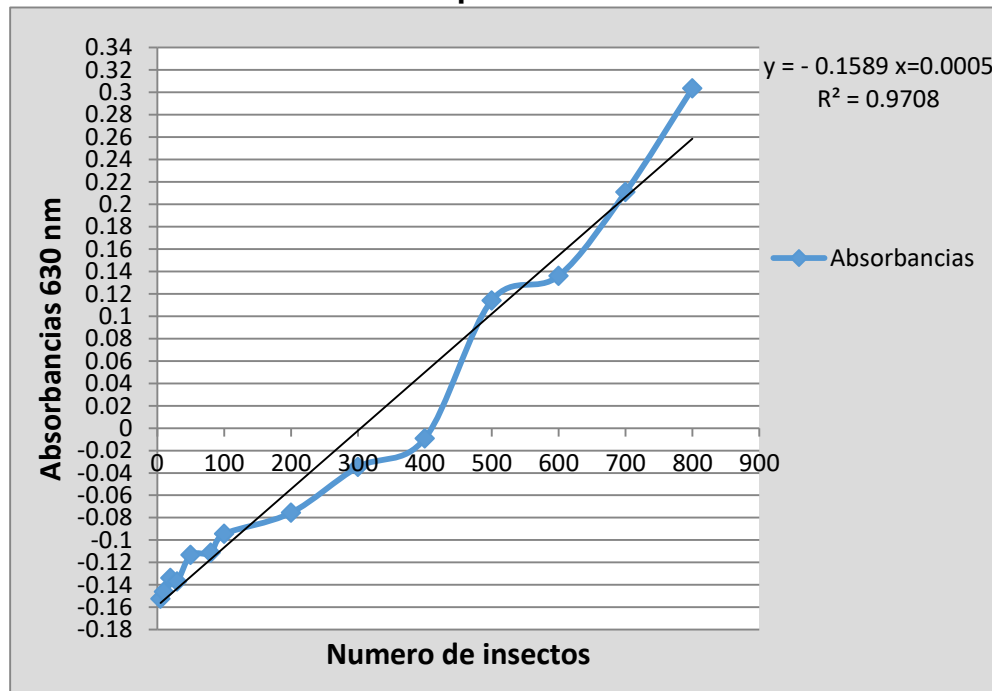


Figura 15. Curva estándar de proteína

Pruebas bioquímicas

Cuantificación de los niveles de enzimas (α -Esterasas) no específicos

Se presentan los datos arrojados por el análisis de las absorbancias obtenidas registrando por tratamiento de α -Esterasas (Cuadro 2), teniendo como nivel enzimático más alto en líneas tratadas con Abamectina con un valor de 1.4418, con una diferencia significativa de 0.022 con respecto a las líneas tratadas con Buprofezin, los valores en cuanto a la agrupación estadísticamente son iguales pero diferentes al Testigo (líneas sin insecticida). Las α -Esterasas es una enzima asociada a la resistencia (Coa *et al.*, 2008), lo cual explica que en las líneas tratadas con insecticidas, se observa un incremento significativo de enzimas α -Esterasas con respecto al Testigo.

Cuadro 2. Medias de absorbancia por tratamiento de α -Esterasas

Tratamiento	Media	Agrupación*
Abamectina	1.44181	A
Buprofezin	1.41981	A
Testigo	0.83515	B

*: Medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

Por otro lado se registran las medias de absorbancia de α -Esterasas, por cada línea (Cuadro 3), siendo la línea 10 quien obtiene el valor más alto de 1.6109, la variabilidad de valores entre líneas se debe a alteraciones fisiológicas que el insecto desarrollo en campo, los valores en cuanto agrupación son estadísticamente significativos. Las α -Esterasas es una de las principales enzimas que les proporcionan resistencia a los insectos (Hernández et al, 2016).

Cuadro 3. Medias de absorbancia por línea de α -Esterasas

Línea	Media	Agrupación*
10	1.6109	A
9	1.3999	BA
4	1.3047	BA
1	1.2630	BAC
8	1.2242	BC
5	1.2102	BC
7	1.1280	BC
2	1.1265	BC
3	1.0828	BC
6	0.9725	C

*: Medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

A continuación se registran las medias de absorbancia por tratamiento de β -Esterasas (Cuadro 4), teniendo como nivel más alto en Buprofezin con valor de 2.75716, con una diferencia significativa de 0.1007 con respecto a las líneas tratadas con Abamectina, los valores en cuanto la agrupación estadísticamente es igual al tratamiento con Abamectina. La resistencia de insecticidas organofosforados es conferida por elevación de esterasas, (Kadous *et al*, 1983).

Cuadro 4. Medias de absorbancia por tratamiento de β -Esterasas

Tratamiento	Media	Agrupación*
Buprofezin	2.75716	A
Abamectina	2.65646	A
Testigo	0.81390	B

*: Medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

Se registran las medias de absorbancia por línea de β -Esterasas (cuadro 5), teniendo como nivel más alto en línea 10 con valor de 2.5372, cabe mencionar que la variabilidad de la diferencia entre líneas se debe a alteraciones genéticas o fisiológicas de los insectos colectados en campo, los valores en cuanto agrupación son estadísticamente significativos. Las esterasas son enzimas principalmente involucradas en el desarrollo de resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, (Hemingway y Ranson, 2000).

Cuadro 5. Medias de absorbancia por línea de β -Esterasas

Línea	Media	Agrupación*
10	2.5372	A
8	2.3348	BA
9	2.1413	BC
7	2.1123	BC
4	2.0940	BCD
1	2.0756	BCD
2	2.0286	BCD
6	1.8695	CD
5	1.8487	CD
3	1.7165	D

*: Medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

Conclusiones

En base a los resultados, se observa que hay presencia de las enzimas α -Esterasas y β -Esterasas en las poblaciones de *Trichogramma*, tratados con insecticida.

Ambos productos químicos estimulan el desarrollo de las enzimas de resistencia, la Abamectina estimula el desarrollo más en α -Esterasas, el Buprofezin estimula el desarrollo de β -Esterasas.

Puedo concluir que utilizar insectos para control biológico como lo es *Trichogramma* también desarrolla resistencia por el uso de los agroquímicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. 2004. Centros reproductores de organismos benéficos. *In*: Directorio Fitosanitario. DGSV-SENASICA-SAGARPA. Sin publicar. S/p.
- Alencar José Adalberto, Francisca Neruda Pedraza, Oliveira José Vargas, Moreira Núñez Andrea Biología de *Trichogramma pretiosum* riley en huevos de *Sitotroga cerealella*(Olivier) . *Pesq. agropec. sujetadores* [en línea]. 2000, vol.35, n.8, pp.1669-1674. ISSN 0100-204X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2000000800021>.
- Barbera C. 1989. Pesticidas agrícolas. Cuarta edición. Edición omega S.A. Pp 506-507
- Basso, C., Pintureau, B. & Grille, G. 1999. Taxonomic study of two *Trichogramma* species from Uruguay (Hym: Trichogrammatidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 25(3): 373-382.
- Biomodel, Electroforesis de proteínas y de ácidos nucleicos.
- Brambila, 2015. Ventajas y desventajas de los insecticidas químicos y natura
- Brogdon, w. g.; dickinson, m. c., 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in hig-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analytical Biochemistry*, 131: 499-503,
- Brogdon, w. g., Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90: 145-150, 1988.
- Brogdon, w. g.; barber, A. M., Microplate assay of glutathione s-transferase activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 96: 339-342, 1990.
- Brogdon, w. g.; barber, A. M., Microplate assay of acetylcholinesterase inhibition kinetics in single mosquitoes homogenates. *Pesticide Biochemistry and Phisiology*, 29: 252-259, 1987.

Comite estatal de sanidad vegetal de guanajuato ac vicente rodríguez s/n, la paz, irapuato, GTO. CP 36530 25julio2005

Carrillo, R.H. 1984 análisis de asociación conjunta de insecticidas en larvas de gusanos cogollero de maíz (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tesis de maestría en ciencias. Centro de entomología y acarología. Colegio de posgraduados. Chapingo, México, 82pp.

Cancela del Pilar María Lcda en Nutrición. Amante de la vida sana y los remedios casero Cuáles son las ventajas y desventajas de los insecticidas orgánicos? Saca mayor provecho para mejores cultivos ina2017-05-01 09:21:11

Carlo Polidori University of Castilla-La Mancha Department Instituto de Ciencias Ambientales de Toledo Himenópteros depredadores y control biológico de plagas: ¿un recurso ignorado? (PDF Download Available). 2017 Institution

Cerna Chávez, E.; Hernández Bautista, O.; Landeros Flores, J.; Ochoa Fuentes, Y.M 2013. Cuantificación de enzimas asociadas a la resistencia de insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc) de la zona papera de Coahuila y Nuevo León, México. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. 59, 5-12, 2013.

Coa, C.W., Zhang, J, Gao, X.W. Liang, P. y Guo, H.L. (2008) Overexpression of earboxylesterade gene associated with organophorus insecticide resistance in cotton aphids, *Aphis gossypii* (Glover). Pesticide Biochemistry and Physiology 90:175 – 180

Clave, Ronald D. 1995. Manual de reconocimiento de parasitoides de plagas agrícolas en America Central. ZAMORANO Academic Press, Primera edición. Tegucigalpa, Honduras, p.: 132-133

Damaris Brambila el 14 de Mayo de 2015 Ventajas y desventajas de los insecticidas químicos y natura

Elba de la Cruz, Viria Bravo y Fernando Ramírez del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) Instituto Regional de Estudios de Sustancias

Tóxicasiret@una.ac.cr, Universidad Nacional Heredia, Costa Rica. Tels. 2017
(+506)22773884, (+506) 22773625; 22773585; 22773695

Farmex.jpg ABAMEX® Concentrado emulsionable Insecticida-acaricida agrícola
(Abamectina) Reg. 457-97-AG-SENASA 2011.

FERSHT, A., Measurement and magnitude of enzymatic rate constants. In: Enzyme
Structure and Mechanism, 2 ed. New York. W. H.: Freeman and Company, pp.
121- 124, 1985

García Fabián, Alejandro González-Hernández & Martha Patricia España-Luna Acta
Zool. Mex vol.21 no.3 Xalapa dic. 2005 *versión On-line* ISSN 2448-
8445*versión impresa* ISSN 0065-1737

García, G. F., R. Mercado H., A. Gonzalez. H. y M. Ramírez D. 2011. Especies nativas
de Trichogramma (Hymenoptera: Trichogrammatidae) colectadas en cultivos
agrícolas del norte de México. Revista Chapingo. Vol. XVII. 173-181.

González y Hernández, A. 1991. Catálogo de Organismos Benéficos a la Agricultura
presentes en México. Insectos Entomófagos. (Catálogo inédito) SARH.
Dirección General de Sanidad Vegetal, IICA 1: 1145-1151.

Herrera Caldera. Resistencia de insecticidas, (Victoria de Durango, Durango; 8 de ener
HERNÁNDEZ-BAUTISTA, Omegar, ARREDONDO-PÉREZ, Marco Antonio,
CERNA-CHAVEZ, Ernesto, OCHOA-FUENTES, Yisa María y NAVARRO-
CAMPOS Fernando Elías. Cuantificación de enzimas detoxificativas en pulgón
amarillo del sorgo (*Melanaphis sacchari*) en Saltillo, México. Revista de Ciencias
Naturales y Agropecuarias. 2016, 3- 7: 5-12.o de 1963)

Hemingway, J., and H. Ranson. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human
disease. Annu. Rev. Entomol. 45:371-391.

IRET. Instituto Regional de Estudios de Sustancias Tóxicas, MANUAL DE
PLAGUICIDAS DE CENTROAMÉRICA, 2006.

Inecc. Ficha técnica – buprofezin 2008

- IRAC, Insecticide Resistance Action Committee, 2011. Clasificación del Modo de Acción de Insecticidas y Acaricidas IRAC. Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas
- Ingeniero Karla Mariana Hernández, 2017. INPRHU Somoto Msc. Maryse Boisjoly, suco protocolo producción trichogramma pretiosum cear telpochcalli-totogalpa
- Jerónimo Landeros, Carlos Enrique, Ernesto Cerna, Yisa Ochoa, Luis Guevara y Luis Alberto Aguirre Revista Colombiana de Entomología 36 (1): 5-9 (2010) Susceptibilidad y mecanismos de resistencia de Tetranychus urticae (Acariformes: Tetranychidae) en rosal de invernaderos Susceptibility and resistance mechanisms of Tetranychus urticae (Acariformes: Tetranychidae) in greenhouse roses
- Kadous A. A., S. M. Ghiasuddin, F. Matsumura, J.G. Scott, and K. Tanaka. 1983. Difference in the picrotoxinin receptor between the cyclodiene-resistant and susceptible strains of the German cockroach. Pesticide Biochemistry and Physiology 19:157-166.
- Knutson, A. 1998. The Trichogramma manual. B-6071. Texas agriculture extension service, Texas A y M university system, College Station, Tx
- Lagunés, T. A. y J. Villanueva, J. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de posgraduados en ciencias agrícolas, Edo. De México, 264pp
- Loxdale, H. D. & Lushai, G. 1998. Molecular markers in entomology (review article). Bull. Entomol. Res., 88: 577-600.
- Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 66 p. 118 - 122, 2002 Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos, Manejo de insectos mediante parasitoides Manuel Carballo
- Monge, L. A. 1986. Manejo Racional de Insecticidas. Resistencia y rotación. Editorial tecnológica de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. p. 74.

- Mohammad H. Badii, Ph.D. y Dr. Victoriano Garza Almanza Resistencia en Insectos, Plantas y Microorganismos CULCyT//Enero–Febrero, 2007
- Moreno G., F. y I. Pérez M. 2002. El empleo de *Trichogramma* en el control biológico de plagas: problemas taxonómicos. *Aracnet 10-Bol. S. E. A.*, n° 31, 239-242.
- Nufarme FICHA TECNICA COMERCIAL ABAMECTINA AGROGEN 1.8% EC Página 1 de 1 Próxima Revisión: Julio 2012
- Ordeñana Madriz Kennet. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Manejo Integrado de Plagas (costa Rica)* No 63. P 22-32, 2002.
- Pérez, Nilda; Montano, R. 2007. Curso Taller Plaguicidas, Salud y Ambiente. Contaminantes Orgánicos Persistentes. Módulo de aprendizaje 4. RAPAL. La Habana. Cuba
- Pinto, J.D. 1998. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In *Memoirs of the Entomological Society of Washington*. 22, 1–287.
- Prezi. Ventajas y desventajas de los insecticidas quimicos y natura, 14 de Mayo de 2015
- Plapp, F.W. 1976. Blochemical Genetics of insecticide Resistance *Ann. Rev. Entomol.* 21 179-197.
- Rosquete P, Cristina.2011. Evaluación de impacto de la supresión de endosulfán en el agroecosistema Güira de Melena, Artemisa, Cuba. 95 h. Tesis (en opción al título de Master en Agroecología y Agricultura Sostenible). Universidad Agraria de la Habana, La Habana, Cuba
- Rodríguez, J., Pintureau, B. & Galán, M. 1996. Esclarecimiento de la identidad taxonómica de algunos registros cubanos de *Trichogramma* Westwood (Hym: Trichogrammatidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 22: 585-599.
- Rodríguez del Bosque, L. A. & H. C. Arredondo B. 1999. Quien es Quien en el control Biológico en México. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo. Folleto

- Técnico Núm. 23 Tamaulipas, México. 147 p.
- ROTAM. Rotam de Mexico SA de CV, Ficha técnica, Abamectina, 2005.
- SENASA Importancia del Control Biológico de plagas en la agricultura peruana noviembre 2016
- Sawicki R. M. Farnham A. W. 1968. Genetics of resistance to insecticides in the Ska strain of *Musca domestica*. Location and isolation of the factors of resistance to dieldrin. *Entomologica Experientia Applicata*. 11:133-42
- Smith, S. 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes and potential of their use. *Annu. Rev. Entomol.*, 41: 375-406.
- Terralía Información técnica Actualizada sobre productos Fitosanitarios y Nutricionales para la agricultura convencional y orgánica, noticias y empresas sector. Comisión de 25 de noviembre de 2008.
- Torres Callejas, S., "Trichogramma, Biología, Sistemática y Aplicación". Editorial Científico Técnico. La Habana. 1993
- Universidad nacional agraria, tesis para obtener el grado en ingeniero agrónomo con orientación en fitotecnia, 2002.
- Van Lenteren, J. & V. H. P. Bueno. 2003. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol*.48 (2): 123-139.
- Villa J. y Sierra J. M. Mechanisms de action a resistance ante los microbiomes 2003.