

Susceptibilidad y Mecanismos de Resistencia de *Tetranychus urticae* Koch en Rosal de Invernadero del Estado de México

Jerónimo Landeros-Flores, Carlos Ail-Catzim*, Eugenio Guerrero-Rodríguez, Alberto Flores-Olivas, Ernesto Cerna-Chávez

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. Tel y fax (844) 411-02-26. E-mail: car_ail@hotmail.com (*Autor responsable).

Abstract

The control of *Tetranychus urticae* is mainly performed by means of acaricides, that is why this species has developed a resistance to the majority of the products that are used to combat it. This ability of *T. urticae* to develop resistance has caused problems in some plants under greenhouse, and field conditions. In this assay it is determined the susceptibility, and the mechanisms of resistance of a population of *T. urticae* collected in a rose bush, at a greenhouse. Five acaricides were used to evaluate the susceptibility of this population; Avermectin, Bifentrin, Dicofol, Naled and Fenbutatin oxide. These acaricides were susceptible to Avermectin and resistant to the other acaricides. Biochemical tests were used to know the levels of enzymes α and β -esterases, oxidases, glutathione S-transferase, acetylcholinesterase, insensitive acetylcholinesterase of the two populations of *T. urticae*; one of laboratory, and another one from a field in the State of Mexico. The levels of α and β -esterases, and oxidases were higher in the field population, than in the laboratory one. These results suggest that α and β -esterases, and oxidases, are involved in the resistance of the population of the State of Mexico, to the acaricides Bifentrin, Dicofol, Naled and Fenbutatin oxide.

Key words: Twospotted spider mite, esterase, biochemical test, concentration, diagnostic

Resumen

El control de *Tetranychus urticae* se hace principalmente con acaricidas, por lo que esta especie ha desarrollado resistencia a la mayoría de los productos que se utilizan para su combate. Esta habilidad de *T. urticae* a desarrollar resistencia ha causado problemas en especies de plantas en invernadero o en condiciones de campo. En este estudio se determinó la susceptibilidad y los mecanismos de resistencia de una población de *T. urticae*, colectada en rosales de invernadero. Se utilizaron cinco acaricidas; Avermectina, Bifentrina, Dicofol, Naled y óxido de Fenbutatin, para evaluar la susceptibilidad de esta población. Estos ácaros resultaron susceptibles a Avermectina y resistentes para los otros acaricidas. Se utilizaron pruebas bioquímicas para conocer los niveles de las enzimas α y β -esterasas, oxidasas, glutathione 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 óxido de Fenbutatin.

Palabras clave: Acaro de dos manchas, esterasa, pruebas bioquímicas, concentración, diagnóstico.

Introducción

La araña roja, *Tetranychus urticae* Koch es una plaga en 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 se tiene que estos ácaros son capaces de desarrollar resistencia a muchos acaricidas, la cual se puede expresar de uno a cuatro años e inducir un alto grado de resistencia cruzada (Saito *et al.*, 1983). El control de *T. urticae* que se realiza en el mundo, se hace principalmente 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 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* alimentado en diferentes hospederos. Por otro lado, Lagunes y Villanueva (1994) mencionan que las enzimas que degradan el 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 rosales 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 ± 2 °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 rosales 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 presentaron 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 una mortalidad menor al 80 % se considera resistente y si es superior a éste, se considera susceptible.

Pruebas bioquímicas para estimar niveles de enzimas

Se emplearon seis pruebas bioquímicas para determinar los niveles de a-esterasas, b-esterasas, oxidasas, glutatión

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 mL de buffer fosfatos de potasio (KPO_4), a 0.05 M y pH 7.2, se diluyó a 1 mL agregando 900 L de dicho 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 mg de proteína por 0.1 mg de ácaros, esta fue determinada por el método de Bradford (1976) modificado por Brogdon (1984).

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 mL de la muestra de ácaros a cada pocillo, enseguida se depositó 100 mL 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 mL de dianisidina, preparada a una concentración de 1mg mL⁻¹ 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 más 90 mL de buffer KPO_4 , la que posteriormente se diluyó 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 mL del homogenato de ácaros a cada pocillo, posteriormente se depositaron 200 mL de una solución de 50 mg de 3, 3', 5, 5'-tetrametil-bencidina dihidroclorido, 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 mL 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 mL de la muestra de ácaros a cada placa, posteriormente se adicionó 100 mL de una solución de 61 mg de glutation reducido por 100 mL de buffer de KPO_4 , inmediatamente después se colocó 100 mL 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 dejó incubar 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 mL de la muestra de ácaros a cada pocillo, enseguida se depositaron 100 mL de una solución de 75 mg de acetilcolina iodide por 100 mL de buffer de KPO_4 , posteriormente se adicionaron 100 mL de una solución de 13 mg de 5, 5'-ditiobis-2-ácido nitrobenzoico por 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 acetilcolina iodide, 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,

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			Límites		
			CL ₅₀	Inferior	Superior	CL ₉₀	Inferior	Superior
Avermectina	360	2.80 ± 0.47	1.89	1.64	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

385.30, 57.04 y 207.87, para Avermectina, Bifentrina, Dicofol, Naled y óxido de Fenbutatin respectivamente. La CL₅₀ obtenida para la Avermectina (1.89 ppm) en esta investigación fue diferente a la registrada por Lee *et al.* (2003) quienes reportan una CL₅₀ de 0.06 ppm para una línea susceptible; por otro lado este resultado es 2.74 veces inferior a la CL₅₀ reportada por Sato *et al.* (2004) con una CL₅₀ 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 CL₅₀ de 192 ppm, esta misma respuesta fue 5.99 veces superior a la obtenida por Yang *et al.* (2001) quienes mencionan una CL₅₀ 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 óxido de Fenbutatin (207.87 ppm) fue inferior al comportamiento de una línea reportada por Tian *et al.* (1992) con una CL₅₀ de 300 ppm. En relación al acaricida Dicofol la línea de laboratorio presentó una CL₅₀ de 385.30, la cual es 24.8 veces mayor a la registrada por Dennehy *et al.* (1983) quienes reportaron una CL₅₀ de 15.5 ppm. En relación a la CL₅₀ de 57.04 ppm obtenida para el Naled, fue 2.40 veces menor a la registrada por Sato *et al.* (2000) reportando una CL₅₀ de 137 ppm para su línea susceptible.

Línea de campo

En el Cuadro 2 se presenta el porcentaje de mortalidad 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 óxido de Fenbutatin respectivamente.

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	1800.0	400	45.6
Dicofol	3340.0	400	40.3
Naled	176.0	400	75.0
Oxido de fenbutatin	1320.0	400	44.6

⁺Número de individuos evaluados

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), 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 fue susceptible a Avermectina con un 82.4 % de mortalidad y resistente a 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. Así 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 debido a estas enzimas. Respectivamente. Las enzimas glutatión 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 diagnóstica, 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 diagnóstica (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 resultó 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 relacionada con una alta actividad de estererasas, los mismos autores Yang *et al.* (2001) reportan a las enzimas estererasas y en

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 ^{&}	11
Acetilcolinesterasa insensible	0.0693 ^{&}	0.0790	3
α -esterasa	0.6237 ^{&}	0.6853	13
β -esterasa	0.9533 ^{&}	1.054	27
Glutatión 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

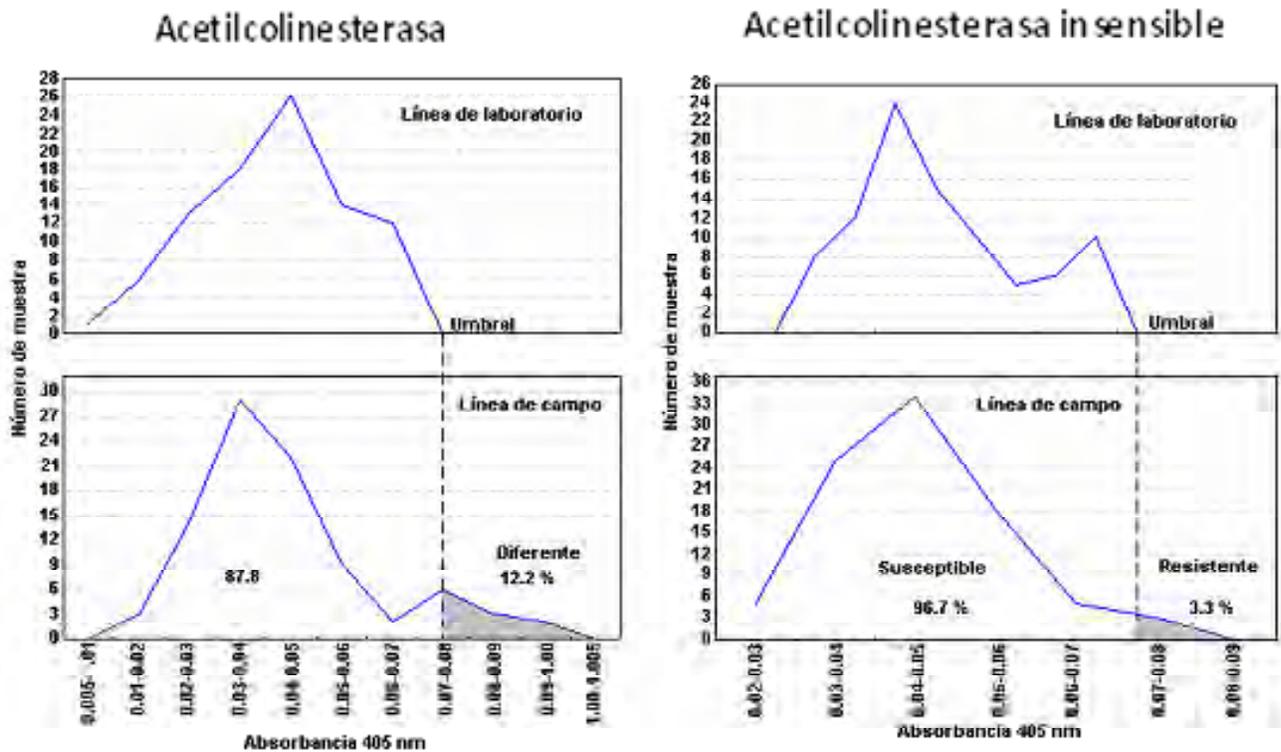


Figura 1. Distribución de frecuencia de los niveles de acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible para dos líneas de *T. urticae* Koch y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

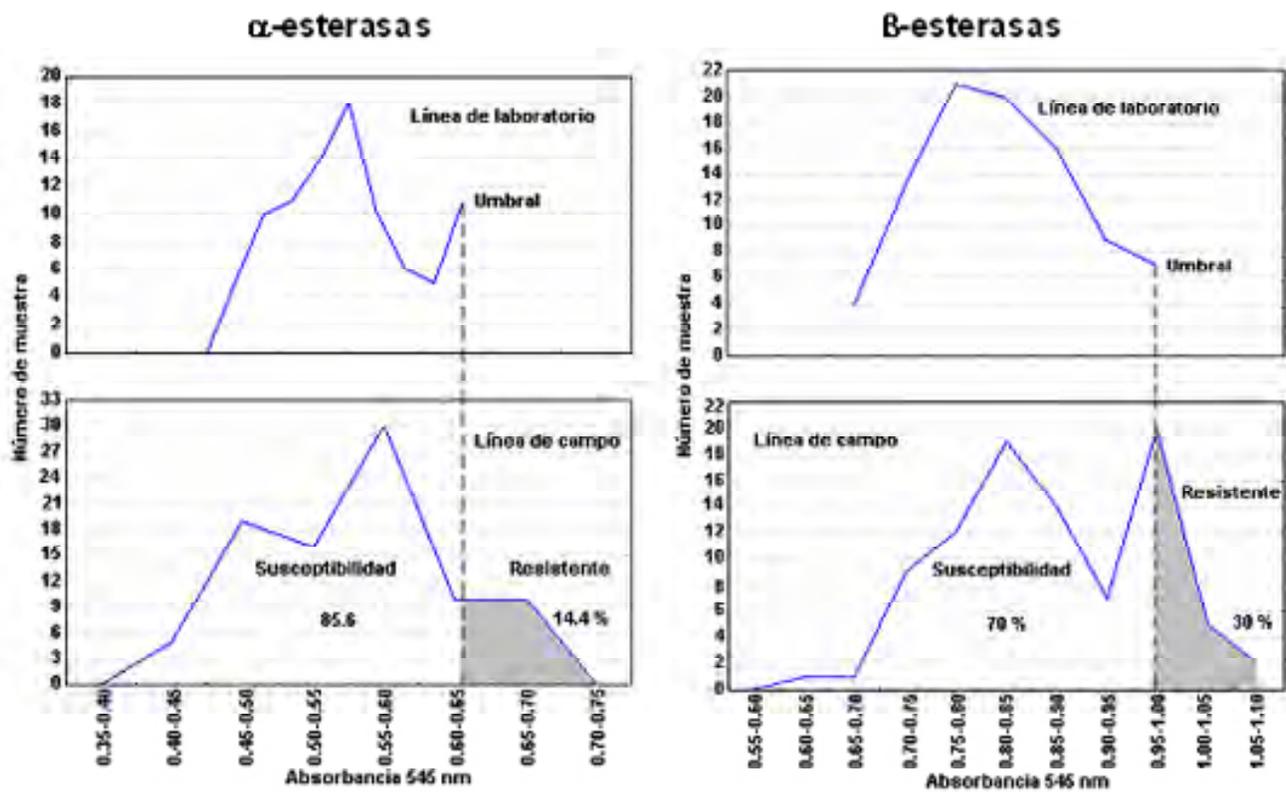


Figura 2. Distribución de frecuencia de los niveles de a-esterasa y b-esterasa para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

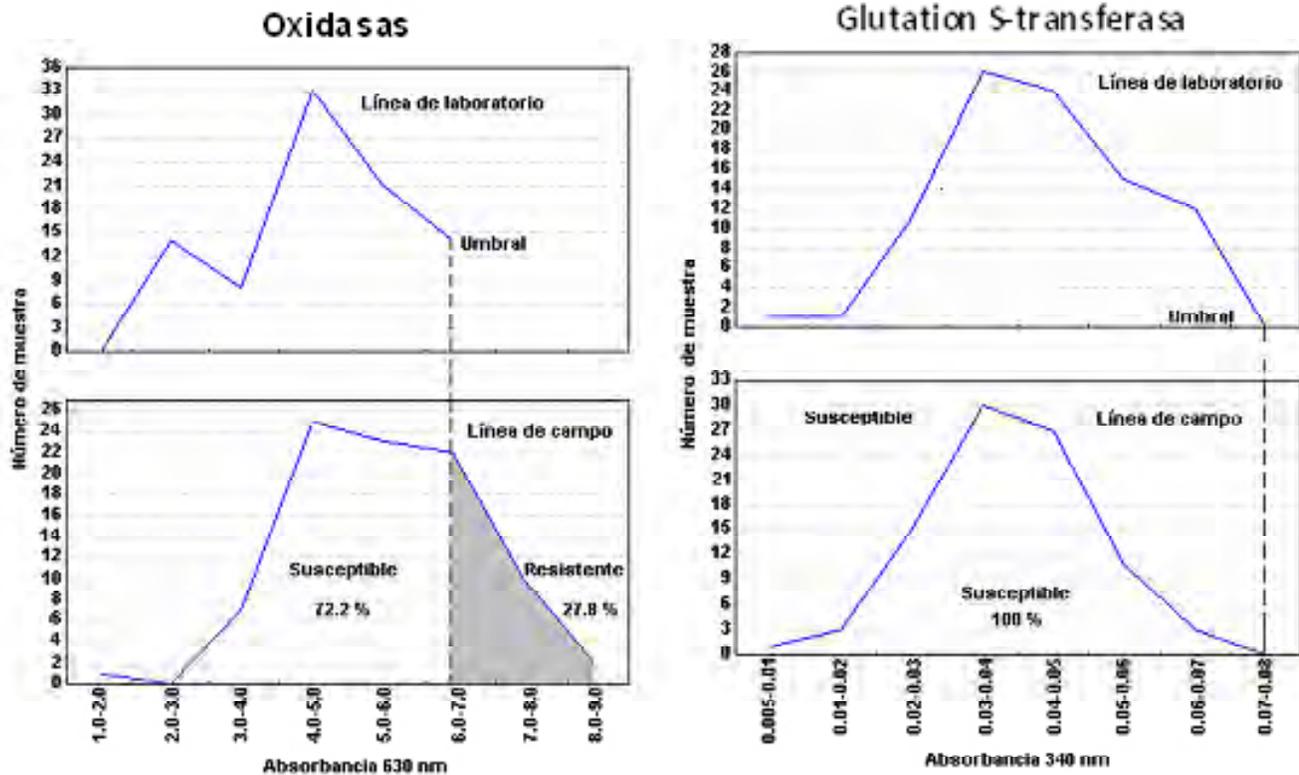


Figura 3. Distribución de frecuencia de los niveles de oxidasas y glutation S-transferasas, para dos líneas de *Tetranychus urticae* y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

menor grado a las glutathione S-transferasas como los principales causantes de la resistencia a Bifentrina y -cyhalotrina. Como ya se señaló en este estudio se observó que los niveles de glutathione 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 glutathione 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 resultó 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 quedar vivos el 59.7 % expuestos a la concentración-diagnóstico, por lo mismo esto nos hace pensar que otro mecanismo está involucrado en la resistencia al Dicofol, al respecto

Narahashi (1983) menciona que la resistencia al DDT y sus análogos y para los 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 óxido de Fenbutatin, sólo 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 sólo explicaría el 27.8 %, del nivel de resistencia que presentaron estos ácaros al óxido de Fenbutatin (55.4 %). La diferencia entre los porcentajes de resistencia nos sugieren que posiblemente otro mecanismo de resistencia está 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 óxido de Fenbutatin, lo que este mecanismo pudiera estar involucrado en la resistencia a este compuesto.

A las oxidasas también se le han involucrado en el mecanismo de resistencia de la 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. Genetics studies on insecticide resistance. *Adv. Pest Control Res.* 6:171.
- Gould, H. J. 1987. Protected crops. pp: 404-405. *In:* Burn A. J. Croaker and Jepson P. (eds.) *Integrated Pest Management.* Academic Press, New York, USA.
- 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. Developmente 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. pp: 333-351. In: Pest Resistance to Pesticides. G. Georghiou and T. Saito (eds.). Plenum press New York and London.
- 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 . pp: 429-444. In: Pest Resistance to Pesticides. G. Georghiou and T. Saito (eds.). Plenum press New York and London.
- 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 Jundiá 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.E. 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.