

Cuantificación de enzimas relacionadas a la resistencia de insecticidas en *Bemisia tabaci* del estado de Sinaloa

Leslie Carnero Avilés¹
Ernesto Cerna Chávez^{1§}
José Francisco Rodríguez Rodríguez¹
Mariana Beltrán Beache²
Yisa M. Ochoa Fuentes¹
Sixto Velarde Félix³

¹Posgrado en Ciencias en Parasitología Agrícola-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. (leslieeca@hotmail.com; francisco.azul@live.com.mx; yisa8a@yahoo.com). ²FORDECYT-CULTA, SA de CV. (beltranmariana89@gmail.com). ³Campo Experimental Valle de Culiacán-INIFAP. Carretera Culiacán-El Dorado km 17.5, Ejido Canán, Pueblo Costa Rica, Culiacán Rosales, Sinaloa. CP. 80130. (sixjas@gmail.com).

§Autor para correspondencia: jabaly1@yahoo.com.

Resumen

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) es una de las plagas más invasivas y causa daños directos a los cultivos al alimentarse de la sabia y daños indirectos al ser vector de más de 100 virus fitopatógenos. En la actualidad su control se basa en el uso de insecticidas químicos, debido a que las poblaciones se han sometido constantemente a una alta presión de selección. Una alternativa que contribuye en entender el origen de la resistencia en una población son las pruebas bioquímicas las cuales muestran el parámetro de enzima detoxificativa presente. El objetivo del presente trabajo fue la cuantificación de estas enzimas en *B. tabaci* en las tres principales zonas productoras de solanáceas del norte (Guasave, Sinaloa de Leyva, Mochis) centro (Culiacán, Navolato, Elota) y sur (Concordia, Rosario, Esquinapa) del estado de Sinaloa. En dichos sitios se recolectaron adultos de mosca blanca y se determinaron los niveles enzimáticos de α y β esterasas, glutatión S-transferasas, acetilcolinesterasas y oxidasas, adicionalmente se utilizó una línea susceptible de laboratorio como referencia. Las enzimas con mayor presencia fueron α -esterasas, β -esterasas y oxidasas, seguidas de glutatión S-transferasas y acetilcolinesterasa. Por lo que se concluye que la resistencia a insecticidas en *B. tabaci* en el estado de Sinaloa es a causa del alto contenido de α - β -esterasas y oxidasas, mientras que acetilcolinesterasa es un mecanismo poco relevante en las poblaciones de esta región productora.

Palabras clave: *Bemisia tabaci*, insecticidas, resistencia.

Recibido: noviembre de 2020

Aceptado: enero de 2021

Introducción

El estado de Sinaloa es el principal productor nacional de solanáceas como tomate, chile y berenjena, cuyo valor de producción en conjunto rebasa los de 18 mil millones de pesos (SIAP, 2019). El comercio de estas hortalizas depende en gran medida del mercado estadounidense ya que Sinaloa funge como el principal productor y exportador durante el invierno a los Estados Unidos de América (FAS-USDA, 2018).

La mosca blanca *Bemisia tabaci* es una de las plagas más destructivas e invasivas del mundo (GISD, 2020), posee un rango de hospederos que asciende a más de 1 000 plantas cultivadas y silvestres (Oliveira *et al.*, 2001; Simmons *et al.*, 2008; Abd-Rabou y Simmons, 2010) y ocasiona daños directos a los cultivos al alimentarse de la savia de las plantas y excretar sustancias azucaradas sobre hojas y frutos que dañan su calidad y promueven el desarrollo de hongos como *Fumago* spp., asimismo, causa daños indirectos al ser vector de más de 100 virus fitopatógenos (Horowitz y Ishaaya, 2014).

Las excesivas poblaciones de *B. tabaci* pueden reducir el rendimiento de las cosechas hasta en un 50% (Raveesh, 2018), por lo tanto, se realizan aplicaciones continuas de insecticidas químicos para su control, lo cual provocó el desarrollo de resistencia (Palumbo *et al.*, 2001; Ahmad *et al.*, 2010).

Los registros mundiales sobre *B. tabaci* mencionan resistencia a 64 ingredientes activos de grupos toxicológicos como avermectinas, neonicotinoides, buprofezin, organofosforados, piretroides, carbamatos, fenilpirazoles, ciclodieno clorados, butenolides, piridina azometina, acaricidas e insecticidas METI y pyriproxifen (APRD, 2020).

Esto se debe a un diverso conjunto de mecanismos de resistencia, los cuales fueron corroborados en países que lideran la producción mundial de solanáceas, China (Wang *et al.*, 2018), India (Naveen *et al.*, 2017), Turquía (Erdogan *et al.*, 2008), Egipto (Farghaley *et al.*, 2016) y Estados Unidos de América (Longhurst *et al.*, 2014). En México, Aguilar-Medel *et al.* (2007) evaluaron la susceptibilidad de poblaciones provenientes de los estados de Baja California y Sinaloa a los insecticidas acetamiprid, cipermetrina, imidacloprid, pymetrozina y thiamethoxam, siendo la población proveniente de Sinaloa la más resistente, en otro estudio Gutiérrez-Olivares (2007) reporta tolerancia en poblaciones de San Luis Potosí a imidacloprid y Servín-Villegas *et al.* (2006) a thiametoxam y a endosulfan en Baja California.

La resistencia a los insecticidas involucra mutaciones en los sitios de acción, sobre expresión de genes, menor penetración cuticular, resistencia al derribo, mayor almacenamiento y excreción, además de la producción de enzimas detoxificativas (Vais *et al.*, 1997; Ahmad *et al.*, 2006; Bass y Field, 2011).

Estas últimas son el principal mecanismo de resistencia, particularmente la producción de esterasas, oxidasas y glutatión S-transferasas (GST) (Flores *et al.*, 2006). El objetivo del presente trabajo fue la cuantificación de enzimas detoxificativas en *B. tabaci* en las tres principales zonas productoras de solanáceas del estado de Sinaloa.

Materiales y métodos

Para la realización de este estudio se colectaron tres poblaciones de *B. tabaci* en las zonas productoras del norte (Guasave, Sinaloa de Leyva, Mochis) centro (Culiacán, Navolato, Elota) y sur (Concordia, Rosario, Esquinapa) de cultivos de solanáceas a campo abierto en el estado de Sinaloa, México, en el ciclo agrícola 2018-2019.

Además, se incluyó una línea susceptible mantenida en laboratorio, la cual ha estado libre de presión de selección por un período de más de dos años. Los adultos de mosca blanca capturados se colectaron en contenedores de plástico para su conservación en alcohol al 70% y a una temperatura de 4 °C en refrigeración. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Determinación de proteína

La fuente de proteína se obtuvo de ocho muestras, con tres repeticiones, de 100, 150, 200, 250, 300, 350 y 400 individuos de *B. tabaci*, mediante la metodología descrita por Bradford (1976) modificada por Brogdon (1984); Brogdon y Barber (1987). En tubos Eppendorf de 2 ml se agregaron 1 000 μ l de solución buffer (KPO_4 0.05 M, pH 7.2) y las diferentes densidades del insecto antes mencionadas, para después triturarlos y aforar a 1 ml.

En una microplaca de 96 pozos, se colocó por triplicado para cada repetición 20 μ l del homogenato, 80 μ l de solución buffer y 200 μ l de colorante diluido (4:1 colorante: agua) de azul brillante de Comassie (Kit II Bio-Rad). Las lecturas de absorbancias se tomaron con un filtro de 630 nm. Se calcularon los valores de $\mu\text{g ml}^{-1}$ de proteína comprendidos en el rango de 80 a 120 μg (homogenato realizado con 300 individuos).

Determinación de niveles enzimáticos

Los niveles enzimáticos de las α -esterasas y β -esterasas se determinaron con la metodología de Brogdon y Dickinson (1983). En una microplaca transparente de 96 pozos se agregaron 100 μ l el homogenato con 100 μ l del sustrato α -naftil acetato para las α -esterasas y β - naftil acetato para el caso de β -esterasas, se incubó por 10 min y se agregaron 100 μ l de colorante Fast-Blue para incubar nuevamente por 2 min, las absorbancias fueron tomadas con un filtro de 540 nm.

Para la determinación del glutatión S-transferasas, se utilizó la metodología descrita por Brogdon y Barber (1990) para esto, en una microplaca se agregaron 100 μ l de homogenato, 100 μ l de Glutatión reducido como sustrato y 100 μ l de 1-cloro-2,4'-dinitrobenzeno (CDNB) como colorante. Las absorbancias se registraron con un filtro de 340 nm, las lecturas fueron al tiempo cero (T_0) y al cinco (T_5), la diferencia entre las dos (T_5-T_0), se consideró para el resultado para el análisis.

Los niveles de acetilcolinesterasa se determinaron con la metodología de Brogdon (1988), aplicando en una microplaca 100 μ l del homogenato, como sustrato 100 μ l acetilcolina-yodisada 3 mm y como colorante 100 μ l de ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB). Las absorbancias se registraron con un filtro de 414 nm y se tomaron las lecturas al tiempo cero (T_0) y diez (T_{10}), la diferencia consideró como resultado para el análisis.

Finalmente, la determinación de niveles de oxidasas se obtuvo con el método de Brogdon *et al.* (1997), agregando 100 μl del homogenato, 200 μl de 3,3',5,5'- Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride (TBMZ) como sustrato y 25 μl de H_2O_2 al 3% como colorante, se incubaron por 5 min y se tomaron las lecturas con un filtro de 620 nm.

Análisis de resultados

Con las lecturas de las absorbancias obtenidas se realizó una distribución de frecuencias y se estableció un umbral de resistencia tomando como base el valor (absorbancia) más alto de la línea susceptible. El porcentaje de resistencia se obtuvo con el número de medias que excedían el umbral de resistencia y fueron clasificados según Montella *et al.* (2007) con pequeñas modificaciones como: en 'inalterado' (0-5%), 'incipientemente alterado' (6-30%), 'moderadamente alterado' (31-50%), 'alterado' (51-75%) y 'muy alterado' (>76%). Para conocer la variación en la actividad enzimática entre poblaciones se realizó un Anova y prueba de Tukey ($p= 0.05$) con el programa estadístico R versión 3.3.1.

Resultados y discusión

Determinación de proteína

La densidad de 300 adultos alcanzó los niveles requeridos de proteína (80 a 120 μg), la mayoría de sus repeticiones se ubicaron cerca del umbral, mientras que en las densidades 200 y 400 individuos los valores de las absorbancias se distribuyeron en diferentes contenidos de proteína (Figura 1). Bradford (1976) menciona que valores fuera del rango no son confiables para la cuantificación de enzimática en tejidos; por su parte Dary *et al.* (1990) reportan que existe estrecha relación entre tamaño de muestra y cantidad de proteína, por lo valores fuera de este rango pueden presentar diferencias en los resultados obtenidos.

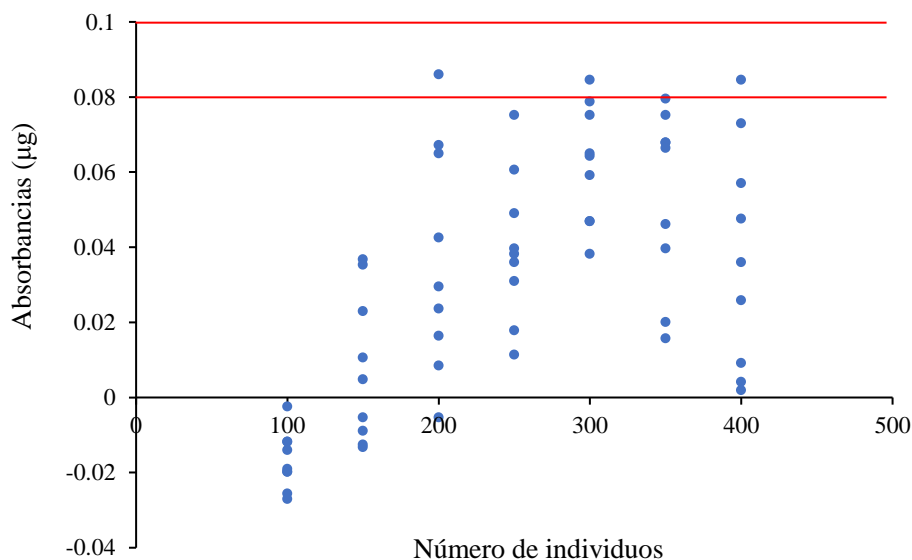


Figura 1. Absorbancias de proteína en las diferentes densidades de homogenato de *B. tabaci* en solución buffer (KPO_4 0.05 M, pH 7.2).

Niveles enzimáticos

Con relación a las α -esterasas y β -esterasas las tres poblaciones de campo se comportaron de forma homogénea (Cuadro 1) con medias de 3.453, 3.489 y 3.513, para las poblaciones norte, centro y sur, respectivamente; sin embargo, fueron diferentes respecto a la línea susceptible con la media más baja de 1.488.

Cuadro 1. Medias y absorbancias de las enzimas α -esterasas, β -esterasas, de las diferentes zonas productoras de solanáceas en el estado de Sinaloa.

Zona	α -esterasas		β -esterasas	
	Media \pm SD ¹		Media \pm SD ¹	
LS ²	1.488 \pm 0.027	b	1.592 \pm 0.011	b
Norte	3.453 \pm 0.049	a	3.539 \pm 0.09	a
Centro	3.489 \pm 0.093	a	3.539 \pm 0.119	a
Sur	3.513 \pm 0.093	a	3.496 \pm 0.063	a

Medias con diferente letra presentan diferencia significativa ($p=0.05$). ¹= desviación estándar. ²= línea susceptible.

Las α -esterasas y β -esterasas pueden presentarse separadas o en conjunto en los insectos (Bisset, 2002), dependiendo de la interacción tóxica, la desintoxicación se puede llevar a cabo por dos mecanismos: hidrólisis catalítica que no son inhibidas por los organofosforados y no catalítica al ser inhibida por organofosforados (Costa, 2006).

Estudios previos reportaron que estas enzimas confieren resistencia a insecticidas como piretroides (Yang *et al.*, 2001; Flores *et al.*, 2006; Landeros *et al.*, 2010), organoclorados (Bisset *et al.*, 2001), neonicotinoides (Dávila-Medina, 2012), organofosforados y carbamatos (Cerna *et al.*, 2013), la alta actividad de esterazas en las poblaciones se relaciona directamente con la resistencia a estos insecticidas, coincidiendo con estudios previos en mosca blanca (Byrne y Devonshire, 1993; Kang *et al.*, 2006; Roditakis *et al.*, 2006; Liang *et al.*, 2007; Alon *et al.*, 2008). Las oxidasas fueron las enzimas con los valores más elevados en la zona centro con una media de 1.216, seguido por la zona norte con 1.073 y sur con 1.068 (Cuadro 2), las medias de las tres zonas fueron significativamente diferentes respecto a la línea susceptible (p -valor 0.002), la cual presentó el valor más bajo de absorbancia con 0.971.

Cuadro 2. Medias y absorbancias de las enzimas oxidasas y glutatión S-transferasas, de las diferentes zonas productoras de solanáceas en el estado de Sinaloa.

Zona	Oxidasas		Glutatión S-transferasas	
	Media \pm SD ¹		Media \pm SD ¹	
LS ²	0.971 \pm 0.007	c	0.04 \pm 0.068	a
Norte	1.073 \pm 0.04	b	0 \pm 0	a
Centro	1.216 \pm 0.04	a	0.152 \pm 0.155	a
Sur	1.068 \pm 0.006	b	0.034 \pm 0.084	a

Medias con diferente letra presentan diferencia significativa (Tukey > 0.05). ¹= desviación estándar; ²= línea susceptible.

Las oxidasas actúan oxidando la molécula insecticida permitiendo que entren en otros sistemas enzimáticos y sean expulsados (Pimentel *et al.*, 2008), en *B. tabaci* su actividad se ha correlacionado con la resistencia a neonicotinoides y avermectinas (Rauch y Nauen, 2003; Wang y Wu, 2007; Roditakis *et al.*, 2010). En el caso de glutatión S-transferasas la línea susceptible presentó una media de 0.04, al tomarse como umbral de resistencia, la media más elevada se presentó en población del Centro con 0.152, la población del Sur que mostró una media de 0.034, el alto contenido de glutatión S-transferasas (Cuadro 2).

En *B. tabaci* inhabilita la acción de neonicotinoides (Yang *et al.*, 2016), organofosforados y piretroides (Ortelli *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2014) piriproxifen (Ma *et al.*, 2010) y diafenthiuron (Zhang *et al.*, 2015). Se ha reportado que estas enzimas actúan conjugando el grupo tiol de glutatión (GSH; (L-g-glutamil-L-cisteinil-glicina) a compuestos que poseen un centro electrofílico, con lo que pueden eliminar los sustratos de una célula al aumentar su solubilidad en el agua (Low *et al.*, 2010).

Finalmente, la presencia de acetilcolinesterasas en las poblaciones de Sinaloa y en la línea susceptible de laboratorio no presentó diferencias significativas (Cuadro 3). En otros estudios se menciona que la resistencia de *B. tabaci* a insecticidas (como metamidofos, clorpirifos, foxim, fenvalerato, avermectina, benzoato de emamectina, spinosad, fipronil e imidacloprid) se relaciona con la insensibilidad o ausencia de la acetilcolinesterasa Kang *et al.* (2006) ya que se considera como resistencia no metabólica la cual está asociada a mutación en el sitio de acción de Acetilcolinesterasa (Ramya *et al.*, 2016).

Cuadro 3. Medias y absorbancias de la enzima acetilcolinesterasa de las diferentes zonas productoras de solanáceas en el estado de Sinaloa.

Zona	Acetilcolinesterasa	
	Media \pm SD	
LS ²	0.006 \pm 0.011	a
Norte	0 \pm 0	a
Centro	0.006 \pm 0.003	a
Sur	0.005 \pm 0.003	a

Medias con diferente letra presentan diferencia significativa (Tukey > 0.05). ¹= desviación estándar; ²= línea susceptible.

Los principales mecanismos detoxificativos en el estado de Sinaloa fueron las α -esterasas, β -esterasas y oxidasas al presentar una proporción de resistencia de 100% y categorizándose como muy ‘alterado’ para las tres zonas en estudio. Para el caso de glutatión S-transferasas sólo en la zona centro se presentó como un importante mecanismo detoxificativo al reportar un factor de resistencia de 66% y una clasificación de ‘alterado’, mientras en las zonas Norte y Sur, no se considera como un mecanismo importante de resistencia a insecticidas al mostrar una nula proporción de resistencia y clasificándose como ‘inalterado’.

En lo que se refiere a acetilcolinesterasa se considera como un mecanismo poco relevante para el desarrollo de resistencia a insecticidas en *B. tabaci* en el estado de Sinaloa al no registrarse en las pruebas fisicoquímicas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Proporción de resistencia (%) en las zonas norte, centro y sur de Sinaloa, en comparación.

Zona	α -esterasas	β -esterasas	Glutación S-transferasas	Acetilcolinesterasa	Oxidasas
Norte	100 ^e	100 ^e	0 ^a	0 ^a	100 ^d
Centro	100 ^e	100 ^e	66 ^d	0 ^a	100 ^d
Sur	100 ^e	100 ^e	0 ^a	0 ^a	100 ^d

Clasificación según Montella *et al.* (2007). a= 'inalterado'; b= 'incipientemente alterado'; c= 'moderadamente alterado'; d= 'alterado'; e= 'muy alterado'.

La comprensión de estos mecanismos de resistencia es el aspecto más importante para el manejo de la resistencia en insectos plaga (Guo *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2016; Horowitz, *et al.*, 2020). Kang *et al.* (2006) señalan que la presencia o ausencia de enzimas detoxificativas y la diferencia de resistencia a insecticidas podría estar asociada con diferentes antecedentes de aplicación química en el campo; el estado de Sinaloa, fue documentado por Cortinas (2000) como una de las zonas con más consumo de plaguicidas representando 30% del consumo nacional, mientras que 70% es representado por el conjunto de otras zonas productoras (Jalisco-Nayarit-Colima, Sonora-Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Chiapas, Veracruz, Tabasco, Estado de México, Puebla y Oaxaca).

Los plaguicidas empleados con más frecuencia en el Noroeste de México son los ditiocarbamatos, bupiridilos, organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides y compuestos inorgánicos (Leyva-Morales *et al.*, 2014), lo cual coincide con los altos niveles de resistencia y mecanismos detoxificativos reportados en el presente trabajo.

Conclusiones

Mediante el análisis de los niveles enzimáticos de tres poblaciones de *B. tabaci* provenientes del estado de Sinaloa, fue posible atribuir la resistencia a insecticidas de las poblaciones Norte Centro y Sur del estado a los sistemas enzimáticos de α -esterasas, β -esterasas y Oxidasas además de Glutación S-transferasas para la población del centro. Estos mecanismos de resistencia coinciden con los insumos químicos utilizados para el control de *B. tabaci* en el estado, como son: piretroides, organoclorados, neonicotinoides, organofosforados y carbamatos. Debido a esto, la detección del origen de la resistencia y su comprensión nos permite tomar las medidas y acciones para manejar la resistencia fisiológica y restaurar la sensibilidad en las poblaciones. Lo cual reduciría los altos costos en el control, las pérdidas en las cosechas y la contaminación del medio ambiente.

Literatura citada

- Abd-Rabou, A. S. and Simmons, A. M. 2010. Survey of reproductive host plants of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Egypt, including new host records survey of reproductive host plants. Entomological News. 121(5):456-465. Doi: 10.3157/021.121.0507.
- Aguilar-Medel, S.; Rodríguez-Maciél, J. C.; Santillán-Ortega, C.; Lagunes-Tejeda, A.; Díaz-Gómez, O. y Martínez-Carrillo, J. L. 2007. Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotipo B Colectadas en Baja California y Sinaloa, México. Interciencia. 32(4):266-269. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33932410>.

- Ahmad, M.; Denholm, I. and Bromilow, R. H. 2006. Delayed cuticular penetration and enhanced metabolism of deltamethrin in pyrethroid-resistant strains of *Helicoverpa armigera* from China and Pakistan. *Pest Management Sci.* 62(9):805-810. Doi: 10.1002/ps.1225.
- Ahmad, M.; Arif, M. I. and Naveed, M. J. 2010. Dynamics of resistance to organophosphate and carbamate insecticides in the cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Pakistan. *J. Pest Sci.* 83(4):409-420. Doi: 10.1007/s10340-010-0311-8.
- Alon, M.; Alon, F.; Nauen, R. and Morin, S. 2008. Organophosphates resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 38(10):940-949. Doi: 10.1016/j.ibmb.2008.07.007.
- APRD. 2020. Arthropod pesticide resistance database. www.pesticideresistance.com.
- Bass, C. and Field, L. M. 2011. Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Sci.* 67(8):886-890. Doi: 10.1002/ps.2189.
- Bisset, J. A.; Rodríguez, M. M.; Molina, D.; Díaz, C. y Soca, L. A. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *Rev. Cubana de Medicina Tropical.* 53(1):37-43. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S037507602001000100007>.
- Bisset, J. A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Rev. Cubana de Medicina Tropical.* 54(3):202-219. <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v54n3/mtr05302.pdf>.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72(7):248-254. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>.
- Brogdon, W. G. and Dickinson, M. C. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analytical Biochemistry.* 131(2):499-503. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6614483>.
- Brogdon, W. G. 1984. Mosquito protein microassay-1, protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 79(3):457-459. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6509934>.
- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1987. Microplate assay of acetylcholinesterase inhibition kinetics in single mosquitoes homogenates. *Pest. Biochem. Physiol.* 29(3):252-259. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0048357587901556>.
- Brogdon, W. G. 1988. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comparative Biochem. Physiol.* 90(1):145-150. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0742841388901107>.
- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990. Microplate assay of glutathione s-transferase activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comparative Biochemistry and Physiology.* 96(2):339-342. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0305049190903857>.
- Byrne, F. J. and Devonshire, A. L. 1993. Insensitive acetylcholinesterase and esterase polymorphism in susceptible and resistant populations of tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.). *Pestic. Biochem. Physiol.* 45(1):34-42. Doi: 10.1006/pest.1993.1005.
- Brogdon, W. G.; Allister, J. C. and Vulule, J. 1997. Hemeperoxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosquito Control Association.* 13(3):233-237. <http://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/JAMCA-V13-N3-P23>.

- Cerna, C. E.; Hernández, B. O.; Landeros, F. J. y Ochoa, F. Y. 2013. Cuantificación de enzimas asociadas a la resistencia de insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc) de la zona papera de Coahuila y Nuevo León, México. Investigación y Ciencia. 21(59):5-12. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67430113001>.
- Cortinas, C. 2000. Proyecto para habilitar a México a formular el plan nacional de implementación (PNI) para dar cumplimiento al Convenio de Estocolmo. Cortinas. <http://www.pni-mexico.org>. 246 p.
- Costa, L. G. 2006. Current issues in organophosphate toxicology. Clin Chim Acta. 366(1-2):1-13. Doi: 10.1016/j.cca.2005.10.008.
- Dary, O.; Georghiou, G. P.; Parsons, E. and Pasteur, N. 1990. Microplate adaptation of Gomori's assay for quantitative determination of general esterase activity in single insects. J. Econ. Entomol. 83(6):2187-2192. Doi: 10.1093/jee/83.6.2187.
- Dávila-Medina, M. D.; Cerna-Chávez, E.; Aguirre-Urbe, L. A.; García-Martínez, O.; Ochoa-Fuentes, Y. M.; Gallegos-Morales, G. y Landeros-Flores, J. 2012. Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc.) en Coahuila, México. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 3(6):1145-1155. Doi: 10.29312/remexca.v3i6.1365.
- Erdogan, C.; Graham, D.; Oktay, M.; Gorman, K. and Denholm, I. 2008. Insecticide resistance and biotype status of populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey. Crop Protection. 27(3-5):600-605. Doi: 10.1016/j.cropro.2007.09.002.
- Farghaly, S. F. and Dawood, A. I. 2016. Role of cytochrome P450 gene in insecticide susceptibility of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) in Egyptian Governorates. Egyptian Scientific Journal of Pesticides. 2(1):53-66.
- FAS-USDA. 2018. Foreign Agricultural Service-United States. Department of Agriculture. <https://www.fas.usda.gov/data/>.
- Flores, E. A.; Grajales, J. S.; Fernández, I. S.; Ponce, G. G.; Loaiza, M. H. B.; Lozano, S.; Brogdon, W. G.; Black, I. V. W. C. and Beaty, B. 2006. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Souther Mexico. J. Am. Mosquito Control Association. 22(4):672-677. Doi: 10.2987/8756-971X (2006)22[672: MOIRIF] 2.0.CO; 2.
- GISD. 2020. Global Invasive Species Database. <http://www.issg.org/database>.
- Guo, L.; Xie, W.; Wang, S.; Wu, Q.; Li, R.; Yang, N.; Yang, X.; Pan, H. and Zhang, Y. 2014. Detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* B and Q: biochemical characteristics and gene expression profiles. Pest Management Science. 70(10):1588-94. Doi: 10.1002/ps.3751.
- Gutiérrez-Olivares, M.; Rodríguez-Maciel, J. C.; Llanderal-Cázaresk, C.; Terán-Vargas, A. P.; Lagunes-Tejeda, A. y Díaz-Gómez, O. 2007. Estabilidad de la resistencia a neonicotinoides en *Bemisia tabaci* (Gennadius), biotipo B de San Luis Potosí, México. Agrociencia. 41(8):913-920. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30220203010>.
- Horowitz, A. R. and Ishaaya, I. 2014. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. Pest. Manag. Sci. 70(10):1568-1572. Doi: 10.1002/ps.3752.
- Horowitz, A.; Ghanim, M.; Roditakis, E.; Nauen, R. and Ishaaya, I. 2020. Insecticide resistance and its management in *Bemisia tabaci* species. J. Pest Sci. 93(12):893-910. Doi: 10.1007/s10340-020-01210-0.
- Hu, F.; Dou, W.; Wang, J. J. and Jia, F. X. 2014. Multiple glutathione S - transferase genes: identification and expression in oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. Pest Manag. Sci. 70(2):295-303. Doi: 10.1002/ps.3558.

- Kang, C. Y.; Wu, G. and Miyata, T. 2006. Synergism of enzyme inhibitors and mechanisms of insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). *J. Appl. Entomol.* 130(6-7):377-385. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2006.01075.x
- Landeros, J.; Ail, C.; Cerna, E.; Ochoa, Y.; Guevara, L. y Aguirre, L. 2010. Susceptibilidad y mecanismos de resistencia de *Tetranychus urticae* en rosal de invernaderos. *Rev. Colomb. Entomol.* 36(1):5-9. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v36n1/v36n1a02.pdf>.
- Leyva-Morales, J. B.; García-Parra, L. B.; Bastidas-Bastidas, P. D.; Astorga-Rodríguez, J. E.; Bejarano-Trujillo, J.; Cruz-Hernández, A.; Martínez-Rodríguez, I. E. y Betancourt-Lozano, M. 2014. Uso de plaguicidas en un valle agrícola tecnificado en el noroeste de México. *Rev. Inter. Contaminación Ambiental.* 30(3):247-261. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S018849992014000300002&lng=es&nrm=iso>.
- Liang, P.; Cui, J. Z.; Yang, X. Q. and Gao, X. W. 2007. Effects of host plants on insecticide susceptibility and carboxylesterase activity in *Bemisia tabaci* biotype B and greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*. *Pest Management Sci.* 63(4):365-371. Doi: 10.1002/ps.1346.
- Longhurst, C.; Babcock, J. M.; Denholm, I.; Gorman, K.; Thomas, J. D. and Sparks, T. C. 2013. Cross-resistance relationships of the sulfoximine insecticide sulfoxaflor with neonicotinoids and other insecticides in the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum*. *Pest Management Sci.* 69(7):809-813. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3439>.
- Low, W. Y.; Feil, S. C.; Ng, H. L.; Gorman, M. A.; Morton, C. J.; Pyke, J. and Gooley, P. R. 2010. Recognition and detoxification of the insecticide DDT by *Drosophila melanogaster* glutathione S-transferase D1. *J. Mol. Biol.* 399(3):358-366. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.04.020>.
- Ma, W.; Li, X.; Dennehy, T. J.; Lei, C.; Wang, M.; Degain, B. A. and Nichols, R. L. 2010 b. Pyriproxyfen resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype B: metabolic mechanism. *J. Econ. Entomol.* 103(1):158-165. Doi: 10.1603/ec09122.
- Montella, I. R.; Martins, A. J.; Fernández, V.; Pereira, L. B.; Braga, I. A. y Valle, D. 2007. Insecticide resistance mechanism of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001-2004. *Am. J. Trop. Med. Hygiene.* 77(3):467-477. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.77.467>.
- Naveen, N. C.; Chaubey, R.; Kumar, D.; Rebijith, K. B.; Rajagopal, R.; Subrahmanyam, B. and Subramanian, S. 2017. Insecticide resistance status in the whitefly, *Bemisia tabaci* genetic groups Asia-I, Asia-II-1 and Asia-II-7 on the Indian subcontinent. *Scientific Reports*, 7(1):1-15. Doi: 10.1038/srep40634.
- Oliveira, M. R. V.; Henneberry, T. J. and Anderson, P. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Prot.* 20(9):709-723. Doi: 10.1016/S0261-2194(01)00108-9.
- Ortelli, F.; Rossiter, L. C.; Vontas, J.; Ranson, H. and Hemingway, J. 2003. Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem. J.* 373(3):957-63. Doi: 10.1042/BJ20030169.
- Palumbo, J.; Horowitz, A. and Prabhaker, N. 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection.* 20(9):739-765. Doi: 10.1016/S0261-2194(01)00117-X.

- Pimentel, M. A. G.; Antonino, F. L. R.; Duarte, B. M. y Humberto, S. 2008. Resistance of stored product insects to phosphine. *Pesq. Agropec. Bras.* 43(12):1671-1676. Doi: 10.1590/S0100-204X2008001200005.
- Ramya, S. L.; Venkatesan, T.; Srinivasa, M. K.; Jalali, S. K. and Verghese, A. 2016. Detection of carboxylesterase and esterase activity in culturable gut bacterial flora isolated from diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), from India and its possible role in indoxacarb degradation. *Brazilian J. Microbiol.* 47(2):327-336. Doi: 10.1016/j.bjm.2016.01.012.
- Rauch, N. and Nauen, R. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 54(5):165-176. Doi: 10.1002/arch.10114.
- Raveesh, K. G. and Gangwar, C. 2018. Lifecycle, distribution, nature of damage and economic importance of whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Acta Scientific Agric.* 2(4):36-39. <https://actascientific.com/ASAG/ASAG-02-0064.php>.
- Roditakis, E.; Morou, E.; Tsagkarakou, A.; Riga, M.; Nauen, R.; Paine, M. and Vontas, J. 2010. Assessment of the *Bemisia tabaci* CYP6CM1vQ transcript and protein levels in laboratory and field-derived imidacloprid-resistant insects and cross-metabolism potential of the recombinant enzyme. *Insect Sci.* 18(1):23-29. Doi:10.1111/j.1744-7917.2010.01384.x.
- Roditakis, E.; Tsagkarakou, A. and Vontas, J. 2006. Identification of mutations in the para sodium channel of *Bemisia tabaci* from Crete, associated with resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochem. Physiol.* 85(3):161-166. Doi: 10.1016/j.ijpara.2008.12.006.
- Servín-Villegas, R.; García-Hernández, J. L.; Murillo-Amador, B.; Tejas, A. and Martínez-Carrillo, J. L. 2006. Estability of insecticide resistance of silverleaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) in the absence of selection pressure. *Folia Entomol. Mex.* 45(1):27-34. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42445104>.
- SIAP. 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Simmons, A. M.; Harrison, H. F. and Ling, K. S. 2008. Forty-nine new host plant species for *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Entomol. Sci.* 11(4):385-390. Doi: 10.1111/j.1479-8298.2008.00288.x.
- Vais, H.; Williamson, M. S.; Hick, C. A.; Eldursi, N.; Devonshire, A. L. and Usherwood, P. N. 1997. Functional analysis of a rat sodium channel carrying a mutation for insect knock-down resistance (kdr) to pyrethroids. *FEBS Lett.* 413(2):427-332. Doi: 10.1016/s0014-5793(97)00931-9.
- Wang, L. and Wu, Y. 2007. Cross-resistance and biochemical mechanisms of abamectin resistance in the B-type *Bemisia tabaci*. *J. Appl. Entomol.* 131(2):98-103. Doi:10.1111/j.1439-0418.2006.01140.x.
- Wang, R.; Wang J. D.; Che, W.; Sun, Y.; Li, W. and Luo, Ch. 2018. Characterization of field-evolved resistance to cyantraniliprole in *Bemisia tabaci* MED from China. *J. Integrative Agric.* 18(11):2571-2578. Doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62557-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62557-8).
- Yang, X.; Margolies, D. C.; Zhu, K. Y. and Buschman, L. L. 2001. Host plant-induced changes in detoxification enzymes and susceptibility to pesticides in the two spotted spider mites (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 94(2):381-387. Doi: 10.1603/0022-0493-94.2.381.
- Yang, X.; He, C.; Xie, W.; Liu, Y.; Xia, J.; Yang, Z.; Guo, L.; Wen, Y.; Wang, S.; Wu, Q.; Yang, F.; Zhou, X. and Zhang, Y. 2016. Glutathione S-transferases are involved in thiamethoxam resistance in the field whitefly *Bemisia tabaci* Q (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pesticide Biochem. Physiol.* 134:73-78. Doi: 10.1016/j.pestbp.2016.04.003.

- Zhang, B.; Kong, F. and Zeng, X. 2015. Detoxification enzyme activity and gene expression in diafenthiuron resistant whitefly, *Bemisia tabaci*. J. Agricultural Sci. 7(9):66-76. Doi:10.5539/jas.v7n9p66.
- Zhang, S.; Zhang, X.; Shen, J.; Mao, K.; You, H. and Li, J. 2016. Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. Pesticide Biochem. Physiol. 132:38-46. Doi: 10.1016/j.pestbp.2016.01.007.