

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN CUATRO POBLACIONES DE *Bemisia tabaci*
(Gennadius) DEL SUR DE TAMAULIPAS

T e s i s

Que presenta MARTIN BERRONES MORALES

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN CUATRO POBLACIONES *DE Bemisia tabaci*
(Gennadius) DEL SUR DE TAMAULIPAS

Tesis

Que presenta MARTIN BERRONES MORALES

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Dr. Ernesto Cerna Chávez
Director UAAAN

Dr. Antonio Palemón Terán Vagas
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN CUATRO POBLACIONES DE *Bemisia tabaci*
(Gennadius) DEL SUR DE TAMAULIPAS

Tesis

Que presenta MARTIN BERRONES MORALES

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA



Dr. Ernesto Cerna Chávez
Director UAAAN



M.C. Enrique Garza Urbina
Director Externo


Saltillo, Coahuila

Diciembre 2015


RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN CUATRO POBLACIONES DE *Bemisia tabaci*
(Gennadius) DEL SUR DE TAMAULIPAS

Tesis

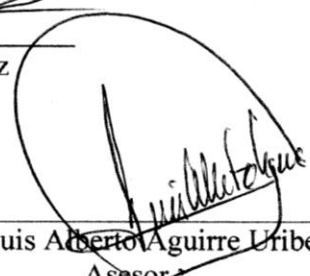
Elaborada por MARTIN BERRONES MORALES como requisito parcial para obtener
el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola




Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor Principal



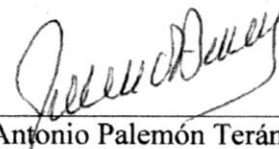
Dr. Jerónimo Landeros Flores
Asesor



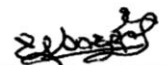
Dr. Luis Alberto Aguirre Uribe
Asesor




Dr. Mariano Flores Dávila
Asesor



Dr. Antonio Palemón Terán Vargas
Asesor



M.C. Enrique Garza Urbina
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo Coahuila

Diciembre 2015

Agradecimientos

A mis asesores:

Dr. **Ernesto Cerna Chávez**. Por la confianza y la oportunidad de realizar esta investigación.

Dr. **Antonio Palemón Terán Vargas**. Por sus consejos, sugerencias y por las facilidades otorgadas en el Laboratorio de Toxicología del CEHUAS.

M.C. **Enrique Garza Urbina**. Por compartir su experiencia en el manejo integrado de plagas, y por sus valiosos consejos.

Al **INIFAP-CEHUAS** por permitir la utilización de sus Instalaciones para la realización de los bioensayos.

A **María Isabel** y **Carolyn** por su gran ayuda en la traducción.

A todas aquellas personas que participaron en este trabajo y que involuntariamente dejo de citar.

Pero especialmente a la **UAAAN**, por abrirme sus puertas para continuar con mi preparación académica.

Dedicatorias

A mis padres:

Pablo Berrones Mireles y Bartola Morales Evangelista

Por el gran apoyo que siempre me han brindado.

A mi esposa:

Dulce Rosario. Por su comprensión y gran apoyo moral, cuya presencia en mi vida me da la fuerza y motivación para continuar.

A MIS HIJAS:

Haydee y Giovanna. Por su latosa presencia, que con su escandalo hicieron difícil estudiar, pero a la vez son una parte muy importante en mi vida.

Dedicatoria Especial

A mi pequeña **Isabella Guadalupe.** Que llego justo al empezar este proyecto, ¡Fuiste la motivación mas grande, y siempre buscare lo mejor para ti!

Índice

Agradecimientos	v
Dedicatorias.....	vi
Resumen.....	xii
Abstract	xiv
INTRODUCCIÓN	1
Justificación.....	2
Objetivos	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Mosca blanca Bemisia tabaci (GENNADIUS).....	3
Origen.....	3
Distribución.....	3
Ubicación taxonómica.....	4
Biología y hábitos	4
Descripción morfológica.....	4
Huevo	4
Ninfa.....	5
Adulto.....	6
Hospederos.....	7
Daños e Importancia económica	7
Alternativas de control	8
Resistencia vegetal.....	9
Cultural.....	9
Control biológico	9
Control químico	10
Resistencia.....	11
Definición de resistencia.....	11
Clasificación de resistencia	11
Determinación de resistencia	12

Bioensayos	13
Métodos bioquímicos	13
Descripción de insecticidas utilizados	13
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Ubicación	15
Colecta del material biológico	15
Insecticidas utilizados	17
Realización de bioensayos	17
Análisis estadístico.....	18
Cuantificación de proteína	18
Pruebas bioquímicas.....	19
Prueba de Esterasas	19
Prueba de reacciones de oxidasa	20
Prueba Glutathion S-transferasa.....	20
Prueba de acetilcolinesterasa.....	21
Análisis estadístico.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
Resultados de los bioensayos	23
Discusión de los bioensayos.....	25
Resultados de las pruebas bioquímicas	26
Discusión de las pruebas bioquímicas.....	37
CONCLUSIONES	40
REFERENCIAS	41
Anexos.....	49

Lista de cuadros

Cuadro 1. Coordenadas de los cuatro sitios colectados en Altamira. Tamaulipas...	16
Cuadro 2. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Pymetrozine en cuatro poblaciones de <i>B. tabaci</i>	23
Cuadro 3. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Buprofezin en cuatro poblaciones de <i>B. tabaci</i>	24
Cuadro 4. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Imidacloprid en cuatro poblaciones de <i>B. tabaci</i>	24
Cuadro 5. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Spirotetramate en cuatro poblaciones de <i>B. tabaci</i>	25
Cuadro 6. Porcentajes de resistencia de cada enzima en las cuatro poblaciones...	33
Cuadro 7. Clasificación de la actividad enzimática según las proporciones de resistencia.....	34
Cuadro 8. Análisis de varianza del contenido de α -Esterasas en las cuatro poblaciones.....	34
Cuadro 9. Comparación de medias del contenido de α -Esterasas en las cuatro poblaciones.....	34
Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de β -Esterasas en las cuatro poblaciones.....	35
Cuadro 11. Comparación de medias del contenido de β -Esterasas en las cuatro poblaciones.....	35
Cuadro 12. Análisis de varianza del contenido de Oxidasas en las cuatro	36

poblaciones.....	
Cuadro 13. Comparación de medias del contenido de Oxidasas en las cuatro poblaciones.....	36
Cuadro 14. Análisis de varianza del contenido de Glutación S-Transferasas en las cuatro poblaciones.....	36
Cuadro 15. Comparación de medias del contenido de Glutacion S-Transferasas en las cuatro poblaciones.....	37
Cuadro 16. Análisis de varianza del contenido de Acetilcolinesterasa en las cuatro poblaciones.....	37
Cuadro 17. Cuantificación de α -Esterasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.....	49
Cuadro 18. Cuantificación de β -Esterasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.....	49
Cuadro 19. Cuantificación de Oxidasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.....	50
Cuadro 20. Cuantificación de Glutacion S-Transferasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.....	50
Cuadro 21. Cuantificación de Acetilcolinesterasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.....	51

Lista de figuras

Figura 1. Mapa de la ubicación de las cuatro Poblaciones colectadas.....	16
Figura 2. Contenido de α -Esterasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de resistencia.....	27
Figura 3. Contenido de β -Esterasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.....	28
Figura 4. Contenido de Oxidasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.....	29
Figura 5. Contenido de Glutation S-Transferasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.....	31
Figura 6. Contenido de Acetilcolinesterasa en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.....	32

Resumen

RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN CUATRO POBLACIONES DE *Bemisia tabaci*
(Gennadius) DEL SUR DE TAMAULIPAS.

MARTIN BERRONES MORALES

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA ANTONIO NARRO

DR. ERNESTO CERNA CHÁVEZ - DIRECTOR DE TESIS

SALTILLO, COAHUILA

DICIEMBRE 2015

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Toxicología de insectos de la UAAAN y en el laboratorio de Toxicología del INIFAP-CEHUAS. Los objetivos fueron; Registrar los niveles de resistencia a cuatro insecticidas y determinar el mecanismo enzimático involucrado en la detoxificación. Las poblaciones fueron CEHUAS, ESTEROS, CORPUS y FUERTE, provenientes de Altamira, Tamps. Para determinar la resistencia se utilizó el método de inmersión de la hoja descrito por el IRAC. La determinación de α y β -Esterasas, Oxidasas, Glutación S-Transferasas y Acetilcolinesterasas, se realizó mediante cuantificación de proteínas por colorimetría, mediante un lector de absorbancias. El resultado de los bioensayos se analizó mediante el método Probit, la Proporción de Resistencia (PR) se calculó, tomando como el cociente el valor más bajo de CL_{50} en cada uno de los insecticidas. El contenido enzimático se analizó mediante el método gráfico, en ausencia de una línea susceptible, se tomó como referencia un umbral establecido con base en la media entre el valor máximo y el mínimo. Los resultados muestran que Pymetrozine tuvo la PR más elevada en la población CORPUS con 3.88X, Buprofezin la PR mas alta fue el FUERTE con 7.29X, Imidacloprid la PR más elevada fue ESTEROS con 2.32X y Spirotetramate el PR más alta fue el FUERTE con 2.96X, por lo que ninguna población supero el umbral de resistencia de 10X. La proporción de resistencia en las poblaciones evaluadas se da por la presencia de α y β -Esterasas, En general, la resistencia fisiológica se considera "moderadamente alterada".

Palabras clave: mosca blanca, enzimas, susceptibilidad, resistencia.

Abstract

INSECTICIDE RESISTANCE IN FOUR POPULATIONS OF *Bemisia tabaci*
(GENNADIUS) SOUTH OF TAMAULIPAS.

MARTIN BERRONES MORALES

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA ANTONIO NARRO

DR. ERNESTO CERNA CHÁVEZ - ADVISOR

SALTILLO COAHUILA

DECEMBER 2015

This work was performed at the Laboratory of Insect Toxicology UAAAN and Toxicology Laboratory of INIFAP-CEHUAS. The objectives were; Record levels of resistance to four insecticides and determining the enzyme involved in the detoxification mechanism. Populations were CEHUAS, ESTEROS, CORPUS and FUERTE, from Altamira, Tamaulipas. To determine the resistance the immersion method by leaf was used as described by IRAC. Determining α and β -Esterases, Oxidases, Glutathione S-Transferases and Acetylcholinesterase, was performed by colorimetric protein quantitation by reading the absorptions. The results of the bioassays were analyzed by Probit method, the resistance ratio (RR) was calculated as the ratio taking the lowest LC_{50} for each insecticides. The enzyme content was analyzed by the graphical method. In the absence of a susceptible line, a threshold was established as a reference based on the average between the maximum and minimum value. The results show that pymetrozine had the highest (RR) in the population in CORPUS with 3.88X, Buprofezin had the highest (RR) in FUERTE with 7.29X, Imidacloprid had the highest (RR) in ESTEROS with 2.32X and Spirotetramate had the highest (RR) with 2.96X in FUERTE. Therefore, no population exceeded the threshold of resistance of 10X. The ratio of resistance in the populations evaluated is given by the presence of α and β -Esterases, In general, the physiological resistance is considered "moderately impaired".

Keywords: whitefly, enzymes, susceptibility, resistance.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas tres décadas, la mosquita blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius), se ha constituido como plaga primaria de cultivos hortícolas tales como chile (*Capsicum spp.*), calabacita (*Cucurbita pepo* L) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) donde ha causado pérdidas de hasta el 100% (Costa *et al.*, 1991), quizás debido a los cambios climáticos mundiales (SEPA, 2003), ambiente seco y temperatura alta (Eichelkraut *et al.*, 1989), prácticas de cultivo (Rauch *et al.*, 2003) y uso inapropiado de insecticidas (Bloch *et al.*, 1994).

B. tabaci es uno de los insectos plaga más importantes a nivel mundial (Byrne *et al.*, 1994). Debido a que tanto ninfas y adultos causan daño directo al alimentarse, reducen el vigor de la planta (Byrne *et al.*, 1990), provocan maduración irregular de frutos de jitomate (Cohen *et al.*, 1992) y causan daño indirecto al excretar mielecilla que promueve el crecimiento de hongos tales como *Fumago spp*, conocidos como fumaginas, (Van Lenteren *et al.*, 1990). Estos factores reducen significativamente el rendimiento tanto en cantidad como en calidad. El problema empeora cuando estos insectos transmiten fitopatógenos a las plantas, como es el caso de los geminivirus (Byrne *et al.*, 1990). *B. tabaci* afecta a los cultivos que se desarrollan en las zonas tropicales y subtropicales del mundo causando daños severos (Simmonds *et al.*, 2002).

En México, esta especie causa daños en las regiones hortícolas de Sinaloa, Sonora, Baja California, Nayarit, Guerrero, Jalisco, Chiapas y Tamaulipas (Pacheco, 1985). Los insecticidas constituyen el principal método de control de esta plaga, desafortunadamente, *B. tabaci* ha demostrado poseer una gran capacidad para desarrollar resistencia a los insecticidas que normalmente se utilizan para su control (Georghiou *et al.*, 1991).

Justificación

El uso indiscriminado de insecticidas para el control de *B. tabaci*. En el Sur de Tamaulipas, así como el desconocimiento de la efectividad de los mismos, y la posible resistencia adquirida, hace necesario generar información al respecto.

En la región del sur de Tamaulipas se desconocen los mecanismos enzimáticos involucrados en la tolerancia de *B. tabaci*, por lo que el conocer dichos factores permitirá un manejo adecuado de la resistencia y por lo mismo un control mas eficiente.

Objetivos

Registrar los niveles de resistencia, a cuatro de los insecticidas utilizados en la región sur de Tamaulipas.

Determinar el mecanismo de resistencia asociado a la capacidad de sobrevivir a la aplicación de dichos insecticidas.

Hipótesis

B. tabaci presentara diferentes niveles de resistencia a los insecticidas en función de las diferentes regiones.

Los mecanismos involucrados en la metabolización de los insecticidas variarán en función de las diferentes regiones.

REVISIÓN DE LITERATURA

Mosca blanca *Bemisia tabaci* (GENNADIUS)

Origen

Bemisia tabaci, también conocida como la mosca blanca del algodón, del tabaco o de la batata, fue originalmente observada en tabaco *Nicotiana sp* en Grecia, y fue descrita como *Aleyrodes tabaci* (Gennadius 1889). Algunos científicos sugieren que *B. tabaci* puede ser originaria de África tropical, desde donde se dispersó a Europa y Asia, y posteriormente introducida al Neotrópico, principalmente por transporte de material de plantas (Brown y Bird 1992; Campbell *et al.*, 1995).

La evidencia también sugiere que *B. tabaci* puede ser nativa de la India o Pakistán, donde se ha encontrado la mayor diversidad de sus enemigos naturales (Brown *et al.*, 1995). En el Nuevo mundo fue colectada por primera vez en 1897 sobre *Ipomoea batatas* (L.) Lam. En los Estados Unidos, donde se describió como *Aleyrodes inconspicua* Quaintance (Quaintance 1900, citado por Oliveira *et al.*, 2001).

Distribución

Se encuentra ampliamente distribuida al norte de Estados Unidos y Canadá, las Islas del Caribe, América Central y América del Sur y México. Está presente en gran parte del sur de Europa, África, India, y recientemente se mudó a Australia. Se trata de una especie polífaga que parasita más de 300 especies de plantas (McAuslane, 2000).

En México, esta especie causa daños severos en las regiones hortícolas de Sinaloa, Sonora, Baja California, Nayarit, Guerrero, Jalisco, Chiapas y Tamaulipas (Pacheco, 1985; Urias-Morales *et al.*, 1995).

Ubicación taxonómica según (Gennadius, 1889).

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Suborden: Sternorrhyncha

Super familia: Aleyrodoidea

Familia: Aleyrodidae

Subfamilia: Aleyrodinae

Género: Bemisia

Especie: *B. tabaci*

Biología y hábitos

Es un insecto chupador que se localiza en el envés de las hojas de sus hospedantes, presenta metamorfosis incompleta; es decir su ciclo biológico incluye una etapa de huevo, cuatro estados ninfales y el adulto (Bautista *et al.*, 2002; Bautista, 2006). Y tiene una duración de 21 a 45 días aproximadamente, En un corto periodo de tiempo pueden coexistir generaciones traslapadas (Román, 2007).

Las hembras oviposita unos cuantos huevecillos en la hoja de donde emerge el adulto y luego busca plantas con brotes tiernos para seguir ovipositando, de esta forma la progenie asegura alimento fresco para su desarrollo completo, las moscas blancas depositan un número variable de huevecillos, algunos autores señalan de 30 a 400 huevecillos por hembra (Byrne y Bellows, 1991, Butler *et al* 1986).

La hembra deposita preferentemente los huevos en el envés de las hojas, unidos a ellas mediante un pedicelo que es insertado en el tejido hospedante. El periodo de incubación varía con la temperatura y la humedad, a 25 °C y 75% de HR la duración del estado de huevo es de seis a siete días (Morales *et al.*, 2006, López, 2004).

Descripción morfológica

Huevo

Dimensiones: 190-200 µm de longitud y de 100-129 µm de ancho. Ovipositados individualmente o en grupos sobre la superficie de la hoja, raramente son puestos en

círculo; de color blanco amarillento, tornándose marrón dorado en su etapa final. Al emerger la ninfa el corión del huevo permanece erecto (Carapia, 2013).

Ninfa

Una vez eclosionado el huevo, emerge una pequeña ninfa que es móvil y se desplaza sobre la superficie de la hoja hasta que encuentra un lugar apropiado para alimentarse, introduce su estilete y se fija allí donde transcurrirá el resto del estado de ninfa sin volverse a desplazar (López, 2004). Los estadios se diferencian principalmente por cambios en el tamaño y la acumulación de sustancias cerosas sobre su cuerpo y durante el segundo y tercer estadio de ninfa el cuerpo es ovalado y de color amarillo-transparente, en el cuarto estadio comúnmente referido como “pupa”, los ojos y las alas blancas del adulto son visibles (Molinari,2007).

Primer instar. Dimensiones: 250- 300 μm de largo y 155 μm de ancho. Es un estado de desarrollo activo en locomoción y se desplaza en busca de un lugar adecuado para alimentación por lo que sus patas y antenas son relativamente grandes; presenta 16 pares de sedas marginales aparentes; sedas marginal anterior, marginal posterior, cefálica, primera abdominal, octava abdominal y caudal presentes; tubérculos cefálicos poco desarrollados, semielípticos hacia la parte lateral, orificio vasiforme curvo posteriormente (Carapia, 2013).

Segundo instar. Dimensiones: 0.38 μm de largo por 0.24 μm de ancho. Cuerpo ovoide, agudo posteriormente; sedas marginal anterior, marginal posterior, cefálica, primera abdominal, octava abdominal y caudal presentes; pliegues torácico traqueales indicados ventralmente por una cutícula punteada, orificio vasiforme triangular, abierto posteriormente, llingula ensanchada y puntiaguda distalmente pero no lobulada (Carapia, 2013).

Tercer instar. Dimensiones: 500-540 μm de largo y 360 μm de ancho. Margen irregularmente granuloso; pliegue torácico traqueal indicado por una cutícula punteada ventralmente; sedas marginal anterior, marginal posterior, cefálica, primera abdominal,

octava abdominal y caudal presentes, orificio vasiforme triangular; l ngula ensanchada y puntiaguda distalmente pero no lobulada (Carapia, 2013).

Cuarto instar.- Dimensiones: 750-850 μm de largo y 620 μm de ancho. Pupas vivas sin palizada de cera y también las varillas de cera están ausentes, son de color amarillento, de forma semioval, agudos posteriormente; series de papilas submarginales ausentes; puede presentar sedas dorsales largas y bien desarrolladas. Margen irregularmente granulado; poros traqueales no diferenciados en el margen; pliegues torácicos traqueales distintivamente en la superficie ventral por una cutícula punteada; antenas situadas al lado de las patas protor cicas. Sedas marginal anterior, marginal posterior, cefálica, primera abdominal, octava abdominal y caudal presentes; orificio vasiforme triangular; l ngula ensanchada y puntiaguda distalmente (Carapia, 2013).

Adulto

Los adultos tienen el cuerpo y las alas cubiertas por un polvillo blanco (Morales y Cermeli, 2001). Los adultos de *B. tabaci*, miden aproximadamente 0,85 a 1,2mm; las alas como el cuerpo est n cubiertos por finas escamas cerosas, que dan al insecto un aspecto harinoso (aleyron=harina). En reposo permanecen con las alas plegadas y no son voladores muy activos (Molinari, 2007). Ojos compuestos divididos y cada ojo consiste en dos grupos de omatidias con un omatidio que forma un puente entre los dos grupos. Para el ojo compuesto (Lima *et al*, 2001, citado por Carapia en 2013), reportan en forma clara que la parte superior está formada por 45 omatidias y la porción inferior por 31 omatidias, arregladas en forma hexagonal, en grupos interconectados de 6 omatidias alrededor de una omatidia relativamente un poco menor y generalmente de color más claro (Carapia, 2013). Las antenas presentan siete segmentos con una sensila primaria en los segmentos 3, 5 y 7. Cono sensorial está presente en el segmento 3, 6 y 7 (Carapia, 2013). Las alas son membranosas y desnudas, presentando textura semejante, margen anterior de las alas anteriores recto, redondeado distalmente, con venación notablemente reducida, mantenidas ligeramente separadas, formando una especie de techo a dos aguas muy inclinadas sobre el abdomen, dejando parte del abdomen visible. El margen de las alas anteriores y posteriores es "perillada" con setas diminutas originándose de cada estructura (Carapia, 2013). Las tibiae de las patas mesotor cicas presentan espinas

fuertes que se disponen en forma aleatoria. Patas metatorácicas con un único grupo lineal de setas; las cuales son normalmente más pequeñas, menos gruesas y esclerotizadas y más juntas que otras setas sobre el mismo segmento de la pata (Carapia, 2013). En la superficie ventral del abdomen de las hembras están presentes dos pares de placas cerosas en los segmentos tres y cuatro, en el caso de los machos se presentan cuatro pares en los segmentos tres a seis. La superficie de las placas cerosas del abdomen es semirreticulada con figuras similares a rombos ocupando cada uno aproximadamente un μm de la superficie; la placa supra genital es débilmente desarrollada en la hembra y en el macho esta modificado en un cuello en forma de tubo que es proyectado del ápice del abdomen y lleva los genitales del macho distalmente (Carapia, 2013)

Hospederos

La mosca blanca *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) es una especie ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde se alimenta de más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres (Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker et al. 1998) citados por (Cuellar, 2006). Entre los hospedantes preferidos por *B. tabaci* se destacan: frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), melón (*Cucumis melo* L.), soya (*Glycine max* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L), chile (*Capsicum annuum* L.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), lechuga (*Lactuca sativa* L.), calabaza (*Cucúrbita máxima* Dutch), uva (*Vitis vifera* L.), sandía (*Citrulus lanatus* (Thunb.), y col (*Brassica oleracea* L.) (Morales et al., 2006). El hospedero influye en la tolerancia, principalmente debido a la resistencia natural, que es obtenida a través de las diferentes características fitoquímicas intrínsecas de cada una de las familias de plantas hospederas, proporcionando la capacidad de detoxificar mediante el uso de enzimas, al incrementar la presencia de estas (Cerna et al., 2015).

Daños e Importancia económica

B. tabaci es uno de los insectos plaga más importantes a nivel mundial (Byrne et al., 1994). Debido a que tanto ninfas como adultos causan daño directo al alimentarse, reducen el vigor de la planta (Byrne et al., 1990), provocan maduración irregular de

frutos de jitomate (Cohen *et al.*, 1992) y causan daño indirecto al excretar mielecilla que promueve el crecimiento de hongos tales como *Fumago spp*, conocidos como fumaginas, (Van Lenteren *et al.*, 1990).

Estos factores reducen significativamente el rendimiento tanto en cantidad como en calidad. El problema empeora cuando estos insectos transmiten fitopatógenos a las plantas, como es el caso de los geminivirus (Byrne *et al.*, 1990). *B. tabaci* es el vector transmisor de por lo menos 100 virus de tipo geminivirus *carlavirus*, *luteovirus*, *nepovirus*, *potyvirus* y *closterovirus* (Brown, 1994).

Durante las últimas tres décadas, la mosquita blanca, *B. tabaci*, se ha constituido como plaga primaria de cultivos hortícolas tales como chile (*Capsicum spp.*), calabacita (*Cucurbita pepo* L) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) donde ha causado pérdidas de hasta el 100% (Costa *et al.*, 1991), quizás debido a los cambios climáticos mundiales (SEPA, 2003), ambiente seco y temperatura alta (Eichelkraut *et al.*, 1989), prácticas de cultivo (Rauch *et al.*, 2003) y uso inapropiado de insecticidas (Bloch *et al.*, 1994).

En algunos cultivos, tales como tomate, la presencia de un solo adulto de mosca blanca por planta es suficiente para causar el 100% de infección con geminivirus (Faria y Wraight, 2001). Por la vasta gama de cultivos hortícolas que afecta y al daño que ocasiona de forma directa como indirecta, es causante de grandes pérdidas económicas por lo que es considerando como unas de las principales plagas del siglo XXI (Antonio *et al.*, 2001).

Alternativas de control

En México, el control legal de la mosca blanca está regulado por la Norma Mexicana NOM-081-FITO-2001, en la cual se utilizan medidas fitosanitarias que permiten la prevención, control o posible erradicación de *B. tabaci*, *Bemisia argentifoli* (Bellows y Perrings), *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), *Trialeurodes abutilonea* (Haldeman), *Tetraleurodes ursorum* (Cockerell) y *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) con el manejo y eliminación de focos de infestación, establecimiento o reordenamiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos (SAGARPA, 2002).

Un buen control de las poblaciones de *B. tabaci* se logra mediante un programa adecuado de manejo integrado, que implica la aplicación oportuna de diversos métodos

de control, entre las tácticas más empleadas se encuentran la resistencia vegetal, control cultural, control químico, control biológico y el control microbiano.

Resistencia vegetal.

Es un método que puede ser explotado por presentar un gran potencial como estrategia de manejo en un programa integrado (McAuslane, 1996). La resistencia de las plantas a insectos puede utilizarse en diversos cultivos. Varias características de las plantas pueden conferirle resistencia, tales como composición nutrimental del follaje, forma de las hojas, el número y distribución espacial de tricomas, pH, concentración de taninos y fenoles (Castro, 2006).

Cultural

En su mayoría, las prácticas culturales empleadas en el manejo de los insectos vectores es la destrucción de focos de infestación, eliminando plantas viejas después de la cosecha; la destrucción de plantas hospederas, al menos en los márgenes del cultivo y lotes adyacentes, así una buena nutrición para ayudar a reducir el efecto de las altas densidades (Avilés *et al.*, 2003).

El uso de plantas o cultivos secundarios asociados a uno o más cultivos primarios como barrera o trampa y las coberturas vivas para el combate de una plaga en el marco del manejo integrado de plagas (MIP) se ubican dentro del combate ejercido como prácticas culturales (Salas, 2004). Las prácticas agrícolas para el control de *B. tabaci* no han sido muy estudiadas y solamente algunas de ellas como la producción de plántulas en semilleros cubiertos con malla y coberturas al suelo han contribuido al manejo de este insecto (Hilje, 2002).

Control biológico

Los esfuerzos en investigación básica y aplicada se han enfocado al desarrollo de métodos alternativos de control (Quintero *et al.* 2001). Es así como el control biológico basado en el conocimiento básico y aplicado sobre los tres principales grupos de enemigos naturales: parasitoides, depredadores y hongos entomopatógenos, se presenta como una de las alternativas más promisorias (López-Ávila *et al.*, 2001).

De los seis géneros reportados como parasitoides de las moscas blancas, *Encarsia*, *Eretmocerus* y *Amitus*, son los más importantes (Vázquez, 2002; Lopez-Avila, 2001). Entre los depredadores de moscas blancas se encuentran, escarabajos (Coccinellidae), chinches (Miridae, Anthocoridae), neurópteros (Chrysopidae, Coniopterygidae), ácaros (Phytoseiidae) y arañas (Araneae). (Gerling *et al.*, 2001). Por ejemplo, *Catalinae*, *Delphastus* y *Serangiumparcesetosum* (Coccinellidae), *Macrolophus caliginosus* (Miridae), *Chrysoperla carnea* y *C. rufilabris* (Chrysopidae) (Gerling *et al.*, 2001), Cerca de 120 especies de enemigos naturales, que pertenecen a 31 familias dentro de nueve órdenes, han sido citados como enemigos naturales de *B. tabaci* en todo el mundo, incluidos los ácaros en la familia Phytoseiidae (Gerling *et al.* 2001). Y en entomopatogenos *Lecanicillium lecani* (Zimm.) atacando principalmente estados ninfales (Faria y Wright, 2001).

Control químico

La mayoría de los agricultores utilizan insecticidas de contacto de bajo costo y alta toxicidad aplicados de manera preventiva, por calendario, o cuando se nota la presencia del insecto, sin tener en cuenta que estos insecticidas, reducen las poblaciones de adultos de mosca blanca pero no afectan los huevos o estados inmaduros; esto hace que las poblaciones de adultos se recupere en pocos días, creando las condiciones necesarias para la aparición de poblaciones de mosca blanca resistentes a insecticidas (Morales *et al.*, 2006).

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

Sin embargo en estudios hechos por Rodríguez *et al.*, 2005 indican que los insecticidas modernos (neonicotinoides y reguladores de crecimiento), juegan un papel importante en el diseño de planes de control químico de *B. tabaci*, cuando se manejan adecuadamente

en programas de rotación y aplicados con criterio a niveles de población cercanos a umbrales de acción.

Resistencia

Definición de resistencia

La resistencia a insecticidas se define como ‘un cambio heredable en la sensibilidad de una población de una plaga que se refleja en repetidos fallos de un producto para alcanzar los niveles de control esperados al ser usado de acuerdo con las recomendaciones de la etiqueta para esa plaga’ (IRAC, 2015). La FAO (1957) la define como el desarrollo de la capacidad de tolerar dosis de tóxicos que serían letales para la mayoría de los individuos de una población de la misma especie; por su parte Metcalf (1989) menciona que la resistencia es el resultado de la selección intensiva, por lo que el insecto adquiere la aptitud de sobrevivir en un ambiente contaminado; Lagunes y Villanueva (1994) citan que la resistencia es 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.

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

Georghiou (1965) citado por (Badii y Garza, 2007). Clasificó la resistencia en tres tipos: por comportamiento, morfológica y fisiológica. Donde esta última según (Badii y Garza, 2007) es el tipo de resistencia más importante.

Clasificación de resistencia

Resistencia por comportamiento. Se presenta en especies muy hiperactivas, un indicador es la preferencia para descansar en áreas no tratadas, o bien la tendencia de detectar el insecticida y tratar de evitarlo (Carrillo, 1984) estos cambios pueden implicar una menor tendencia a entrar en las casas rociadas o una mayor tendencia a alejarse de

las superficies tratadas una vez que se hace el contacto. Se trata de un mecanismo de resistencia menor en comparación con los otros mecanismos (Hemingway & Ranson, 2005)

Resistencia morfológica. Se presenta cuando alguna característica morfológica ocasiona la resistencia, por ejemplo, una menor área de exposición al tóxico (Carrillo, 1984) o como un mecanismo físico dado por la formación de estructuras cuticulares, que no permiten que el tóxico penetre la cutícula del insecto, la velocidad de penetración dependerá de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del integumento del insecto, la cual varía considerablemente entre los estadios de vida (Barbera, 1989).

Resistencia fisiológica. Con fines de manejo, este tipo de resistencia se agrupa en mecanismos metabólicos y no metabólicos (Badii y Garza, 2007).

Resistencia metabólica. Por la adición de sistemas enzimáticos, donde los insecticidas son metabolizados y transformados en productos menos tóxicos (Lagunes y Villanueva, 1994). Las enzimas responsables para la destoxificación en los organismos son transcritas por Esterasas, Oxidasas y Glutación S-Transferasas (GST) (Flores *et al.*, 2001).

Resistencia no metabólica. Por la insensibilidad en el sitio de acción, resistencia al derribo, Acetilcolinesterasa Insensible, penetración reducida, mayor almacenamiento y Excreción (Vais *et al.*, 1997). Al respecto Lagunes y Villanueva (1994) señalan que estos mecanismos no dependen del metabolismo del insecto, pero por su participación, algunos insectos son capaces de producir altos niveles de resistencia a los productos químicos.

Determinación de resistencia

Para identificar las causas de los fenómenos de resistencia, se requiere el estudio de los mecanismos bioquímicos que la confieren, así como del grado de selección de los mismos. En cambio, para determinar los cambios en la susceptibilidad a un principio activo, basta con someter un grupo representativo de una población de la plaga a bioensayos toxicológicos (Robertson y Preisler, 1992) citados por (Stadler, 2009)

Como consecuencia, la resistencia profiere cambios genéticos alterando procesos bioquímicos a nivel individual, se hace notable en una población cuando la proporción

de resistencia sea tal, que se refleje en una falla en el control (Devonshire, 1990), convencionalmente se puede detectar la resistencia mediante:

Bioensayos

Conocidos también como pruebas de susceptibilidad, son técnicas de laboratorio basado en la dosis-mortalidad (Lagunes y Villanueva, 1994), donde se pretende por medio de un proceso experimental conocer la efectividad biológica del plaguicida, determinando la magnitud del estímulo mediante la respuesta del insecto (Hubert, 1980), generalmente involucran comparaciones de la DL_{50} , DL_{90} o de la concentración letal (Twine y Reynolds, 1980).

Métodos bioquímicos

Son técnicas sensitivas y precisas que proporcionan información de los mecanismos involucrados, los cuales pueden ser adaptados para detectar y monitorear la resistencia (Brown y Brogdon, 1987); generalmente correlacionan niveles de una enzima o una reacción enzimática específica, pudiendo ser cualitativos o cuantitativos, generalista o altamente específicos (Lagunes y Villanueva, 1994).

Pruebas bioquímicas.- son ensayos múltiples que permiten analizar a una población de insectos cuantificando los niveles de una reacción enzimática (Brown y Brogdon, 1987). Desarrollados para cuantificar niveles de Esterasas (Brogdon y Dickinson, 1983), Acetilcolinesterasa (Devonshire y Moores, 1984), Glutation S-Transferasas (Brogdon y Barber, 1990) y oxidasas (Brogdon *et al.*, 1997).

Descripción de insecticidas utilizados

Pymetrozine. Grupo Toxicológico Pimetrocina. Bloqueadores selectivos de la alimentación de homópteros. Modo de Acción no definido completamente, causa inhibición selectiva en la alimentación de pulgones y mosca blanca (IRAC, 2015).

Buprofezin. Grupo Toxicológico Tiadiazinas. Inhibidores de la biosíntesis de quitina, tipo 1. Modo de Acción no completamente definido que causa inhibición de la biosíntesis de quitina en una serie de insectos, incluyendo mosca blanca (IRAC, 2015).

Imidacloprid. Grupo Toxicológico Neonicotinoides. Agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina. Imitan la acción agonista de la acetilcolina en el receptor, provocando

hiperexcitación. La acetilcolina es el principal neurotransmisor excitador en el sistema nervioso central del insecto (IRAC, 2015)

Spirotetramate. Grupo Toxicológico Derivados de los ácidos Tetrónicos y Tetrámicos. Inhibidores de la acetil CoA carboxilasa. Inhiben la coenzima acetil A carboxilasa, que forma parte del primer paso de la biosíntesis de los lípidos, causando la muerte del insecto (IRAC, 2015).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Toxicología de insectos y en el Laboratorio de Parasitología Molecular, ambos del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista Saltillo, Coahuila, México. Y en el laboratorio de Toxicología de Campo Experimental las Huastecas (CEHUAS) del INIFAP. Ubicado en el Km. 55 de la carretera Tampico-Mante. Altamira. Tamaulipas.

Colecta del material biológico

Se realizaron colectas en las parcelas del Campo Experimental Las Huastecas (CEHUAS), en el mes de Septiembre de 2014 sobre cultivo de soya (*Glycine max* L), y en el mes de Marzo del 2015 se realizaron colectas en las comunidades Ejido Esteros (ESTEROS), Brecha de Corpus Cristi (CORPUS) y Ejido el Fuerte (FUERTE), en cultivos de soya (*Glycine max* L), tomate (*Solanum lycopersicum* L) y coliflor (*Brassica oleracea* L). Para cada sitio se recolectaron hojas del primer tercio inferior en el caso de soya y tomate, y las hojas mas viejas en coliflor, siempre buscando que estuvieran infestadas con ninfas de *B. tabaci*

El material biológico recolectado se colocó dentro de bolsas de papel y posteriormente se colocaron en hieleras de unicel las cuales mantenían una temperatura de 22°C +- 2°C, en donde fueron trasladadas al laboratorio de toxicología del CEHUAS, para la realización de los bioensayos de toxicología.

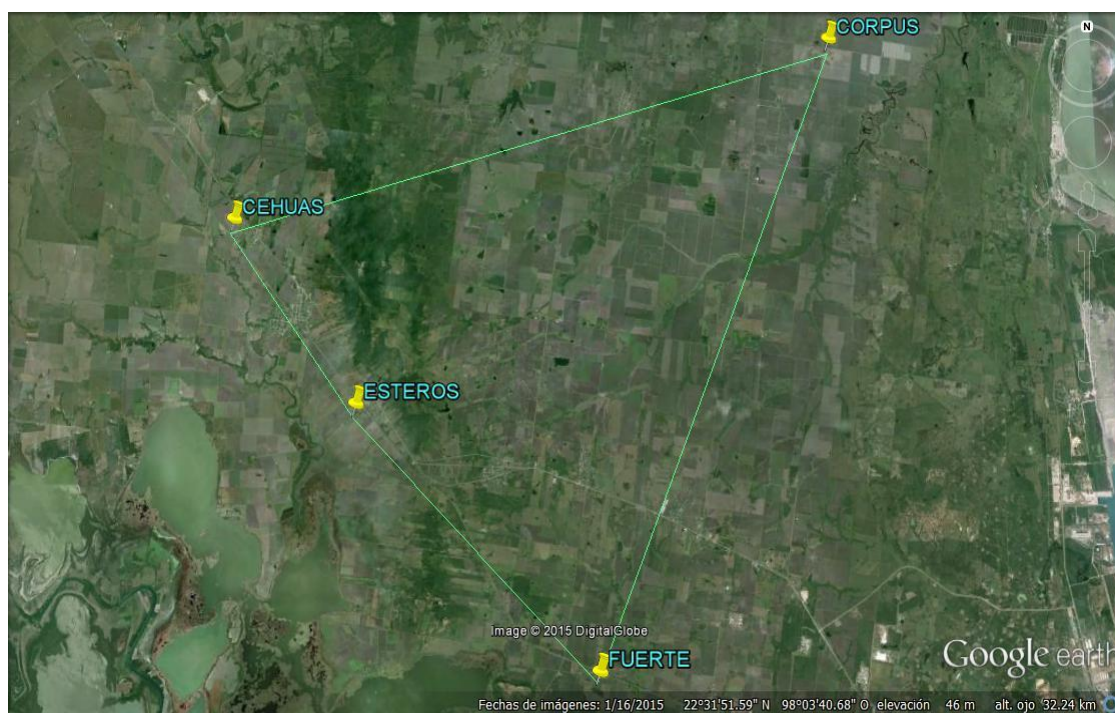
De las muestras recolectadas en cada sitio, se tomaron ninfas con ayuda de una espátula y pincel y se depositaron dentro de tubos de Eppendorf de 2 ml. Mismos que se mantuvieron en refrigeración para su traslado a los Laboratorio de Toxicología de insectos y al Laboratorio de Parasitología Molecular, ambos del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), para la cuantificación de enzimas.

Para cada localidad se obtuvo su ubicación geográfica mediante Google Earth Ink, ubicando las coordenadas y altitud, las distancia entre poblaciones van de 7.06 km a 20.30 km

Cuadro 1. Coordenadas de los cuatro sitios colectados en Altamira. Tamaulipas.

Localidad	N	O	MSNM	hospedero
CEHUAS	22°34'7.29"N	98°10'20.31"O	17	Soya
ESTEROS	22°30'58.74"N	98° 7'52.86"O	15	Coliflor
FUERTE	22°26'36.13"N	98° 3'10.10"O	12	Tomate
CORPUS	22°37'17.70"N	97°58'34.14"O	12	Tomate

Figura 1. Mapa de la ubicación de las cuatro poblaciones colectadas.



Insecticidas utilizados

Se utilizaron cuatro insecticidas todos de diferente grupo toxicológico, que fueron: Pymetrozine 500 g de i.a. kg^{-1} , (Triazinona asimétrica), Buprofezin 445.92 g de i.a L^{-1} , (Tiadiazina), imidacloprid 350 g de i.a. L^{-1} , (Neonicotinoide) y spirotetramate 150 g de i.a. L^{-1} , (Derivados de los Ácidos Tetrónicos y Tetrámicos), por ser los más utilizados en la zona para el control de mosca blanca.

Realización de bioensayos

Se utilizó el método de inmersión de la hoja descrito para ninfas de mosca blanca con ligeras modificaciones (IRAC, 2009). Para ello, las hojas provenientes de cada población se seleccionaron y cortaron círculos con ayuda de un sacabocado de 2.2 cm de diámetro, cada círculo contenía al menos entre 15 y 35 ninfas de cuarto estadio con el indicativo de ojos rojos; los círculos se sumergieron durante cinco segundos en la concentración respectiva de insecticida. Posteriormente se dejaron secar en papel absorbente y se colocaron dentro de cajas Petri de 7.5 cm de diámetro, donde previamente se colocó papel filtro humedecido, las condiciones del bioensayo se realizaron a nivel laboratorio con condiciones controladas de 24 ± 2 °C de temperatura, 70 % de H.R. y 12:12 horas luz: oscuridad.

Diluciones. Se establecieron seis concentraciones de cada insecticida para cada población con tres repeticiones. El intervalo de concentraciones utilizadas fue: Pymetrozine 50, 500, 1000, 1500, 2000 y 2500 ppm, Buprofezin 20, 50, 200, 500, 1000 y 1500 ppm, Imidacloprid 50, 500, 1000, 2000, 2500 y 3000 ppm, Spirotetramate 10, 50, 200, 500, 800 y 1200 ppm, además se contó con un testigo el cual consistió solamente en agua. Para la preparación de las diferentes concentraciones se utilizó agua destilada.

Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 h. Se consideró ninfa muerta aquella que estaba deshidratada o no reaccionaba al estímulo del pincel. El máximo nivel de mortalidad aceptable para el testigo fue del 10%; la mortalidad ocasionada por los diferentes insecticidas fue corregida por la mortalidad en el testigo mediante la fórmula de Abbott (1925). Una vez estimados los valores de Concentración Letal 50 (CL_{50}) de cada insecticida por población.

Análisis estadístico

Los datos de mortalidad obtenidos se analizaron a través de un análisis Probit, mediante el método de máxima verosimilitud (Finney, 1971), utilizando el programa SAS System para Windows Ver 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). La Proporción de Resistencia (PR) para cada población se calculó, tomando como el cociente el valor más bajo de CL50 en cada uno de los insecticidas (Cerna *et al.*, 2009).

Cuantificación de proteína

Para conocer la cantidad de proteína total se empleó la metodología descrita por Brogdon (1984). Dicho método consiste en cuantificar una proteína de referencia “Albumina sérica bovina” (BSA) para la obtención de una curva estándar, donde se consideraran los datos comprendidos entre 80 y 140 $\mu\text{g/mL}$ de proteína. Para la cuantificación de proteína se realizó por colorimetría, a través del Kit II de Bio-Rad (Bio-Rad México) para la cuantificación de proteína, 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 pozos de fondo plano (Bio-Rad México).

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

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

Lectura de absorbancias.- Se empleó una microplaca de 96 pozos, en cada cavidad se colocaron 20 μL de homogenato, se agregaron 80 μL de buffer (KPO_4) y 200 μL de

colorante diluido, estos pasos se realizan por triplicado para cada repetición. Consecutivamente se colocaron en el lector de placas obteniendo los valores de absorbancia con un filtro de 630 nm, sin filtro diferencial.

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

Pruebas bioquímicas

Prueba de Esterasas

Para determinar la presencia de Esterasas se prepararon dos reactivos utilizando acetato de α -naftil o acetato de β -naftil, para Alpha Esterasas o Beta Esterasas respectivamente.

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

Lectura de absorbancias.- En cada pozo de la microplaca, se colocaron 100 μL del homogenato de insectos, se agregó 100 μL de acetato de β -naftil, se dejó incubar por 10 minutos, pasado el tiempo, agregando 100 μL de Dianisidina, estos pasos se realizan por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones, se dejaron incubar durante dos minutos y se leyó en el lector de placas usando un filtro de 540 nm. Una vez obtenidas las lecturas de absorbancias, se promedian según su muestra y su repetición para el análisis de resultados. Se emplearon los pozos E1, E2, E3 como control positivo donde

se agregó 300 μL de β -naftil a cada uno y E4, E5, E6 para control negativo agregando 300 μL de buffer (KPO_4).

Prueba de reacciones de oxidasa

Mide los niveles de peroxidasas.

Preparación de reactivos.- Buffer de Acetato de Na (0.25 M): se disolvió 16.6 mL de 3M Sodium Acetate en 180 mL de H_2O esterilizada, después se aforó a 200 mL, ajustando el pH 5.0 adicionándole ácido acético glacial. Para el TMBZ, se disolvió 50 mg de 3,3', 5,5'- Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride, en 25 mL de Metanol, agregando 75 mL de 0.25 M Na Acetate buffer, se dejó disolver durante varios minutos. Por último para el Cytochrome-C: se pesaron 10 mg de Cytochrome-C (de corazón de bovino) y fueron disueltos en 100 mL de Buffer de Acetato de Na (0.25 M) pH 5.

Lectura de absorbancias.- Se colocaron 100 μL del homogenato de insectos, se agregan 200 μL de TMBZ, agregado una gota (25 μL) de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 3%, estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones, se dejó incubar por cinco minutos, pasado el tiempo se leyó en el lector de placas usando un filtro de 620 nm. Una vez obtenidas las lecturas de absorbancias, se promediaron según su muestra y repetición para el análisis de resultados. Se emplearon los pozos E1, E2, E3 como control positivo donde se agregó 300 μL de Cytochrome-C a cada uno y E4, E5, E6 para control negativo agregando 300 μL de buffer (KPO_4).

Prueba Glutathion S-transferasa

Mide los niveles de Glutathion S-transferasa presentes.

Preparación de reactivos.- Reduced glutathione: se disolvieron 61 mg de reduced glutathione en 100 mL de buffer (KPO_4). Para cDNB, fueron disueltos 20 mg de 1-chloro-2,4'-dinitrobenzene en 10 mL de Acetona y se agregaron 90 mL de buffer (KPO_4); este reactivo es viable de tres a cuatro días a 4 °C.

Lectura de absorbancias.- se colocaron 100 μL del homogenato de insectos, se agregaron 100 μL de Reduced glutathione, y 100 μL de cDNB, estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones, se corrió inmediatamente (T_0) en el lector de placas usando un filtro de 340 nM, se volvió a correr transcurridos

cinco minutos (T_5). Las lecturas de absorbancias, se promediaron según su muestra y su repetición en donde se tomaron en cuenta las diferencias de ambos tiempos ($T_5 - T_0$) para el análisis de resultados. En esta prueba en particular no se contemplan controles, tanto los positivo como los negativos por lo que se dejaron los espacios vacíos.

Prueba de acetilcolinesterasa

Mide la cantidad de acetilcolinesterasa presente.

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

Lectura de absorbancias.- Se colocaron 100 μ L del homogenato de insectos, se agregaron 100 μ L de ATCh y 100 μ L de DNTB, estos pasos se realizan por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones, se corrieron inmediatamente (T_0) en el lector de placas usando un filtro de 414 nm, se volvió a correr transcurridos 10 minutos (T_{10}). Las lecturas de absorbancias se promediaron según su muestra y su repetición en donde se tomaron en cuenta las diferencias entre ambos tiempos ($T_{10} - T_0$) para el análisis de resultados. Se emplearon los pozos E1, E2, E3 y E4, E5, E6 para control negativo, los cuales se les agregó 300 μ L de buffer (KPO_4) a cada uno.

Análisis estadístico

Los resultados para obtener las proporciones de resistencia se analizaron mediante el método gráfico, para poder referenciar las poblaciones respecto a su contenido de enzimas cuantificadas en absorbancias, posteriormente se obtuvieron los porcentajes de la proporción de resistencia para cada enzima en cada población. En ausencia de una línea susceptible, se tomó como referencia un umbral que se estableció en base a la media entre el valor máximo y el mínimo (Jiménez *et al.*, 2010; Cerna *et al.*, 2013), obteniendo por lo consiguiente los porcentajes totales de proporción de resistencia a nivel región.

Con la finalidad de conocer la variación entre los individuos de cada localidad, como entre las poblaciones, los resultados se analizaron estadísticamente mediante el Software SAS System for Windows 9.0, utilizando un diseño en bloques completamente al azar,

se realizó un análisis de varianza con un 0.05 % grado de significancia y comparaciones de medias mediante el método de “Tukey”.

Los análisis estadísticos ayudaron a determinar la enzima prioritaria, tanto las diferencias entre ellas, como entre poblaciones, así como la distribución de la resistencia en las diferentes poblaciones; la proporción de resistencia se clasificó mediante la escala propuesta por Montella *et al.*, (2007) con pequeñas modificaciones para contrastar los resultados, “inalterado” de 0-5 %, “incipientemente alterado” 6-30 %, “moderadamente alterado” de 30-50%, “alterado” de 51-75 %, “muy alterado” de 76-100 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de los bioensayos

El insecticida más tóxico fue el spirotetramate, seguido del buprofezin y finalmente el imidacloprid y por último el pymetrozine. En el Cuadro 2, se muestran los valores de CL_{50} para el insecticida Pymetrozine correspondientes a las cuatro poblaciones, la población con el valor de CL_{50} más bajo fue el FUERTE, y es diferente a las demás poblaciones ya que no existe traslape de los límites fiduciales, con una CL_{50} de 521.49 (382.64 – 683.47) ppm, después se ubicó la población ESTEROS con una CL_{50} de 1165 (312.07 – 13193) ppm, seguido de la población CEHUAS con una CL_{50} de 1172 (985.94 – 1400) ppm y finalmente la CL_{50} más elevada la obtuvo la población CORPUS con un valor de 2025 (1338 – 3726) ppm. Estas tres últimas poblaciones resultaron iguales para este producto ya que sus límites fiduciales se traslapan.

Cuadro 2. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Pymetrozine en cuatro poblaciones de *B. tabaci*.

Población	n	g.l.	CL_{50}	PR	L. Fiduciales 95%	CL_{10}	CL_{90}
CEHUAS	378	5	1172	2.25	985.94 - 1400	162.06	8469
ESTEROS	210	5	1165	2.23	312.07 - 13193	50.89	26665
CORPUS	210	5	2025	3.88	1338 - 3726	16.15	254033
FUERTE	210	5	521.49	1	382.64 – 683.47	19.90	13667

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

Para el insecticida Buprofezin, en el Cuadro 3, se observan los valores de CL_{50} , correspondientes a cada una de las cuatro poblaciones, en este caso, la población que presentó el valor de la CL_{50} más bajo fue CEHUAS con 51.53 (35.60 – 69.57) ppm, y fue diferente a las otras poblaciones; seguida se ubica la población de ESTEROS con 207.79 (134.45 – 310.27) ppm, después se ubicó la población CORPUS con una CL_{50} de 237.68 (182.63 – 308.51) ppm y el valor más alto se obtuvo para la población FUERTE con una CL_{50} de 375.99 (267.69 – 549.79) ppm. Estas últimas tres poblaciones resultaron iguales para este insecticida ya que sus límites fiduciales traslapan.

Cuadro 3. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Buprofezin en cuatro poblaciones de *Bemisia tabaci* (Gen.).

Población	n	g.l	CL ₅₀	PR	L. Fiduciales 95%	CL ₁₀	CL ₉₀
CEHUAS	390	5	51.53	1	35.60 – 69.57	2.702	982.65
ESTEROS	210	5	207.79	4.03	134.45 – 310.27	23.706	1821
CORPUS	210	5	237.68	4.61	182.63 – 308.51	11.152	5066
FUERTE	210	5	375.99	7.30	267.69 – 549.79	5.911	23915

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

Para el insecticida Imidacloprid, en el Cuadro 4, se muestran los valores de CL₅₀, correspondientes a las cuatro poblaciones, el valor de CL₅₀ más bajo se encontró en la población del CEHUAS con 547.27 (985.94 – 1400) ppm, seguida por la población del FUERTE con una CL₅₀ de 1075 (145.96 – 16785) ppm, después se ubica la población CORPUS con una CL₅₀ de 1170 (873.26 – 1597) ppm, y por último la población ESTEROS fue la que presentó el valor de CL₅₀ más alto con 1268 (909.80 – 1837) ppm. Las cuatro poblaciones resultaron iguales ya que existe traslape de los límites fiduciales.

Cuadro 4. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Imidacloprid en cuatro poblaciones de *B. tabaci*.

Población	n	g.l.	CL ₅₀	PR	L. Fiduciales 95%	CL ₁₀	CL ₉₀
CEHUAS	424	5	547.27	1	985.94 - 1400	162.06	8469
ESTEROS	210	5	1268	2.32	909.80 - 1837	21.14	76096
CORPUS	210	5	1170	2.14	873.26 - 1597	33.36	41000
FUERTE	210	5	1075	1.96	145.96 - 16785	20.97	55140

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

En el Cuadro 5, se muestran los resultados de la CL₅₀ para el insecticida Spirotetramate, El valor más alto se obtuvo de la población FUERTE con una CL₅₀ de 109.30 (39.70 – 227.58) ppm, seguida de la población CORPUS con una CL₅₀ 103.57 (43.61 – 196.08)

ppm, posteriormente se ubica la población ESTEROS con una CL_{50} de 77.71 (47.74 – 115.45) ppm y la CL_{50} más baja se observó en la población del CEHUAS la cual obtuvo un CL_{50} de 36.88 (26.05 – 49.34) ppm. Las cuatro poblaciones resultaron iguales ya que existió traslape entre sus límites fiduciales.

Cuadro 5. Concentraciones letales medias, límites de confianza y proporción de resistencia a Spirotetramate en cuatro poblaciones de *B. tabaci*.

Población	n	g.l.	CL_{50}	PR	L. Fiduciales 95%	CL_{10}	CL_{90}
CEHUAS	485	5	36.88	1	26.05 – 49.34	2.347	579.70
ESTEROS	210	5	77.71	2.11	47.74 – 115.45	0.720	8392
CORPUS	210	5	103.57	2.81	43.61 – 196.08	9.157	1171
FUERTE	210	5	109.30	2.96	39.70 – 227.58	4.529	2638

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

Discusión de los bioensayos

En relación a los resultados para Pymetrozine se puede mencionar que la población del FUERTE, con una CL_{50} de 521.49 ppm, fue la más baja con respecto a las otras tres poblaciones, las cuales presentaron valores de CL_{50} de 1165, 1172 y 2025 ppm para las poblaciones ESTEROS, CEHUAS y CORPUS respectivamente, esta última presentó la PR más alta con 3.88X. Al respecto (Aguilar *et al.*, 2007) reportan valores de CL_{50} para poblaciones de Baja California, Sinaloa y una población susceptible de 78,9; 101,5 y 3,9 ppm respectivamente, todos los valores reportados están por debajo a los encontrados en esta investigación. Santillán *et al.* (2014) reportan, para poblaciones de campo procedentes de Nayarit valores de 97.8, 84.4, 178, 152 y 203.9 ppm, con RR_{50} de 2.1^X, 1.8^X, 3.8^X, 3.2^X y 4.3^X, en el mismo orden, todos ellos también por debajo de los obtenidos en esta investigación. En otra investigación (Aguilar *et al.*, 2007) encontraron resistencia a pymetrozine en dos poblaciones evaluadas con una PR_{50} de 20.2^X y 26^X para las poblaciones de Baja California y Sinaloa respectivamente, caso contrario a esta investigación, que en ninguna de las poblaciones el factor de resistencia superó el 10X. Los resultados para Buprofezin muestran que la población más susceptible fue la de CEHUAS ya que su CL_{50} fue de 51.53 ppm. Los resultados para las otras poblaciones

fueron de 207.79, 237.68 y 375.99 ppm, para ESTEROS, CORPUS y FUERTE respectivamente. Presentando la PR más alta de 7.2X la población FUERTE, al respecto Caballero *et al.* (2013) reportaron una CL_{50} de 0.44 ppm para una población de campo. Cahill *et al.* (1996) mencionan una CL_{50} de 0.53 ppm de buprofezin en una población de referencia. Ambos resultados se encuentran por debajo de los obtenidos en este estudio. Sin embargo los valores de proporción de resistencia son muy bajos por lo que esta población se puede considerar, susceptible a este insecticida.

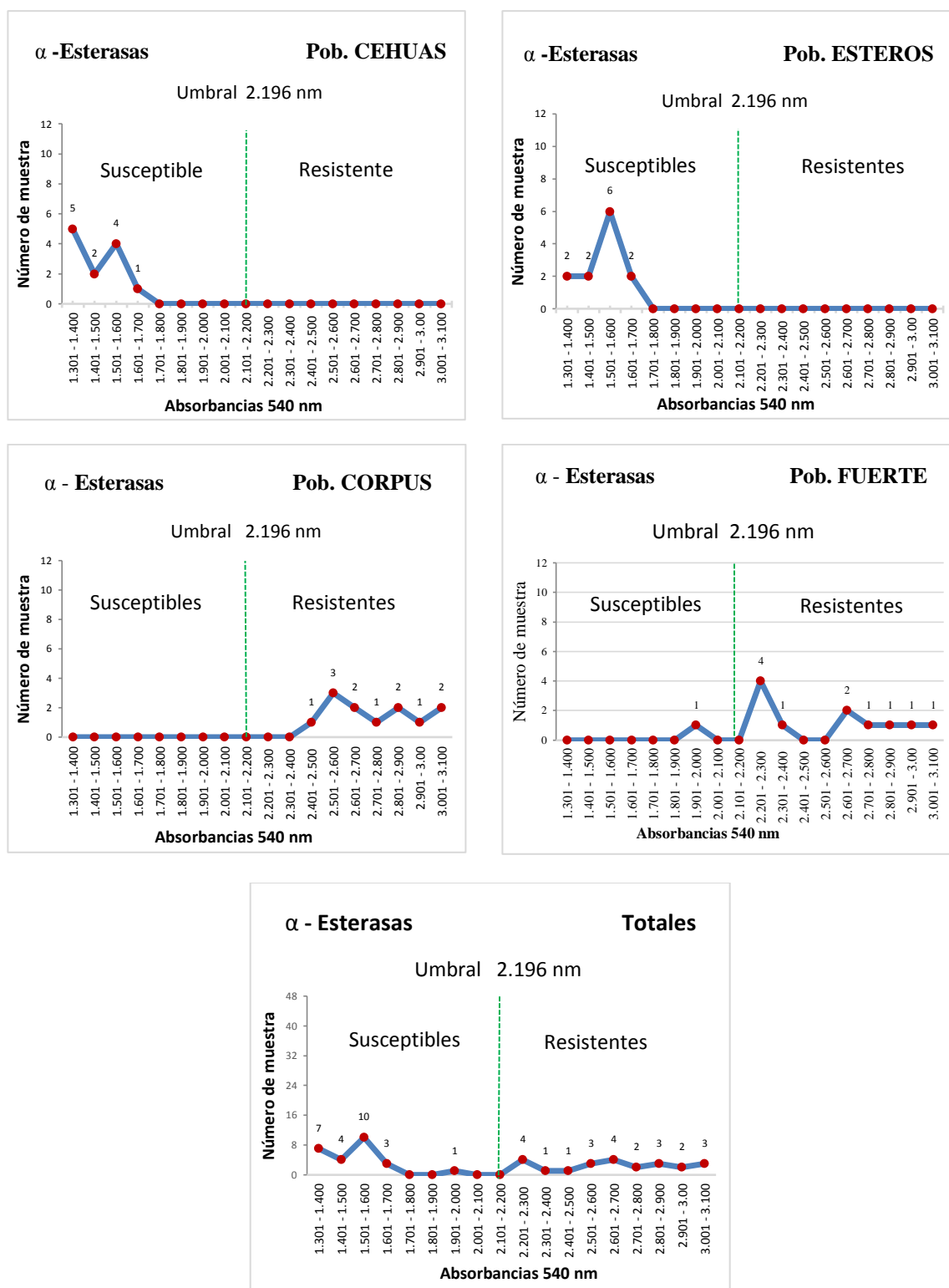
En relación al insecticida imidacloprid, La población del CEHUAS obtuvo una CL_{50} de 547.27 ppm, siendo este el valor más bajo para las cuatro poblaciones, el resto de las poblaciones obtuvieron 1075, 1170 y 1268 ppm para el FUERTE, CORPUS y ESTEROS respectivamente. La población ESTEROS fue la que presentó la PR más elevada con 2.31X. Al respecto Gutiérrez *et al.*, (2007) reportan en una población de *B. tabaci* de Ciudad del Maíz, San Luis Potosí, que la resistencia a los insecticidas imidacloprid, bajo condiciones de laboratorio, decreció de 8.1 a 2.4X y a thiametoxam de 6.9 a 2.8X en tres y cuatro generaciones libres de presión de selección. Por lo tanto (Gutiérrez *et al.*, 2007) mencionan que la resistencia en *B. tabaci* a imidacloprid y thiamethoxam es inestable en esa región, por tal motivo no presenta problemas de altos valores de proporción de resistencia. Al respecto Caballero *et al.*, (2013) reportan CL_{50} de 0.50 ppm de Imidacloprid en poblaciones de campo del sur de Florida,

Para el insecticida Spirotetramate la población del CEHUAS obtuvo una CL_{50} de 36.88 ppm, el resto de las poblaciones ESTEROS, CORPUS Y FUERTE obtuvieron CL_{50} 77.71, 103.57 y 109.30 ppm respectivamente. La PR más alta fue la obtenida en la población ESTEROS con 2.31X, (Nauen *et al.*, 2008), reportaron CL_{50} de 0.49 ppm de Spirotetramate en una población colectada en México con un PR_{50} 1.9X con respecto a una población susceptible. Estos valores son inferiores a los obtenidos en este estudio.

Resultados de las pruebas bioquímicas.

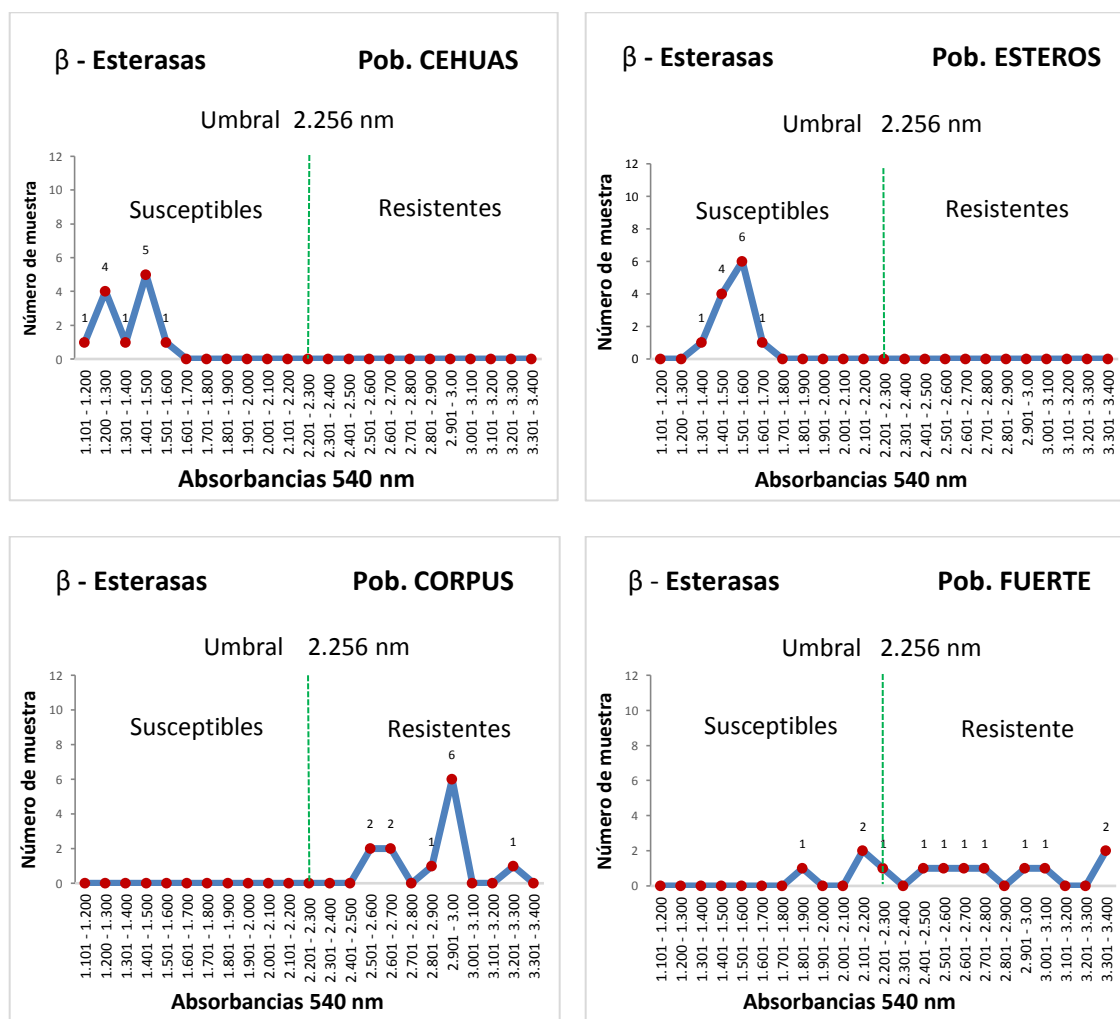
A continuación se muestran los resultados obtenidos, analizados mediante la comparación de gráficas para cada enzima en particular y sus respectivas repeticiones; estadísticamente se obtuvieron sus análisis de varianza y posteriormente la comparación de medias. Cabe mencionar que las absorbancias e intervalos de frecuencia se incluyen el apéndice.

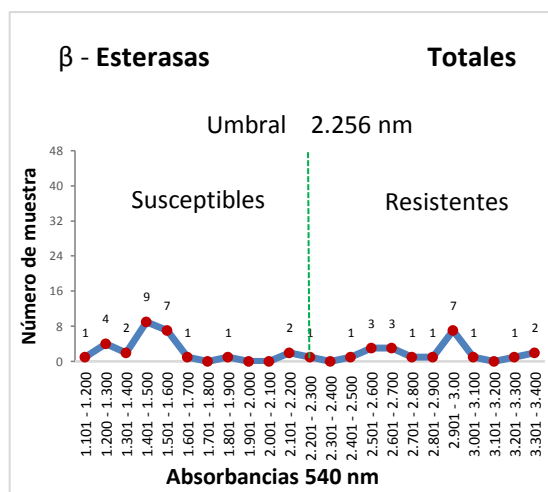
Figura 2. Contenido de α -Esterasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.



Respecto a la Figura 2, las poblaciones registraron moderado contenido de α -Esterasas, dado que en las poblaciones CEHUAS y ESTEROS la susceptibilidad fue del 100 %, y las poblaciones CORPUS y FUERTE presentaron 100 y 92 % de susceptibilidad respectivamente, en general la actividad enzimática se considera “Moderadamente alterada” al presentar un 48 % de proporción de resistencia.

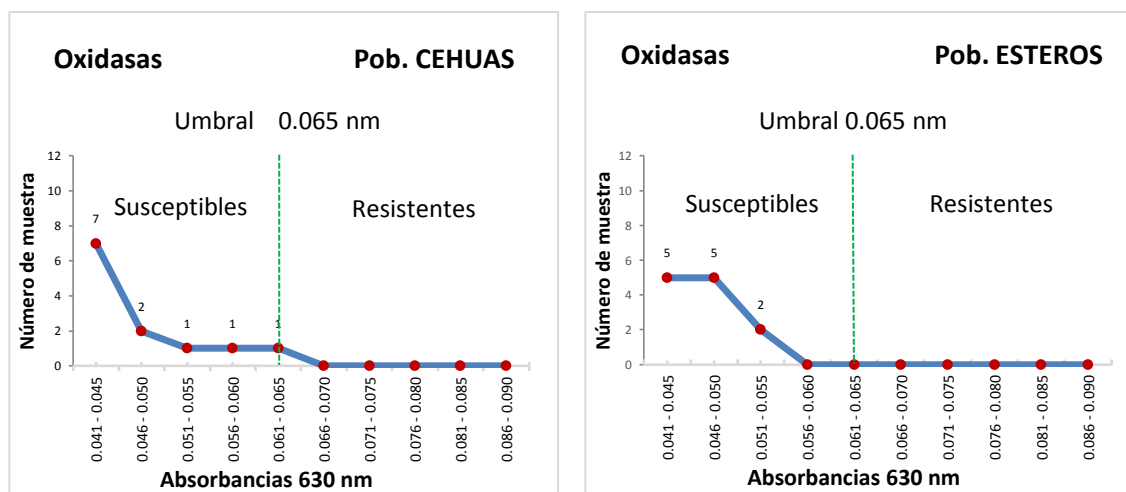
Figura 3. Contenido de β -Esterasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.

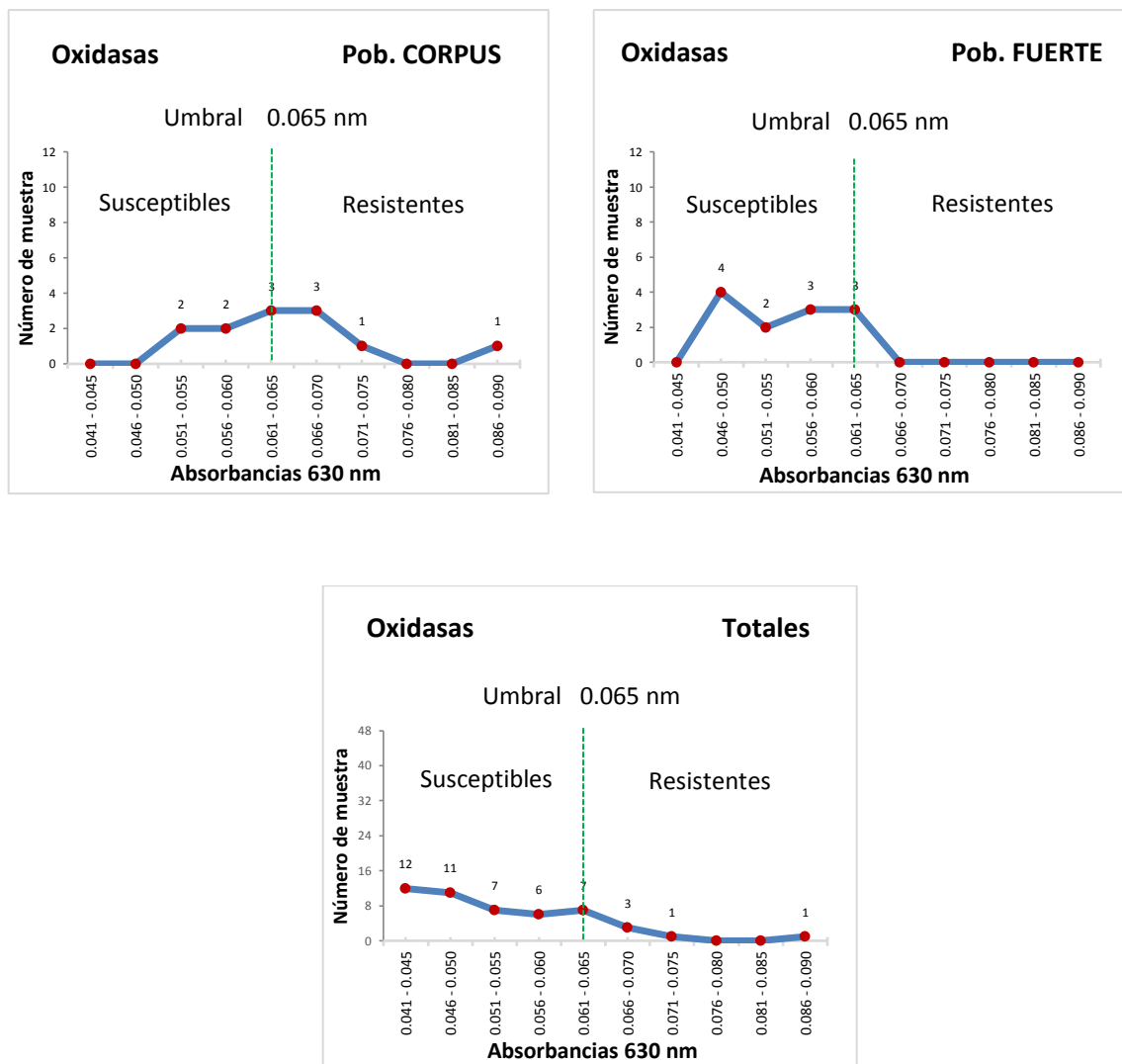




Analizando el conjunto de gráficas de la de Figura 3, se observa que las poblaciones: CORPUS y FUERTE presentaron mayor contenido de β -Esterasas, registrando 100 y 67 % de proporción de resistencia respectivamente, en las poblaciones CEHUAS y ESTEROS las lecturas de absorbancia no superaron el umbral de referencia, resultando un total de 41.67 % de proporción de resistencia para todas las poblaciones, por lo que la actividad enzimática se considera “Moderadamente alterado”.

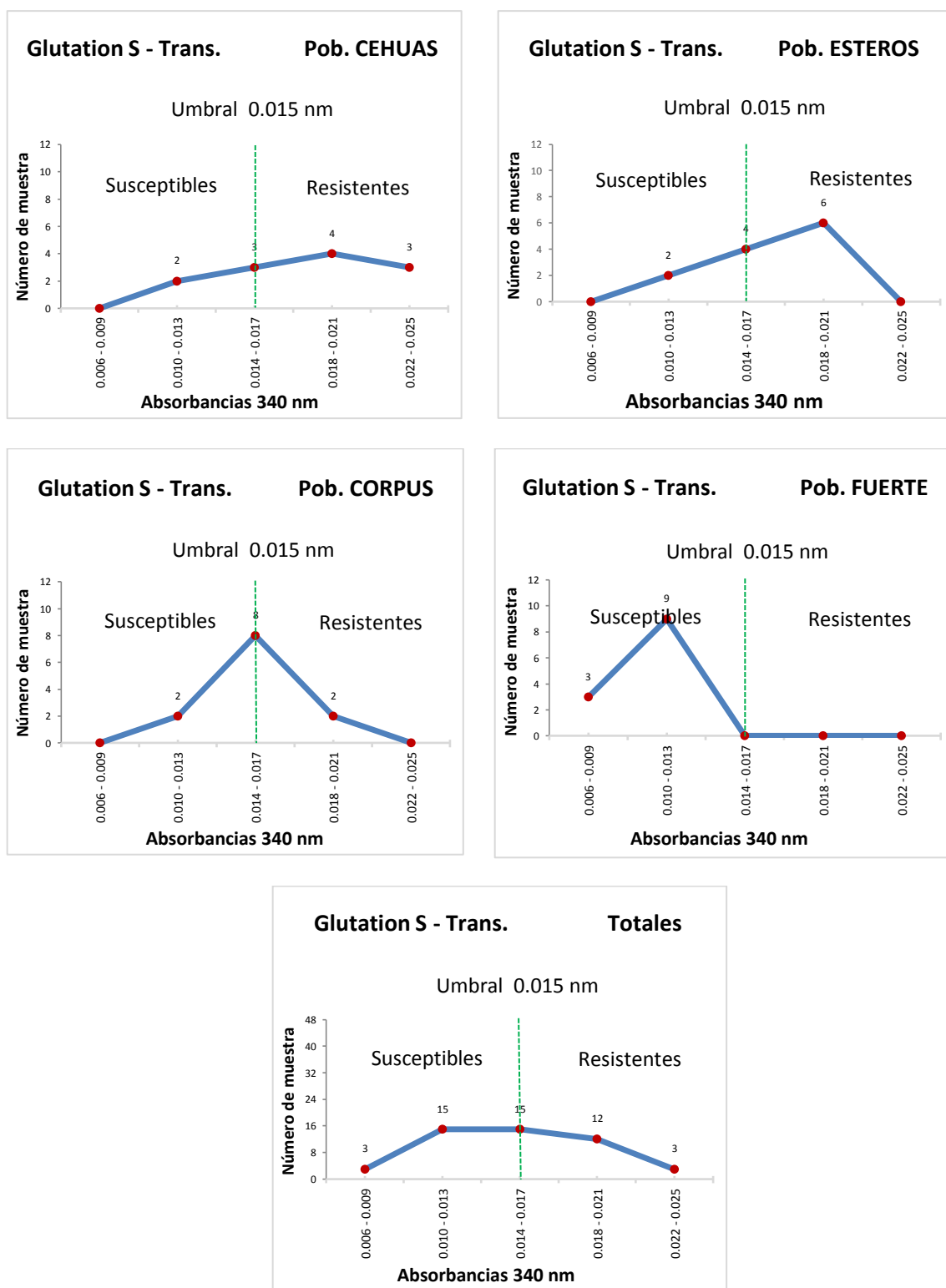
Figura 4. Contenido de Oxidasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.





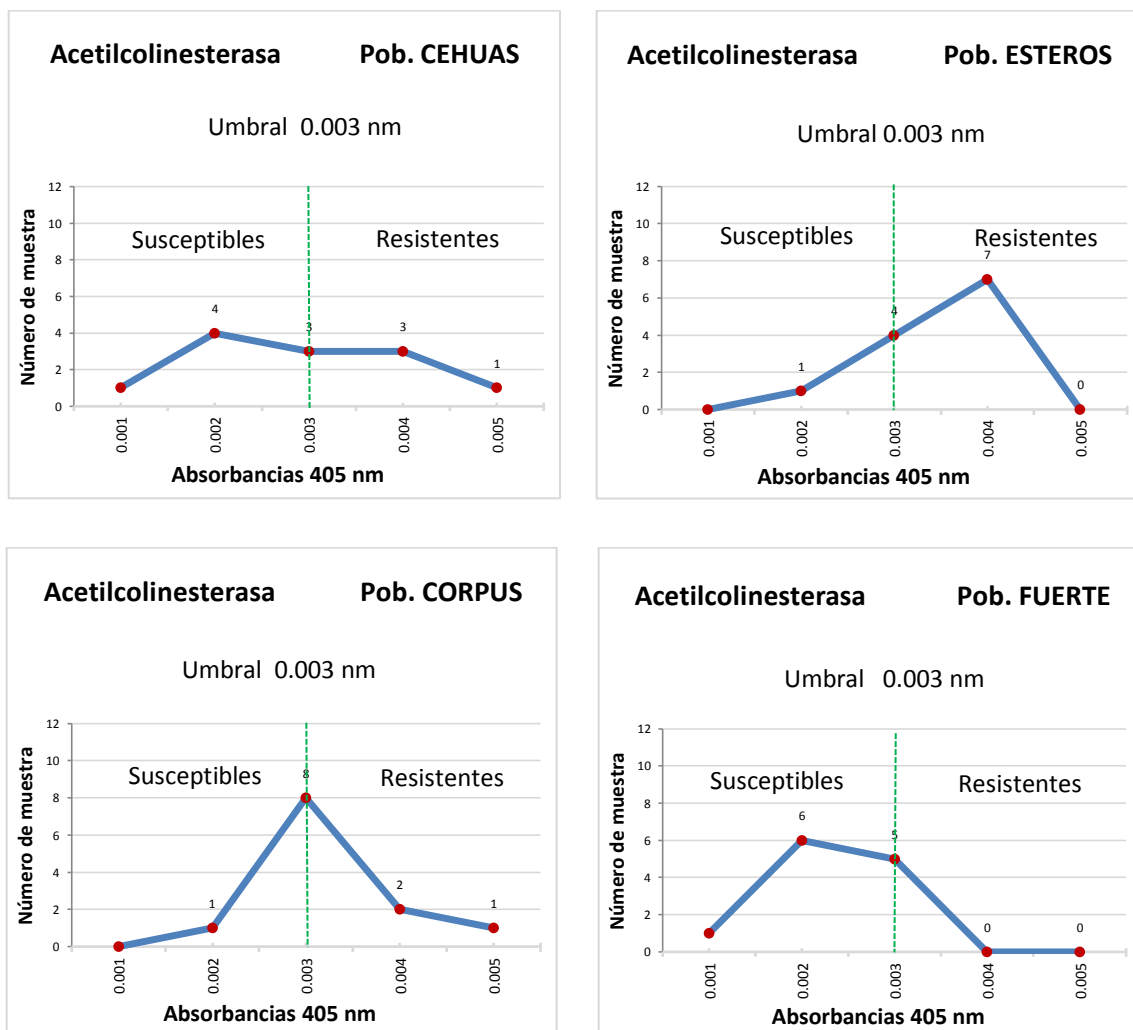
Como podemos observar en el conjunto de gráficos en la Figura 4, la mayoría de las poblaciones se encuentran por debajo del umbral de resistencia, solo la población CORPUS registro un 41.67 %, encontrándose tan solo un 10.42 % de proporción de resistencia entre todas las poblaciones. Por lo que se considera que la resistencia se encuentra “Incipientemente alterada”

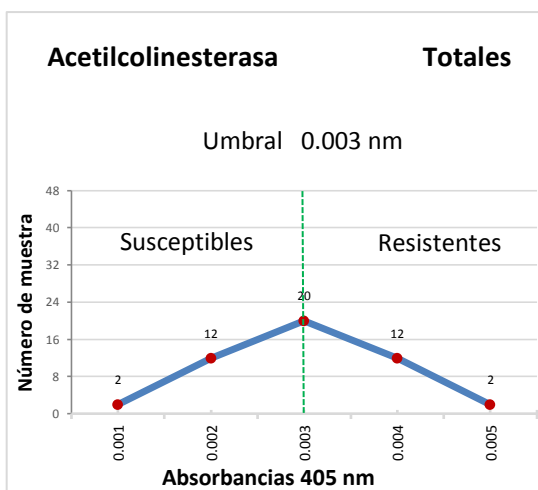
Figura 5. Contenido de Glutation S - Transferasas en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.



Respecto a la Figura 5 se observó que la mayoría de las poblaciones presentaron altas proporciones de resistencias, al registrar las poblaciones 58, 50 y 17 % en las poblaciones CEHUAS, ESTEROS y CORPUS, registrando en general una proporción de resistencia de 31 % por lo cual se considera “moderadamente alterado”.

Figura 6. Contenido de Acetilcolinesterasa en las cuatro poblaciones respecto al umbral de referencia.





En relación al contenido de acetilcolinesterasas en la Figura 6, destacan las poblaciones: CEHUAS, ESTEROS y CORPUS, las cuales presentaron elevada cantidad de acetilcolinesterasa, 33.58 y 25 % superando el umbral establecido. En conjunto se obtuvo un 29 % de proporción de resistencia, la actividad enzimática se considera “Incipientemente alterada”.

Cuadro 6. Porcentajes de resistencia de cada enzima en todas las poblaciones.

Pob.	α - Est	β - Est	Oxid	GST	ATChE
CEHUAS	0.00	0.00	0.00	58.33	33.33
ESTEROS	0.00	0.00	0.00	50.00	58.33
CORPUS	100.00	100.00	41.67	16.67	25.00
FUERTE	91.67	66.67	0.00	0.00	0.00
\bar{X}	47.92	41.67	10.42	31.25	29.17

En contraste con las gráficas anteriores, en el Cuadro 6, se muestra la comparación de los porcentajes de proporción de la resistencia en cada población para cada enzima específica, se observa que, en la misma población varía la proporción de resistencia según la enzima estudiada, y que las α y β -Esterasas presentan poca variación en su cuantificación.

Cuadro 7. Clasificación de la actividad enzimática según las proporciones de resistencia.

Enzima	%	Clasificación
α -Esterasas	47.92	Moderadamente alterado
β -Esterasas	41.67	Moderadamente alterado
oxidadas	10.42	Incipientemente alterado
Glutation S-Transferasas	31.25	Moderadamente alterado
Acetilcolinesterasas	29.17	Moderadamente Alterado.

De acuerdo a Montella *et al.* (2007), el Cuadro 7 muestra que la actividad enzimática en general se encuentra “moderadamente alterada”.

Cuadro 8. Análisis de varianza del contenido de α -Esterasas en las cuatro poblaciones.

FV	GL	SC	CM	F-Valor	Pr>F
Pob.	3	5.28806525	1.76268842	39.31	<.0001
Error	12	0.53805850	0.04483821		
Total	15	5.82612375			
C. V. =	10.28	%			

Tomando como referencia el valor de (Pr>F) el cual es menor al 0.05% en el Cuadro 8, se observa que los valores de absorbancias de α -Esterasas, entre poblaciones son diferentes.

Cuadro 9. Comparación de medias del contenido de α -Esterasas en las cuatro poblaciones.

Pob.	Media	Agrupación
CORPUS	2.7409	A
FUERTE	2.5177	A
ESTEROS	1.5122	B
CEHUAS	1.4694	B
dms =	0.4445	

En observación al Cuadro 9, del contenido de α -Esterasas, se observan dos grupos estadísticos; las poblaciones que registraron la mayor cantidad de α -Esterasas fueron las poblaciones: CORPUS y FUERTE, las cuales se encuentran dentro del primer grupo; en el segundo grupo se ubicaron las poblaciones ESTEROS y CEHUAS, las cuales presentaron los contenidos mas bajos de α -Esterasas.

Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de β -Esterasas en las cuatro poblaciones.

FV	GL	SC	CM	F-Valor	Pr>F
Pob.	3	6.91357269	2.30452423	31.71	<.001
Error	12	0.87207706	0.07267309		
Total	15	7.78564975			
C. V. =	12.91373	%			

En el Cuadro 10, el análisis de varianza muestra diferencia entre los valores de absorbancia de las poblaciones a un valor de alpha de 0.05. Al igual que los valores de α -Esterasas del Cuadro 8.

Cuadro 11. Comparación de medias del contenido de β -Esterasas en las cuatro poblaciones.

Pob.	Media	Agrupación
CORPUS	2.8453	A
FUERTE	2.6315	A
ESTEROS	1.5116	B
CEHUAS	1.3618	B
dms =		0.5659

La comparación de medias mediante la prueba de Tukey en el Cuadro 11, nos muestra dos grupos, siendo las poblaciones CORPUS y FUERTE las que obtuvieron los valores mas altos de β -Esterasas, con 2.7409 y 2.5177 nm respectivamente. En el grupo con los valores de β -Esterasas mas bajos se encuentran ESTEROS y CEHUAS con 1.5122 y 1.4694 nm respectivamente.

Cuadro 12. Análisis de varianza del contenido de Oxidasas en las cuatro poblaciones.

FV	GL	SC	CM	F-Valor	Pr>F
Pob.	3	0.00087291	0.00029097	9.20	<.0020
Error	12	0.00037964	0.00003164		
Total	15	0.00125255			
C. V. =	10.48477	%			

En relación al análisis de varianza el contenido de oxidasas de Cuadro 12, existe diferencias entre las poblaciones ya que el valor de ($P > 0.05$).

Cuadro 13. Comparación de medias del contenido de Oxidasas en las cuatro poblaciones.

Pob.	Media	Agrupación
CORPUS	0.065250	A
FUERTE	0.054833	AB
CEHUAS	0.047667	B
ESTEROS	0.046833	B
dms =		0.0118

En el Cuadro 13. Se muestra la comparación de medias a través de la prueba de Tukey, la cual muestra tres grupos, destacando la población de CORPUS, con una absorbancia de 0.065250 nm, la población del FUERTE con 0.054833 nm resulta una categoría intermedia, las poblaciones con los valores mas bajos de oxidasas fueron las poblaciones CEHUAS y ESTEROS con 0.047667 y 0.046833 respectivamente.

Cuadro 14. Análisis de varianza del contenido de Glutación S-Transferasas en las cuatro poblaciones.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Pob.	3	0.00014319	0.00004773	6.72	0.0065
Error	12	0.00008522	0.00000710		
Total	15	0.00022842			
C. V. =	17.42734	%			

En el Cuadro 14, el análisis de varianza muestra que entre las poblaciones existe diferencia ya que el valor de $(Pr>F) < 0.05$. El coeficiente de variación de 17.42734 indica que la varianza entre las poblaciones no es grande, y que los datos son confiables.

Cuadro 15. Comparación de medias del contenido de Glutathion S-Transferasas en las cuatro poblaciones

Pob.	Media	Agrupación
CEHUAS	0.018083	A
ESTEROS	0.016583	A
CORPUS	0.016250	A
FUERTE	0.010250	B
dms =		0.0056

El Cuadro 15, muestra que las poblaciones: CEHUAS, ESTEROS y CORPUS registraron mayor contenido de Glutathion S-Transferasas, mientras que la población del FUERTE, fue la presentó el menor contenido de esta enzima. Siendo diferentes a las otras tres poblaciones.

Cuadro 16. Análisis de varianza del contenido de Acetilcolinesterasa en las cuatro poblaciones.

FV	GL	SC	CM	F-Valor	Pr>F
Pob.	3	3.0555548	1.0185183	2.18	0.1436
Error	12	5.6111099	4.6759249		
Total	15	8.6666647			
C. V. =	22.79358	%			

Referente al cuadro 16, el Análisis de Varianza indica que no existe diferencia entre las poblaciones en el contenido de Acetilcolinesterasas ya que el valor de $(Pr>F)$ es mayor a Alpha.

Discusión de las pruebas bioquímicas

La distribución de α y β -Esterasas es similar, en las cuatro poblaciones de *B. tabaci*, mostrando 47.92 y 41.67 % de resistencia por lo cual se considera que la resistencia esta

“moderadamente alterada” lo anterior de acuerdo con Montella *et al.*, 2007. Trabajos similares como el realizado por Cerna *et al.*, (2013) mencionan proporciones de resistencia “Muy alterado” en poblaciones de *B. cockerelli* provenientes de la zona papera de Coahuila y Nuevo León. Por su parte Flores *et al.* (2006) determino proporciones de resistencia del 100 % en mosquitos *Aedes aegypti* relacionadas a enzimas (α - y β -Esterasas); estas son las responsables de resistencia, atreves de la destoxificación de organofosforados y carbamatos (Lee *et al.*, 1990; Georghiou, 1994; Pasteur y Raymound, 1996). Así mismo, otros autores mencionan que su actividad enzimática también esta asociada con resistencia a piretroides (Brogdon y Barber, 1990; Flores *at al.*, 2006). Con relación a la cantidad de enzima, Tian y Guo (1996) utilizando diferentes plantas hospederas como dieta para evaluar la Deltametrina en *Heliothis armigera*, obtuvieron un aumento general de actividad de Esterasas, afectado procesos metabólicos de detoxificación del insecticida.

Con respecto a oxidasas, la proporción de resistencia se mostró “incipientemente alterado” de acuerdo a la clasificación propuesta por Montella *et al.*, (2007). Al respecto Cerna *et al.*, 2013 mencionan que las β - Esterasas y oxidasas son las enzimas con mayor presencia, responsables de la resistencia en *B. cockerelli*, en la zona papera de Coahuila y Nuevo León, considerando las oxidasas como el segundo mecanismo detoxificativo después de las Esterasas. Al respecto Fernández (2013), menciona que el citocromo P-450 interviene fundamentalmente en reacciones de oxidación, tiene la capacidad de catalizar reducciones, hidrataciones o hidrólisis y debido a su función de detoxificación, por oxidación de los xenobioticos, poseen un papel importante en el metabolismo de los insecticidas. Las P450 están implicadas en la resistencia frente a los principales grupos de insecticidas, tales como organofosforados y piretroides (Fernández 2013).

Las Oxidasas de Función Múltiple, son una familia de enzimas que cumplen un importante rol en la degradación de esteroides y hormonas juveniles en insectos hemi y holometábolos, así como en la degradación de compuestos químicos de origen natural (fitotoxinas) o sintético (insecticidas) (Danielson *et al.*, 1998).

La proporción de resistencia atribuida a la presencia de Glutation S-Transferasas en las cuatro poblaciones se consideró “moderadamente alterada” de acuerdo con Montella *et al.*, (2007), ya que el total de la proporción de resistencia fue de 31.25%. Al respecto

Cerna *et al.*, (2013) mencionan el contenido de Glutathion S-Transferasas no es un factor determinante para la presencia de resistencia en poblaciones de *Bactericera cockerelli* a insecticidas. Este sistema enzimático generalmente está involucrado en la resistencia a insecticidas organofosforados (Ortelli *et al.*, 2003) Aunque varios estudios correlacionan la resistencia a insecticidas con niveles incrementados de actividad de GST y la producción de diferentes isoformas (Ku *et al.*, 1994; Ranson *et al.*, 2002). Este sistema enzimático provee la forma más importante de resistencia metabólica en insectos al organoclorado DDT a través de la dehidroclorinación (Rodríguez *et al.*, 1998; Ortelli *et al.*, 2003).

En cuanto acetilcolinesterasa, la proporción de resistencia total fue de 29.17% por lo cual se clasificó como “moderadamente alterado”. Al respecto Cerna *et al.*, 2013 consideran que las enzimas Acetilcolinesterasa como un mecanismo no importante en el desarrollo de resistencia de *B. cockerelli*. La enzima Acetilcolinesterasa juega un papel importante en las funciones nerviosas. Esta molécula tiene como función específica catalizar la hidrólisis del neurotransmisor excitatorio, lo cual hace que sea un componente clave para la sinápsis colinérgica en el sistema nervioso, donde la Acetilcolinesterasa es el principal neurotransmisor (Toutant, 1989). (Gepner y Cols., 1978). Mencionan que la Acetilcolinesterasa es el sitio activo de los organofosforados y carbamatos.

CONCLUSIONES

Las poblaciones mostraron susceptibilidad a los insecticidas en diferente proporción, sin embargo se debe de tener cuidado en hacer las rotaciones correspondientes para el producto buprofezin (7.29X), ya que fue el que presento una mayor proporción de resistencia. Así mismo podemos mencionar que la susceptibilidad a los diferentes insecticidas posiblemente se debe a la presencia de una gran diversidad de cultivos y plantas silvestres hospedantes sobre todo en estas últimas se pueden encontrar individuos susceptibles que al cruzarse con los seleccionados disminuyen el desarrollo de la resistencia.

Podemos mencionar que en la proporción de resistencia en las poblaciones de la zona evaluada se da por la presencia de α y β -Esterasas, ya que fue la agrupación con mayor cantidad respecto a las demás enzimas, presentándose de forma homogénea entre las poblaciones, seguido de Glutation S-transferasas, Acetilcolinesterasa y Oxidasas.

Se encontró que las poblaciones con mayor cantidad de Esterasas y oxidasas fueron colectadas en cultivos de tomate *Solanum lycopersicum* y por lo tanto expuestos a un gran número de aplicaciones de insecticidas de diferente grupo toxicológico. Por otro lado las poblaciones colectadas en cultivo de Soya *Glicine max* L. tuvieron la proporción de resistencia mas baja en cuanto a Esterasas, lo anterior debido a que en el cultivo de soya no se realizan aplicaciones contra *B. tabaci*.

En general la proporción de resistencia enzimática observada se considera “moderadamente alterada”, existiendo un alto porcentaje de individuos susceptibles, lo cual contribuye a la estabilidad de la resistencia a insecticidas.

REFERENCIAS

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide *Journal Economic Entomology* 18:265-267.
- Aguilar, M. S.; Rodríguez, J. C.; Santillán, O. C., Lagunes, T. Á.; Díaz, G. O.; Martínez, C. J. 2007. Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones de *Bemisia Tabaci* (gennadius) (hemiptera: aleyrodidae) biotipo B colectadas en baja California y Sinaloa, México. *Interciencia*, 32(4) 266-269.
- Antonio, C. S., Lara, M. F. y Dos Santos; E. J. 2001. Morfología de la mosca blanca *Bemisia tabaci* Genn. biotipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) encontrada en Jaboticabal Sao Pablo en base a electromicrográficas de barradura. *Sanidad Vegetal* 27: 315-322.
- Badii MH, Garza Almanza V. 2007. Resistencia en insectos, plantas y microorganismos. *CULCyT/Impacto Ecológico*;4:9-25.
- Barbera C. 1989. Pesticidas agrícolas. Cuarta edición. Ediciones Omega S.A. Pp 506-507.
- Bautista, N. M.; Hiran, B. M. y Claudio, C. P. 2002. Plagas inséctiles de plantas ornamentales. Edit. Manuel. Colegio de postgraduados, Texcoco México 323 p.
- Bautista, M. N. 2006. Insectos plaga una guía ilustrada para su identificación. Ed. Andrómeda Design. Bayer Crop Science, Colegio de Posgraduados. Texcoco estado de México. 55 p.
- Bloch, G.; Wood, D.1994. Methidathion resistance in the sweetpotato whitefly (Aleyrodidae: Homoptera) in Israel: selection, heritability and correlated changes of esterase activity. *J. Econ. Entomol.* 87: 1147-1156.
- Butler, G.D., T.J. Henneberry and W.D. Hutchison. 1986. Biology, Sampling and Population Dynamics of *Bemisia tabaci*. *Agric. Zool. Reviews* vol. 1: 167-195.
- Brogdon, W. G. and Dickinson, C. M. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography aluate fractions. *Analyt. Biochem.* 131: 499-503.
- Brogdon, W.G. (1984a). Mosquito protein microassay-I, protein determination from small portions of single-mosquito homogenates. *Comp. Biochemistry and Physiology* 79B: 457-460.
- Brogdon, W.G. (1984b). Mosquito protein microassay-II, modification for potential field use. *Comp. Biochemistry and Physiology* 79B: 457-460.

- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990. Microplate assay of Glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito triturates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96: 339-342.
- Brogdon, W. G.; McAllister and Vulule J. 1997. Heme peroxidase activity measured in single-mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 13: 223-237.
- Brown, T. M. and Brogdon, W. G. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 145-162.
- Brown, J.K.; Bird, J. 1992. Whitefly transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3): 220-225.
- Brown, J. K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virusvector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Protection Bulletin* 42 (2):3-32.
- Brown, J. K.; Frohlich, D. R.; Rosell, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whitefly: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex. *Annual Review of Entomology* 40: 511-534.
- Byrne, D. N.; Bellows, T. S. Jr.; Parrella, M. P. 1990. Whiteflies in the agricultural systems. In Gerling D (Ed.) *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept. Andover, RU. pp. 227-261.
- Byrne, D.N., and T.S. Bellows. 1991. *Whitefly Biology*. *Annu. Rev. Entomol.* 36: 431-57.
- Byrne, F. J.; Cahill, M.; Denholm, I.; Devonshire, L. A. 1994. A biochemical and toxicological study of the role of insensitive acetylcholinesterase in organophosphorus resistant *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) from Israel. *Bull. Entomol. Res.* 84: 179-184.
- Caballero, R.; Cyman, S.; Schuster, D. J. 2013. Monitoring insecticide resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: Aleyrodidae) in Florida. *Florida Entomologist*, 1243-1256.
- Cahill, M.; Jarvis, W.; Gorman, K.; Denholm, I. 1996. Resolution of baseline responses and documentation of resistance to buprofezin in *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.* 86: 117-122.
- Campbell; B. C.; Stephen-Campbell, J. D.; Gill, R. 1995. Origin and radiation of whiteflies: an initial molecular phylogenetics assessment. In: Gerling, D., Mayer, R. T. (eds.), *Bemisia: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management*. Intercept, UK, p. 29-52.

- Carapia R. V., 2013. Estudio comparativo sobre la morfología de *Trialeurodes vaporariorum* (WESTWOOD) y *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE). Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 29(1): 178-193.
- Carrillo, R. H. 1984. Análisis De Acción Conjunta de Insecticidas en Larvas del Gusano Cogollero del Maíz (J.E: Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. Chapíngo, México, p. 82.
- Castro, T. L. 2006. Aspectos biológicos y preferencia para oviposición por *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biotipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) en cultivares de algodón. Tesis de maestría. Universidad Federal de Lavras. Minas Gerais, Brasil. 57 p.
- Cerna Chávez, Ernesto; Hernández Bautista, Omega; Landeros Flores, Jerónimo; Ochoa Fuentes, Yisa María. 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, Septiembre-Diciembre, 5-12.
- Cerna C. E., Martínez M. Y., Landeros F. J., Hernández B. O., Ochoa F. Y. 2015. Efecto de plantas hospederas en la inducción enzimática detoxificativa de *Bemisia tabaci* (Gennadius). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.1 01 de enero - 14 de febrero, p. 223-229.
- Cohen, S.; Duffus, J. E.; Liu, H. Y. 1992. A new *Bemisia tabaci* biotype in the southwestern United States and its role in silverleaf of squash and transmission of lettuce infectious yellow virus. Phytopathol. 82: 86-90.
- Costa, H. S.; Brown J. K. 1991. Variation in biological characteristics and esterase pattern among population of *Bemisia tabaci*, and the association of one population with silverleaf symptom induction. Entomol. Exp. Appl. 61:211-219.
- Cuellar, M., Morales F. 2006. La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vectora de virus en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Colomb. Entomol. vol.32 no.1 Bogotá. Colombia.
- Danielson, P. B.; Foster, J. L. M.; McMahill, M. M.; Smith, M. K. and Fogleman, J. C. 1998. Induction by alkaloids and phenobarbital of Family 4 Cytochrome P450s in *Drosophila*: evidence for involvement in host plant utilization. Molecular and general genetics 259: 54 - 59
- Devonshire, A. L. 1990. Biochemical and molecular genetic analysis of insects populations resistant to insecticides. Brighton crop protection conference. Pest and Diseases. Pp 889-896

- Devonshire, A. L. and Moores G. D. 1984. Characterization insecticide-insensitive acetylcholinesterase: microcomputer based analysis of enzyme inhibition in homogenates to individual house fly (*Musca domestica*) heads. Pestic. Biochem. Physiol. 21: 341-348.
- Eichelkraut, K.; Cardona, C. 1989. Biología, cría masal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), como plaga del frijol común. Turrialba 39: 55-62.
- FAO 1957. Technical report, No. 125
- Faria, M.; Wraight, S. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop protection 20: 767-778.
- Fernández G. M. 2013. Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius): nivel de resistencia, resistencias cruzadas y mecanismos implicados. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. Departamento de Producción Vegetal. Colombia.
- Finney, D. J. 1971. Probit análisis, 3rd ed. Cambridge University Press, England.
- Flores E. A.; Badii, M. H. y Ponce, G. G. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Vol. 2 No.4 Octubre-Diciembre. 8 pp.
- Flores E. A.; Grajales, J. S.; Fernandez, I. S.; Ponce, G. G.; Loaiza, Badii. M. H.; Lozano, S.; Brogdon, W. G.; Black IV, W. C. and Beaty, B. 2006. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Southern Mexico. J. Am. Mosq. Control Assoc.22: 672-677.
- Gennadius, P. 1889. Disease of tobacco plantations in the trikonia. The aleurodid of tobacco. Ellenike Georgia (Grecia) 5: 1- 3.
- Georghiou, G. P.; Lagunes, T. A. 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. UN Food and Agriculture Organization. Roma, Italia. 318 pp.
- Georghiou, G. P. 1994. Principles of insecticide resistance management. Phytoprotection 75 Suppl.51-59
- Gepner, J. I.; Hall, L. M. y Statelle, D.B. 1978. Insect acetylcholine receptors as a site of insecticide action. Nature, 70: 188-190.
- Gerling D., Alomar O., Arno J. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. Crop Protection 20 779-799.

- Greathead, A.H. 1986. Host plants. In: *Bemisia tabaci* a Literature Survey on the Cotton Whitefly with an Annotated Bibliography. Cock, M.J.W. (ed.). CAB International Institute, Biological Control. Silwood Park, UK. p. 17-26.
- Gutiérrez, O. Marina; Rodríguez, M.J.; Llanderal, C. C.; Terán, V.A.; Lagunes, T. Á.; Díaz, G.O. 2007. Estabilidad de la resistencia a neonicotinoides en *Bemisia tabaci* (Gennadius), biotipo B de San Luis Potosí, México. *Agrociencia*, 913-920.
- Hemingway, J.; Ranson H. 2005. Biology of disease vectors. Chapter 41. Chemical Control of Vectors and Mechanisms of Resistance. Second Edition. Elsevier. Academic Press. 785 p
- Hilje, L. 2002. Manejo de *Bemisia tabaci* en América Central y el Caribe: la experiencia de un decenio. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 65:102-108.
- Hubert, J. J. 1980. Bioassay. Kendall/Hunt Pub. Co. USA. 164 p.
- IRAC. Method No. 015. 2009. Species: Whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci*. Product Class: Neonicotinoids, pymetrozine, pyrethroids, organophosphates and other whitefly adulticides.
- IRAC. 2015. Folleto de clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas Versión actualizada en octubre 2015. Basada en la versión 7.3&7.4 de IRAC Internacional.
- Jiménez, C. R. 2010. Determinación de la tolerancia a insecticidas de diferente grupo toxicológico del psilido de la papa *Bactericera cockerelli* SULC (Hemiptera:Triozidae). Tesis de Maestría Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Ku C-C, Chiang F-M, Hsin C-Y, Yao Y-E, Sun C-N. 1994. Glutathione transferase isozymes involved in insecticide resistance of diamondback moth larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology* ;50:191–197.
- Lagunes, T. A. y J. Villanueva, J. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillos, Edo. de México. 264 pp.
- Lee, J. G.; Pasteur, N. and Georghiou, G. P. 1990. Preliminary results of an Elisa test for detections of organophosphate-resistance in *Culex* populations due to increased detoxification by Esterasas. 58th Annual Conference of the California Mosquito and Vector Control association. 111-115.
- López Á. A., Cardona, C., García, J., Rendón, F.; Hernández, P. 2001. Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (2-3): 137-141.

- López, A. A. 2004. Manejo integrado de moscas blancas. *Bemisia tabaci* y *Aleurotrachelus socialis*. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. Instituto Agropecuario Colombia ICA.
- Nauen, R.; Albert, A.; Salmon, E. 2008. Resistance management guidelines for the new ketoenol insecticide Movento. Bayer CropScience Journal 61.
- McAuslane, H.J. 1996. Influence of leaf pubescence on ovipositional preference of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on soybean. Environmental Entomology 25: 834-841.
- McAuslane, H. J. 2000. Sweetpotato whitefly B Biotype of silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) or *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Insecta: Homoptera: Aleyrodidae). University of Florida, IFAS Extension EENY129.
- Metcalf, R. L. 1989. Insect Resistance to Insecticides. Pestic. Sci. 26:333-358.
- Miller T. A. 1988. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. Parasitology Today. 4:13-5.
- Molinari, A.M. (1); Gonsebatt, G. (2); David, M.F. (3) y Perotti, E. (4), 2007 Mosca Blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) en cultivos de soja, IINTEEA
- Montella, I. R.; Martins,AJ.; Fernandez, V.; Pereira, LB.; Braga, IA. And Valle, D. 2007. Insecticide resistance mechanism of Brazilian *Aedes aegyti* populations from 2001-2004. Am. J. Trop. Med. Hyg. 77: 467-477.
- Mound, L.A.; Hasley, S.H. 1978. Whitefly of the World: a Systematic Catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and Natural Enemy Data. Wiley, New York, 340 pp.
- Morales, F.; Cardona, C.; Bueno J.; Rodriguez I. 2006. Manejo de integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por moscas blancas. CIAT, DFID Y Tropical White Fly IPM Project.
- Morales, F.; Cermeli M. 2001.Evaluación de la preferencia de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) en cinco cultivos agrícolas. Entomotropica. 16(2): 73-78.
- Naveed Muhammad. 2006. Estrategias de gestión para *Bemisia tabaci* (Genadio) En algodón en el Punjab de Pakistán. Tesis doctoral, Universidad Bahauddin Zakariya, Multan.
- Oliveira M.R.V., T.J. Henneberry., P. Anderson., 2001. History, current status, and collaborative researchprojects for *Bemisia tabaci*. Crop Protection 20. 709–723.

- Ortega ALD. 2008. Las arvenses y su Interacción con las moscas blancas. En: moscas blancas: temas selectos sobre su manejo. México, D. F: Mundi Prensa México, S. A. de C.V. 19-27.
- Ortelli, F.; Rossiter, L. C.; Vontas, J.; Ranson, H. and Hemingway, J. 2003. Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem J.* 373 (Pt 3): 957-63.
- Pacheco, M. F. 1985. Plagas de los cultivos agrícolas en Sonora y Baja California. SARH/INIA/CIANO. México. 414 pp.
- Pasteur, N. and Raymonds, M. 1996. Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration and selection in field populations. *J. Heredity* 87: 444-449.
- Quintero, C.; Rendón, F.; García, J.; Cardona, C.; López-Ávila, A.; Hernández, P. 2001. Especies y biotipos de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos semestrales de Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 27-31.
- Ranson, H.; Claudianos, C.; Ortelli, F. Abgrall, C. Hemingway, J. Sharakhova, M. V. 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science* 298:179-81.
- Rauch, N.; Nauen R. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 54: 165-176.
- Robertson, J. L. y H. K. Preisler. 1992. Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press. Boca Ratón, FL, 127pp.
- Rodríguez, I.; Morales, H. Bueno, J. M.; Cardona, C. 2005. El biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adquiere mayor importancia en el Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Entomología.* 31 (1): 21-28.
- Rodríguez, M. M.; Bisset, J. A.; Rodríguez, I. y Díaz, C. 1998. Selección de una cepa de *Culex quinquefasciatus* resistente a lambda cialotrina y su espectro de resistencia cruzada a otros insecticidas. *Rev. Cubana Med. Trop.* 50(2):129-32.
- Román, E. 2007. Mosca blanca. Recopilación del fondo algodonero. Colombia. 11 p.
- SAGARPA. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001. Manejo y eliminación de focos de infestación de plagas, mediante el establecimiento o reordenamiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos. (Consultada el 10 Noviembre de 2015).

- Salas, J. 2004. Evaluación de prácticas agrícolas para el manejo de *Bemisia tabaci* en tomate. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) No. 71 p.34-40.
- Santillán, O. C.; Robles, B. A.; Macías, F. A.; Ortiz, C. M.; Isiordia, A. N.; Carapia, R. V. 2014. Susceptibilidad a cuatro insecticidas en poblaciones de *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) de Nayarit, México. Entomología Mexicana, 1: 1034– 1038.
- Secker, A.E.; Bedford, I.A.; Mar-Kham, P.G.; William M.E.C. 1998. Squash, a reliable field indicator for the presence of B biotype of tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*. In: Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases. British Crop Protection Council, Farnham, UK. p 837-842.
- SEPA. 2003. A warmer World: the greenhouse effect and climate change. Swedish Environmental Protection Agency. Suecia. 162 pp.
- Simmonds, A.M.; Abd-Rabou, S.; Mccutcheon, G. S. 2002. Incidence of parasitoids and parasitism of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in numerous crops. J. Econ. Entomol. 31: 1030-1036.
- Stadler T. 2009. Método de diagnóstico para el monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de "picudo del algodón", *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). Rev. Soc. Entomol. Argentina., vol.68, n.1-2, pp. 231-239.
- Tian, W. J. and Guo Y. Y. 1996. Effects of host plant on susceptible to deltamethrin and detoxication enzymes of *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 89: 11-14.
- Toutant, J.P. 1989. Insect acetylcholinesterase: catalytic properties, tissue distribution and molecular forms. Progress in Neurobiology, 32: 423-446.
- Twine, P. H. and Reynolds H. T. 1980. Relative susceptibility and resistance of the tobacco budworm to methyl parathion and synthetic pyrethroids in southern California. J. Econ. Entomol. 73: 339-242.
- Urias-Morales C, Rodríguez RM, Silva S. 1995. Mosquita blanca (Homoptera. Aleyrodidae) como vector de virus. Fitofilo 88: 25-52.
- Van Lenteren, J.C.; Noldus, P.J.J. 1990. Whitefly relationships: behavioural and ecological aspects. In: Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management. Department of Entomology, Agricultural University Wageningen, Netherlands, pp. 47–89.
- Vázquez Moreno, L.L. 2002. Avances de control biológico de *Bemisia tabaci* en la región neotropical. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 66: 82-95.

Anexos

Cuadro 17. Cuantificación de α -Esterasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.

	CEHUAS	ESTEROS	CORPUS	FUERTE
1	1.385	1.605	2.531	2.245
2	1.563	1.587	2.517	2.263
3	1.355	1.505	2.823	1.929
4	1.487	1.349	2.498	2.319
5	1.559	1.324	2.688	2.281
6	1.442	1.535	2.554	2.285
7	1.624	1.487	2.854	2.772
8	1.559	1.503	2.748	2.98
9	1.549	1.605	2.69	3.048
10	1.363	1.499	2.906	2.61
11	1.385	1.553	3.068	2.621
12	1.362	1.594	3.014	2.859
\bar{x}	1.469	1.512	2.741	2.518
D.S.	0.094	0.089	0.188	0.333

Cuadro 18. Cuantificación de β -Esterasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.

	CEHUAS	ESTEROS	CORPUS	FUERTE
1	1.331	1.558	2.959	1.823
2	1.215	1.568	2.542	2.294
3	1.219	1.523	2.857	2.155
4	1.497	1.497	2.593	2.492
5	1.425	1.499	2.925	2.152
6	1.492	1.518	2.61	2.521
7	1.495	1.439	2.906	3.057
8	1.542	1.396	2.968	3.301
9	1.497	1.411	2.978	3.342
10	1.17	1.66	2.6	2.689
11	1.216	1.529	3.294	2.777
12	1.243	1.541	2.911	2.975
X	1.362	1.512	2.845	2.632
D.S.	0.136	0.069	0.211	0.459

Cuadro 19. Cuantificación de Oxidasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.

	CEHUAS	ESTEROS	CORPUS	FUERTE
1	0.046	0.051	0.089	0.049
2	0.053	0.044	0.066	0.047
3	0.065	0.042	0.07	0.047
4	0.043	0.042	0.075	0.051
5	0.043	0.053	0.058	0.052
6	0.045	0.047	0.06	0.05
7	0.041	0.049	0.062	0.064
8	0.057	0.044	0.054	0.056
9	0.049	0.05	0.055	0.059
10	0.045	0.048	0.069	0.061
11	0.044	0.047	0.063	0.06
12	0.041	0.045	0.062	0.062
X	0.048	0.047	0.065	0.055
D.S.	0.007	0.003	0.009	0.006

Cuadro 20. Cuantificación de Glutation S-Transferasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.

	CEHUAS	ESTEROS	CORPUS	FUERTE
1	0.019	0.015	0.017	0.013
2	0.014	0.015	0.012	0.006
3	0.017	0.011	0.017	0.01
4	0.016	0.013	0.02	0.012
5	0.012	0.014	0.016	0.01
6	0.012	0.014	0.016	0.01
7	0.023	0.018	0.017	0.012
8	0.023	0.02	0.016	0.009
9	0.022	0.02	0.017	0.01
10	0.02	0.019	0.015	0.011
11	0.019	0.02	0.013	0.008
12	0.02	0.02	0.019	0.012
X	0.018	0.017	0.016	0.010
D.S.	0.004	0.003	0.002	0.002

Cuadro 21. Cuantificación de Acetilcolinesterasas en las cuatro poblaciones, con la media y desviación estándar.

	CEHUAS	ESTEROS	CORPUS	FUERTE
1	0.003	0.003	0.003	0.002
2	0.003	0.003	0.003	0.003
3	0.001	0.004	0.002	0.003
4	0.004	0.002	0.004	0.003
5	0.004	0.003	0.003	0.002
6	0.005	0.003	0.003	0.003
7	0.002	0.004	0.003	0.003
8	0.002	0.004	0.004	0.002
9	0.002	0.004	0.003	0.002
10	0.003	0.004	0.003	0.002
11	0.004	0.004	0.003	0.002
12	0.002	0.004	0.005	0.001
X	0.003	0.004	0.003	0.002
D.S.	0.001	0.001	0.001	0.001