

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



**SUSCEPTIBILIDAD DE *Tetranychus urticae* Koch (ACARI: TETRANYCHIDAE)
A ACARICIDAS Y SU CORRELACION CON ENZIMAS DETOXIFICATIVAS**

Tesis

Que presenta LISETT ROMERO PAVON

**como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS EN PARASITOLOGIA AGRICOLA**

Saltillo, Coahuila.

Julio 2022

SUSCEPTIBILIDAD DE *Tetranychus urticae* Koch (ACARI: TETRANYCHIDAE)
A ACARICIDAS Y SU CORRELACION CON ENZIMAS DETOXIFICATIVAS

Tesis

Elaborada por LISETT ROMERO PAVON como requisito parcial para obtener el
grado de Maestría en Ciencias en Parasitología Agrícola con la supervisión y
aprobación del Comité de Asesoría

Dr. Ernesto Cerna Chávez
Director de Tesis

Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Asesor

Dr. Agustín Hernández Juárez
Asesor

MC. Rafael Alvarado Navarro
Asesor

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

Agradecimientos

A DIOS:

Por ser la guía y parte importante en mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas.

A LA UAAAN:

Gracias al brindarme el conocimiento necesario para mi formación como profesional., al núcleo académico del Departamento de Parasitología Agrícola por haberme facilitado las herramientas del conocimiento para desempeñarme en el ámbito profesional.

ASESORES DE TESIS:

Por haberme permitido realizar mi investigación de tesis, bajo su asesoría, aportaciones y enseñanzas. Quienes con su experiencia, conocimiento y motivación me alentaron para terminar con este proyecto.

Dedicatorias

A MI PADRE:

Al señor Pedro Romero García (†) una persona muy importante en mi vida, porque siempre está presente. Hoy recuerdo a una persona que me quiso con amor profundo y sincero y aunque no tuvo millones que regalarme le agradezco por su herencia que fue el apoyo incondicional para culminar con cada una de las metas que me propongo. Un beso hasta el cielo padre querido.

A MI MADRE:

A la señora Catalina Pavón Medina, por brindarme todo su apoyo moral de manera incondicional, por su cariño y amor. Por cada uno de sus consejos y enseñanzas, sin su apoyo esto no hubiera sido posible. Gracias por toda madre mía.

A MIS HERMANOS:

Pedro Edgar Romero Pavón, Fernando Romero Pavón, Lorena Romero Pavón, Eduardo Romero Pavón y Maribel Romero Pavón, mis hermanos y hermanas tan increíbles y únicos, lo mejor que la vida me pudo haber dado, el mejor ejemplo de lo que es el amor, gracias por estar conmigo y ser los mejores hermanos del mundo. Los amo infinitamente.

Índice general

Agradecimientos	iii
Dedicatorias.....	iv
Índice general	v
Lista de cuadros.....	vii
Lista de figuras	viii
Resumen.....	ix
Abstract	x
Introducción	1
1.1 Objetivo general	2
1.2 Objetivos específicos.....	2
1.3 Hipótesis.....	2
Revisión de literatura	3
2.1 Importancia del Rosal	3
2.1.1 Antecedentes	3
2.1.2 Importancia económica	4
2.1.3 Taxonomía.....	4
2.1.4 Producción de rosa en México	4
2.1.5 Producción de rosa en Estado de México.....	4
2.2 Araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>).....	5
2.2.1 Clasificación taxonómica	5
2.2.2 Ciclo de vida de <i>T. urticae</i>	5
2.2.3 Daños	6
2.2.4 Control.....	7
2.2.5 Resistencia de <i>T. urticae</i>	7
2.3 Resistencia.....	8

2.3.1 Tipos de resistencia	8
2.3.2 Verificación de resistencia	9
2.4 Enzimas asociadas a la resistencia	10
2.4.1 Esterasas	10
2.4.2 Glutation S-Transferasa.....	10
2.4.3 Oxidasas de función múltiple.....	11
2.4.4 Acetilcolinesterasa.....	11
Materiales y métodos	12
3.1 Ubicación del experimento	12
3.2 Productos evaluados.....	12
3.3 Poblaciones de <i>T. urticae</i>	12
3.4 Recolecta del material biológico.....	12
3.5 Bioensayos	13
3.6 Pruebas bioquímicas.....	13
3.6.1 Cuantificación de proteína de hembras adultas de <i>T. urticae</i>	13
3.6.2 Preparación de homogenatos	14
3.6.3 Cuantificación de α y β -esterasas	14
3.6.4 Cuantificación de Glutation S-Transferasa	14
3.6.5 Cuantificación de Acetilcolinesterasa	14
3.6.6 Cuantificación de Oxidasas	15
3.7 Análisis estadístico.....	15
Resultados y discusión	16
Conclusiones	25
Referencias.....	26

Lista de cuadros

1. Productos a evaluar y su nombre comercial.....	13
2. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea susceptible de hembras adultas de <i>T. urticae</i>	17
3. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea de campo (L1) de hembras adultas de <i>T. urticae</i> y proporción de resistencia contra la línea susceptible.....	18
4. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea de campo (L2) de hembras adultas de <i>T. urticae</i> y su proporción de resistencia contra la línea susceptible.....	19
5. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea de campo (L3) de hembras adultas de <i>T. urticae</i> y su proporción de resistencia contra la línea susceptible.....	19
6. Comparación de medias del contenido de α y β -esterasas en tres poblaciones de <i>T. urticae</i> del Estado de México y una línea susceptible.....	22
7. Comparación de medias del contenido de oxidasas en tres poblaciones de <i>T. urticae</i> del Estado de México y una línea susceptible.....	23
8. Comparación de medias del contenido de glutatión-S-transferasas en tres poblaciones de <i>T. urticae</i> del Estado de México y una línea susceptible.....	24
9. Comparación de medias del contenido de acetilcolinesterasas en tres poblaciones de <i>T. urticae</i> del Estado de México y una línea susceptible.....	24

Lista de figuras

1. Cuantificación de proteína de hembras adultas de <i>T. urticae</i> en solución buffer (KPO ₄)	22
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Resumen

Tetranychus urticae es la plaga más importante en el cultivo del rosal, ya que reduce la calidad de la producción e incrementa los costos de manejo, en consecuencia, los acaricidas se han utilizado ampliamente para su control. La aplicación frecuente de productos químicos junto con varios aspectos biológicos de esta especie, ha llevado al desarrollo de resistencia a las diferentes materias activas utilizadas para su control. Por lo anterior se realizaron pruebas de susceptibilidad para la determinación de resistencia en hembras adultas de *T. urticae* a los acaricidas, abamectina, acequinocyl, clorfenapir y extracto de *Cinnamomum zeylanicum*, también se realizaron pruebas bioquímicas para cuantificar α y β esterasas, oxidasas, glutatión S-transferasas y acetilcolinesterasa (enzimas relacionadas con la resistencia a insecticidas) sobre tres poblaciones de Tenancingo, Estado de México y una línea susceptible. La investigación se realizó en 2021 en el Departamento de Parasitología, para la evaluación de los acaricidas se empleó la técnica de inmersión en hoja. Los resultados demuestran que la población que presenta tendencia a desarrollar resistencia al acaricida abamectina es la L3 (Rancho Lizflor), mientras que las poblaciones L1 (Rancho Los Pilares) y L2 (Rancho Isoflor) presentan tendencia hacia el acaricida acequinocyl, por lo que se recomienda la disminución de las aplicaciones y rotación de acaricidas de distinto grupo toxicológico. Para el resto de los acaricidas no se reporta resistencia en ninguna de las poblaciones en estudio, por tal motivo se les puede considerar efectivos para el control de *T. urticae* en Tenancingo, Estado de México. En lo referente a las enzimas, las α -esterasas, β -esterasas y Oxidasas, además de la Acetilcolinesterasas son las enzimas con mayor presencia, a las cuales se les puede atribuir la resistencia en *Tetranychus urticae*.

Abstract

Tetranychus urticae is the most important pest in rose cultivation, since it reduces the quality of production and increases management costs, consequently, acaricides have been widely used for its control. The frequent application of chemical products together with various biological aspects of this species has led to the development of resistance to the different active materials used for its control. Therefore, susceptibility tests were carried out to determine resistance in adult females of *T. urticae* to acaricides, abamectin, acequinocyl, chlorfenapyr and *Cinnamomum zeylanicum* extract, biochemical tests were also carried out to quantify α and β esterases, oxidases, glutathione S-transferases and acetylcholinesterase (enzymes related to resistance to insecticides) on three populations of Tenancingo, State of Mexico and a susceptible line. The research was carried out in 2021 in the Department of Parasitology, for the evaluation of the acaricides the leaf immersion technique was used. The results show that the population that shows a tendency to develop resistance to the acaricide abamectin is L3 (Rancho Lizflor), while populations L1 (Rancho Los Pilaes) and L2 (Rancho Isoflor) show a tendency towards the acaricide acequinocyl, so recommends the reduction of applications and rotation of acaricides from different toxicological groups. For the rest of the acaricides, resistance is not reported in any of the populations under study, for this reason they can be considered effective for the control of *T. urticae* in Tenancingo, State of Mexico. Regarding enzymes, α -esterases, β -esterases and Oxidases, in addition to Acetylcholinesterases, are the enzymes with the greatest presence, to which resistance in *Tetranychus urticae* can be attributed.

Introducción

La república mexicana es considerada como una importante zona productora de ornamentales de corte, en el año 2020 se cortaron cerca de nueve millones de gruesas, su importancia es tan valorada, que se estima que aporta un 25% de la producción nacional de ornamentos (SADER, 2021). Los rosales desde épocas antiguas son considerados como plantas peculiares, las cuales son de gran valor dentro del mundo de las flores cortadas, en la actualidad ha tenido una gran demanda, ya es cultivada a grandes extensiones, tanto en invernadero como a campo abierto. Su extraordinario atractivo, así como la gran variedad de sus tonalidades y combinaciones de colores vistosos, sin dejar de lado su fragancia y la inmensa diversidad, hacen de las rosas un elemento muy valorado, por consecuencia ocupa un excelente lugar dentro de la decoración y el gusto del público consumidor (Yong, 2004). Este cultivo es de mucha importancia en la floricultura y en la jardinería, se encuentra dentro de la flor más demandada y cultivada, además de que se le considera “la reina de las flores”. Por otro lado, la araña roja también conocida como la araña de dos manchas, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), posee un extenso gusto por las plantas hospedadoras y es una plaga severa en varios cultivos, dentro de la república mexicana y en todo el mundo, teniendo un gusto especial por los rosales (Tehri, 2014). La araña roja se alimenta principalmente del mesófilo de las hojas de este ornamento, como consecuencia reduce de manera significativa la tasa fotosintética, resistencia estomática y la tasa respiratoria, también afecta de manera directa el crecimiento del cultivo, la calidad de la floración y el potencial productivo de los cultivos que ataca (Goff *et al.*, 2014). El impacto económico que este acaro produce en diversos sistemas de producción agrícola y los métodos de control que se utilizan en la actualidad, se basan de manera casi exclusiva, en el uso de productos químicos, pero ya está comprobado que su efectividad para el control de esta plaga es inestable (Modarres, 2012). A causa de su capacidad efectiva de multiplicarse, su ciclo biológico muy corto y el uso indiscriminado junto con la falla aplicación de acaricidas, ha llevado inevitablemente al desarrollo de resistencia. Sin embargo, la aplicación de agroquímicos para el combate de las poblaciones de ácaros, se considera indispensable para poder mantener por debajo de los umbrales económicos esta plaga, por consecuencia las moléculas activas novedosas y con nuevos modos de acción se convierten en parte esencial para el uso en los programas

de gestión de la resistencia a plaguicidas (Nauen *et al.*, 2003). El problema radica en que después de solo pocas aplicaciones de estos compuestos químicos, las poblaciones de los ácaros comienzan a generar resistencia, tan solo poco después de algunas generaciones (Pascual, 2014). El registro de la resistencia a un agroquímico debe considerarse crucial en el manejo de las poblaciones plaga, por tal motivo, desde hace ya varios años, se han venido desarrollando novedosas técnicas y metodologías para poder detectar a tiempo la resistencia, se pueden encontrar dentro de estas técnicas las pruebas de concentración múltiple, las cuales se expresan en términos de concentración letal media (CL₅₀), perfiles de ADN (Ácido Desoxirribonucleico), dicha técnica nos permite detectar los genes a los cuales se les atribuye la resistencia a plaguicidas y las pruebas bioquímicas, que se usan para poder determinar la presencia y cantidad de diversas enzimas, las cuales son la inmediatamente responsables de crear resistencia. Dicho lo anterior y debido a la importancia que presenta esta plaga, es necesario conocer los niveles de enzimas que poseen los ácaros, para poder tolerar o detoxificar acaricidas, por lo cual es necesario realizar estudios de toxicología y de esta manera poder identificar que moléculas activas pueden ser más eficaces para el control de la plaga y en base a esto, poder brindar al floricultor las recomendaciones de manejo de las poblaciones más eficiente y adecuado.

1.1 Objetivo general

Determinar la variación en la susceptibilidad de *Tetranychus urticae* a acaricidas y el rol que tienen las enzimas detoxificativas que le confieren resistencia

1.2 Objetivos específicos

- Determinar la susceptibilidad de cuatro poblaciones de *Tetranychus urticae* a diferentes acaricidas.
- Cuantificación de mecanismos enzimáticos que se asocian a la resistencia de *Tetranychus urticae*

1.3 Hipótesis

- La susceptibilidad de *Tetranychus urticae* estará asociada al menos al 50 % de los acaricidas en estudio.
- Los mecanismos de resistencia estarán asociados al menos a dos enzimas en estudio.

Revisión de literatura

2.1 Importancia del Rosal

La inmensa diversificación de colores, el agradable aroma y la disponibilidad durante todo el año, así como su peculiar presentación hace de las rosas una flor especial, principalmente como adorno, al mismo tiempo un hermoso regalo y son imprescindibles en cualquier celebración. Los rosales son denominados como ornamentales, pero también se utilizan para la extracción de aceites esenciales que son de gran valor dentro de la industria de los cosméticos y farmacéutica. De igual manera se usan para la elaboración de infusiones o te, considerándose como un buen relajante y antioxidante. (SADER, 2022). Además de ser muy apreciada y por excelencia una de las más populares en el ámbito de los ornamentales y la más cultivada a nivel mundial, debido a su insuperable belleza y excelente demanda en el gusto de los consumidores de este producto.

2.1.1 Antecedentes

La rosa se cree que es originaria de China, existen escritos donde se habla de su belleza desde hace más de cuatro mil años. En su proceso de expansión, la rosa llegó a la India, Persia, Grecia, Italia y España. Posteriormente, en 1815 llegó a Francia en donde se aprovechó al máximo este cultivo. Diez años después ya se conocían más de 5 000 variedades (De La Cruz, 2014). Esta especie era considerada por los sirios, egipcios y romanos como símbolo de belleza, quienes hacían uso de sus pétalos como ornamentos, así mismo se les podía encontrar como jardines denominados *Rosetum* (Gómez, 2015). Años más tarde las rosas fueron traídas a América por sajones e hispanos, en el presente se cultivan en varios países del continente, entre los más importantes debido a su producción se encuentra Colombia, Ecuador, Estados Unidos de Norteamérica y México. Este cultivo posee una larga y colorida historia como símbolo de amor y belleza, teniendo su importancia para los floristas en la decoración (Valquiria *et al.*, 2020). En la floricultura, la rosa juega un papel importante, ya que cumple con los criterios exigidos por el mercado tanto nacional como de exportación, manteniendo su buena calidad y así considerando su gran popularidad dentro del mercado y el gusto de los consumidores (Yong, 2004).

2.1.2 Importancia económica

En 2020 la derrama económica que alcanzo la producción fue de 4 748 millones de pesos y 25.5 millones de gruesas (SADER, 2020). El Estado de México, seguido de Puebla, Morelos y Michoacán en orden de importancia, en 2020 en conjunto lograron obtener 655 millones de pesos, representando el 57% total del valor de la producción que se generó dentro del territorio nacional (SADER, 2021). Esto refleja el hecho de que la producción de flores es un componente importante que contribuye a la generación de ingresos y empleos (Baudoin *et al.*,2007).

2.1.3 Taxonomía

Orden: Rosales

Familia: Rosaceas

Tribu: Roseas

Género: *Rosa*

Especie: *Rosa* sp. L

2.1.4 Producción de rosa en México

Dentro de nuestro país se cultivan una gran variedad de formas, colores y aromas que tienen una excelente demanda, principalmente en las celebraciones como son el 10 de mayo “Día de la Madre” y 12 de diciembre. Los floricultores mexicanos aportan con al menos 41 clases de ornamentales, la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural comunico que la producción nacional de estas flores está garantizada con 32 millones de gruesas, con una superficie anual de aproximadamente 15 mil hectáreas, las cuales están distribuidas en 20 entidades. (SADER, 2021). En 2020, durante el ciclo de primavera-verano se registraron las mayores cosechas para este país, la cual apporto 311 millones de pesos mexicanos, representando un total del 27 %.

2.1.5 Producción de rosa en Estado de México

El Estado de México se sitúa como principal líder en la producción de rosas de corte, aportando un valor económico en su producción en el 2020 de 1 289 millones de pesos, ocupando un poco más del 70% del total a nivel nacional. (SADER, 2021).

2.2 Araña roja (*Tetranychus urticae*).

El acaro de dos manchas es considerada una de las principales plagas de mayor importancia económica, que ataca una amplia variedad de cultivos, tanto al aire libre como cultivos protegidos (IRAC, 2022); estas poblaciones se hospedan en el envés de las hojas, donde forman una telaraña de seda que estas mismas producen y que les sirve para acondicionar un microclima el cual es benéfico para su óptimo desarrollo y así mismo les brinda protección contra depredadores. Las condiciones climáticas como radiación, temperatura y humedad son primordiales para el desarrollo de los ácaros, formando focos de infestación en los cultivos que atacan y provocando daños severos en la calidad y cantidad de las flores (Nyalala *et al.*, 2013). Las características que le permiten ubicarse como una plaga agrícola de gran importancia, son su pequeño tamaño, su ciclo biológico corto, reproducción arrenotócica, abundante descendencia, la fácil diseminación, la adaptación a diversos ambientes y condiciones ecológicas (IVIA, 2010; IRAC, 2022).

2.2.1 Clasificación taxonómica

Orden: Prostigmata

Familia: Tetranychidae

Género: *Tetranychus*

Especie: *T. urticae* Koch

FAO (2013).

2.2.2 Ciclo de vida de *T. urticae*

La araña de dos manchas se identifica con cinco fases de desarrollo biológico, como son: 1. Huevo, 2. Larva, 3. Protoninfa, 4. Deutoninfa y 5. Adulto, en cada una de estas etapas se presenta un periodo quiescente o fase inactiva conocida como protocrisalis, deutocrisalis y teliocrisalis, en cada una de estas etapas de quiescencia se separa el exoesqueleto del acaro y de esta manera puede incrementar su tamaño y llegar a la etapa de adulto (Figueroa, 2005). Por consecuencia, en las etapas larvales y ninfales se presenta un periodo activo y uno pasivo, además de una fase de dormancia a la cual se le denomina como crisálida, para poder realizar su reproducción lo hacen en el envés de las hojas,

creando un microclima con su telaraña y colocando los huevos para dar origen a su nueva descendencia (Reyes *et al.*, 2011). La hembra en estado adulto alcanza una longitud de 0.5 a 0.6 mm, su coloración depende de las características ambientales en el que se desarrolla, a su régimen alimenticio, a su estado de desarrollo entre otras, pueden ser amarillentas, rojizas o marrones, poseen dos manchas de color rojo oscuro en los laterales (Figueroa, 2005). A simple vista parecen puntos rojos colocados en el envés de las hojas, con una producción abundante de seda crean un microclima en la hoja para su desarrollo y protección contra depredadores, se les puede observar junto a colonias de larvas, ninfas, huevos y machos (Ledesma y Villabona, 2013). Los machos son más pequeños en comparación con las hembras y poseen una coloración más clara, su cuerpo fusiforme y las patas más largas (García, 2005). Los machos se encuentran generalmente cerca de las hembras adultas, esperando el momento para poder llevar a cabo la copula, tan solo una unión basta para poder ser fertilizados y de esta manera darán paso a una nueva descendencia de machos y hembras, sin embargo, las hembras que no han sido fecundadas producen solo machos, los huevecillos son de forma esférica, de color blanquecino y muy brillantes (German, 2015) El desarrollo exitoso de la especie es dependiente de factores climáticos como son, la humedad y temperatura, importantes para el desarrollo en cada una de sus etapas biológicas, está ya descrito que no hay desarrollo a temperaturas de 2°C y sobre los 40°C, una temperatura ideal que garantiza su buen desarrollo oscila en los 30°C, la baja humedad es otro de los factores de gran importancia en el crecimiento de la especie, ya que contribuye a la puesta de huevos y puede estar activa durante todo el año (Larrea, 2014).

2.2.3 Daños

El acaro de dos manchas reduce significativamente la fotosíntesis, afecta la apertura estomática, incrementa la transpiración y afecta el contenido de clorofila (Landeros *et al.*, 2010). Esta especie utiliza su aparato bucal para penetrar en las células vegetales, principalmente en el envés de las hojas de esta manera succiona el contenido celular, cada minuto que se alimenta puede destruir hasta dos docenas de células (IRAC, 2022). Los primeros síntomas de daño que esta plaga ocasiona se visualizan como manchas amarillentas a blanquecinas, alrededor de la nervadura central y puntos cafés en el haz, los daños más graves tienen impacto en el desarrollo de la planta, reduciendo la calidad

del botón floral, siendo el daño más importante ya que es la parte del cultivo que se comercializa (Meza, 2014; IRAC, 2022). Cuando las poblaciones de este acaro son muy elevadas provocan defoliación severa, incluso puede provocar la muerte de la planta (Forero, 2008).

2.2.4 Control

El control de *T. urticae* en los cultivos que ataca, incluyendo los rosales, desde hace mucho tiempo se hace mediante el uso de agroquímicos, estos desempeñan un papel importante en el control de las poblaciones de estos ácaros plaga (Van de Vrie *et al.*, 1972). La utilización de plaguicidas en sus inicios fueron excelentes métodos de control, sin embargo, en la actualidad el resultado suele ser poco efectivo, además de provocar daños al ambiente por el uso excesivo e inadecuado. Por lo antes mencionado en la actualidad se buscan métodos de control más sostenibles y que resulten ser más efectivos, como el uso de control biológico (Stavrínides *et al.*, 2010).

2.2.5 Resistencia de *T. urticae*

El uso excesivo de agroquímicos en combinación con las características biológicas de la especie, como la abundante descendencia, ciclo de vida corto, tipo de reproducción arrenotoquia y la rápida habilidad de sobrevivencia, contribuyen a los altos niveles de resistencia (Van *et al.*, 2013). Esta especie es resistente a más de 90 compuestos que pertenecen a diferentes clases químicas y se han documentado 460 casos en todo el mundo (Sparks y Nauen, 2015; Piraneo *et al.*, 2015). En varios estudios se ha informado el desarrollado de resistencia a la abamectina y en algunos casos los estudios de sinergia y los ensayos bioquímicos indican la posible participación de las enzimas de detoxificación (Yorulmaz y Ay, 2009). Kwon *et al.* (2010a) informaron que la resistencia a la abamectina en poblaciones de este acaro estaba asociada a una elevada actividad de esterasas y del P450. También se ha indicado que los niveles altos de oxidasas presentes en esta especie son capaces de metabolizar a la abamectina (Riga *et al.*, 2014). En las últimas dos décadas al igual que en los insectos, se cree que el aumento de la actividad de las enzimas de desintoxicación, como oxigenasas, esterasas y glutatión-S-transferasa, tienen un papel importante en la resistencia (Yorulmaz y Ay, 2010). Como resultado de lo anterior, se le considera como una de las especies más resistentes en términos de la cantidad de

productos químicos a los que sus poblaciones se han vuelto resistentes, por tal motivo su control se ha convertido en un problema severo en muchas partes del mundo.

2.3 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”. Esta definición es distinta a la de otras publicadas, pero IRAC considera que representa la definición más precisa. “Para llegar a crear resistencia puede ser por el “uso abusivo” o “mal uso” de un insecticida o acaricida en el control de una plaga, que resulta en la selección Darwiniana de formas resistentes de la plaga y la consiguiente evolución de las poblaciones que se convierten en resistentes a ese insecticida o acaricida” (IRAC, 2021).

2.3.1 Tipos de resistencia

Dentro de los mecanismos más destacados que ocurren en artrópodos son el sitio insensible y el tipo de resistencia metabólica, mientras que la fisiológica es la consecuencia de la interacción de estos factores que incluye la penetración disminuida, secuestro y excreción (FAO, 2013).

De acuerdo a la clasificación de Miller (1988) se puede encontrar:

- **Resistencia por comportamiento:** “donde el artrópodo no entra en contacto con el insecticida”. También conocida como resistencia de conducta, puede ser cualquier modificación en el comportamiento de la plaga que le va a ser de utilidad para poder evadir los efectos letales de los plaguicidas, que cuando sea expuesto a una dosis letal será eliminado, por el contrario, aquellos individuos que logren evadir la exposición podrán sobrevivir y cumplir con su ciclo biológico, al mismo tiempo que desarrollaran una población resistente a esta característica de comportamiento (FAO, 2013)
- **Resistencia de penetración:** “la composición del exoesqueleto se modifica inhibiendo o evitando la penetración de insecticida”. La cutícula del insecto retarda la penetración del insecticida en su cuerpo.

- **Resistencia metabólica:** “la vía metabólica del artrópodo se cambia de manera que detoxifica al producto químico”.

En la actualidad los insectos son tan versátiles que se adaptan al medio en el que se desarrollan, esta característica es provista por el fenómeno de inducción. Este proceso consiste en que mediante un estímulo químico induce la actividad del sistema de detoxificación con la producción de enzimas. Una vez que el insecticida entra al organismo del insecto desencadena una serie de reacciones por las cuales adquiere grupos funcionales, que en una segunda etapa le va a permitir conjugarse con sustancia endógenas y de esta manera dar origen a compuestos más polares que van a ser insolubles en lípidos y debido a esta característica más fáciles de excretar, en algunos casos no ocurre la primera etapa, ya que en su estructura pueden poseer grupos funcionales los cuales le van a permitir realizar de manera directa las reacciones de la segunda etapa (Sotolongo y Vidal, 1988, Bisset, 2002).

2.3.2 Verificación de resistencia

En la actualidad existen una gran variedad de métodos y condiciones para poder verificar la resistencia de alguna especie de interés agronómico.

- **Pruebas de dosis de discriminación:** este método ha sido ampliamente aplicado para dar seguimiento a la resistencia, especialmente donde se hace uso indiscriminado de insecticidas, siendo una herramienta de fácil y efectiva aplicación. El objetivo de este ensayo es “determinar donde el estatus de la susceptibilidad de la población haya cambiado”, sin embargo, para que se pueda detectar la resistencia de individuos, la frecuencia del gen deber ser mayor al uno por ciento (FAO, 2013).
- **Pruebas de respuesta de dosis:** este es el clásico bioensayo que se usa para evaluar que tan susceptible es una población a un compuesto, dentro de un rango de dosis de mortalidad del cinco al noventa y cinco por ciento para el caso de insecticidas. Esta herramienta es útil antes de realizar aplicaciones con productos a grandes extensiones (FAO, 2013).
- **Pruebas bioquímicas e inmunológicas:** esta técnica es usada para la identificación de las enzimas involucradas en la desintoxicación que se asocian o

dan resistencia a especies plaga, donde hacen uso de sus anticuerpos para poder degradar con mayor rapidez el toxico (FAO, 2013).

- **Relación entre resultados del bioensayo y comportamiento en campo:** esto va ser de gran utilidad para poder estimar el descenso en la susceptibilidad de la plaga y el comportamiento que se obtenga en campo (FAO,2013).

2.4 Enzimas asociadas a la resistencia

En el metabolismo de los insecticidas participan principalmente cuatro familias importantes las cuáles se describirán a continuación.

2.4.1 Esterasas

Las esterasas hidrolizan enlaces éster de ácidos grasos de cadena corta, menor o igual a diez carbonos, estos son solubles en agua, se encuentran distribuidas en diferentes tejidos catalizando reacciones de hidrolisis de carboxiesterasas, amidasas y fosfatasas. La interacción de las enzimas y el plaguicida da origen a la acción que ejerce el toxico en el organismo y una respuesta de defensa por parte del cuerpo que busca eliminar la sustancia (Gilham y Lehner, 2005; Kwon, 2011). Su actuación dentro de la bioquímica consiste en la unión rápida al insecticida y la liberación lenta de metabolitos, es decir secuestran al insecticida antes de que este pueda llegar a su sitio de acción, para que este mecanismo suceda necesita una elevada presencia de esta enzima debido a la estequiometria de la reacción, dando origen a la saturación de enzimas y como consecuencia el desarrollo de la resistencia. Estas enzimas son capaces de soportar amplios rangos de pH presencia de solventes orgánicos, estabilidad a elevadas temperaturas y especificidad de sustrato. Por otra parte, las carboxilesterasas y fosfotriesterasas poseen cierta discrepancia en sus reacciones de detoxificación debido a la acción que tienen los organofosforados y debido a que tan solo una molécula de fosfotriesterasa es capaz de hidrolizar varias moléculas de organofosforados, en cambio una sola carboxilesterasa hidroliza el toxico (Sogorb y Vilanova, 2002).

2.4.2 Glutathion S-Transferasa

La enzima glutathion S-transferasa (GST) es la encargada de catalizar la conjugación de la glutathion endógeno a una variedad de compuesto electrofilico, de esta manera da protección a las proteínas y los ácidos nucleicos de las consecuencias toxicas de una

reacción covalente con el insecticida. El enlace incrementa la solubilidad del compuesto y de esta manera facilita la evacuación del toxico del organismo del insecto (Ezemonye y Tongo, 2010; Enayati *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2001). Numerosas investigaciones han informado la presencia elevada en la actividad de esta enzima, tal presencia se ha asociado y demostrado ser el factor responsable de la resistencia a muchos insecticidas, también se le ha responsabilizado de la resistencia a organofosforados y organoclorados a través de la dehidroclorinacion en insectos. Las enzimas protegen a la célula contra los tóxicos, neutralizándolas y haciendo que el producto sea más soluble en agua. Por lo tanto, esta enzima ha sido útil como indicador de exposición a plaguicidas (Shi *et al.* 2012; Ezemonye y Tongo, 2010; Hayes *et al.* 2005; Guengerich, 1963).

2.4.3 Oxidasas de función múltiple

Conocidas también como citocromos P-450 o monooxigenasas, implicadas en el metabolismo de compuestos exógenos como plaguicidas. Son una familia de hemoproteínas las cuales son las precursoras del metabolismo oxidativo de componentes tanto exógenos como endógenos. Este tipo de enzimas se encuentran de manera natural en el metabolismo del insecto, están involucradas en los procesos de detoxificación (Scott y Wen, 2001). Se ubican en el retículo endoplasmático liso dentro de las células (Bisset, 2002; López, 2008). Este sistema enzimático se asocia a la detoxificación de numerosos plaguicidas, principalmente piretroides, carbamatos y organofosforados, además de que se les implica en la resistencia cruzada a más de un insecticida, estas enzimas resultan ser un buen elemento para iniciar estudios de resistencia de tipo metabólica en insectos (Scott y Wen, 2001; López, 2008; Bautista *et al.* 2009).

2.4.4 Acetilcolinesterasa

Es la enzima de mayor importancia por la función que cumple dentro del sistema nervioso al catalizar la hidrólisis del neurotransmisor Acetilcolina. La enzima AChE es la clave principal para organofosforados y carbamatos (Vontas *et al.* 2002). Existen múltiples formas mutantes de la acetilcolinesterasa en la que el insecticida no puede acoplarse y no ejerce su acción dado el cambio en su conformación. En general, este mecanismo produce un amplio espectro de resistencia a la mayoría de los organofosforados y en mayor medida a los carbamatos (Bisset, 2002).

Materiales y métodos

3.1 Ubicación del experimento

Las pruebas de susceptibilidad de los acaricidas y la cuantificación de las enzimas detoxificativas de *Tetranychus urticae* se llevó a cabo en el Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México.

3.2 Productos evaluados

Se evaluaron tres productos químicos de diferente grupo toxicológico, más un extracto vegetal, cada producto se evaluó a seis concentraciones diferentes (Cuadro 1).

Cuadro 1. Productos a evaluar y su nombre comercial.

No.	Ingrediente activo	Nombre comercial
1	Abamectina	AGRIMEC® 1.8% CE
2	Acequinocyl	KANEMITE® 15 SC
3	Clorfenapir	SUNFIRE® 2 SC
4	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	

3.3 Poblaciones de *T. urticae*

Como población susceptible de referencia se estudiaron ácaros provenientes del invernadero del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro libres de presión de selección por insecticidas y tres poblaciones de campo con diferente manejo de acaricidas, provenientes de invernaderos de tres ranchos en cultivo del rosal bajo invernadero de Tenancingo, Estado de México: Rancho Los Pilares (L1) con rotación de acaricidas, Rancho Isoflor (L2) con rotación de acaricidas y Rancho Lizflor (L3) sin manejo de acaricidas.

3.4 Recolecta del material biológico

La colecta en campo se llevó a cabo de manera manual, colocando en contenedores de plástico y hieleras para su traslado al Laboratorio de Toxicología, en donde se colocaron en plantas de *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) variedad Lima para su alimentación, se

colocaron bajo condiciones controladas a temperaturas de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa de 60 a 70% y 12 horas de luz diaria proporcionada iluminación artificial.

3.5 Bioensayos

Para la preparación de las diferentes dosis se utilizó agua destilada y el producto BIONEX® como dispersante en una proporción 1 ml: 1L agua. El intervalo de dosis utilizadas fue de 10 a 10 000 ppm, excepto para la abamectina que oscilo entre 0.01 a 6.0 ppm, esto debido a que el producto posee alta especificidad. Para la evaluación de los productos se empleó la técnica de inmersión en hoja (IRAC, 2021). El cual consistió en cortar hojas de *P. vulgaris* infestadas de hembras adultas de *T. urticae* las cuales se sumergieron en las soluciones en estudio por un tiempo de 10 segundos y se dejaron secar en papel absorbente durante una hora para eliminar excesos, posteriormente fueron colocadas en cajas Petri provistas de algodón saturado con agua. Se evaluó la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas y como criterio de muerte a los individuos se les realizo un estímulo con un pincel, todo aquel individuo que no respondía al estímulo fue considerado muerto. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis tratamientos y un testigo blanco el cual fue agua más adherente, con tres repeticiones para cada uno.

3.6 Pruebas bioquímicas

3.6.1 Cuantificación de proteína de hembras adultas de *T. urticae*

Para la determinación de proteína contenida en *T. urticae*, se empleó la metodología descrita por Brogdon y Barber (1987). Se colocaron tres muestras en tubos Eppendorf con 60, 90, 120, 200, 300 y 400 adultos hembras con tres repeticiones, se agregaron 500 μL de solución buffer (KPO_4) a 0.05 M y 7.2 pH, se maceraron y se aforaron a 1 mL para emplearlo como fuente de enzima. Posteriormente en una microplaca de 96 pozos se colocaron en cada cavidad 20 μL de homogenato y se agregaron 80 μL de solución buffer, más 200 μL de colorante diluido; esto se realizó por triplicado para cada repetición. Se tomaron las lecturas de absorbancia, utilizando el filtro de 630 nm y se calcularon los valores de $\mu\text{g mL}$ de proteína que se encontraran dentro de rango requerido que va de 80 a 120 μg .

3.6.2 Preparación de homogenatos

Una vez que se conocía la cantidad de ácaros que se iban a utilizar por muestra en relación a la proteína (los cuales fueron 400 ácaros adultos), posteriormente se colocaron 100 μ L de proteína, se homogenizó en 500 mL de solución Buffer (KPO_4) e inmediatamente se aforó a 1 mL (Brogdon, 1984).

3.6.3 Cuantificación de α y β -esterasas

Se disolvieron 5.6 mg de α ó β -naphthyl acetato en 2 mL de acetona y después se le agregaron 8 mL de solución Buffer (KPO_4). Como colorante se utilizó Fast-blue, pesando 10 mg y se diluyeron en 10 mL de H_2O destilada.

En cada pozo de la microplaca, se colocaron 100 μ L del homogenato y 100 μ L de α o β -naphthyl acetato, se dejó incubar por 10 minutos y transcurrido el tiempo, se adicionaron 100 μ L del colorante Fast Blue, estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones en estudio, posteriormente se dejaron reposar durante 2 minutos y se corrió en el lector de microplacas usando un filtro de 540 nm (Brogdon y Dickinson, 1983).

3.6.4 Cuantificación de glutatión S-Transferasa

Se mezclaron 0.0122 g de reduce glutatión en 20 mL de solución Buffer (KPO_4). Se disolvieron 4 mg de CDNB (1-cloro-2,4 dinitrobenceno) en 2 mL de acetona, más 18 mL de solución Buffer (KPO_4).

En cada pozo de la microplaca se colocaron 100 μ L del homogenato, se adicionaron 100 μ L de reduce glutatión, y 100 μ L de CDNB, estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones en estudio, se corrió inmediatamente (T_0) en el lector de microplacas usando un filtro de 340 nm, transcurridos 5 minutos (T_5).se volvió a tomar lectura. Para el análisis estadístico a las lecturas de absorbancia se les determinó la diferencia entre ambos tiempos (T_5-T_0) (Brogdon y Barber, 1990).

3.6.5 Cuantificación de Acetilcolinesterasa

Se disolvieron 14 mg de acetilcolina-yodisada en 10 mL de acetona y se aforó con 18 mL de solución Buffer (KPO_4). Para el DTNB (Acido-Ditio-Bis-Nitrobenzoico) se pesaron 13 mg y se le adicionaron 10 mL de la solución Buffer (KPO_4).

En cada pozo de la microplaca se colocaron 100 μ L del homogenato, se agregaron 100 μ L de acetilcolina-yodisada y 100 μ L de DNTB, estos pasos se realizan por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones en estudio, 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}). Para el análisis estadístico las lecturas de absorbancia se les determino la diferencia entre ambos tiempos ($T_{10}-T_0$) (Brogdon, 1988).

3.6.6 Cuantificación de Oxidasas

Se diluyeron 3.32 g de acetato de sodio en 37.35 mL de agua destilada, después se aforó a 40 mL, ajustando el pH a 5. Para el TMBZ (Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride), se disolvieron 20 mg en 10 mL de alcohol, y se le agrego 30 mL de solución Buffer acetato de sodio 0.25 M.

En cada pozo de la microplaca se colocaron 100 μ L del homogenato, se agregaron 200 μ L de TMBZ y se adiciono una gota de agua oxigenada (H_2O_2), estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las cuatro poblaciones en estudio, se dejó incubar por 5 minutos, pasado el tiempo se corrió en el lector de microplacas usando un filtro de 620 nm (Brogdon *et al.*, 1997).

3.7 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos de los bioensayos se realizó una corrección de mortalidad con la fórmula propuesta por Henderson y Tilton (1955). Los resultados de la corrección de mortalidad se sometieron a un Análisis Probit (Finney, 1971), para obtener la curva de respuesta concentración mortalidad y así determinar la CL_{50} , utilizando el programa estadístico SAS System for Windows 9.0. Una vez obtenida la CL_{50} para las líneas de campo y la línea susceptible, se determinó la proporción de resistencia dividiendo los valores de las CL_{50} de las líneas de campo contra la CL_{50} de la línea susceptible (Georghiou, 1962). Con las absorbancias obtenidas de cada enzima se realizó un ANOVA y una prueba de Tukey ($p=0.05$), utilizando el programa estadístico R versión 4.1.2.

Resultados y discusión

Bioensayos

En el cuadro 2, se muestran los resultados obtenidos de la respuesta de la línea susceptible (LS) de *T. urticae* en relación a cuatro acaricidas de diferente grupo toxicológico. La CL₅₀ fue de 0.29, 35.56, 7.44, 765.82 ppm para los acaricidas abamectina, acequinocyl, clorfenapir y el extracto *Cinnamomum zeylanicum* (canela) respectivamente. La CL₅₀ para abamectina (0.29 ppm) en este estudio es similar a los reportado por Kwon *et al.* (2011) en un estudio con tres líneas susceptibles reportaron una CL₅₀ de 0.11, 0.15 y 0.24 ppm respectivamente, datos reportados por Díaz *et al.* (2021) difieren en los reportados en este estudio donde, en una línea susceptible reportan una CL₅₀ de 0.0012 ppm, mientras que Ferreira *et al.* (2015) reportan una CL₅₀ de 0.0084 ppm.

En lo que se refiere al resultado de acequinocyl (35.56 ppm) lo reportado en este estudio es superior a la reportada por Choi *et al.* (2020) con una línea susceptible reportan una CL₅₀ de 2.78 ppm, en otro estudio realizado por Fotoukkaiaii *et al.* (2019) reportan para una línea susceptible una CL₅₀ de 6.93 ppm. En lo que refiere a clorfenapir en este estudio fue de 765.82 ppm lo cual supero el resultado de la línea susceptible reportada por Ferreira *et al.* (2015) donde señala una CL₅₀ de 1.3 ppm, mientras que Nicastro *et al.* (2013) reportan una CL₅₀ de 1.478 ppm y Aguilar *et al.* (2011) obtuvieron una CL₅₀ de 0.0006 ppm. En lo que respecta al extracto *C. zeylanicum* en este estudio se obtuvo una CL₅₀ de 300.88 ppm, mientras que Royá *et al.* (2013) obtuvieron una CL₅₀ menor cuando aplicaron aceite de *C. zeylanicum* a una línea de laboratorio reportando 20.35 ppm y en otra línea de laboratorio Shahrma y Khalequzzaman, (2015) reportaron una CL₅₀ de 510.53 ppm. Por lo anterior se considerar a nuestra línea como susceptible y puede ser usada como referencia en el presente estudio.

Cuadro 2. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea susceptible de hembras adultas de *T. urticae*.

Línea Susceptible (LS)						
Acaricidas	N	CL ₅₀ (ppm)	LFI-LFS	CL ₉₀ (ppm)	Ecu. Predicción	Pr>
Abamectina	223	0.29	0.11-0.78	3.52	Y=0.6344±1.1833	<.0001
Acequinocyl	239	35.56	17.82-60.56	268.76	Y=-2.2630±1.4590	<.0001
Clorfenapir	222	765.82	2.56-852	5245	Y=-2.0135±0.6981	<.0001
C. zeylanicum	235	300.88	15.45-532	617	Y=-1.3736±0.5542	<.0001

N: Numero de hembras adultas, LFI: Limite Fiducial Inferior, LFS: Limite Fiducial Superior, Pr: Probabilidad.

En los cuadros 3, 4 y 5 se presentan los resultados para las líneas de campo de *T. urticae* recolectadas en el cultivo del rosal en invernaderos expuestas a acaricidas de Tenancingo, Estado de México. Para el acaricida abamectina la L1 y L2 presentaron la CL₅₀ más baja con 0.074 y 0.389 ppm respectivamente, mientras que en la población L3 obtuvo una CL₅₀ mayor de 1.23 ppm, estos resultados son similares a los presentados por Aguilar *et al.* (2011) donde reportan en poblaciones de campo para el mismo acaricida y la misma especie 0.01, 0.12 y 0.93 ppm, mientras que Choi *et al.* (2020) en dos líneas de campo reporta una CL₅₀ de 0.065 y 0.56 ppm, por su parte Nicastro *et al.* (2013) en un estudio de poblaciones en campo donde previamente se ha usado abamectina para el control de *T. urticae* reportan una CL₅₀ de 3.485 ppm, resultado superior a lo reportado en esta investigación.

En lo referente al producto acequinocyl para las poblaciones L1 y L2 son la CL₅₀ más alta con un 106.21 y 176 ppm respectivamente, mientras que en la L3 el valor de la CL₅₀ fue menor con un valor de 15.49 ppm, estos resultados difieren de los reportados por Martínez *et al.* (2021) en una línea de campo colectada en el cultivo de frambuesa donde la CL₅₀ es de 1989 ppm y en otro estudio Yorulmaz y Saritas, (2014) reportan una CL₅₀ en una población resistente de 683.5 ppm, sin embargo en una línea de campo reportada por Fotoukkaia *et al.* (2019) es similar a la L3 de este estudio, donde reportan 18.09 ppm para *T. urticae*.

Para el acaricida clorfenapir las tres líneas de campo tuvieron un comportamiento similar, para la L1 706.97 ppm, la L2 699.88 ppm y la L3 una CL₅₀ de 442.14 ppm, estos resultados difieren de los reportados por Nicastro *et al.* (2011) ya que en su estudio realizado con la misma especie describen una CL₅₀ de 48.37 ppm, mientras que Ferreira *et al.* (2015) en tres poblaciones de campo colectadas en los cultivo de *Carica papaya*, *Rosa sp.* y *Chrysanthemum sp.* reportan las CL₅₀ de 2.8, 735 y 4652 ppm respectivamente y datos reportados por Tang *et al.* (2014) en cuatro poblaciones de campo mencionan CL₅₀ de 113.99 y 335.98 en el cultivo de berenjena, 182.29 en fresa y 490.36 ppm en pepino.

Lo que se refiere al extracto de *C. zeylanicum* en la población L1 se obtuvo una CL₅₀ de 647.58 ppm, la más alta en comparación con la L2 y L3 en las que se obtuvieron datos similares con CL₅₀ de 240.48 y 213.43 ppm respectivamente, esto resultados difieren de los reportados por Pavela, (2016) en una línea donde aplicaron extracto de *C. zeylanicum* obtuvieron una CL₅₀ de 72.8 ppm, mientras que Noha, (2019) aplico aceite de *Cinnamomum* a una línea de *T. urticae* reportando una CL₅₀ de 2928.97 ppm.

Cuadro 3. Concentración letal, limites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea de campo (L1) de hembras adultas de *T. urticae* y proporción de resistencia contra la línea susceptible.

Rancho Los Pilares (L1)						
Acaricidas	N	CL ₅₀ (ppm)	LFI-LFS	CL ₉₀ (ppm)	Ecu. Predicción	P.R ₅₀
Abamectina	238	0.074	0.01-0.20	1.118	Y= 1.2282±1.0914	0.25
Acequinocyl	238	106.21	45.76-288.99	1884	Y=-2.0792±1.0261	2.98
Clorfenapir	251	706.97	48.47-3133	1159	Y=-1.1358±0.3986	0.92
<i>C. zeylanicum</i>	236	647.58	118.19-3177	5544	Y=-1.2285±0.4370	2.15

N: Numero de hembras adultas, LFI: Limite Fiducial Inferior, LFS: Limite Fiducial Superior, P.R: Proporción de resistencia.

Cuadro 4. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea de campo (L2) de hembras adultas de *T. urticae* y su proporción de resistencia contra la línea susceptible.

Rancho Isoflor (L2)						
Acaricidas	N	CL₅₀ (ppm)	LFI-LFS	CL₉₀ (ppm)	Ecu. Predicción	P.R₅₀
Abamectina	237	0.389	0.211-0.783	5.448	Y=0.4576±1.1190	1.3
Acequinocyl	238	176	81.759-562.10	5520	Y=-1.9231±0.8564	4.9
Clorfenapir	227	699.88	44.429-6464	38193	Y=-2.0990±0.7378	0.91
C. zeylanicum	229	240.48	8.009-1135	5105	Y=-2.2997±0.9658	0.79

N: Numero de hembras adultas, LFI: Limite Fiducial Inferior, LFS: Limite Fiducial Superior, P.R: Proporción de resistencia.

Cuadro 5. Concentración letal, límites fiduciales y ecuación de predicción de acaricidas aplicados a la línea de campo (L3) de hembras adultas de *T. urticae* y su proporción de resistencia contra la línea susceptible.

Rancho Lizflor (L3)						
Acaricidas	N	CL₅₀ (ppm)	LFI-LFS	CL₉₀ (ppm)	Ecu. Predicción	P.R₅₀
Abamectina	235	1.23	0.475-11.11	76.65	Y=-0.0644±0.7142	4.2
Acequinocyl	248	15.49	1.783-52.945	837.48	Y=-0.8802±0.7395	1.03
Clorfenapir	228	442.14	17.23-2963	27856	Y=-1.8842±0.7122	1.02
C. zeylanicum	235	213.43	0.165-1443	4061	Y=-2.3332±1.0017	0.70

N: Numero de hembras adultas, LFI: Limite Fiducial Inferior, LFS: Limite Fiducial Superior, P.R: Proporción de resistencia.

En los cuadros 3, 4 y 5 se presentan los resultados de la proporción de resistencia de las poblaciones en estudio en función de la línea susceptible. La proporción de resistencia, permite discriminar poblaciones que presentan resistencia, al comparar las líneas de campo y la línea susceptible. Monteiro *et al.* (2015) en una línea de campo expuesta por tres años consecutivos reportan una resistencia que va de 1.4 a 9.7 veces para abamectina, por su parte Choi *et al.* (2020) reportan una proporción de resistencia en una línea de campo 4.0 veces, mientras que, Martínez *et al.* (2021) reportan factores de resistencia de 14.0 veces en una línea de campo, estos resultados difieren a lo reportado en este estudio, donde no se encontró resistencia a abamectina en la L1 (0.25 veces), L2 (1.3 veces),

mientras que la línea L3 (4.2 veces) presenta tendencia a desarrollar resistencia, por lo tanto se recomienda comenzar con rotación de las aplicaciones y así evitar problemas de resistencia.

Para el acaricida acequinocyl, Choi *et al.* (2020) en una población de campo que ha estado expuesta a este acaricida por más de seis años consecutivos, reportan una proporción de resistencia mayor a 1798.6 veces, mientras que Yorulmaz y Saritas (2014) reportan en una línea de campo una proporción de resistencia para *T. urticae* de 4.8 veces, por su parte Martínez *et al.* (2021) mencionan una proporción de resistencia de 3.7 veces, datos similares se encontraron en este estudio donde en la L1 (2.98 veces), L2 (4.9 veces) y L3 (1.03 veces), donde se aprecia que la L1 y L2 tienden a desarrollar resistencia, esto debido a que se hacen aplicaciones constantes de este producto según la bitácora correspondiente al manejo de estas poblaciones en campo.

En relación al acaricida clorfenapir, Tang *et al.* (2014) en su estudio reportan una resistencia de 195 veces en una población de campo, mientras que Kumari *et al.* (2017) al aplicar este mismo acaricida a la misma especie reportaron una resistencia de 82.67 veces, por su parte Ferreira *et al.* (2015) en un estudio donde evaluaron tres poblaciones, reportan una resistencia de 2.2, 570 y 3600 veces respectivamente, estos datos difieren con los reportados en este estudio donde se encontró para la L1(0.92 veces), L2(0.91 veces) y L3(1.02 veces).

En lo que respecta a *C. zeylanicum* en este estudio no se encontró resistencia siendo el valor más bajo para L3 (0.70) y el más alto correspondiente a L1 (2.15 veces), estos datos son similares a los reportados por Noha, (2019) donde mencionan que al aplicar aceite de canela causó una alta proporción de mortalidad en *T. urticae*, por su parte Roya *et al.* (2013) mencionan que al aplicar aceite esencial afectó la fertilidad específica por edad, la esperanza de vida y el periodo de desarrollo pre-adulto y disminución de la longevidad del acaro hembra adulta.

Pruebas bioquímicas

Para la determinación de los niveles enzimáticos se calculó la cantidad de proteína contenida en adultos de *T. urticae* y así obtener el número de ácaros por muestra, donde de 60 a 300 ácaros, el contenido de proteína fue por debajo del intervalo requerido (80 a 120 μg), mientras que 400 ácaros, están dentro del límite requerido, seleccionando 400 adultos como número de ácaros para la fuente de enzima (Fig. 1). Respecto a la fuente de enzima Bradford (1976) menciona que valores fuera del rango no son confiables para la cuantificación de proteína. Mientras que Dary *et al.* (1990) reporta que existe estrecha relación entre el tamaño de la muestra y la cantidad de proteína,

Para determinar los niveles enzimáticos, es importante mencionar que las poblaciones en estudio estuvieron bajo un manejo con insecticidas piretroides, avermectinas, acequinocilo y organofosforados.

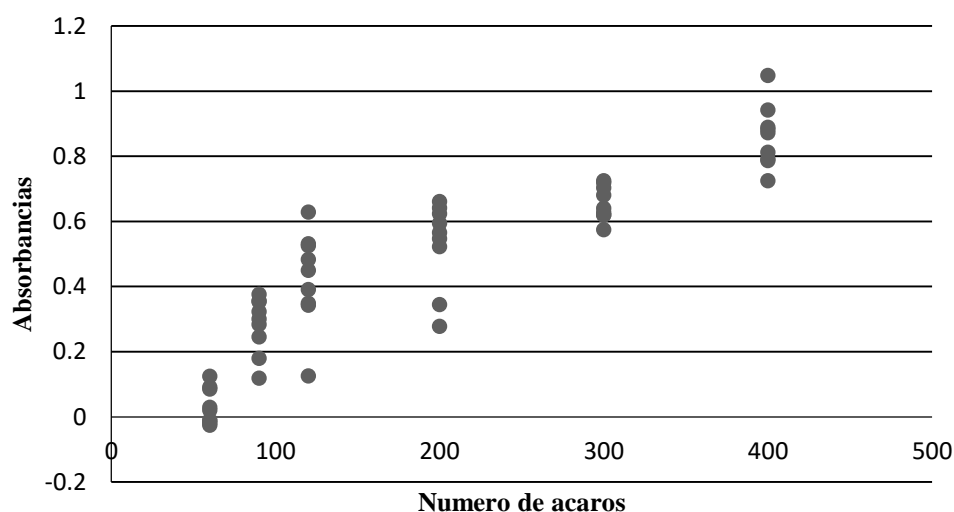


Figura 1. Cuantificación de proteína de hembras adultas de *T. urticae* en solución buffer (KPO_4).

En este estudio las β -Est (Cuadro 6), son las que se expresan en mayor cantidad para la población L1, con una media de 3.738, seguida de la L2 (3.329) y L3 (3.240) a diferencia de la LS presentando el valor más bajo para esta enzima, con una media de 0.036. Mientras que para las α -Est (Cuadro 6), el mayor contenido se expresa en la L3 con una media de 3.015, seguido de L1 y L2 con medias de 2.256 y 2.013, a diferencia de la LS con el valor más bajo (1.898). Las esterases son un grupo heterogéneo de enzimas que metabolizan

una variedad de exógenos y sustratos endógenos con enlaces éster y se asocian con la resistencia en más de 50 especies de insectos y ácaros. Estudios previos reportan diferencias significativas en la actividad de las esterasas en cinco de nueve poblaciones de *T. urticae* recolectadas en invernaderos de rosa, reportan su punto máximo de 1.52, (Khajehali *et al.*, 2011). Solmaz *et al.*, (2020) mostraron la variación en actividad enzimática de esterasas, GST y monooxigenasas, en tres poblaciones de campo expuestas a insecticidas, aumentando de 0.77-1.56, 1.28-2.66 y 1.09-3,46 veces respectivamente, en comparación con una línea susceptible, con estos resultados determinaron que las enzimas de desintoxicación, desempeñan un papel importante en la resistencia de *T. urticae*.

Cuadro 6. Comparación de medias del contenido de α y β -esterasas en tres poblaciones de *T. urticae* del Estado de México y una línea susceptible.

Población	N	α -Est	β -Est
		Media \pm SD	Media \pm SD
Línea Susceptible	9	1.898 \pm 0.523 ^b	0.036 \pm 0.002 ^b
Rancho Los Pilares	9	2.256 \pm 0.776 ^{ab}	3.738 \pm 0.146 ^a
Rancho Isoflor	9	2.013 \pm 0.740 ^b	3.329 \pm 0.206 ^a
Rancho Lizflor	9	3.015 \pm 0.607 ^a	3.240 \pm 0.199 ^a

N: Numero de muestras, SD: Desviación estándar

Para el caso de las Oxidasas se encontró que la mayor absorbancia se presenta en la L3 con una media de 1.881, seguida de la L2 con una media de 1.599 y L1 de 1.426, presentando la LS el valor de media de absorbancia más bajo con 1.242 (Cuadro 7). El aumento de las actividades Oxid contribuye a la resistencia a carbamatos, piretroides, análogos de nereistoxina y diamidas (Furlong *et al.*, 2013, Hu *et al.*, 2014b). Estas enzimas son las más comunes asociadas con la resistencia cruzada entre DDT y piretroides (Fonseca *et al.*, 2009).

Cuadro 7. Comparación de medias del contenido de oxidasas en tres poblaciones de *T. urticae* del Estado de México y una línea susceptible.

Población	N	Oxid
		Media±SD
Línea Susceptible	9	1.242±0.298 ^c
Rancho Los Pilares	9	1.426±0.183 ^{bc}
Rancho Isoflor	9	1.599±0.072 ^b
Rancho Lizflor	9	1.881±0.132 ^a

N: Numero de muestras, SD: Desviación estándar

Por otro lado, las GST comprenden una importante familia de desintoxicación y desempeña un papel central en el metabolismo (Van y Dermauw, 2016), pueden participar en la desintoxicación de insecticidas/acaricidas ya sea por metabolismo directo de productos químicos como la deshidrocloración de organoclorados, conjugación de glutatión de organofosforados (Yamamoto y Yamada, 2016) y conjugación de glutatión de piretroides o por unión pasiva mediante secuestro. (Riveron *et al.*, 2014).

En lo referente a las GST (Cuadro 8), para las tres poblaciones en estudio presentaron medias similares, con valores que oscilan entre 2.842 a 2.980, observando diferencias poco significativas en comparación con la línea susceptible. Farahani *et al.* (2021) realizaron ensayos de enzimas de desintoxicación para demostrar la participación metabólica en la resistencia de una población de campo y una susceptible, indicando una diferencia significativa en la actividad GST, donde la línea de campo fue 1.40 veces mayor que la línea susceptible. En otro estudio Yorulmaz y Saritaş (2014) demostraron que las actividades de las enzimas esterasa, GST y P450 aumentaron 3.03, 1.0 y 1.0 veces respectivamente en la población de campo con resistencia al acequinocilo en comparación con la población susceptible.

Cuadro 8. Comparación de medias del contenido de glutatión-S-transferasas en tres poblaciones de *T. urticae* del Estado de México y una línea susceptible.

Población	N	GST
		Media±SD
Línea Susceptible	9	2.980±0.254 ^a
Rancho Los Pilares	9	2.907±0.143 ^a
Rancho Isoflor	9	2.842±0.119 ^a
Rancho Lizflor	9	2.968±0.234 ^a

N: Numero de muestras, SD: Desviación estándar

Finalmente, la enzima AChE (Cuadro 9), la población L2 presento la media más elevada siendo de 0.421, seguida de la L3 (0.223) y L1 (0.202) a diferencia de la LS la cual presenta el valor de la media más bajo siendo de 0.187. Farahani *et al.*, (2021) en un estudio obtuvieron resultados que mostraron una diferencia significativa en la actividad de la enzima AChE entre poblaciones resistentes y susceptibles (0.006 y 0.005) respectivamente, donde la actividad de esta enzima fue 1.29 veces mayor que la población susceptible. Zamani *et al.* (2014) en un estudio donde evaluaron la actividad de AChE en una población susceptible y una resistente, los resultados mostraron que no se observaron diferencias significativas entre las poblaciones.

Cuadro 9. Comparación de medias del contenido de acetilcolinesterasas en tres poblaciones de *T. urticae* del Estado de México y una línea susceptible.

Población	N	AChE
		Media±SD
Línea Susceptible	9	0.187±0.045 ^b
Rancho Los Pilares	9	0.202±0.057 ^b
Rancho Isoflor	9	0.421±0.129 ^a
Rancho Lizflor	9	0.223±0.031 ^b

N: Numero de muestras, SD: Desviación estándar

Conclusiones

De las distintas poblaciones en estudio de Tenancingo, Estado de México, la población que presenta tendencia a desarrollar resistencia al acaricida abamectina es la L3 (Rancho Lizflor), mientras que las poblaciones L1 (Rancho Los Pilares) y L2 (Rancho Isoflor) presentan tendencia hacia el acaricida acequinocyl, por lo que se recomienda la disminución de las aplicaciones y rotación de acaricidas de distinto grupo toxicológico para esta zona. Para el resto de los acaricidas no se ha desarrollado resistencia en ninguna de las poblaciones en estudio, por tal motivo se les puede considerar efectivos para el control de *T. urticae*. Las α -esterasas, β -esterasas y Oxidasas, además de la Acetilcolinesterasas son las enzimas con mayor presencia, a las cuales se les puede atribuir la resistencia en *T. urticae*. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación se propone reducir las aplicaciones de abamectinas y acequinocyl.

Referencias

- Aguilar, M. S., Díaz, G. O., Rodríguez, M. C., Gonzales, C. J., García, V. R., Martínez, C. J. y Reséndiz, G. B. (2011). Resistencia de *Tetranychus urticae* Koch a Acaricidas Usados en la Producción de Rosal de Invernadero en México. *Southwestern Entomologist*, 36(3): 363-371.
- Baudoin, W., Bester, C., Chemonidou, D., Laws, N., Mohktari, M. y Ozzambak, E. (2007). Floriculture for food security. *Acta Horticulturae*. 743, 25 p.
- Bautista, M. A. M. T. Miyataa, K. Miuraa, T. Tanaka. (2009). RNA interference-mediated knockdown of a cytochrome P450, CYP6BG1, from the diamondback 42 moth, *Plutella xylostella*, reduces larval resistance to permethrin, *Insect Biochem. Mol. Biol.* 39, 38-46.
- Bisset, J. A. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54 (3). 202-219. Recuperado 4 de Junio de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300005&lng=es&tlng=es.
- Bisset, J. A.; Rodríguez, M. M.; Molina, D.; Díaz, C.; y Soca, L. A. (2001). Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *Rev Cubana Med Trop*. 53(1): 37-43.
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brogdon, W. G. & Barber A. (1987). Microplate assay of acetylcholinesterase inhibition kinetics in single mosquitoes homogenates. *Pesticides Biochemistry and Physiology*, 29: 252-259. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(87\)90155-6](https://doi.org/10.1016/0048-3575(87)90155-6)
- Brogdon, W. G. & Barber, A. M. (1990). Microplate assay of glutathione s-transferase activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 96: 339-342. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(90\)90385-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(90)90385-7)

- Brogdon, W. G. & Dickinson, M. C. (1983). A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analytical Biochemistry*, 131: 499-503. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(83\)90204-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(83)90204-X)
- Brogdon, W. G. (1984). Mosquito protein microassay-1: Protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 79: 457-459. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(84\)90405-X](https://doi.org/10.1016/0305-0491(84)90405-X)
- Brogdon, W. G. (1988). Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90: 45-150. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(88\)90110-7](https://doi.org/10.1016/0742-8413(88)90110-7)
- Brogdon, W. G.; Mcallister, J. C.; Vulule, J. (1997). Hemeperoxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13: 233-237.
- Choi, J., Koo, H. N., Kim, S., Park, B., Kim, H. and Kim, G. H. (2020). Target-Site Mutations and Glutathione S-Transferases Are Associated with Acequinocyl and Pyridaben Resistance in the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insects*. 11-511.
- Dary, O. Georghiou, G. P., Parsons, E. and Pasteur, N. (1990). Microplate adaptation of Gomori's assay for quantitative determination of general esterase activity in single insects. *Journal Economic Entomologist*, 83: 2187-2192. <https://doi.org/10.1093/jee/83.6.2187>
- De La Cruz Castillo J, Mejía Coico F, Mostacero León J, López Medina E y Gonza Carnero A. (2014). Efecto de la concentración del 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) en el enraizamiento de estacas de *Rosa sp.*, rosa silvestre, en condiciones de invernadero. *Rev. Indes*. 2(1):37-43.
- Díaz, A. K., Rodríguez, M. J., Lagunes, T. A., Aguilar, M. S., Tejeda, R. M. and Silva, A. G. (2021). Resistance to abamectin in field population of *Tetranychus urticae*

- Koch (Acari: Tetranychidae) associated with cut rose from state of Mexico. *Florida Entomologist*, 102(2), 428-430. URL: <https://doi.org/10.1653/024.102.0222>
- Enayati, A. A., Ranson, H., Hemingway, J. (2005). Insect glutathione transferases and insecticide resistance, *Insect Mol. Biol.* 14, 3–8.
- Ezemonye, L., & Tongo, I. (2010). Sublethal effects of endosulfan and diazinon pesticides on glutathione-S-transferase (GST) in various tissues of adult amphibians (*Bufo regularis*). *Chemosphere*, 81(2), 214-217.
- FAO. (2013). Ecología del acaro en los cultivos de flores. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Farahani, S., Reza, B. A. and Amiri, A. (2021). Variable susceptibility in populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to propargite and chlorpyrifos. *J. Crop Prot.* 10 (1), 139-150.
- Ferreira, C. B., Andrade, H. C., Rodrigues, R. S., Siqueira, A. and Gondim, M. G. (2015). Resistance in field populations of *Tetranychus urticae* to acaricidas and characterization of the inheritance of abamectin resistance. *Crop Protection* 67: 77-83.
- Figuerola, L. (2005). Enfermedades y plagas más comunes de las rosas. *Vix.* 1(1),13.
- Finney D. J. (1971). Probit Analysis. Cambridge at the Univ. Press. 3rd Ed. 120.
- Fonseca G. I., Quiñones, M. L., McAllister, J., & Brogdon, W. G. (2009). Mixed-function oxidases and esterases associated with cross-resistance between
- Forero, G., Rodríguez, M., Cantor, F., Rodríguez, D. y Cure, J. R. (2008). Criterios para el manejo de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) con el ácaro depredador *Amblyseius (Neoseiulus) sp.* (Acari: Phytoseiidae) en cultivos de rosas. *SciELO. Agronomía Colombiana* 26(1), 78-86.

- Fotoukiai, S. M., Tan, Z., Xue, W., Wybouw, N. and Leeuwen, T. V. (2019). Identification and characterization of new mutations in mitochondrial cytochrome b that confer resistance to bifenazate and acequinocyl in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Manag Sci.* 76: 1154–1163.
- Furlong, M. J. D. J. Wright, L. M. (2013). Dorsal, Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects, *Annu. Rev. Entomol.* 58, 517-541.
- García, M. (2005). Resistencia de *Tetranychus urticae* y *Panonychus citri* a acaricidas en el cultivo de los cítricos. *Fitohemeroteca*, 173.
- Georghiou, G. P. (1962). Carbamate insecticides: Toxication synergized carbamates against twelve resistant strain of the house fly. *Journal of Economic Entomology* 55: 768-769.
- German, E. (2015). Control químico de trips (*Frankliniella occidentalis*) y ácaros (*Tetranychus urticae*) en rosas (*Rosa sp.*) y crisantemos (*Chrysanthemum sp.*) en poscosecha. Yaruquí, Pichincha. (Tesis de grado). Universidad Central del Ecuador, Yaruquí.
- Gilham, D. y Lehner, R. (2005). Techniques to measure lipase and esterase activity in vitro. *Methods.* 36(2), 139-147.
- Goff, G. J. L., Hance, T., Detrain, C., Deneubourg, J. L., and Mailleux, A. C. (2014). Impact of living with kin/non-kin on the life history traits of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp Appl Acarol.* 63(1):37-47.
- Gómez, A. A. G. (2015). Producción y comercialización de rosa en México. Ciencias Sociales: Economía y Humanidades. Texcoco de Mora: ECORFAN. 1-11 p.
- Guengerich, F.P., (1963). Bioactivation and detoxification of toxic and carcinogenic chemicals. *Drug Metabolism and Disposition* 21, 1–6.
- Hayes, J.D. Flanagan, J.U. Jowsey, I.R. (2005) Glutathione transferases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45, 51–88.

- Henderson, C. F. and Tilton, E. (1955). Test with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of Economic Entomology*, 48:157-161.
- Hu, S. Q., Lin, H. Y., Chen, Z. Y., Li, F., Yin, X. y Feng. (2014b) Identification of a novel cytochrome P450 gene, CYP321E1 from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and RNA interference to evaluate its role in chlorantraniliprole resistance, *Bull. Entomol. Res.* 104, 716-723.
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). (2021) <https://irac-online.org/the-irac-library-of-susceptibility-test-methods/>
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). (2022) <https://irac-online.org/pests/tetranychus-urticae/>
- Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). (2010). Gestión Integrada de plagas y enfermedades. Instituto Valenciano de Investigaciones agrarias.
- Khajehali J., Van N. P., Demaeght P., Tirry L. and Van T. L. (2011). Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouses in the Netherlands. *Pest Manag Sci.* 67: 1424–1433. DOI: 10.1002/ps.2191
- Kumari, S., Chauhan, U., Kumari, A. and Nadda, G. (2017). Comparative toxicities of novel and conventional acaricides against different stages of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 16, 191-196.
- Kwon, D. H., Kim, H., Oh J. H., Lee, S. and Lee, S. H. (2011). Establishment of an acaricide-susceptible *Tetranychus urticae* strain and its species confirmation based on morphological and molecular characters. *Journal of Asia-Pacific Entomology.* 14, 379-385. DOI: 10.1016/j.aspen.2011.05.00
- Kwon, D.H., Seong, G.M., Kang, T.J., Lee, S.H. (2010a). Multiple resistance mechanisms to abamectin in the two-spotted spider mite. *J. Asia Pac. Entomol.* 13 (3), 229–232.

- Landeros, J., Ail, C. E., Cerna, E., Ochoa, Y., Guevara, L., & Aguirre, L. A. (2010). Susceptibilidad y mecanismos de resistencia de *Tetranychus urticae* (Acariformes: Tetranychidae) en rosal de invernaderos/Susceptibility and resistance mechanisms of *Tetranychus urticae* (Acariformes: Tetranychidae) in greenhouse roses. *Revista Colombiana de Entomología*, 36(1), 5.
- Larrea, M. I. (2014). *Bacillus spp.* en *Tetranychus urticae* en rosas (*Rosa spp.*) bajo invernadero y sus eventos de patogenicidad. Universidad Internacional del Ecuador, 30-33.
- Ledesma, J. y Villabona, H. (2013). Estrategias para la prevención y manejo de la resistencia de artrópodos en cultivos ornamentales. Colombia: Punto de Corte.
- López, N. (2008). Evaluación de mecanismos de resistencia a insecticidas en *Frankliniella occidentalis* (Pergande): implicación de carboxilesterasas y acetilcolinesterasas. Tesis Dr. C. B. Valencia. Universidad de Valencia, Facultad de Ciencias Biológicas. 190 p.
- Martínez, F. J. Rodríguez, M. C., Santillán, G. M., Lagunés, T. A., Rodríguez, M. D., Toledo, H. R., Guzmán, F. A., and Silva, A. G. (2021). Rapid Bioassay for Detection of Acaricide Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Entomological Science*, 56(2), 246-255.
- Meza, N. C. (2014). Ácaros de importancia agrícola en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, 52(1): 321-363.
- Modarres, S. (2012). Resistance to *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in *Phaseolus vulgaris* L. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 11(6), 690-701.
- Monteiro, V. B., Gondim, M. G., Oliveira, J. E., Siqueira, H. A. and Sousa, J. M. (2015). Monitoring *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) resistance to abamectin in vineyards in the Lower Middle Sao Francisco Valley. *Crop Protection* 69, 90-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.12.012> 0

- Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert A., Fisher R. and Tiemann R. (2003). Spirodiclofen and spiromesifen. *Pestic 12*, 243–245.
- Nicastro, R. L., Arthur, V., Sato, M. E. and Machi, A. R. (2011). Effect of gamma radiation on the toxicity of milbemectin and chlorfenapyr in acaricide resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). International Nuclear Atlantic Conference INAC. 24-28.
- Nicastro, R. L., Sato, M. E. Arthur, V. and Da Silva, M. Z. (2013). Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. *Springer Science*. DOI: 10.1007/s12600-013-0309-x
- Noha, A. I. (2019). Toxic effect of cinnamon, castor plant oils and their combination on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Plant Protection Research Institute, Agricultural Research Center, Dokki, Giza, *Egypt*. 2(3), 439-497.
- Nyalala, S., Petersen, M. y Grout, B. (2013). Volatile compounds from leaves of the African spider plant (*Gynandropsis gynandra*) with bioactivity against spider mite (*Tetranychus urticae*). *Annals of Applied Biology*, 162(3), 290-298.
- Pascual, R. S., Gómez, M. M., Ansaloni, T., Segarra, M. J., Sabater, M. B, Jacas, J. A., and Hurtado, R. M. (2014). Genetic structure of a phytophagous mite species affected by crop practices: the case of *Tetranychus urticae* in clementine mandarins. *Exp App Acarol*. 62, 477-498.
- Pavela, R. (2016). Acaricida Properties of Extracts of Some Medicinal and Culinary Plants against *Tetranychus urticae* Koch. *Plant Protect Sci*. 1:54-63.
- Piraneo, T.G., Bull, J., Morales, M.A., Lavine, L.C., Walsh, D.B., Zhu, F. 2015. Molecular mechanisms of *Tetranychus urticae* chemical adaptation in hop fields. *Sci. Rep*. 5.
- Reyes, J. C. y Mesa, N. C. (2011). Biology of oligonychus yothersi (MCGREGOR) (Acari: Tetranychidae) on ovocado *Persea americana* mill.cv. Lorena (Lauraceae). *Caldasia*, 33(1), 211-220.

- Riga, M., Tsakireli, D., Ilias, A., Morou, E., Myridakis, A., Stephanou, E.G., Vontas, J. (2014). Abamectin is metabolized by CYP392A16, a cytochrome P450 associated with high levels of acaricide resistance in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 46, 43–53.
- Riveron, J. M., Yunta, C., Ibrahim, S. S., Djouaka, R., Irving, H., Menze, B. D., Ismail, H. M., Hemingway, J., Ranson, H., Albert, A., Wondji, C.S. (2014). A single mutation in the GSTe2 gene allows tracking of metabolically based insecticide resistance in a major malaria vector. *Genome biology* 15, R27. <https://doi.org/10.1186/gb-2014-15-2-r27>
- Roya, R., Jaber, K., Habib, A. and Alireza, A. (2013). Sublethal effects of essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume on life expectancy (ex) and age-specific fertility (mx) of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Faculty of Agricultural Sciences, Department of Plant Protection, Shahed University, Tehran, Iran. 47(8), 900-905.
- SADER (2021). Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/lista-produccion-nacional-de-flores-para-los-festejos-del-dia-de-la-madre>
- SADER (2022). Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/cdmx/articulos/las-rosas-mas-que-ornamentales?idiom=es>
- Scott, J. G. y Wen, Z. (2001). Cytochromes P450 of insects: the tip of the iceberg. *Pest Manag Sci* 57, 958-967.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Panorama Agroalimentario 2020. Ciudad de México. <https://www.gob.mx/siap/articulos/la-produccion-de-rosas-importante-actividad-hoy-en-dia-290342?idiom=es>
- Shahrima, M. T and Khalequzzaman, M. (2015). Toxicity Bioassay of some Essential Oil Vapour on Various Life Stages of Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae*

- (Acari: Tetranychidae) under Laboratory Conditions. *The Journals of Agricultural Sciences*. 11(2), 97-104.
- Shi, H., Pei, L., Gu, S., Zhu, S., Wang, Y., Zhang, Y., & Li, B. (2012). Glutathione S-transferase (GST) genes in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, and comparative analysis with five additional insects. *Genomics*, 100(5), 327-335.
- Sogorb M. A y Vilanova E. (2002). Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol Lett*. 128(1-3), 215-28.
- Solmaz, E., Çevik B. and Ay, R. (2020). Abamectin resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from cut flowers greenhouses in Turkey. *International Journal of Acarology*. DOI: 10.1080/01647954.2020.1727009
- Sotolongo M. G y Vidal A. N. (1988). Metabolismo y excreción de los compuestos extraños en: Elementos de Toxicología. *La Habana, Editorial Pueblo y Educación*. 11-12.
- Sparks, T.C. and Nauen, R. (2015). IRAC: mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* 121, 122–128.
- Stavrinides, M. C., Nieuwenhuys, P. V., Leeuwen, T. V. and Mills, N. J. (2010). Development of acaricide resistance in Pacific spider mite (*Tetranychus pacificus*) from California vineyards. *Exp. Appl. Acarol.* 50, 243-254.
- Tang, X., Zhang, Y., Wu, Q., Xie, W. and Wang, S. (2014). Stage-Specific Expression of Resistance to Different Acaricides in Four Field Populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*. 107(5), 1900-1907. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EC14064>
- Tehri, K. (2014). Una revisión sobre estrategias reproductivas en dos ácaros manchados *Tetranychus urticae* Koch 1836 (Acari: Tetranychidae). *J. Entomol. Zool. Stud.* 2, 35-39.

- Valquiria, D. R. M., Silva, S. G., Duarte, O. P., Bonifacio, F. L. y Sales, G. P. (2020). Perfil de productor y comercializador de flores y plantas ornamentales. *Horticultura Ornamental*. 26(3). <https://doi.org/10.1590/2447-536x.v26i3.2164>
- Van de Vrie, M, J. A. McMurtry, and C. B. Huffaker. (1972). Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: a review III. Biology, ecology and pest status and host plant relations of tetranychids. *Hilgardia* 41, 343-432.
- Van Leeuwen, T., Dermauw, W., Grbic, M., Tirry, L. and Feyereisen, R. (2013). Spider mite control and resistance management: does a genome help? *Pest Manag. Sci.* 69 (2), 156–159.
- Van, L. T. and Dermauw, W. (2016). The Molecular Evolution of Xenobiotic Metabolism and Resistance in Chelicerate Mites. *Annual review of entomology* 61, 475-989. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023907>
- Vontas, J. G.; Hejazi, M. J.; Hawkes. N. J.; Cosmidis, N.; Oukas, M. y Hemingway, J. (2002). Resistance-associated point mutations of organophosphate insensitive acetylcholinesterase in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Insect Molecular Biology* 11:329-336.
- Yamamoto, K. and Yamada, N. (2016). Identification of a diazinon-metabolizing glutathione S-transferase in the silkworm, *Bombyx mori*. *Scientific reports*. 6, 30063 DOI:10.1038/srep30073
- Yang, Y., Cheng, J., Singhal, S. S., Saini, M., Pandya, U., Awasthi, S., (2001). Role of glutathione S-transferases in protection against lipid peroxidation. *Journal of Biological Chemistry* 276 (22), 19220–19230.
- Yong, A. (2004). El cultivo del rosal y su propagación. *Cultivos Tropicale*. 25(2), 53-67. [Fecha de consulta 27 de enero de 2022]. ISSN: Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193217832008>.

- Yorulmaz S. y Ay, R. (2010). The enzymes playing role in detoxification of the pesticides in mites and insects. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludag University*. 24, 137–148.
- Yorulmaz, S. S. and Sarıtas, E. (2014). Acequinocyl resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): inheritance, synergists, cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *International Journal of Acarology*, 40(6), 428–435. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/01647954.2014.944932>
- Yorulmaz, S., Ay, R., (2009). Multiple resistance, detoxifying enzyme activity, and inheritance of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Turk. J. Agric. For.* 33, 393–402.
- Zamani, P., Sajedi, H. R., Ghadamyari, M., and Memarizadeh, N. (2014). Resistance Mechanisms to Chlorpyrifos in Iranian Populations of the Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Agr. Sci. Tech.* 16, 277-289.