

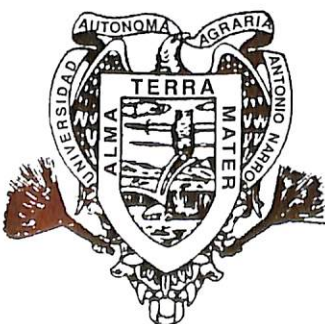
SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA
DE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)
DE ROSAL DE INVERNADERO DEL ESTADO DE MEXICO

CARLOS ENRIQUE AIL CATZIM

TESIS

*Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Grado de:*

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA**



**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
PROGRAMA DE GRADUADOS**

*Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Diciembre de 2005*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *Tetranychus urticae*
KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) DE ROSAL DE INVERNADERO DEL
ESTADO DE MÉXICO

TESIS

PRESENTADA POR:

CARLOS ENRIQUE AIL CATZIM

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como
requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal


Dr. Jerónimo Landeros Flores

Asesor


Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

Asesor

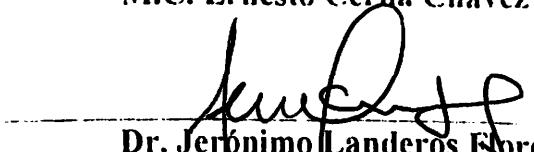
Dr. Alberto Flores Olivas

Asesor


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor

M.C. Ernesto Cerna Chávez


Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila; México, Diciembre de 2005.



BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por darme la oportunidad de vivir, brindarme serenidad y confianza y por ser la fuerza suprema que me impulsa cada día a ser mejor.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA ANTONIO NARRO

Por haberme brindado la oportunidad de permanecer durante mi estancia como estudiante y vivir experiencias que siempre llevaré presente.

AL COMITÉ DE ASESORES

Con especial reconocimiento al Dr. Jerónimo Landeros Flores, Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez, Dr. Alberto Flores Olivas, Dra. Rosalinda Mendoza Villareal y MC. Ernesto Cerna Chávez por brindarme confianza y apoyo en la realización de esta investigación y la oportunidad de trabajar con ellos.

A MIS MAESTROS

Del Departamento de Parasitología Agrícola de esta universidad, que de alguna u otra forma intervinieron en mi formación.

A MIS COMPAÑEROS

Muchas gracias por compartir su valiosa amistad y las muestras de apoyo que recibí de parte de ustedes.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Diego Ail Moo y María de los Angeles Catzim Uuh a quienes quiero con todo el corazón, por haberme dado lo más preciado, la vida.

A MI ABUELITA

Estebana Moo Mukul con mucho cariño, ya que sin escatimar esfuerzos y sacrificios, supo guiarme por el buen camino de la vida, para ser un hombre de provecho.

A MIS HERMANOS

Lizabeth, Gilmer, Geny e Isidro con el cariño que siempre nos une.

A YADIRA RIVERA BARSURTO

Quien me ofreció todo su apoyo sin pedir algo a cambio y por estar junto a mi en todos aquellos momentos difíciles.

COMPENDIO

Susceptibilidad y mecanismos de resistencia en *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) de rosal de invernadero del Estado de México

POR

CARLOS ENRIQUE AIL CATZIM

MAESTRÍA

PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, DICIEMBRE 2005

DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES –Asesor–

Palabras claves: Ácaro de dos manchas, esterasas, oxidasas, glutathion S-transferasas, pruebas bioquímicas, concentración diagnóstico

El ácaro de dos manchas, *Tetranychus urticae* Koch es plaga de muchas especies de plantas en el mundo, incluyendo varios cultivos agrícolas y ornamentales, causando marchitamiento y desecación del follaje y la muerte de las plantas. Por otro lado, se tiene que el control de *T. urticae* se realiza en el mundo principalmente con acaricidas, y esta especie es capaz de desarrollar resistencia a estos productos.

En base a lo anterior, el objetivo de este trabajo de investigación fue determinar la susceptibilidad y mecanismos de resistencia de una población de *T. urticae*, proveniente de rosales de invernadero del Estado de México, comparada con una población de referencia de *T. urticae* mantenida bajo condiciones controladas y libre de presión de selección. Se evaluó la susceptibilidad de esta población a avermectina, bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin por medio de bioensayos. Se empleó la técnica concentración diagnóstico, para esto la CL_{90} obtenida, para cada acaricida, de bioensayos con la línea de laboratorio se multiplico por 2 ($2 \times CL_{90}$), este valor se considero como la concentración diagnóstico y se utilizó para exponer a los ácaros de la colonia de campo. Estos ácaros presentaron mortalidad de 82.4, 45.6, 40.3, 75.0 y 44.6 por ciento para los acaricidas avermectina, bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin respectivamente, y de acuerdo a Dennehy *et al.* (1987), quienes indican que cualquier población es resistente si el resultado de mortalidad es menor a 80 por ciento; la línea de campo utilizada en este estudio resultó susceptible para avermectina con un 82.4 por ciento de mortalidad y resistente para los demás productos.

Se utilizaron pruebas bioquímicas para conocer los niveles de las enzimas α y β -esterasas, oxidasas, glutation S-transferasa, acetilcolinesterasa, acetilcolinesterasa insensible de las dos poblaciones de *T. urticae* (laboratorio y campo). Se presentaron niveles de β -esterasas, oxidasas y α -esterasas en 30.0, 27.7 y 14.4 por ciento más en la población de campo que en la población de laboratorio. Estos resultados sugieren que las enzimas α y β -esterasas y oxidasas, están involucradas en la resistencia de la población de ácaros del Estado de México, hacia los acaricidas bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin.

ABSTRACT

Susceptibility and mechanisms of resistance of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) of rose bush of greenhouse of State of Mexico

BY

CARLOS ENRIQUE AIL CATZIM

MASTER IN SCIENCE

AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, DECEMBER 2005

DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES -Advisor-

**Key words: Twospotted spider mite, esterases, oxidases, glutathione S-transferases
biochemical assays, diagnostic concentration.**

The twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch is a pest of many species of plants in the world, including agricultural and ornamentals cultures, causing withered and drying of the foliage and the death of the plants. On the other hand the control of *T. urticae* had made mainly in the world with acaricides, and this species is able to develop resistance to these products.

On the basis of the previous thing, the objective of this work investigation was to determine the susceptibility and mechanisms of resistance of a population of *T. urticae*, originating from rose bush of greenhouse of State of Mexico, to compared with a population of reference of *T. urticae* maintained under controlled conditions and free of selection pressure. The susceptibility of this population was evaluated to avermectin, bifenthrin, dicofol, naled and fenbutatin oxide by means of bioassays. The technical diagnostic concentration was used, for this the CL_{90} obtained, for each acaricide, of bioassays with the population of laboratory, it was multiplied by 2 ($2 \times CL_{90}$) and this value was considered like the concentration diagnosis and was used to expose the spider mites of the field colony. These spider mites displayed mortality of 82.4, 45.6, 40.3, 75.0 and 44.6 percent for the acaricides avermectin, bifenthrin, dicofol, naled and oxide fenbutatin respectively and according to Dennehy *et al.* (1987), they indicate that any population is resistant if the mortality result is smaller to 80 percent, therefore the strain of field used in this study was susceptible for avermectin with 82.4 percent of mortality and resistant for other products.

Were used biochemical assays to know the levels of the enzymes, α and β -esterases, oxidases, glutation S-transferase, acetilcolinesterase, acetilcolinesterase insensitive of the two populations of *T. urticae* (laboratory and field). β -esterases, oxidases y α -esterases levels appeared in 30.0, 27.7 y 14.4 percent more in the field population, that in the laboratory population. These results suggest that the enzymes β -esterases, oxidases y α -esterases, are involved in the resistance of the population of spider mites of State of Mexico, towards the acaricides bifenthrin, dicofol, naled and fenbutatin oxide.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Generalidades de <i>T. urticae</i>	3
Importancia económica	3
Distribución	4
Ubicación taxonómica	5
Morfología	6
Biología y hábitos	7
Control químico	8
Resistencia a Plaguicidas	12
Tipos de resistencia	13
Resistencia por comportamiento	13
Resistencia morfológica	13
Resistencia fisiológica	14
Resistencia de <i>T. urticae</i> a Acaricidas	14

Técnicas de Monitoreo de Resistencia	17
Técnica dosis o concentración mortalidad	18
Técnica concentración diagnóstico	18
Técnicas bioquímicas	19
Electroforesis	20
Pruebas bioquímicas	21
Pruebas moleculares	22
ARTÍCULO CIENTÍFICO	
SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE <i>Tetranychus urticae</i> KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) EN ROSAL DE INVERNADERO DEL ESTADO DE MÉXICO	23
CONCLUSIONES GENERALES	48
LITERATURA CITADA	49
APÉNDICE	57

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
2. 1 Productos organofosforados utilizados en el control de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	10
2. 2 Productos organoclorados utilizados en el control de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	11
A. 1 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de avermectina a 24 horas.	58
A. 2 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de bifentrina a 24 horas.	58
A. 3 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de dicofol a 24 horas.	59
A. 4 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de naled a 24 horas.	59
A. 5 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de oxido de fenbutatin a 24 horas.	60
A. 6 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de avermectina a 24 horas.	60
A. 7 Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de bifentrina a 24 horas.	61

A. 8	Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de dicofol a 24 horas.	61
A. 9	Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de naled a 24 horas.	61
A. 10	Mortalidad de hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de oxido de fenbutatin a 24 horas.	62
A. 11	Valores promedio de absorbancia de α -esterasas para dos líneas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	63
A. 12	Valores promedio de absorbancia de β -esterasas para dos líneas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	65
A. 13	Valores promedio de absorbancia de oxidasas para dos líneas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	67
A. 14	Valores promedio de absorbancia de glutation S-transferasas para dos líneas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	69
A. 15	Valores promedio de absorbancia de acetilcolinesterasas para dos líneas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	71
A. 16	Valores promedio de absorbancia de acetilcolinesterasas insensibles para dos líneas de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	73

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
2. 1 Ciclo biológico de <i>Tetranychus urticae</i> Koch.	7

INTRODUCCIÓN

La arañita roja, *Tetranychus urticae* Koch se ha reportado en 180 especies plantas cultivadas en invernadero o en condiciones de campo (Kim *et al.*, 2004), causando marchitamiento y desecación del follaje y la muerte de las plantas Gould (1987). Por otro lado, el control de *T. urticae* se realiza principalmente con acaricidas, en consecuencia esta especie ha desarrollado resistencia a la mayoría de los productos que se utilizan para su combate (Devine *et al.*, 2001). Los primeros reportes de resistencia de *T. urticae* lo realizó Ebeling y Pence (1954) para dicofol, también ha mostrado resistencia hacia oxido de fenbutatin (Edge y James, 1986). Por su parte Estrada y Sánchez (1990) reportan, resistencia de *T. urticae* a ocho acaricidas en Villa Guerrero, México, destacando, dicofol, endosulfan, ethion y propargite.

La resistencia a los plaguicidas es debido a factores como, penetración reducida, incremento en excreción y mayor almacenamiento o ambos, alteración en el metabolismo e insensibilidad en el sitio de acción (Oppenoorth y Welling, 1976). Al respecto Yang *et al.* (2001) mencionan que las enzimas que intervienen en la detoxificación en artrópodos son; esterases, citocromo P 450 dependiente de las monooxigenasas y glutathion S-transferasas. Por su parte Matsumura y Voss (1964) reportan que la resistencia de *T. urticae* a los organofosforados es debida a un incremento en la actividad de carboxiesterasas y fosfatasas, sin embargo,

Voss y Matsumura (1964) reportan a la acetilcolinesterasa insensible como el principal mecanismo de resistencia de *T. urticae* a estos compuestos. Por otro lado Bisset *et al.* (1998) mencionan que las oxidasas intervienen en la detoxificación de los piretroides. Por su parte Yu (1982) demostró que las glutathion S-transferasas intervienen en la detoxificación de compuestos organofosforados. Por otro lado, Lagunes y Villanueva (1994) mencionan que las enzimas que degradan al DDT y sus derivados, son DDT-asa y las oxidasas.

En relación al control de *T. urticae* en California se realizan hasta 18 aplicaciones por año para combatir esta especie, en rosas de invernadero (Field y Hoy, 1984), en Korea del Sur se emplean seis clases de acaricidas de diferentes grupos toxicológicos (Lee *et al.*, 2003) para el control de estos ácaros en rosales de invernadero. Dado al uso intensivo de acaricidas de diferentes grupos toxicológicos para el control de esta especie en cultivos de rosal de invernadero, es importante conocer la susceptibilidad y las causas de resistencia fisiológica de *T. urticae*, hacia los acaricidas y para establecer un programa de manejo efectivo de esta plaga. Por tal motivo la presente investigación tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad de una población de *T. urticae* procedente de invernadero de rosal del Estado de México a cinco acaricidas de diferente grupo toxicológico y determinar los mecanismos de resistencia de esta población mediante pruebas bioquímicas.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades de *T. urticae*

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

Importancia económica

T. urticae ataca a más de 180 especies de plantas cultivadas en invernadero o en condiciones de campo, se sabe que esta especie es un serio problema en frutos deciduos, árboles de sombra y arbustos, especialmente de climas templados (Jeppson *et al.*; 1975 y Kim *et al.*, 2004) de igual forma la reporta como plaga en cultivos de algodónero, frijol,

pepino, en arbustos, flores, etc. Por otro lado Sobrino y Pacheco (1989) la reportan como plaga muy importante en berenjena, calabacita, melón, pepino, tomate y fresa. *T. urticae* es muy destructivo en tabaco y que en algodónero puede ocasionar la muerte de la planta pocas semanas después del ataque, el daño se presenta con hojas moteadas de blanco, las que se tornan amarillas o rojas y caen prematuramente.

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

Distribución

T. urticae, se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, principalmente en zonas templadas (Cruz, 1984). Esta especie es muy conocida en árboles frutales deciduos en la región boreal de Estados Unidos de América y Europa (Tuttle y Baker, 1968). Mullin (1984) indica que *T. urticae* se encuentra atacando cultivos de frijol, papa, maíz y algodónero en el estado de Michigan. EUA. Doreste (1988), señala que en Venezuela *T. urticae* ataca a cultivo de tomate, melón y berenjena.

En México se encuentra una amplia distribución de ácaros fitoparásitos en todo el país (Quintanilla, 1978). A *T. urticae* se le reporta ocasionando daños económicos en las zonas freseras de Irapuato, Guanajuato y Zamora, Michoacán, y en menor grado en Jalisco, México, Puebla, Querétaro (Teliz y Castro, 1973). En Puebla, Morelos, México y Guanajuato ocasionan pérdidas en los cultivos de cacahuete, fresa y papayo (Estébanes, 1989).

Ubicación Taxonómica

De acuerdo a Krantz (1978), *T. urticae* se ubica en los siguientes taxos:

Phyllum	Arthropoda
Subphyllum	Chelicerata
Clase	Acarida
Orden	Acariformes
Suborden	Prostigmata
Superfamilia	Tetranychoidae
Familia	Tetranychidae
Subfamilia	Tetranychinae
Tribu	Tetranychini
Género	<i>Tetranychus</i>
Especie	<i>urticae</i> Koch

Morfología

Los huevecillos de *T. urticae* miden en promedio entre 110 y 150 μ , son de color translucido a opaco blanquecino y cambian a color café conforme se va desarrollando el embrión, la superficie del córion es lisa con leves irregularidades. En 1949, Cagle (citado por Nelson y Stafford, 1972) estudió los efectos de la temperatura sobre el periodo de incubación de los huevecillos, reportando que a 24 °C el periodo de incubación es de tres días, mientras que necesitaban 21 días a una temperatura de 11 °C.

Jeppson *et al.* (1975) describen a *T. urticae* y mencionan que las larvas son redondeadas y poseen tres pares de patas, al emerger del huevo son blancas y únicamente se les notan las manchas oculares de color rojo carmín, conforme pasa el tiempo se tornan de color verde claro y las manchas dorsales de color gris se empiezan a volver aparentes, los peritremas tiene forma de bastón y están en posición dorsal al final de las setas propodosomales anteriores. La protoninfa es de forma ovalada, mas grande que la larva, posee cuatro pares de patas y es verde claro con manchas dorsales bien definidas y peritremas en forma de hoz. La deutoninfa es muy similar a la protoninfa y la diferenciación se dificulta; comúnmente es más oscura, y en esta etapa se puede reconocer el sexo. El macho adulto es de coloración más pálida, más pequeño que la hembra, posee un abdomen puntiagudo, las manchas dorsales son casi imperceptibles y de color gris. El primer tarso presenta cuatro pares de setas táctiles y dos sensoriales próximas a las duplex proximales. La primer tibia presenta nueve setas táctiles y cuatro sensoriales. Por su parte la hembra es oblonga, más grande y de color verde olivo.

Biología y hábitos

El ciclo de vida de *T. urticae* comprende las fases de huevecillo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto (Jeppson *et al.*, 1975). En sus tres estados inmaduros, se alimentan y entre cada una de estas fases, presentan periodos de quiescencia, llamados protocrisálida, deutocrisálida, y teliocrisálida (Figura 2. 1). El macho de estas especies tenía un número de cromosomas haploide y la hembra diploide. Actualmente se conoce que esta especie tiene tres pares de cromosomas y presenta partenogénesis de tipo arrhenotokia (Helle y Pijjnacker, 1985).

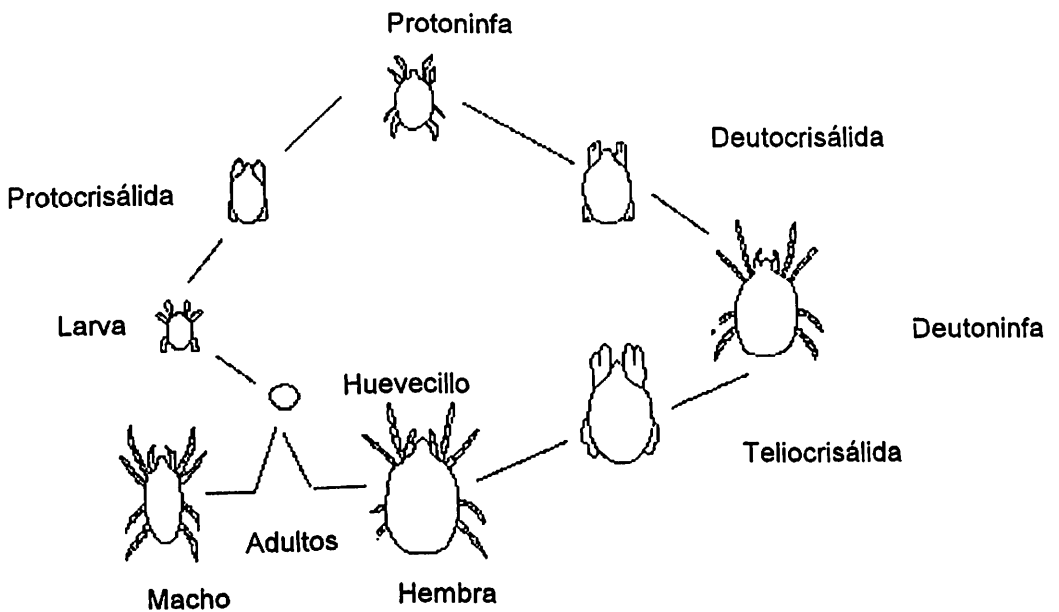


Figura 2. 1. Ciclo biológico de *Tetranychus urticae* Koch.

Los tetraníquidos al alimentarse introducen sus estiletes en los tejidos de las plantas provocando un daño mecánico, el cual consiste en la remoción del contenido celular, *T. urticae* al alimentarse de las plantas, ocasiona la reducción del contenido de la clorofila y daño físico al mesófilo esponjoso y de empalizada, siendo que en los tejidos afectados los estomas tienden a permanecer cerrados, lo que disminuye la tasa de respiración (Sánchez *et al.*, 1979).

La mayoría de los ácaros se alimentan del envés de las hojas, cerca de la periferia ocasionan enroscamiento de los bordes, otros provocan clorosis, defoliación y daño en el fruto impidiendo que éste madure (Vera *et al.*, 1984). El daño causado por los ácaros a las plantas debido a sus hábitos alimenticios dependen, generalmente de las condiciones del ambiente, el estado fisiológico de la planta y de la naturaleza de las sustancia inyectadas (Jeppson *et al.*, 1975). Este daño se expresa en pocos días la hoja se va decolorando y queda verde tan solo la nervadura de la hoja para después perder enteramente su color, secarse y morir siendo irreversibles los daños (Sánchez, 1994).

Control químico

Este método se ha usado desde los albores de la agricultura, para contrarrestar las plagas en los cultivos. En el caso de *T. urticae* la principal táctica para su control, es la aplicación de plaguicidas químicos, lo que ha originado la búsqueda de sustancias con mayor capacidad de control y menor grado de toxicidad para el hombre y el ambiente (Velasco y Pacheco, 1968).

Los plaguicidas que son principalmente efectivos contra los miembros del orden Acarina especialmente contra ácaros fitófagos, son denominados acaricidas, estos son utilizados en dosis que son ineficaces para el control de insectos. Tales acaricidas por su forma de actuar se diferencian claramente de los insecticidas y algunos otros compuestos; sin embargo, hay algunos que presentan ambas cualidades insecticida-acaricida. (March, 1958).

Uno de los primeros acaricidas utilizados en el control de los ácaros fue la naftalina para uso en invernadero y posteriormente bajo condiciones de campo se utilizó azufre, además del aceite de petróleo (Velazco y Pacheco, 1968). Jefferson *et al.* (1956) mencionan que el sulfuro fue uno de los primeros compuestos utilizados para el control de ácaros fitófagos de importancia agrícola en 1920.

A partir de 1930 se desarrollaron los dinitrofenoles, siendo los primeros acaricidas orgánicos, sin embargo, estos compuestos, presentaban problemas de fitotoxicidad a las plantas (Jeppson *et al.* 1975). En relación a los acaricidas organofosforados, estos se utilizaron a partir de 1940 para el control de ácaros fitófagos (Fayette, 1946), en el cuadro 2. 1 se presentan otros compuestos fosforados que se han utilizado para el control de estos organismos.

Cuadro 2. 1. Productos organofosforados utilizados en el control de *Tetranychus urticae* Koch

Productos	Referencias
Oxidimeton metílico	Mailloux y Morrison (1962)
Paration metílico	Lienk <i>et al.</i> (1952)
Diazinon	Barberá (1976)
Etion	Mailloux y Morrison (1962)
Malation	Mailloux y Morrison (1962)
Naled	Barberá (1976)
Dimetoato	Mailloux y Morrison (1962)

En New South Wales, Estados Unidos, los productos organofosforados, demeton, demeton S-metílico I, malation y paration fueron introducidos al inicio de 1949; estos químicos fueron comúnmente usados para el control de *T. urticae* entre los años 1950 y 1960 (Goodwin *et al.*, 1995)

Posteriormente en la década de los cincuentas, aparecen los acaricidas organoclorados (Cuadro 2. 2) y para la década de los sesentas aparecen los acaricidas del grupo sulfito ester (Jeppson *et al.*, 1975) de este grupo destaca el propargite. En la década de los setentas aparecen los acaricidas derivados de las lactonas macrocíclicas (Lasota y Dybas, 1991), destacándose la avermectina y la ivermectina. Actualmente existen nuevos grupos químicos; como pirazoles y naftoquinonas. dentro del primero se encuentra el fenpyroximate y en el segundo se encuentra el acequinocyl. para el control de *T. urticae*.

Cuadro 2. 2. Productos organoclorados utilizados en el control de *Tetranychus urticae* Koch

Productos	Referencias
Endosulfan	Estrada y Sánchez, 1989
Dicofol	Estrada y Sánchez, 1989
Clorobencilato	Velasco y Pacheco, 1964

Para el control de *T. urticae*, se han empleado diversos tipos de acaricidas, Lee *et al.* (2003) reportan, a avermectina, acequinocyl, bifezanate, emamectin-benzoato, etoxazole, milbemectin, para el control de esta plaga en invernaderos de rosas de Corea del Sur.

En Brasil Sato *et al.* (2004) indican el uso de fenpyroximate para el combate de esta especie en cultivos de fresa, papaya, tomate, rosas, manzana y cítricos, además estos autores mencionan que otros productos recomendados para combatir esta plaga son; pyridaben, abamectina, dimetoato, fenpropratrina y cyhexatin.

En México en la región de Villa Guerrero, poblaciones *T. urticae* son controladas con una gran cantidad de insecticidas y acaricidas (Reséndiz, 1998), por su parte Estrada y Sánchez (1990) mencionan, que el control de esta especie en esta región es a base de clorobencilato, dicofol, endosulfan, oxydemeton metílico, ometoato, endosulfan, ethion, fosalone y propargite.

Resistencia a Plaguicidas

Georghiou (1971) indica que bajo condiciones adecuadas, la mayoría de las especies son capaces de desarrollar resistencia a plaguicidas, esto se relaciona con el gran número de casos de resistencia reportados (Lagunes, 1974). Los casos de plagas resistentes han aumentado exponencialmente a lo largo de décadas, después de la introducción de insecticidas organo-sintéticos, al inicio de 1940. A principios de 1990, por lo menos 504 especies de insectos y ácaros habían desarrollado resistencia a por lo menos un plaguicida. De esas 504 especies, 23 especies son benéficas y 481 perjudiciales, siendo 283 de importancia agrícola y 198 de importancia medico-veterinaria. Los ácaros representan 14 por ciento de los casos de resistencia detectados (Georghiou y Lagunes, 1991)

Brown, (1958) definió a la resistencia como el desarrollo de una habilidad adicional en una población de insectos de tolerar dosis de tóxicos que son letales para la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie. La FAO (1979), la definió como; la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos a no ser afectada por la aplicación de insecticidas. Lagunes y Villanueva (1994) la definen como la habilidad complementaria y hereditaria propia de un individuo o conjunto de ellos, que los capacita fisiológica y etológicamente, para bloquear la acción tóxica de un insecticida por medio de mecanismos metabólicos y no metabólicos, y en consecuencia sobrevivir a la exposición de dosis que para otros sería letal.

Tipos de resistencia

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

Resistencia por comportamiento. Se refiere a los patrones de comportamiento que contribuyen a la resistencia, estos pueden ser hábitos tales como la preferencia a descansar en áreas no tratadas con insecticidas en lugar de áreas tratadas, o bien la detección del insecticida y la tendencia a evitarlo antes de ponerse en contacto con él (Hayes y Liu, 1947).

Resistencia morfológica. Al respecto Perry (1956) menciona que se presenta cuando alguna característica morfológica ocasiona la resistencia. Al respecto Barberá (1976) menciona que las estructuras cuticulares como pubescencia, ceras, no permiten que el tóxico penetre el integumento del insecto.

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

Resistencia fisiológica.- Según McNally (1962) es el tipo de resistencia más importante; por su parte Perry (1956) indica que los principales factores fisiológicos que intervienen en este tipo de resistencia son:

- Detoxificación enzimática
- Protección contra la inhibición de la fosforilación
- Reducción de la permeabilidad de la cutícula
- Diferencias en la penetración y movimiento del tóxico a partir del punto de contacto con el organismo
- Almacenamiento de las tóxicos en tejidos no sensitivos

En el desarrollo de la resistencia a algún producto tóxico no necesariamente actúan al mismo tiempo todos los factores anteriores; dependerá de la especie del insecto y del tóxico (McNally, 1962)

Resistencia de *T. urticae* a Acaricidas

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

El primer registro de resistencia en esta especie ocurrió en 1937, se reportó una población *T. urticae* resistente a un compuesto a base de selenio. La falta de control en

estos ácaros con acaricidas organofosforados, paration y TEPP, fueron reportados en Europa y Estados Unidos alrededor de 1950, después de 2 o 3 años de uso en cultivos protegidos de rosal (Cranhan y Helle, 1985). También se ha reportado resistencia a dicofol, tetradifon y otros (Croft y Van Der Bann, 1988), por otro lado Edge *et al.* Citados por Welty *et al.* (1988) reportan resistencia a hexiotiazox.

La resistencia de *T. urticae* a demeton, demeton S-metil, malation y paration fue reportada en 1957 y el uso de estos dejó de ser recomendado de 1962 a 1963 (Lloyd, 1962). En 1981 en la región productora de algodón del valle de San Joaquín de los Estados Unidos, se reportaron problemas de control en *T. urticae*, con el acaricida dicofol (Dennehy y Granett, 1982), en este país a finales de 1970 se reportan por primera vez problemas en el control de esta especie con organoestanosos en el cultivo de fresa, en el estado de California (Miller *et al.*, 1985), similares problemas comienzan a ocurrir en los cultivos de pera de Oregon, a principios de 1980 (Hoyt *et al.*, 1985). En el sureste de los Estados Unidos se presentó resistencia a los productos carbophenothion, dicofol y hexakis, sobre *T. urticae* colectados de plantas ornamentales de vivero. En cultivos ornamentales de campo e invernadero de California, se reportó resistencia al acaricida abamectina en cinco poblaciones de *T. urticae* (Campos *et al.*, 1995).

En Japón a mediados de 1990, se reporta que la eficacia de los acaricidas fenpyroximate y pyridaben en el control de *T. urticae* comenzó a declinar, posteriormente la resistencia fue documentada (Goka, 1998). En Korea se ha reportado resistencia de *T. urticae* a los productos abamectin, acequinocyl, bifenazate, emamectin-

benzoate, etoxazole, milbemectin en cultivos de rosal de invernadero de las localidades del Buyo, Gumi, Gimhae (Lee *et al.*, 2003).

En Australia en 1957 fueron introducidos los acaricidas dicofol y tetradifon, y la resistencia a estos compuesto fue confirmado en 1968 (Unwin, 1973). En 1970 fueron introducidos los compuestos organoestanosos en este país para el control de *T. urticae*, posteriormente en 1981 se reportaron los primeros problemas de resistencia a estos compuestos (Edge y James, 1982).

En estudios recientes de Grecia se han reportado casos de resistencia a dos organofosforados, paration metilico y metidation, y a un carbamato (metomilo), en ácaros colectados en dos especies de plantas huésped en invernadero y campo abierto (Tsagkarakou *et al.*, 1996).

En México Estrada y Sánchez (1990) reportan a *T. urticae* resistente a los acaricidas clorobenzilato, dicofol, endosulfan, oxydemeton metilico, omeotato, ethion, fosalone y propargite, en la región productora de clavel de Villa Guerrero del Estado de México.

Técnicas de Monitoreo de Resistencia

El monitoreo de la resistencia es esencial para el manejo de la resistencia a insecticidas y acaricidas (Staezt, 1985) y además se requiere de técnicas efectivas para detectarla en etapas tempranas de desarrollo.

El bioensayo es el método básico usado para documentar los niveles de resistencia a insecticidas y acaricidas en poblaciones de campo, en los cuales las decisiones de manejo están basadas. La detección convencional de la resistencia esta basada en pruebas de susceptibilidad de insecticidas, que consisten de experimentos de dosis-mortalidad, que usualmente son realizados en laboratorio (Shah *et al.*, 2002a).

La realización de pruebas de susceptibilidad es un acercamiento para adquirir un temprano diagnóstico del fracaso de las aplicaciones de los insecticidas, otro acercamiento el empleo de técnicas bioquímicas, para determinar si los individuos poseen alelos mutantes de resistencia. Estos dos acercamientos son complementarios, el primero detecta la respuesta al insecticida y el segundo proporciona información concerniente a los mecanismos genéticos de resistencia, el uso de ambos acercamientos puede ser más preciso y mutuamente confirmatorio (Brown y Brogdon, 1987).

Técnica dosis o concentración mortalidad

Los programas de monitoreo de resistencia generalmente involucran comparación de las DL_{50} y DL_{90} o valores de concentración letal o tiempo letal, a si también comparan las pendientes entre poblaciones colectadas de campo o líneas de laboratorio o ambas (Twine y Reynolds, 1980). Esta técnica consiste en realizar bioensayos con múltiples concentraciones, de 4 a 6, para producir mortalidades de 5 a 95 % en las líneas de prueba. La resistencia se expresa como proporción de la CL_{50} o CL_{90} de la línea resistente en comparación con la línea susceptible (Tabashnik *et al.*, 1987). Esta técnica puede ser adecuada, para documentar la resistencia que han alcanzado altos niveles, pero es ineficiente para detectar niveles bajos de resistencia, además esta, presenta varias desventajas, requiere de un gran número de individuos prueba generalmente varios cientos y otra es que se necesita de periodos largos de tiempo para obtener los resultados (Roush y Miller, 1986), los cuales pueden ser ambiguos, especialmente cuando las poblaciones estudiadas son heterogéneas (Miyata, 1983).

Técnica concentración diagnóstico

Esta técnica es ampliamente usada a nivel mundial, involucra una comparación de pruebas de mortalidades de líneas susceptibles y resistentes en una concentración y necesita menos organismos que una técnica de concentraciones múltiples, al respecto Roush and Miller (1986) concluyen que las pruebas de concentración diagnóstico son mas rápidas, eficientes y precisas.

Las pruebas de concentración diagnóstico han sido ampliamente usadas, debido a su simplicidad y rapidez (Gunning *et al.*, 1984). Una concentración diagnóstico a menudo es seleccionada arbitrariamente, por ejemplo la CL_{99} o dos o tres veces la CL_{99} ; sin embargo, el uso de una alta concentración puede resultar en una subestimación del nivel de resistencia, debido a que individuos más resistentes pueden morir a concentraciones altas, al respecto Dennehy *et al.* (1983) estudiaron dos métodos de bioensayo para detectar la resistencia en ácaros, demostró que los ensayos de inmersión de portaobjeto, con una concentración de dos a tres veces más grande que la CL_{99} de una población susceptible, podía matar más del 98 por ciento de la población resistente. Por su parte Halliday y Burnham (1990) recomiendan usar una concentración que produzca entre 94 y 99 % de mortalidad en la línea susceptible, como concentración diagnóstico, pero McCutchen *et al.* (1989) sugiere seleccionar una concentración entre LC_{80} y CL_{90} .

Técnicas bioquímicas

Estos métodos son más precisos y sensitivos, para detectar y monitorear la resistencia, pueden mejorar el estudio de este fenómeno proporcionando información a cerca de la dinámica de población de insectos resistentes de campo (Brown y Brogdon, 1987).

Electroforesis. Son pruebas bioquímicas para el diagnóstico de la resistencia en insectos y ácaros en forma individual, para detectar la actividad de esterases (Miyata,

1983). Por su parte Devonshire y Moores (1982) mencionan que las características de proteínas indicadoras o enzimas de un insecto se han usado para distinguir clones, los cuales resisten diferencialmente varios plaguicidas sintéticos

La electroforesis vertical es una técnica que desplaza proteínas por medio de cargas del polo positivo al negativo. Este método separa a las proteínas por peso molecular, purifica y permite la visualización de las proteínas, la velocidad de la separación depende la carga eléctrica de la proteína, su tamaño, y su forma. Como en el caso de la cromatografía, la electroforesis puede realizarse en papel o en gel y también realizarse en fase líquida. En la separación se emplean geles de acrilamida y la bis acrilamida, sustancias que se polimerizan y forman redes que permiten el paso de proteínas de diferentes pesos moleculares (Ibel *et al.*, 1990)

Edwards y Gomez (1966) por medio de electroforesis detectaron múltiples formas isoenzimáticas de acetilcolinesterasa, por su parte Nolan *et al.* (1972) separaron electroforéticamente de tres a cinco isoenzimas de *Boophilus microplus*, las cuales están relacionadas a la resistencia de acaricidas organofosforados. Blank (1979) utilizó electroforesis para separar a dos especies de ácaros *Sancassania berlesei* y *T. urticae* por medio de diferentes bandas de esterasas, también diferenció las isoenzimas de acetilcolinesterasa.

Pruebas bioquímicas. Los métodos bioquímicos correlacionan un alto nivel de enzima o una reacción enzimática específica, estos métodos son altamente específicos

para cada enzima. Brown y Brogdon (1987), señalan que estas pruebas presentan ventajas tales como:

- Se puede detectar la resistencia y proporcionar información de los mecanismos involucrados.
- Permite el análisis de insectos en forma individual
- Permite ensayos múltiples de un solo insecto
- Son rápidos y precisos
- Se pueden usar en áreas no desarrolladas, el equipo requerido es simple, no se requiere experiencia y son fáciles de realizar.
- Los métodos pueden ser adaptados para muchos o todas las especies y puede proporcionar toda la información requerida.

Sawicki *et al.* (1980) emplearon el incremento de la hidrólisis de 1-naftil acetato, para la detección de las elevadas carboxiesterasas o el total de la actividad de esterasas, tales como en *Myzus persicae* y varios mosquitos (Pasteur y Georghiou, 1981). El yoduro de acetilcolina se ha empleado ampliamente como sustrato modelo para monitorear la actividad de acetilcolinesterasa en presencia o ausencia de insecticidas en varias especies de insectos, como la mosca casera (Devonshire y Moores, 1984)

Por otro lado Brogdon y Dickinson (1983) desarrollaron métodos bioquímicos para cuantificar los niveles de esterasas y de igual forma Brogdon y Barber (1990) hicieron lo propio con las glutatión S-transferasas, otro método que mide los niveles de

oxidasas fue desarrollado por Brogdon *et al.* (1997), todos estos métodos fueron desarrollados en mosquitos.

Blank y Osborne (1979) estudiaron la actividad de acetilcolinesterasa de homogenatos crudos de *T. urticae*, y encontraron que estos homogenatos contenían enzimas que eran capaces de hidrolizar acetilcolina y acetil β -metilcolina. Guo *et al.* (1997) determinaron las condiciones óptimas para medir la actividad de glutatión S-transferasas en *Tetranychus cinnabarinus*, y poder usar esta actividad para diferenciar poblaciones resistentes.

Pruebas moleculares. El diagnóstico molecular ha sido recomendado para incrementar la precisión y reducir la variabilidad asociada a los bioensayos con insecticidas, que resultan de factores intrínsecos y extrínsecos (Ffrench-Constant y Roush, 1990). En relación a esto Shah *et al.* (2002b) reportan que el método RAPD-PCR se ha usado para la identificación de individuos de una línea resistente a propargite de *T. urticae*. Por su parte Roehrdanz *et al.* (1993) utilizaron RAPD-PCR para obtener patrones de bandas de DNA, que pueden ser usados como marcadores genéticos adecuados para especies e identificación de líneas de *Diaeretiella rapae* y *Aphidius matricariae*. Este mismo método se ha utilizado para detectar la resistencia a ciclodienos en mosquitos (Ffrench-Constant *et al.* 1994).

SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) DE ROSAL DE INVERNADERO DEL ESTADO DE MÉXICO

***JERONIMO LANDEROS-FLORES, *CARLOS ENRIQUE AIL-CATZIM,
*EUGÉNIO GUERRERO-RODRÍGUEZ, *ALBERTO FLORES-OLIVAS,
*ERNESTO CERNA-CHAVEZ.**

*Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Parasitología. C. P.
25315. Tel y fax (844) 4-11-02-26. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
E-mail jlaflo@uaaan.mx, car_ail@hotmail.com, jabaly1@yahoo.com,

SUSCEPTIBILIDAD Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) EN ROSAL DE INVERNADERO DEL ESTADO DE MÉXICO

Resumen.-Se determinó la susceptibilidad y los mecanismos de resistencia de una población de *Tetranychus urticae*, colectada en rosales de invernadero. Se utilizaron cinco acaricidas; avermectina, bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin, para evaluar la susceptibilidad de esta población. Estos ácaros resultaron susceptibles para a avermectina y resistentes para los otros acaricidas. Se utilizaron pruebas bioquímicas para conocer los niveles de las enzimas α y β -esterasas, oxidasas, glutation S-transferasa, acetilcolinesterasa, acetilcolinesterasa insensible de las dos poblaciones de *T. urticae*; una de laboratorio y otra de campo del Estado de México. Se presentaron mayores niveles de α y β -esterasas y oxidasas, en la población de campo, que en la población de laboratorio. Estos resultados sugieren que las α y β -esterasas y oxidasas, están involucradas en la resistencia de la población del Estado de México, hacia los acaricidas bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin.

Palabras clave: Acaro de dos manchas, esterasas, pruebas bioquímicas

Abstract.-One determined the susceptibility and the mechanisms of resistance of a population of *Tetranychus urticae*, collected in rosales of greenhouse. Five acaricides were used; avermectin, bifenthrin, dicofol, naled and fenbutatin oxide , to evaluate the susceptibility of this population. These spider mites were susceptible to avermectin and

resistant for the other acaricides. Biochemical tests were used to know the levels enzymes α and β -esterases, oxidases, glutation S-transferases, acetilcolinesterases, acetilcolinesterases insensitive of two populations of *T. urticae*, one of laboratory and another one of field of the State of Mexico. Greater levels of α and β -esterases and oxidases appeared, in the field population, that in the laboratory population. These results suggest them α and β -esterases and oxidases, they are involved in the resistance of the population of the State of Mexico, towards the acaricides bifenthrin, dicofol, naled and oxido of fenbutatin.

Key words: Twospotted spider mite, esterases, biochemical test

Introducción

La araña roja, *Tetranychus urticae* Koch es una plaga de muchas especies de plantas en el mundo, incluyendo varios cultivos agrícolas y ornamentales, se le ha reportado en 180 especies de plantas en invernadero o en condiciones de campo (Kim *et al.*, 2004). Esta especie causa marchitamiento y desecación del follaje y la muerte de las plantas (Gould, 1987). Aunado a esto, estos ácaros son capaces de desarrollar resistencia a muchos acaricidas, la que se puede expresar de uno a cuatro años e inducir un alto grado de resistencia cruzada (Saito *et al.*, 1983). Por otro lado, el control de *T. urticae* que se realiza en el mundo principalmente es con acaricidas, por lo que esta especie ha desarrollado resistencia a la mayoría de los productos que se utilizan para su combate (Devine *et al.*, 2001), esta habilidad de *T. urticae* a desarrollar resistencia ha causado

problemas en muchos países involucrados en la producción agrícola durante los últimos 40 años (Rizzieri *et al.*, 1988).

La resistencia fisiológica de acuerdo a Georghiou (1965) es la más importante en artrópodos, debido a la acción de mecanismos detoxificadores enzimáticos, que provocan una mayor degradación y/o excreción del insecticida o acaricida (Lagunes y Villanueva, 1994).

Yang *et al.* (2001) mencionan que la detoxificación de los xenobióticos en artrópodos son a causa de; esterasas, citocromo P 450 dependiente de las monooxigenasas y glutatión S-transferasas. La resistencia a organofosforados se asocia principalmente a niveles altos de esterasas (Hemingway y Karunaratne, 1998); Matsumura y Voss (1964) reportan que la resistencia de *T. urticae* a los organofosforados es debida a un incremento en la actividad de carboxiesterasas y fosfatasa. Por otro lado, Bisset *et al.* (1998) mencionan que las oxidasas intervienen en la detoxificación de los piretroides. Por su parte, Yu (1982) demostró que las glutatión S-transferasas intervienen en la detoxificación de compuestos organofosforados en *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) alimentado en diferentes hospederos. Por otro lado, Lagunes y Villanueva (1994) mencionan que las enzimas que degradan al DDT y sus derivados, son DDT-asa y las oxidasas. Voss y Matsumura (1964) reportan a la acetilcolinesterasa insensible como el principal mecanismo de resistencia de *T. urticae* a los organofosforados.

Dado al uso intensivo de acaricidas de diferentes grupos toxicológicos para el control de esta especie en cultivos de rosales de invernadero, es importante conocer la susceptibilidad y las causas de resistencia fisiológica de *T. urticae*, hacia los acaricidas y de acuerdo a esto establecer un programa de manejo efectivo para esta plaga. Debido a lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad y los

mecanismos de resistencia de una población de *T. urticae* procedente de invernadero de rosal del Estado de México.

Materiales Y Métodos

Material biológico

Se emplearon dos líneas de *T. urticae*; una línea de referencia, mantenida bajo condiciones controladas, a una temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, humedad relativa de 60-70 % y luz constante, sobre plantas de *Phaseolus vulgaris* (L.), libre de presión de selección durante más de dos años (Línea de laboratorio). La otra línea fue colectada en invernaderos de producción de rosal variedad Royalty, en Villa Guerrero, México (Línea de campo), con manejo a base de rotación de acaricidas.

Bioensayos

Se realizaron una serie de bioensayos para determinar las líneas de regresión concentración-mortalidad con la población de laboratorio. Los acaricidas empleados fueron formulaciones comerciales de avermectina (Agrimec 1.8 % CE), bifentrina (Capture 100 12.15 % CE), dicofol (AK 20 18.5 % CE), naled (Naled 60 % CE) y óxido de fenbutatin (Torque 500 44.64 % SC).

Se utilizó el método de bioensayo de película residual en caja Petri (Dennehy *et al.*, 1987). Se prepararon seis concentraciones más el testigo para cada producto, se incluyeron tres repeticiones por cada concentración. Las diferentes concentraciones se realizaron utilizando como solvente etanol al 95 %, a excepción del óxido de fenbutatin el cual se diluyó en agua. En el testigo se aplicó etanol o agua según el caso. Se depositó 1 ml. de la solución del acaricida en cada caja Petri, posteriormente se transfirieron 20 ácaros adultos hembra y fueron selladas con papel aluminio. Se cuantificó la mortalidad

a las 24 h y se tomó como criterio de muerte, cuando los ácaros presentaran síntomas de ataxia, es decir no presentaran movilidad o manifestará un desplazamiento menor, al menos una vez el largo de su cuerpo, después de estimularlos con un pincel fino. La mortalidad fue corregida con la fórmula de Abbott (1925) y los resultados se analizaron por probit (Finney, 1971).

Determinación de la susceptibilidad de la población de campo

Se empleó la técnica concentración-diagnóstico (McCutchen *et al.*, 1989), para esto de los datos obtenidos de la línea de laboratorio se obtuvo la CL_{90} de cada acaricida, la que se multiplicó por 2 ($2 \times CL_{90}$), este valor se consideró como la concentración diagnóstico que se utilizó para exponer a los ácaros de la colonia de campo, para ello se trataron 20 cajas Petri con dicha concentración diagnóstico de cada acaricida y se transfirieron 20 ácaros adultos hembra por caja. Para el testigo se emplearon tres cajas Petri tratadas con etanol o agua según al caso. Para determinar la susceptibilidad de la población de campo a los acaricidas, se utilizó el criterio propuesto por Dennehy *et al.* (1987), el cual indica que si la población presenta $< 80 \%$ de mortalidad se considera resistente y mientras que si fue $> 80 \%$ se considera susceptible.

Pruebas bioquímicas para estimar niveles de enzimas

Se emplearon seis pruebas bioquímicas para determinar los niveles de α -esterasas, β -esterasas, oxidasas, glutation S-transferasas, acetilcolinesterasas y acetilcolinesterasas insensibles, en las dos líneas de *T. urticae*. Todas las pruebas se corrieron por triplicado en placas de 96 pocillos y fueron leídas posteriormente mediante el lector de microplacas Stat fax-2100®.

Fuente de enzima

Previo a las pruebas bioquímicas, se homogenizó 0.1 mg de ácaros en 100 μL de buffer fosfatos de potasio (KPO_4), a 0.05 M y pH 7.2, se diluyó a 1 mL con el buffer (Brogdon, 1984). Se prepararon 90 muestras para cada línea de *T. urticae*, para realizar estas pruebas. La concentración de proteína de la muestra fue de 4.9 μg de proteína/ 0.1 mg de ácaros, esta fue determinada por el método de Bradford (1976) modificado por Brogdon (1984), se utilizó la proteína albúmina sérica de bovino como referencia.

Estimación de los niveles de esterasas

Para determinar los niveles de α y β -esterasas se empleó el método de Brogdon-Dickinson (1983). Para ello se colocaron 100 μL de la muestra de ácaros a cada pocillo, enseguida se depositaron 100 μL de una solución de 56 mg α o β naftil acetato diluida en 20 mL de acetona y aforada a 100 mL con buffer KPO_4 , la mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente por 10 min y posteriormente se le adicionaron 100 μL de dianisidina, preparada a una concentración de 1mg / mL de agua destilada, se mantuvo la mezcla por 2 min y se tomó la lectura de la placa, en un lector de ELISA usando un filtro de 545 nm. Se utilizaron las soluciones de α o β naftil acetato tomando 50 mg de α o β naftil acetato diluida en 10 mL de acetona y 90 mL de buffer KPO_4 , la que posteriormente se diluyo a 1:35 como control positivo y como control negativo el buffer de KPO_4 .

Estimación de los niveles de oxidasas

Para determinar los niveles de oxidasas se utilizó la metodología propuesta por Brogdon *et al.* (1997). Para esto se colocaron 100 μL del homogenato de ácaros a cada pocillo, posteriormente se depositó 200 μL de una solución de 50 mg de dihidrocloruro 3, 3', 5,

5'-tetrametil-bencidina, diluida con 25 mL de metanol y aforada con 75 mL de buffer acetato de sodio a 0.25 M, pH 5; enseguida se colocaron 25 μ L de peróxido de hidrógeno al 3 %, se incubó la mezcla por 5 min a temperatura ambiente y se realizó la lectura de la placa en un lector de microplacas con un filtro de 630 nm. Se utilizó como control positivo una solución de citocromo C agregando 10 mg de citocromo C a 100 mL de buffer acetato de sodio 0.25 M, pH 5, la que enseguida se diluyó a 1:55 y como control negativo el buffer de KPO_4 .

Estimación de los niveles de glutation S-transferasas

Para determinar los niveles de estas enzimas, se utilizó la metodología de Brogdon y Barber (1990). Para ello se colocaron 100 μ L de la muestra de ácaros a cada placa, posteriormente se adicionó 100 μ L de una solución de 61 mg de glutation reducido / 100 mL de buffer de KPO_4 , inmediatamente después se colocaron 100 μ L de una solución de 20 mg de 1-cloro-2, 4' dinitrobenzeno diluida en 10 mL y aforada con 90 mL de buffer de KPO_4 . Se tomó la lectura de la placa inmediatamente en un lector de microplacas con un filtro de 340 nm (T_0), posteriormente se incubó por 5 min y se tomó de nuevo la lectura de la placa con el mismo filtro (T_5). La diferencia de lecturas entre el T_0 y T_5 , se empleó para el análisis de los resultados.

Estimación de los niveles de acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible

Para determinar los niveles de acetilcolinesterasa se utilizó el método de Brogdon (1988). Para esto se colocaron 100 μ L de la muestra de ácaros a cada pocillo, enseguida se depositó 100 μ L de una solución de 75 mg de yoduro de acetilcolina/ 100 mL de buffer de KPO_4 , posteriormente se adicionó 100 μ L de una solución de 13 mg de 5, 5'-ditiobis-2-ácido nitrobenzoico/ 100 mL de buffer de KPO_4 . La lectura de la placa se

realizó inmediatamente en un lector de microplacas con filtro de 405 nm (T_0), se dejó incubar la mezcla por 10 min y se tomó de nuevo la lectura de la placa con el mismo filtro (T_{10}), la diferencia entre las lecturas de T_0 y T_{10} se empleó para el análisis de los resultados. Para determinar los niveles de acetilcolinesterasa insensible se empleó la misma metodología, a diferencia que en la solución de yoduro de acetilcolina, se agregaron 21 mg de naled como inhibidor.

Umbral de tolerancia

Con los datos obtenidos en las pruebas bioquímicas se estableció un umbral de tolerancia para cada enzima, para ello se tomó el valor máximo de absorbancia obtenido en cada una de las pruebas enzimáticas de la línea de laboratorio, de tal forma que al momento de compararlas con los resultados de la línea de campo, los valores mayores a este umbral se tomaron como resistentes y los menores como susceptible.

Resultados Y Discusión

Línea de laboratorio

En el cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos de la respuesta de la línea de laboratorio de *T. urticae* en relación a cinco acaricidas de diferente grupo toxicológico. Como se puede observar la CL_{50} fue de 1.89, 234.02, 385.30, 57.04 y 207.87, para avermectina, bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin respectivamente. La CL_{50} obtenida para la avermectina (1.89 ppm) en esta investigación es diferente a la registrada por Lee *et al.* (2003) que reportan una CL_{50} de 0.06 ppm para una línea susceptible; por otro lado este resultado es 2.74 veces inferior a la CL_{50} reportada por Sato *et al.* (2004) con una CL_{50} de 5.18 ppm de avermectina. En lo referente a la bifentrina el resultado obtenido (234.02 ppm) fue superior al comportamiento de una línea de laboratorio reportada por Bynum *et al.* (1990) con una CL_{50} de 192 ppm, esta misma respuesta es

5.99 veces superior a la obtenida por Yang *et al.* (2001) quienes reportan una CL_{50} de 39.1 ppm de bifentrina, para una población de *T. urticae* libre de presión de selección por más de 20 meses. El resultado obtenido para el oxido de fenbutatin (207.87 ppm) fue inferior al comportamiento de una línea reportada por Tian *et al.* (1992) con una CL_{50} de 300 ppm. En relación al acaricida dicofol la línea de laboratorio presentó una CL_{50} de 385.30, la cual es 24.8 veces mayor a la registrada por Dennehy *et al.* (1983) quienes reportan una CL_{50} de 15.5 ppm. En relación a la CL_{50} de 57.04 ppm obtenida para el naled, es 2.40 veces menor a la registrada por Sato *et al.* (2000) quienes reportan una CL_{50} de 137 ppm para su línea susceptible.

Línea de campo

En el cuadro 2 se presenta el porcentaje de mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* expuestas a la concentración diagnóstico resultante de los bioensayos con la línea de laboratorio, como se puede observar en los acaricidas que se evaluaron se obtuvieron porcentajes de mortalidad de 82.4, 45.6, 40.3, 75.0 y 44.6 para los acaricidas avermectina, bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin respectivamente.

En relación a la avermectina el resultado de mortalidad obtenido (82.4 %) con 10.4 ppm, difiere a lo obtenido por Grafton-Cardwell y Hoy (1983) quienes registraron un 95 % de mortalidad con una concentración de 4 ppm, después de 24 h de exposición. Por otro lado Landeros *et al.* (2002) reportan, 100 % de mortalidad de *T. urticae*, con una concentración de 10 ppm de avermectina después de 72 h de exposición. En estudios realizados con el dicofol Dennehy *et al.* (1983) realizaron comparaciones de mortalidad en varias poblaciones de *T. urticae*, utilizando 1000 ppm como concentración diagnóstico, se obtuvieron porcentajes de mortalidad entre 2.5 y 68.6 %.

De acuerdo al criterio establecido por Dennehy *et al.* (1987), el cual indica que cualquier población es resistente si el resultado de mortalidad es menor a 80 %; como resultado de esta investigación podríamos indicar que la línea de campo utilizada en este estudio resultó susceptible para avermectina con un 82.4 % de mortalidad y resistente para los demás productos. En relación a la avermectina el resultado probablemente es debido a que en los cultivos de rosal, donde se colectó el material para los bioensayos, se realiza una rotación de acaricidas y los productores de estos cultivos indicaron que únicamente realizan dos aplicaciones de avermectina por año, sobre este mismo acaricida Clark *et al.* (1994) no detectaron resistencia en poblaciones *T. urticae* colectados en California, Florida e Islas Canarias después de seis aplicaciones de avermectina por año. A si mismo Hoy y Conley (1987) no encontraron diferencias en susceptibilidad en cinco poblaciones *T. urticae* después de 6-8 selecciones con abamectin en condiciones de laboratorio.

Niveles enzimáticos

En el cuadro 3 se presentan los valores máximos de absorbancia obtenidos para cada enzima en las dos líneas de *T. urticae* y el número de muestras que superaron el umbral de tolerancia. Como puede observarse para las acetilcolinesterasas, en 11 de 90 muestras registraron valores más altos en la línea de campo que en la de laboratorio, lo anterior indica que en términos de porcentaje, el 12.2 % de la población de campo en estudio presentó mayores niveles de esta enzima. En relación a las acetilcolinesterasas insensibles de la población de campo, 3 de 90 muestras resultaron con valores superiores al umbral de tolerancia lo que demuestran resistencia de 3.3 % por la presencia de estas enzimas. En cuanto a las α -esterasas y β -esterasas. 13 y 27 de 90 muestras

respectivamente, superaron el umbral de tolerancia lo que representa una resistencia de 14.4 y 30.0 % en la línea de campo por la presencia de estas enzimas. En lo referente a las oxidasas 25 de 90 muestras superaron al umbral de tolerancia, lo que equivale a 27.7 % de resistencia en la población de campo debida a estas enzimas. Respectivamente. Las enzimas glutathion S-transferasas presentaron niveles inferiores a la línea de laboratorio, por tanto ninguna muestra superó el umbral de tolerancia.

El hecho de encontrar un factor de resistencia de 3.3 % en la población de campo (figura 1) con la presencia de acetilcolinesterasas insensibles sugiere que este mecanismo de resistencia no influye o es de menor importancia en el nivel de resistencia que se obtuvo en esta población, sin embargo algunos autores como; Voss y Matsumura (1964) y Tsagkarakou *et al.* (2002) señalan que este mecanismo de resistencia en otras líneas fue importante. Por lo anteriormente expuesto es probable que exista otro mecanismo de resistencia que pueda estar involucrado en la resistencia a naled (25 %) que se obtuvo al exponer a los ácaros de campo con la concentración diagnóstico, al respecto Matsumura y Voss (1964); Herne y Brown (1969) reportan resistencia en *T. urticae* a organofosforados por incremento de la actividad de la carboxiesterasas, lo que concuerda con lo observado en esta investigación, ya que en la línea de campo se presentó un porcentaje de resistencia de 14.4 % y 30 % respectivamente por la presencia α y β -esterasas (Figura 2) , pudiera ser posible que con esto se explique el grado de resistencia al naled.

En lo que respecta a la bifentrina los resultados obtenidos mostraron 45.6 % de mortalidad al aplicar la concentración diagnóstico (1800 ppm) y comparados con los resultados obtenidos sobre la presencia de α y β -esterasas, nos indica una clara relación .

ya que como se observa, la población de campo resulto resistente para estas enzimas (Figura 2); al respecto Yang *et al.* (2002) registraron que el principal mecanismo de resistencia a bifentrina en *T. urticae* esta relacionado con una alta actividad de esterasas, los mismos autores Yang *et al.* (2001) reportan a las enzimas esterasas y en menor grado a las glutathion S-transferasas como los principales causantes de la resistencia a bifentrina y λ -cyhalotrina. Como ya se señaló en este estudio se observó que los niveles de glutathion S-transferasas fueron inferiores a los de la línea de laboratorio lo que permite deducir que no intervienen en la resistencia a bifentrina, ya que la población de campo resultó susceptible para esta enzima (Figura 3). Por otro lado, Riley *et al.* (2000) reportan a las α -esterasas como el principal mecanismo de resistencia a bifentrina en mosca blanca, aunque también involucran al sistema oxidativo, que como se muestra en la misma figura, es un factor importante como causa de resistencia.

En lo que corresponde a glutathion S-transferasas diversos autores (Motoyama y Dauterman, 1980 y Clark y Shaman, 1984) reportan a estas enzimas como causa de resistencia a organoclorados, sin embargo en el presente estudio este sistema no resulto relevante (Figura 3), por otro lado Lagunes y Villanueva (1994) señalan que, las oxidasas son otro mecanismo de resistencia para el dicofol (organoclorado), aunque el nivel de resistencia que se tuvo por las oxidasas en la línea de campo fue 27.8 % (Figura 3), esto no explica completamente el nivel de resistencia que se obtuvo para el dicofol en los bioensayos al sobrevivir el 59.7 % expuestos a la concentración diagnóstico, por lo mismo esto nos hace pensar que otro mecanismo esta involucrado en la resistencia al dicofol. al respecto Narahashi (1983) menciona que la resistencia al DDT y sus análogos

y para lo piretroides es la insensibilidad en el sistema nervioso de los insectos, trabajando en los canales de sodio en la membrana del nervio.

La mortalidad obtenida en la población de campo de *T. urticae* expuesta a la concentración diagnóstico del oxido de fenbutatin, solo concuerda con la presencia de oxidasas en la población de estudio. Por tanto podemos relacionar la resistencia que se obtuvo para este producto en los bioensayos con la línea de campo, con el nivel de resistencia que presentó esta línea por las oxidasas, pero esto solo explicaría el 27.8 %, del nivel de resistencia que presentaron estos ácaros al oxido de fenbutatin (55.4 %). La diferencia entre los porcentajes de resistencia nos sugieren que posiblemente otro mecanismo de resistencia esta involucrado. Al respecto Carbonaro *et al.* (1986) indican, que la insensibilidad en la ATPasa puede ser responsable en parte, de la resistencia al cyhexatin, un producto del mismo grupo que el oxido de fenbutatin, lo que este mecanismo pudiera estar involucrado en la resistencia a este compuesto.

Las oxidasas también están involucradas en el mecanismo de resistencia de avermectina (Clark *et al.*, 1994), en esta investigación se indicó una relación con respecto al 17.6 % de individuos de la población en estudio que sobrevivieron a la exposición con la avermectina, en relación a esto (Argentine *et al.*, 1992) han reportado que líneas de insectos seleccionados con avermectina no presentan niveles significativos de resistencia cruzada para otros insecticidas, lo que aparentemente concuerda con estos resultados.

Literatura Citada

- Abbott. S. W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Argentine. J. A. and J. M. Clark. 1990. Selection for abamectin resistance in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Pestic. Sci. 28: 17-24.

- Brogdon, W. G. 1984. Mosquito protein microassay-I, protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 79: 457-459
- Brogdon, W. G. 1988. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 90: 145-150.
- Brogdon, W. G. and C. M. Dickinson. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analyt. Biochem.* 131: 499-503.
- Brogdon, W. G. and Barber . 1990. Microplate assay of glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito triturates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96: 339-342.
- Brogdon, W. G., J. C. McAllister and J. Vulule. 1997. Hemeperoxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 13: 233-237.
- Bynum, E. D., Jr., T. L. Archer and F. W. Plapp Jr. 1990. Action of insecticides to spider mites (Acari: Tetranychidae) on corn in the Texas high plains: toxicity, resistance and synergistic combinations. *J. Econ. Entomol.* 90: 1125-1130.
- Carbonaro, M. A., D. E. Moreland, V. E. Edge, N. Motoyama, G. C. Rock and W. Dauterman. 1986. Studies on the mechanisms of cyhexatin resistance in the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 576-579.
- Clark, A. G. and N. A. Shaman. 1984. Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase. *Pestic. Biochem. Physiol.* 22: 249-261.

- Clark, J. M., J. G. Scott, F. Campos and J. R. Bloomquist. 1994. Resistance to avermectins: extent, mechanisms and management implications. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 1-30.
- Dennehy, T. J., J. Granett and T. F. Leigh. 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *J. Econ. Entomol.* 76: 1225- 1230.
- Dennehy, T. J., E. E. Grafton-Cardwell, J. Granett and K. Barbour. 1987. Practitioner assessable bioassay for detection of dicofol resistance in spider mites (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 998-1103.
- Devine, G. J., M. Barber and I. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to meti-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest. Manag. Sci.* 57:443-448.
- Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge
- Grafton-Cardwell, E. E. and M. A. Hoy. 1983. Comparative toxicity of avermectina B₁ to the predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae) and the spider mites *Tetranychus urticae* Koch and *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 76: 1216-1220.
- Georghiou, G. P. 1965. Genetics studies on insecticide resistance. *Adv. Pest Control Res.* 6:171.
- Gould, H. J. 1987. Protected crops. In Burn A. J. Croaker and Jepson P. (eds) *Integrated Pest Management*. Academic Press, New York, USA. Pp: 404-405.
- Herne, D. H. C. And A. W. A. Brown. 1969. Inheritance and biochemistry of OP-resistance in a New York strain of the two-spotted spider mite. *J- Econ. Entomol.* 62: 205-209.

- Hoy, M. A. and J. Conley. 1987. Selection for abamectin resistance in *Tetranychus urticae* and *T. pacificus* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 221-225.
- Kim, M., D. Shin and K. Cho. 2004. An assessment of the chronic toxicity of fenpyroximate and pyridaben to *Tetranychus urticae* using a demographic bioassay. *Appl. Entomol. Zool.* 39(3): 401-409.
- Lagunes-Tejada, A. y Villanueva-Jiménez J: A. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo Estado de México, México. 264 p.
- Landeros, J., N. Mora, M. Badii, P. A. Cerda and A. E. Flores. 2002. Effect of sublethal concentrations of avermectina on population parameters of *Tetranychus urticae* on strawberry. *Southwest. Entomol.* 27: 283-289.
- Lee, Y. S., M. H. Song, K. S. Ahn, K. Y. Lee, J. W. Kim and G. H. Kim. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. *J. Asia-Pacific Entomol.* 6(1): 91-96.
- Matsumura, F. and G. Voss. 1964. Mechanism of malathion and parathion resistance in the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *J. Econ. Entomol.* 57:911-917.
- McCutchen, B. F., F. W. Plapp, S. J. Nemic and C. Campanhola. 1989. Development of diagnostic monitoring techniques for larval pyrethroid resistance in *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 82: 1502-1507.
- Motoyama, N., and W.C. Dauterman. 1980. Glutathione S-transferase: their role in the metabolism of organophosphorous insecticides. *Rev. Biochem. Toxicol.* 2: 49-69.

- Narahashi, T. 1983. Resistance to insecticides due to reduced sensitivity of the nervous system. In *Pest Resistance to Pesticides*. G. Georghiou and T. Saito (eds). Plenum press New York and London. Pp: 333-351.
- Riley, D. G., W. J. Tan, and D. Wolfenbarger. 2000. Activities of enzymes associated with inheritance of bifenthrin resistance in the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Southwest. Entomol.* 25: 201-211.
- Rizzieri, D. A., T. J. Dennehy and T. J. Glover. 1988. Genetic analysis of dicofol resistance in two populations of two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from New York apple orchards. *J. Econ. Entomol.* 81: 1271-1276.
- Saito, T., K. Tabata and S. Kohno. 1983. Mechanisms of acaricide resistance with emphasis on dicofol. In *Pest Resistance to Pesticides*. G. Georghiou and T. Saito (eds). Plenum press New York and London. Pp: 429-444.
- Sato, M. E, C. M. Passerotti, A. P. Takematsu, M. F. Souza Filho, M. R. de Potenza y A. P. Sivieri. 2000. Resistance to acaricides in *Tetranychus urticae* (Koch) from peach (*Prunus persica* (L) Bastsch) orchards in Paranapanema and Jundiai counties state of Sao Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico.* 67(1): 117-123.
- Sato, M. E., T. Miyata, M. Da Silva, A. Raga and M. F. De Souza Filho. 2004. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Appl. Entomol. Zool.* 39(2): 293-302.
- Tian, T.; E.F. Grafton-Cardwell,.; J. Granett,., 1992. Resistance of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to cyhexatin and fenbutatin-oxide in California pears. *J. Econ. Entomol.* 85: 2088-2095

- Tsagkarakou, A., N. Pasteur, A. Cuany, C. Chevillon and M. Navajas. 2001. Mechanisms of resistance to organophosphates in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece. *Insect biochem. Molec. Biol.* 32:417-424.
- Voss, G. and F. Matsumura. 1964. Resistance to organophosphorus compounds in the two spotted spider mite: two different mechanisms of resistance. *Nature.* 202: 319-320.
- Yang, X., D. C. Margolies, K. Y. Zhu and L. L. Buschman. 2001. Host plant-induced changes in detoxification enzymes and susceptibility to pesticides in the twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 94: 381-387.
- Yang, X., L. L. Buschman, K. Y. Zhu and D. C. Margolies. 2002. Susceptibility and detoxifying enzyme activity in two spider mite species (Acari: Tetranychidae) after selection with three insecticides. *J. Econ. Entomol.* 95 (2): 399-406.
- Yu, S .J. 1982. Host plant induction of glutathione S-transferase in the fall armyworm. *Pestic. Biochem Physiol.* 18: 101-106.

Cuadro 1. Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente de acaricidas aplicados a la línea de laboratorio de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch.

Acaricida	N*	Pendiente ± SE	ppm					
			Límites		C ₅₀	Límites		C ₅₀
			Inferior	Superior		Inferior	Superior	
Avermectina	360	2.80 ± 0.47	1.89	1.84	2.13	5.42	4.76	6.39
Bifentrina	360	2.18 ± 0.47	234.02	207.14	272.97	905.24	658.59	1474.28
Dicofol	360	2.01 ± 0.38	385.30	338.25	436.66	1670.05	1325.99	2280.73
Naled	360	6.78 ± 0.99	57.04	54.81	59.39	88.12	82.28	96.27
Oxido de fenbutatin	360	2.55 ± 0.59	207.87	188.57	228.84	660.85	524.55	947.06

* Número de individuos evaluados

Cuadro 2. Respuesta de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch a concentraciones diagnóstico procedentes de invernadero del Estado de México.

Acaricida	Concentración diagnóstico (ppm)	N [†]	Mortalidad (%)
Avermectina	10.8	400	82.4
Bifentrina	1800	400	45.6
Dicofol	3340	400	40.3
Naled	176	400	75.0
Oxido de fenbutatin	1320	400	44.6

[†] Número de individuos evaluados

Cuadro 3. Niveles promedio de los máximos de absorbancia para cada enzima de las dos poblaciones de *Tetranychus urticae* Koch.

Enzima	Absorbancia ⁺⁺		N ⁺
	Línea de laboratorio	Línea de campo	
Acetilcolinesterasa	0.0677 ^{&}	0.0950 ^b	11
Acetilcolinesterasa insensible	0.0693 ^{&}	0.0790	3
α -esterasa	0.6237 ^{&}	0.6853	13
β -esterasa	0.9533 ^{&}	1.054	27
Glutation S-transferasa	0.0667 ^{&}	0.0665	0
Oxidasa	0.6527 ^{&}	0.8403	25

Número de muestras que superaron el umbral de tolerancia

[&]Umbral de tolerancia para cada enzima

⁺⁺ Promedio de tres repeticiones

Acetilcolinesterasas

Acetilcolinesterasas insensible

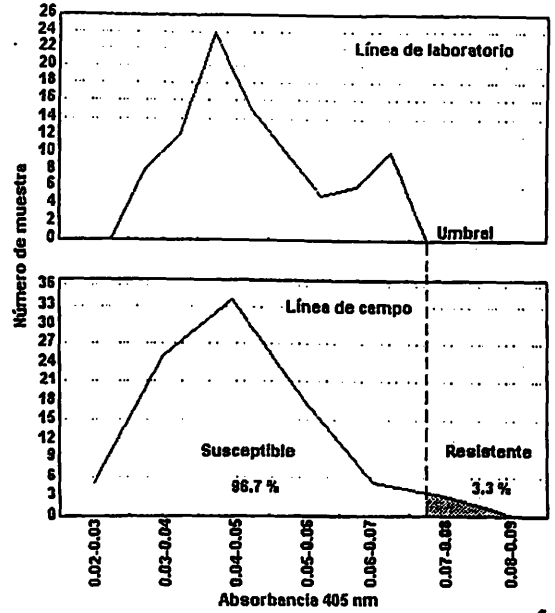
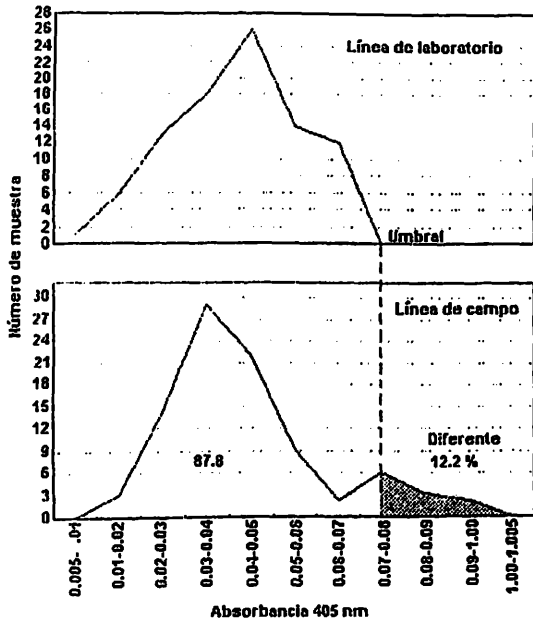


Figura 1. Distribución de frecuencia de los niveles de acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

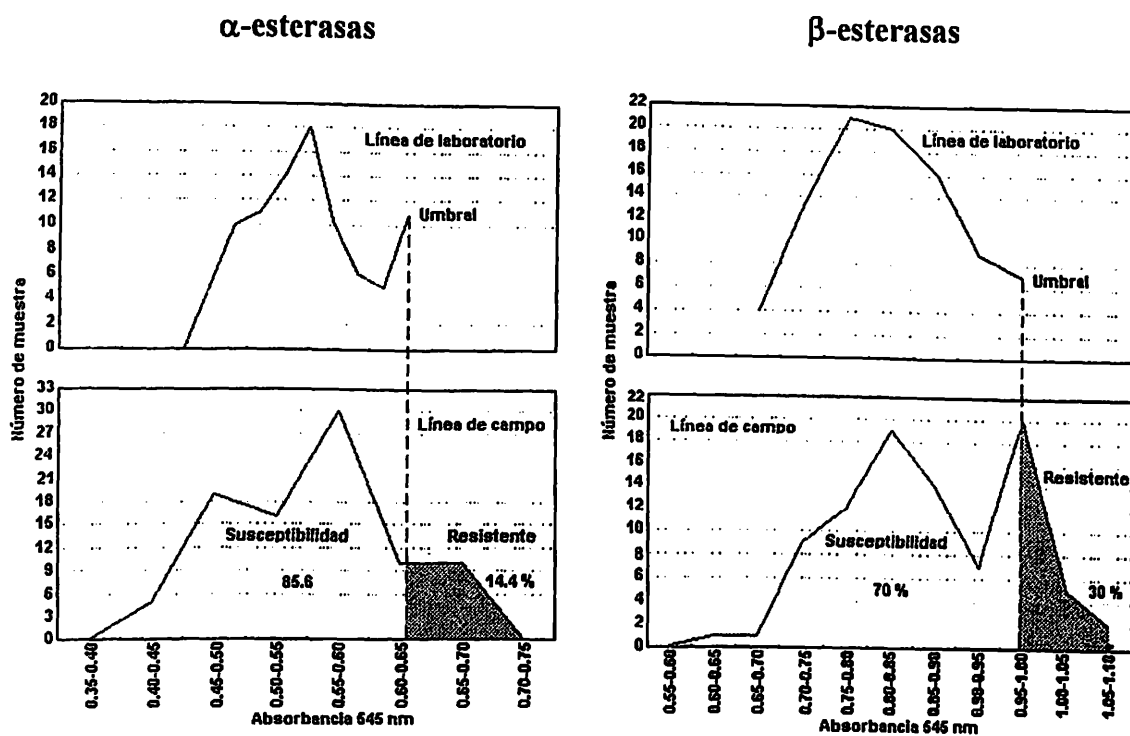


Figura 2. Distribución de frecuencia de los niveles de α -esterasa y β -esterasa para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

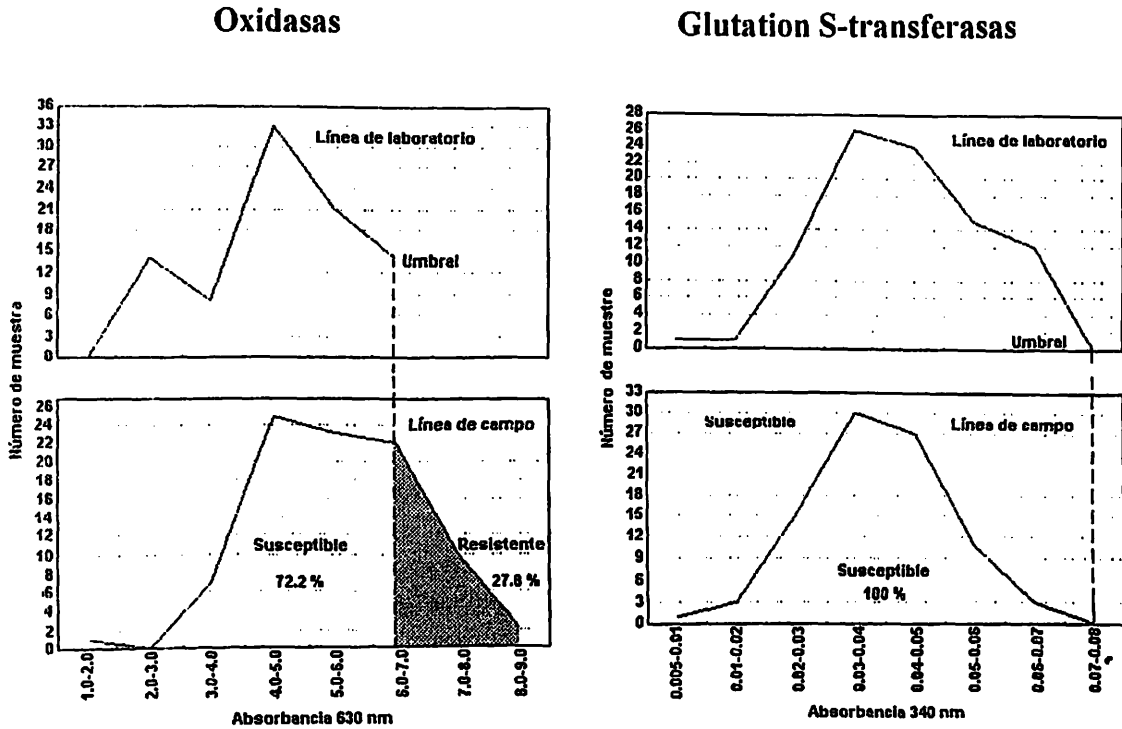


Figura 3. Distribución de frecuencia de los niveles de oxidasas y glutacion S-transferasas, para dos líneas de *T. urticae* y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

La línea de campo de *T. urticae*, presenta susceptibilidad para el acaricida avermectina y resistencia para bifentrina, dicofol, naled y oxido de fenbutatin. De acuerdo a esto es recomendable el uso de avermectina para el control de esta especie en los invernaderos de rosas de la región de Villa Guerrero, Estado de México. En cuanto a los otros acaricidas se debe restringir su uso y/o rotar con avermectina

Los niveles enzimáticos de la población colectada en el Estado de México son mayores que los niveles de la línea de laboratorio, para las enzimas α -esterasas, β -esterasas, oxidasas, acetilcolinesterasas y acetilcolinesterasas insensibles. Para las glutatión S-transferasas, la línea de laboratorio presenta mayores niveles que la línea de campo.

Los principales mecanismos de resistencia de los ácaros colectados en Villa Guerrero, Estado de México, son las β -esterasas, oxidasas y α -esterasas. Las acetilcolinesterasas insensibles son factores de resistencia de menor importancia en esta población. En relación a las glutatión S-transferasas estos mecanismos no intervienen en la resistencia de la población de campo.

- Brown, T. M. and W. G. Brogdon. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 145-162
- Campos, F., Dybas R. A. and Krupa D. A. 1995. Susceptibility of twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae) populations in California to abamectin. *J. Econ. Entomol.* 88: 225-231.
- Cranham, J. E. and W. Helle. Pesticide resistance in Tetranychidae. In Helle W., M. W. Sabelis (Eds.). *Spider mites: Their biology, natural enemies and control.* Amsterdam. Elsevier. Pp 405-419.
- Croft, B. A. R. W. Miller, R. D: Nelson and P. H. Westigard. 1984. Inheritance of early-stage resistance to formentanate and cyhexatin in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 77: 574-578.
- Croft, B. A. and H. E. Van de Baan. 1988. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mite. *Exp. Appl. Acarol.* 4: 277-300
- Cruz, M. P. 1984 Acaros fitófagos de los principales cultivos de México. En, G. J. Vera, E. Pardo y A. Lagunes Eds. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. Pp 255-259.
- Dennehy, T. J. and J. Granett. 1982. Improved detection of dicofol-resistant spider mites in cotton. *Calif. Agric.* 36: 11-12.
- Dennehy, T. J., J. Granett and T. F. Leigh. 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *J. Econ. Entomol.* 76: 1225- 1230.
- Dennehy, T. J. and J. Granett. 1984. Spider mite resistance to dicofol in San Joaquin Valley cotton: Inter and intraespecific variability in susceptibility of three species of *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 77: 1381-1385.
- Devine, G. J., M. Barber and I. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to meti-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest. Manag. Sci.* 57:443-448.
- Devonshire A. L. and G. D. Moores. 1982. A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamates and pyrethroids resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*). *Pestic. Biochem. Physiol.* 18: 235-246.
- Devonshire A. L. and G. D. Moores. 1984. Characterization of insecticide-insensitive acetylcholinesterase: microcomputer-based analysis of enzyme inhibition in

- homogenates to individual house fly (*Musca domestica*) heads. *Pestic. Biochem. Physiol.* 21: 341-348.
- Doreste, S: E. 1988. *Acarología*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (IICA). San José, Costa Rica. 410 p.
- Ebeling, W. and R. J. Pence. 1954. Susceptibility to acaricides of tow-spotted spider mites in the egg, larval, and adult stages. *J. Econ. Entomol.* 47(5): 789-795.
- Edge, V. E. and D. G. James. 1982. Detection of cyhexatin resistance in twospotted mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.* 21: 198-204.
- Edge, V. E. and D. G. James. 1986. Organo-tin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in Australia. *J. Econ. Entomol.* 79: 1477-1483.
- Edwards, J. S. and D. Gomez. 1966. Bound acetyl-cholinesterase in the central nervous system of *Acheta domestica* (L). *J. Insec. Phys.* 12: 1061-1068.
- Estébanes, M. L. 1989. *Acaros en frutales del estado de Morelos*. Instituto de Biología de la UNAM. Y Dirección General de Sanidad y Protección Forestal SARH México DF. 360 p.
- Estrada, C. S y G.M. Sánchez. 1990. Niveles de susceptibilidad de *Tetranychus urticae* Koch (Acarida: Tetranychidae) a ocho acaricidas en el cultivo del clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) en la región de Villa Guerrero México. *Rev. Chapingo.* 15: 145-148.
- FAO. 1979. Resistencia de las plagas a los plaguicidas y evaluación de pérdidas agrícolas. Informe de la Segunda Reunión de Expertos (6/2) AGP; Roma. 67 p.
- Fayette, L. J. 1946. Hexaethyl tetraphosphate for control of mite. *J. Econ. Entomol.* 39: 812-816.
- French-Constant, R. H. and R. T. Roush. 1990. Resistance detection and documentation: The relative role of pesticidal and biochemical assays. In: *Pesticides resistance in arthropods*. R. T. Roush and B. E. Tabashnik (Eds.) Chapman and Hall, New York, London. Pp: 4-38.
- French-Constant, R. H, J. C. Steichen and L. O Brun. 1994. A molecular diagnostic for endosulfan insecticide resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Bull. Entomol. Res.* 84: 11-16.
- Field, R. P. and M. A. Hoy. 1984. Biological control spider mites on greenhouse roses. *Calif. Agric.* 38: 29-32.

- Georghiou, G. P. 1965. Genetics studies on insecticide resistance. *Adv. Pest Control Res.* 6:171.
- Georghiou, G. P. 1971. Resistance of insects and mites to insecticides and acaricides and future of pesticides chemicals. *Agricultural Chemicals Harmony or Discord for Food, People and the Environment. A Symposium* John Swift, Ed. University of California. Pp 112-127.
- Georghiou, G. P. and Lagunes-Tejeda. 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. Rome. FAO. 318 p.
- Goka, K. 1998. Mode inheritance of resistance to three new acaricides in the Kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 22: 699-708.
- Goodwin, S., G. Herron, N. Gough, T. Wellham, J. Rophail and R. Parker. 1995. Relationship between insecticide-acaricide resistance and field control in *Tetranychus urticae* (Tetranychidae) infesting roses. *J. Econ. Entomol.* 88(5): 1106-1112.
- Gunning, R. V., C. S. Easton, L. R. Greenup and V. E. Edge. 1984. Pyrethroid resistance in *Heliothis armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. *J. Econ. Entomol.* 77: 1283-1284.
- Guo, F., X. Deng and Z. Zhao. 1997. Finding the optimal conditions for assaying the activity of glutathion-S-aromatic group transferases in *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *Sist. Appl. Acarol.* 2: 63-70
- Halliday, W. R. and K. P. Burnham. 1990. Choosing the optimal diagnostic dose for monitoring insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 83: 1151-1159.
- Hayes. W. P. and Y. S. Liu. 1947. Tarsal chemoreceptors of the house fly and their possible relation to DDT toxicity. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 40: 401-416.
- Helle, W. y L.P. Pinacker. 1985. Parthenogenesis, chromosomes and sex. En Tiell y Sabelis, Edits: *Spider mites Biology, Natural Enemies and control.* Amsterdam. Elsevier. Pp 129-138.
- Hoyt, S. C., P. H. Westigard and B. A. Croft. 1985. Cyhexatin resistance in Oregon populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 656-659.
- Ibel, K., R. P. May, K. Kirschner, H. Szadkowski, E. Mascher and P. Lundahl. 1990. Protein-decored micelle structure of sodium-dodecyl-sulfate protein complexes as determined by neutron scattering. *Eur. J. Biochem.* 190: 311-318.

- Jefferson, R. L., J. G. Bald and F. S. Morishita. 1956. Effect of vapam on *Rhizoglyphus* mites and gladiolus diseases. *J. Econ. Entomol.* 49(5): 584-589.
- Jeppson, L. R., H:H Keifer, y E:W. Baker. 1975. Mites injurious to economic plants University of California Press. 614 p.
- Kabir, M. K. H. 1991. Assessment and development of bioassay methods for monitoring miticide resistance in spider mites (Tetranychidae). Ph. D. Thesis. Lincoln University, New Zealand. 163 p.
- Krantz, G. W. 1978. A manual of acarology. Oregon State University. Book Stores, Inc. Second edition. Corvallis, Oregon. USA. 509 p.
- Lagunes, T. A. 1974. Resistencia diferencial a insecticidas entre poblaciones de *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) que atacan al algodonoero, tomate y maíz en México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 101 p.
- Lagunes-Tejada, A. y Villanueva-Jiménez J: A. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo Estado de México, México 1994. pp 264.
- Lasota, A. J. and R. A. Dybas. 1991. Avermectins, a novel class of compounds: implications for use in arthropod pest control. *Ann. Rev. Entomol.* 36: 91-117.
- Lee, Y. S., M. H. Song, K. S. Ahn, K. Y. Lee, J. W. Kim and G. H. Kim. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. *J. Asia-Pacific Entomol.* 6(1): 91-96.
- Lienk. S.E., P.J. Chapman and A. Myburgh. 1952. Evaluation of acaricides against three species of orchard mites. *J. Econ. Entomol.* 45(2): 290-297.
- Lloyd, N. C. 1962. A serious pest of deciduous fruit trees- the red spider. *Agric. Gaz. N. S. W.* 73: 544-549.
- Mailloux. M. and F.O. Morrison. 1962. The effects of acaricides on the developmental stages of the two-spotted spider mite. *Tetranychus urticae*. *J. Econ. Entomol.* 55(4): 479-482.
- March. R. B. 1958. The chemistry and action of acaricidas. *Ann. Rev. Entomol.* 3: 355-376.
- McCutchen, B. F., F. W. Plapp, S. J: Nemic and C. Campanhola. 1989. Developmente of diagnostic monitoring techniques for larval pyrethroid resistance in *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 82: 1502-1507.

- McNally, R. D. 1962. Mechanisms of insect resistance are manifold and highly efficient. *Agric. Chemicals*. 17: 22-23.
- Miller, R. W., B. A. Croft and R. D. Nelson. 1985. Effects of early season immigration on cyhexatin and formetanate resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on strawberry in central California. *J. Econ. Entomol.* 78: 1379-1388.
- Miyata, T. 1983. Detection and monitoring methods for resistance in arthropods based on biochemical characteristics. In G. P. Georghiou and T. Saito (Eds.), *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum, New York. Pp: 99-116
- Mullin, C.A. 1984. Host-related alterations of detoxification enzymes in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Environ. Entomol.* 12(4). 1278-1282.
- Nelson, R.D and E.M Stafford. 1972. Effects of gamma radiation on the biology and population suppression of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Hilgardia*. 41: 229-341.
- Nolan, J., H. Schnitzerling and C. A. Schuntner. 1972. Multiple forms of acetylcholinesterase from resistant and susceptible strains of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Can.). *Pestic. Biochem. Phys.* 2: 85-94.
- Oppenoorth, F. J. and W. Welling. 1976. Biochemistry and physiology of resistance. In: Wilkinson C. F. Ed. *Insecticide Biochemistry and Physiology*. Plenum Press, New York, USA. Pp 507-551.
- Otero, C. G. 1992. Manejo fitosanitario de hortalizas en México. En S. Anaya, N. Bautista y B. Domínguez Edit. *Colegio de Posgraduados*. Chapingo, México. Pp 136-151.
- Pasteur, N. and G. P. Georghiou. 1981. Filter paper test for rapid determination phenotypes with high esterase activity in organophosphate resistant mosquitoes. *Mosq. News*. 41: 181-183.
- Perry, A. S. 1956. Factors associated with DDT resistance in the house fly, *Musca domestica* L. *Tenth International Congress of Entomol.* 2: 157-172.
- Pradt, G. E. 1978. Basis for selectivity of acaricidas. In: *Pesticides Selectivity*. Ed. Marsell Dekker in New York. USA. 585 p.
- Quintanilla, H. R. 1978. *Acaros Fitófagos*. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires Argentina. 344 p.
- Reséndiz, G. B. 1998. Resistencia a acaricidas de una población de *Tetranychus urticae* Koch procedente de Villa Guerrero, Estado de México. Tesis de Doctorado. *Colegio de Postgraduados*. Montecillo, México. 45 p.

- Rochrdanz, R. L., D. K. Reed and R. L. Burton. 1993. Use of polimerase chain reaction and arbitrary primers to distinguish laboratory-raised colonies of parasitic Hymenoptera. *Biol. Cont.* 3: 199-206.
- Roush, R. T. and G. L. Miller. 1986. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programme. *J. Econ. Entomol.* 79: 293-298.
- Sánchez, FV., J.A.W. Gimán and I. P. Ting. 1979. Morphological responses of strawberry leaves to infestations of two spotted spider mite. *J. Econ. Entomol.* 72: 710-713.
- Sánchez, G. F. 1994. Control biológico de plagas en invernadero. *Agroguías Mundi Prensa.* Pp 17-21.
- Sato, M. E., T. Miyata, M. Da Silva, A. Raga and M. F. De Souza Filho. 2004. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Appl. Entomol. Zool.* 39(2): 293-302.
- Shah, R., S. P. Worner and R. B. Chapman. 2002a. Selection of a discriminating concentration (DC) for propargite-resistance detection in *Tetranychus urticae* (Koch). *Pakistan J. Biol. Sci.* 5(10): 1074-1076.
- Shah, R., K. Armstrong, S. P. Worner and R. B. Chapman. 2002b. Investigation of a PCR-based method for insecticide resistance monitoring. *Pakistan J. Biol. Sci.* 5(10): 1070-1073.
- Shorey, H. H., R. L. Hale and V. Voth. 1967. Comparisons soil and foliar applications of acaricides for control of the tow spotted spider mite on strawberries in Southern California. University Citrus Research Center and Agricultural Experiments Statio. Riverside. 60(6): 1722-1724.
- Sobrino, I. E y V. E. Pacheco. 1989. Tratado de horticultura herbácea, hortalizas de flor y de fruto. Aedos. Barcelona, España. 151 p.
- Staetz, C. A. 1985. Susceptibility of *Heliothis virescens* (F) (Lepidopter: Noctuidae) to permethrin from across the cotton belt: a five-year study. *J. Econ. Entomol.* 78: 505-510.
- Tabashnik, B. E., N. L. Cushing and M. W. Johnson. 1987. Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to insecticides in Hawaii: intra-island variation and cross resistance. *J. Econ. Entomol.* 80: 1091-1099.
- Teliz, O. D. y F. J. Castro. 1973. El cultivo de la fresa en México. Folleto de divulgación No. 48. INIA-CIAB. México. 102 p.

- Tsagkarakou, A., M. Navajas, J. Lagnel, J. Gutierrez and N. Pasteur. 1996. Genetic variability in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece: insecticide resistance and isozymes. *J. Econ. Entomol.* 89: 1354-1358.
- Tuttle, M.D. y E.W. Baker. 1968. Spider mites of southwestern United States, and a revision of the family Tetranychidae. The University Arizona Press. 129 p.
- Tuttle, M.D., E. W. Baker and J.M. Abbatiello. 1976. Spider mites of México (Acari: Tetranychidae). *Internacional Journal of Acarology.* 2(2): 109-124.
- Twine, P. H. and H. T. Reynolds. 1980. Relative susceptibility and resistance of the tobacco budworm to methyl parathion and synthetic pyrethroids in southern California. *J. Econ. Entomol.* 73: 239-242.
- Unwin, B. 1971. Biology and control of the twospotted mite *Tetranychus urticae* Koch. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 37: 192-211.
- Unwin, B. 1973. Chemical resistance in populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) from apple orchards in N. S. W. Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.* 12: 59-67.
- Velazco, H. Y F. Pacheco. 1968. Biología, morfología y evaluación tóxica de acaricidas en la araña roja de la fresa *Tetranychus telarius* L. *Agrociencia* 3: 43-45.
- Vera, J., E. Prado y A. Lagunes. 1984. Acaros fitófagos de los principales cultivos de México: Biología y combate. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 339 p.
- Welty C., W. H. Reissing, T. J. Dennehy and R. W. Weires. 1988. Susceptibility to hexythiazox of eggs and larvae of European red mite (Acari: Tetranychidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 81(2): 586-592.

APÉNDICE A

Cuadro A1. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de avermectina a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	60	51	9	15.0	0
1.5	60	34	26	43.3	33.3
2.0	60	22	38	63.3	56.9
4.0	60	15	45	75.0	70.6
6.0	60	5	55	91.7	90.2
8.0	60	3	57	95.0	94.1
10.0	60	1	59	98.3	98.0

[&]Corregida por Abbott (1925)

Cuadro A2. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de bifentrina a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	60	52	8	13.3	0
50	60	46	14	23.3	11.5
100	60	44	16	26.7	15.4
150	60	27	23	38.3	28.8
200	60	30	30	50.0	42.3
250	60	24	36	60.0	53.9
300	60	18	42	70.0	65.4

[&]Corregida por Abbott (1925)

Cuadro A3. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de dicofol a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	60	52	8	13.3	0
100	60	44	16	26.7	15.4
200	60	37	23	38.3	28.9
400	60	29	31	51.7	44.2
600	60	21	39	65	59.6
800	60	14	46	76.7	73.1
1000	60	6	54	90	88.5

[&]Corregida por Abbott (1925)

Cuadro A4. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de naled a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	60	57	3	5	0
30	60	55	5	8.3	3.5
40	60	50	10	16.7	12.3
50	60	36	24	40.0	36.8
60	60	25	35	58.3	56.1
70	60	17	43	71.7	70.2
80	60	8	52	86.7	85.9

[&]Corregida por Abbott (1925)

Cuadro A5. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de laboratorio expuestas a diferentes concentraciones de oxido de fenbutatin a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	60	52	8	13.3	0
100	60	38	22	36.7	26.9
150	60	35	25	41.7	32.7
200	60	33	27	45.0	36.5
250	60	23	37	61.7	56.8
300	60	15	45	75.0	71.2
350	60	13	47	78.3	75.0

[&]Corregida por Abbott (1925)

Cuadro A6. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de avermectina a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	80	68	12*	15	0
10.8	400	340	60**	85	82.4

[&] Corregida por Abbott (1925)

* Individuos de cuatro repeticiones

** Individuos de 20 repeticiones

Cuadro A7. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de bifentrina a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	80	68	12*	15	0
1800	400	185	215**	53.8	44.6

[&] Corregida por Abbott (1925)

* Individuos de cuatro repeticiones

** Individuos de 20 repeticiones

Cuadro A8. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de dicofol a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	80	69	11*	13.8	0
3340	400	206	194**	48.5	40.3

[&] Corregida por Abbott (1925)

* Individuos de cuatro repeticiones

** Individuos de 20 repeticiones

Cuadro A9. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de naled a 24 horas.

Concentración ppm	Número de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	80	75	5*	6.3	0
176	400	93	307**	76.8	75.0

[&] Corregida por Abbott (1925)

* Individuos de cuatro repeticiones

** Individuos de 20 repeticiones

Cuadro A10. Mortalidad de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch, de la línea de campo expuestas a concentración diagnóstico de oxido de fenbutatin a 24 horas.

Concentración ppm	Numero de individuos			%M	%MC ^{&}
	Expuestos	Vivos	Muertos		
Testigo	80	69	11*	13.8	0
1320	400	191	209**	52.3	44.6

[&] Corregida por Abbott (1925)

* Individuos de tres repeticiones

** Individuos de 20 repeticiones

Cuadro A11. Valores promedio de absorbancia de α -esterasas para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
1	0.5677	0.5947
2	0.6587	0.5817
3	0.7083	0.5607
4	0.6393	0.6043
5	0.5637	0.5510
6	0.6747	0.6080
7	0.5843	0.5757
8	0.6237	0.6793
9	0.5477	0.5900
10	0.5480	0.6423
11	0.5553	0.5950
12	0.7303	0.6283
13	0.5533	0.5703
14	0.5520	0.5500
15	0.5850	0.5657
16	0.6627	0.6703
17	0.4923	0.6757
18	0.5147	0.6747
19	0.5623	0.6017
20	0.5453	0.5830
21	0.5463	0.5560
22	0.5220	0.6320*
23	0.5443	0.6160
24	0.6110	0.6853
25	0.5340	0.5847
26	0.5097	0.5970
27	0.5333	0.6010
28	0.4917	0.6013
29	0.5290	0.5910
30	0.5787	0.5953
31	0.5703	0.4720
32	0.5037	0.5210
33	0.5653	0.5710
34	0.6123	0.5530
35	0.6033	0.5563
36	0.5887	0.5763
37	0.6187	0.5790
38	0.5583	0.6770
39	0.5170	0.4773
40	0.5940	0.5583
41	0.5490	0.5653
42	0.5713	0.5737
43	0.5110	0.6767
44	0.6223	0.5363
45	0.5810	0.6767
46	0.5037	0.6737

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.6237)

Continuación cuadro A11.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
47	0.5267	0.5680
48	0.5683	0.5813
49	0.5557	0.5533
50	0.5483	0.5260
51	0.5157	0.5413
52	0.5110	0.6160
53	0.5747	0.5363
54	0.5007	0.4990
55	0.5343	0.5270
56	0.5307	0.6747*
57	0.4763	0.5720
58	0.6400	0.5413
59	0.5333	0.5737
60	0.4780	0.4773
61	0.4787	0.5337
62	0.5170	0.4630
63	0.5243	0.5147
64	0.4853	0.5097
65	0.5230	0.5113
66	0.5527	0.5203
67	0.5943	0.5343
68	0.5233	0.4450
69	0.4833	0.4170
70	0.5207	0.4693
71	0.5490	0.4567
72	0.4990	0.4840
73	0.5243	0.4630
74	0.5413	0.4843
75	0.5600	0.5680
76	0.4733	0.4103
77	0.4917	0.4500
78	0.4637	0.4963
79	0.5757	0.4533
80	0.4803	0.4737
81	0.5283	0.5000
82	0.5103	0.4790
83	0.6060	0.4760
84	0.4830	0.4803
85	0.4803	0.4587
86	0.6237	0.4733
87	0.4893	0.4093
88	0.5593	0.5180
89	0.5460	0.5173
90	0.4780	0.4773

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.6237)

Cuadro A12. Valores promedio de absorbancia de β -esterasas para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
1	0.6860	0.76270
2	0.7500	0.81600
3	0.8283	0.73400
4	0.8257	0.84970
5	0.7960	0.73670
6	0.9627	0.81270
7	0.7650	0.82400
8	0.8443	0.96330
9	0.7850	0.84430
10	0.7580	0.88270
11	0.7227	0.82900
12	0.7553	0.77230
13	0.9827	0.80500
14	0.8103	0.86900
15	0.7977	0.85200
16	0.9630	0.96900*
17	0.7060	0.88470
18	0.7107	0.96500
19	0.7343	0.78070
20	0.7323	0.97470
21	0.8280	0.81270
22	0.7133	0.78300
23	0.7597	0.87830
24	0.8650	0.97330
25	0.6797	0.85270
26	0.6777	0.78870
27	0.7280	0.84700
28	0.7040	0.83600
29	0.7063	0.83700
30	0.7397	0.97130
31	0.9500	0.92400
32	0.9047	0.96570
33	0.9133	0.96830
34	0.8880	0.96500
35	0.9690	0.98100
36	0.9213	0.93330
37	0.8523	0.85100
38	0.9533	1.04600
39	0.9737	0.87600
40	0.8030	0.99500
41	0.9533	1.02830
42	0.8400	1.05170
43	0.9397	1.00770
44	0.7653	0.90600
45	0.6954	1.05400
46	0.8137	1.01030

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.9533)

Continuación cuadro A12.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
47	0.7730	1.00070*
48	0.8033	0.99930
49	0.8513	0.94870
50	0.8457	0.90300
51	0.8843	0.90130
52	0.8480	0.85130
53	0.7610	0.97130
54	0.8697	0.86700
55	0.8287	0.84500
56	0.8357	0.87400
57	1.0737	0.97300
58	0.8247	0.92900
59	0.8127	0.88330
60	0.8570	0.97600
61	0.8183	0.73700
62	0.8387	0.83200
63	0.8733	0.77730
64	0.8577	0.81730
65	0.8810	0.81070
66	0.9443	0.80970
67	0.7990	0.83170
68	0.8993	0.85830
69	0.8793	0.73370
70	0.7847	0.63770
71	0.8510	0.77530
72	0.7877	0.75000
73	0.9277	0.76730
74	0.7880	0.79970
75	0.8893	0.81070
76	0.8903	0.86530
77	0.7393	0.69000
78	0.7483	0.74630
79	0.8480	0.96670
80	0.7943	0.70530
81	0.8327	0.77630
82	0.7787	0.74270
83	0.7610	0.83500
84	0.8567	0.97200
85	0.7543	0.79130
86	0.7567	0.76970
87	0.9013	0.96470
88	0.7660	0.73770
89	0.7717	0.96870
90	0.8217	0.96600

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.9533)

Cuadro A13. Valores promedio de absorbancia de oxidasas para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
1	0.4080	0.4003
2	0.4013	0.4357
3	0.5583	0.3757
4	0.4833	0.4740
5	0.2423	0.4863
6	0.2263	0.5103
7	0.2590	0.6570*
8	0.3157	0.6317
9	0.5433	0.5150
10	0.5533	0.4460
11	0.5277	0.5830
12	0.4717	0.4877
13	0.2947	0.7783
14	0.2460	0.5507
15	0.2527	0.6007
16	0.2797	0.6700
17	0.4617	0.4693
18	0.4533	0.4290
19	0.5367	0.4817
20	0.3937	0.4677
21	0.2073	0.7253
22	0.2387	0.3653
23	0.2113	0.4943
24	0.2003	0.6653
25	0.5373	0.6503
26	0.4587	0.4090
27	0.4290	0.8220
28	0.4683	0.7317
29	0.3540	0.7307
30	0.2493	0.7953
31	0.4043	0.3277
32	0.4280	0.4493
33	0.4727	0.4963
34	0.4173	0.6037
35	0.4960	0.5430
36	0.5900	0.8403
37	0.5773	0.6573
38	0.6357	0.7343
39	0.5693	0.5637
40	0.5763	0.6197
41	0.6280	0.5203
42	0.7337	0.6630
43	0.6627	0.6510
44	0.5503	0.5907
45	0.5823	0.6717
46	0.6197	0.7747

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.6527)

Continuación cuadro A13.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
47	0.4967	0.5263
48	0.2333	0.5283
49	0.3857	0.5470
50	0.4493	0.5460
51	0.4357	0.7140*
52	0.4143	0.6657
53	0.4180	0.6043
54	0.2823	0.5633
55	0.5257	0.4320
56	0.4370	0.4560
57	0.5260	0.6803
58	0.6030	0.4373
59	0.4470	0.5473
60	0.5843	0.4650
61	0.6940	0.3907
62	0.4987	0.4903
63	0.4613	0.3523
64	0.4980	0.4563
65	0.5957	0.3010
66	0.7490	0.1813
67	0.6650	0.4830
68	0.5050	0.5773
69	0.4397	0.4043
70	0.5093	0.4910
71	0.6510	0.3847
72	0.4657	0.5040
73	0.4573	0.5620
74	0.6003	0.5437
75	0.6527	0.5203
76	0.7463	0.5480
77	0.4943	0.5273
78	0.5903	0.6097
79	0.5083	0.5763
80	0.3843	0.4420
81	0.5527	0.4763
82	0.4680	0.6783
83	0.6503	0.6977
84	0.4593	0.6997
85	0.3633	0.5650
86	0.4233	0.6050
87	0.4107	0.7700
88	0.4157	0.7167
89	0.3577	0.6850
90	0.3943	0.6987

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.6527)

Cuadro A14. Valores promedio de absorbancia de glutation S-transferasas para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
1	0.09467	0.05833
2	0.02867	0.03233
3	0.04200	0.04467
4	0.03533	0.01900
5	0.04367	0.03467
6	0.02433	0.02200
7	0.03500	0.02920
8	0.03400	0.02767
9	0.06633	0.05933
10	0.02600	0.03800
11	0.04233	0.04233
12	0.03267	0.02667
13	0.04500	0.02967
14	0.02367	0.03167
15	0.03967	0.02900
16	0.03267	0.04067
17	0.04967	0.04567
18	0.04467	0.04167
19	0.03667	0.05367
20	0.03400	0.04700
21	0.04233	0.04167
22	0.03300	0.04467
23	0.03500	0.03367
24	0.03867	0.03700
25	0.05633	0.04733
26	0.05167	0.04400
27	0.06067	0.04567
28	0.05033	0.06067
29	0.04967	0.05033
30	0.04067	0.01867
31	0.07100	0.05567
32	0.02500	0.03267
33	0.04767	0.03133
34	0.03767	0.03367
35	0.04267	0.03267
36	0.03833	0.02800
37	0.03767	0.02567
38	0.03533	0.03933
39	0.05467	0.05667
40	0.02767	0.03733
41	0.05033	0.03700
42	0.02200	0.03467
43	0.00900	0.03567
44	0.01833	0.02767
45	0.05833	0.04033
46	0.03800	0.04033

Continuación cuadro A14.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
47	0.05333	0.05833
48	0.03667	0.05033
49	0.44670	0.03767
50	0.05800	0.04633
51	0.04900	0.03433
52	0.04233	0.03067
53	0.04300	0.03100
54	0.04333	0.03033
55	0.07400	0.04967
56	0.07933	0.04067
57	0.06267	0.04400
58	0.05433	0.04933
59	0.04967	0.03800
60	0.06033	0.04600
61	0.06227	0.04267
62	0.05630	0.02333
63	0.05730	0.03533
64	0.04700	0.02333
65	0.03100	0.02633
66	0.03030	0.01533
67	0.02230	0.03067
68	0.02330	0.03533
69	0.06670	0.05933
70	0.04900	0.04567
71	0.04970	0.03567
72	0.04170	0.03067
73	0.03130	0.02067
74	0.03770	0.02633
75	0.03730	0.03667
76	0.02870	0.02633
77	0.03700	0.04300
78	0.05170	0.04133
79	0.05730	0.03867
80	0.04570	0.04090
81	0.02900	0.03700
82	0.03600	0.03667
83	0.03700	0.39000
84	0.03570	0.04167
85	0.07430	0.69330
86	0.08370	0.06267
87	0.05000	0.05367
88	0.06130	0.05167
89	0.04470	0.04933
90	0.05430	0.04267

Cuadro A15. Valores promedio de absorbancia de acetilcolinesterasas para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
1	0.07767	0.07767*
2	0.05467	0.06767
3	0.05200	0.03733
4	0.05167	0.03100
5	0.05067	0.03667
6	0.04133	0.03167
7	0.03667	0.02467
8	0.04867	0.04600
9	0.05700	0.08433
10	0.06767	0.08400
11	0.04667	0.05000
12	0.07500	0.03933
13	0.04567	0.04567
14	0.06333	0.04333
15	0.04067	0.03767
16	0.05333	0.05167
17	0.04733	0.07200
18	0.06700	0.08167
19	0.04233	0.04433
20	0.05033	0.04600
21	0.04800	0.05067
22	0.06100	0.04433
23	0.03467	0.04667
24	0.05600	0.05033
25	0.05300	0.05533
26	0.05000	0.04967
27	0.04867	0.05533
28	0.04700	0.05467
29	0.03167	0.03533
30	0.04467	0.06000
31	0.06100	0.07367
32	0.05400	0.02533
33	0.02400	0.03633
34	0.03667	0.02667
35	0.01767	0.02700
36	0.02533	0.02800
37	0.02567	0.01800
38	0.03400	0.02633
39	0.02500	0.03267
40	0.01433	0.03200
41	0.02400	0.02900
42	0.01333	0.02633
43	0.00867	0.01667
44	0.01200	0.02533
45	0.01367	0.02200
46	0.01300	0.03567

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.0677)

Continuación cuadro A15.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
47	0.06167	0.03067
48	0.05367	0.03433
49	0.03100	0.02900
50	0.03267	0.02967
51	0.02833	0.01700
52	0.02733	0.02933
53	0.02933	0.03667
54	0.29670	0.03200
55	0.03867	0.03900
56	0.05400	0.03767
57	0.03033	0.02833
58	0.03967	0.03067
59	0.02833	0.03133
60	0.03500	0.03633
61	0.86000	0.07933*
62	0.04000	0.07133
63	0.03367	0.04833
64	0.02767	0.03800
65	0.04233	0.03867
66	0.03733	0.03100
67	0.03200	0.03633
68	0.02667	0.03667
69	0.07667	0.09500
70	0.05500	0.06533
71	0.04600	0.05433
72	0.04633	0.04967
73	0.04633	0.04567
74	0.04633	0.04400
75	0.04333	0.03933
76	0.03733	0.04700
77	0.06500	0.09067
78	0.06633	0.07933
79	0.03067	0.04567
80	0.04567	0.05067
81	0.05400	0.04167
82	0.04633	0.04100
83	0.04767	0.04867
84	0.04367	0.04233
85	0.04433	0.04767
86	0.04533	0.04067
87	0.04200	0.03800
88	0.03500	0.04700
89	0.04500	0.03833
90	0.02500	0.03200

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.0677)

Cuadro A16. Valores promedio de absorbancia de acetilcolinesterasas insensibles para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
1	0.06300	0.05567
2	0.04800	0.04333
3	0.04100	0.05933
4	0.04633	0.04567
5	0.03267	0.04200
6	0.04200	0.03233
7	0.03467	0.03833
8	0.04400	0.03400
9	0.05067	0.07900*
10	0.04033	0.05600
11	0.04433	0.05700
12	0.05133	0.04733
13	0.03667	0.04700
14	0.04200	0.03200
15	0.04300	0.03667
16	0.41330	0.03267
17	0.04900	0.07133
18	0.04367	0.05800
19	0.04167	0.04233
20	0.04933	0.04733
21	0.04000	0.04567
22	0.03867	0.03000
23	0.04233	0.03500
24	0.03433	0.03067
25	0.05000	0.04767
26	0.05800	0.05833
27	0.04533	0.04867
28	0.04833	0.05367
29	0.05033	0.04467
30	0.04300	0.04533
31	0.06500	0.06233
32	0.04633	0.04133
33	0.04800	0.05100
34	0.03633	0.04033
35	0.04133	0.03267
36	0.04333	0.04500
37	0.03733	0.04230
38	0.04233	0.03933
39	0.06200	0.06333
40	0.05200	0.04467
41	0.04267	0.05167
42	0.05033	0.03533
43	0.04300	0.02733
44	0.03867	0.04967
45	0.03700	0.03900
46	0.04633	0.04000

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.0693)

Continuación cuadro A16.

Muestra	Línea de laboratorio	Línea de campo
47	0.06567	0.05433
48	0.03500	0.06100
49	0.04600	0.05567
50	0.04200	0.04367
51	0.04100	0.03467
52	0.03267	0.04600
53	0.04333	0.04567
54	0.03267	0.04267
55	0.06467	0.05667
56	0.06933	0.05300
57	0.05667	0.04133
58	0.05733	0.05033
59	0.06400	0.04667
60	0.05633	0.04633
61	0.05033	0.06267
62	0.04467	0.04600
63	0.07567	0.03133
64	0.05867	0.02767
65	0.04133	0.03833
66	0.04300	0.03767
67	0.03900	0.02600
68	0.03900	0.03200
69	0.09067	0.07067*
70	0.09667	0.04233
71	0.06400	0.03867
72	0.05200	0.04100
73	0.04967	0.03867
74	0.03667	0.03667
75	0.03833	0.03167
76	0.03833	0.04233
77	0.08367	0.05500
78	0.09700	0.06100
79	0.08267	0.03833
80	0.05067	0.03700
81	0.04900	0.04133
82	0.03467	0.04400
83	0.04633	0.02933
84	0.03137	0.04200
85	0.09500	0.04833
86	0.08500	0.05233
87	0.04600	0.05333
88	0.05400	0.04700
89	0.04500	0.03567
90	0.05133	0.05233

* Valor superior al umbral de tolerancia (0.0693)