

## Mecanismos de resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius) y costes ecológicos asociados a la resistencia

I. Moreno, A. Belando, P. Bielza

Departamento de Producción Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, 30203 Cartagena, España.  
inma.moreno@upct.es

### RESUMEN

La gran capacidad de *Bemisia tabaci* (Gennadius) para desarrollar resistencias frente a numerosos insecticidas así como resistencias cruzadas ha hecho necesario la búsqueda de alternativas para crear estrategias de control eficaces. Puesto que ya se conoce el estado actual de los niveles de resistencia en *B. tabaci* a diferentes insecticidas (alfa-cipermetrín, azadiractín, buprofezín, pimetozina, piridabén y piriproxifén), ahora es necesario lograr avances no sólo en su modo de acción si no en los mecanismos de resistencia en dicha plaga. Por tanto, para comprobar si la resistencia a insecticidas viene dada por los mecanismos enzimáticos de detoxificación, se van a realizar bioensayos de sinergistas (PBO (butóxido de piperonilo) inhibe específicamente P-450 monooxigenasas, DEF (S,S,S,-tributilfosforotritonato) inhibe esterasas y DEM (dietil maleato) inhibe glutatión-S-transferasas (GSTs)) comparativos, utilizando una población sensible de referencia (KO) y poblaciones resistentes a, pimetozina (KOPIME), azadiractín (KOAZA), buprofezín (KOBU), alfa-cipermetrín (KOALFA), piriproxifén (KOPIX) y piridabén (KOPIB). Además, para predecir el desarrollo de poblaciones resistentes es importante conocer si existen costes ecológicos de la resistencia, ya que la adquisición de los mecanismos de resistencia puede tener un efecto negativo en la valencia ecológica de la población resistente. Para ello, se va a medir y comparar, la fecundidad, fertilidad, longevidad u otros parámetros biológicos de interés, tanto en la población sensible como las resistentes nombradas anteriormente.

**Palabras clave:** Pimetozina; azadiractín; alfa-cipermetrín; piriproxifén; piridabén.

### 1. Introducción

Como consecuencia de la exposición extensa a los insecticidas, *Bemisia tabaci* (Gennadius) ha desarrollado resistencia a una amplia gama de agentes de control químico. La necesidad de una mayor diversidad de productos químicos para el control de mosca blanca en los programas de manejo de la resistencia ha dado lugar a la introducción de varios insecticidas con nuevos modos de acción, que no se ven afectadas por los mecanismos de resistencia a los organofosforados, por ejemplo, o piretroides.

La resistencia a imidacloprid se demostró por primera vez en *B. tabaci* en invernaderos en la región de Almería en el sur de España, pero también fue detectado en poblaciones de Italia y Alemania [1,2] y en Arizona, pero a niveles más bajos [3].

En el caso de los insecticidas reguladores del crecimiento, a pesar de tener un modo de acción único, han demostrado estar sujetos también a la resistencia por *B. tabaci*. Los cambios en la susceptibilidad a buprofezín y piriproxifén han

sido bien documentados y, de forma similar a imidacloprid, se detectaron por primera vez en sistemas de producción intensiva, cerrados. La resistencia a buprofezín fue documentada por primera vez en poblaciones de *B. tabaci* recogidas en invernaderos de los Países Bajos, y en invernaderos de España e Israel [4,5], donde los cambios en la susceptibilidad se asociaron con aplicaciones repetidas del compuesto.

Piriproxifén se utilizó por primera vez en Israel en 1991, y al cabo de un año, se detectó un nivel relativamente alto de resistencia (> 500 veces) en poblaciones de *B. tabaci* recolectadas de un invernadero de rosas, donde las poblaciones habían sido expuestas a tres aplicaciones consecutivas [5].

En el 2005, ya aparece publicado resistencias a alfa-cipermetrín en poblaciones recogidas en cultivos de berenjena en Grecia [6].

En carbamatos como metomilo, ya en los años 90 se observaron resistencia en poblaciones en Pakistán [7].

En poblaciones recogidas en invernaderos de Almería en 1994 se observaron resistencias a pimetozina, a pesar que nunca se había usado [1].

Actualmente, se pueden encontrar en la literatura casos en los que *B. tabaci* ha presentado resistencias a más de 45 materias activas distintas, por esto es necesario implementar programas de control integrado y de manejo de la resistencia en *B. tabaci* utilizando distintos sistemas de control e insecticidas con diferentes mecanismos de acción que permitan su sostenibilidad en el tiempo.

A pesar de los numerosos trabajos que existen sobre la resistencia a insecticidas en *B. tabaci*, no se conocen bien los mecanismos implicados, por lo que es difícil prever las potenciales resistencias cruzadas. Sin esa información, no se puede diseñar un efectivo programa de manejo de la resistencia, que ayude a mitigar la evolución de poblaciones resistentes.

Además, para predecir el desarrollo de poblaciones resistentes es importante conocer si existen costes ecológicos de la resistencia. La adquisición de los mecanismos de resistencia puede tener un efecto negativo en la valencia ecológica de la población resistente. Es decir, los individuos resistentes se reproducen menos al tener una fecundidad menor, o fertilidad, o longevidad, etc.

Los objetivos de esta tesis son conocer los mecanismos de resistencia en *B. tabaci* y si existen costes asociados a la resistencia.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Poblaciones

Se utilizarán la población susceptible de referencia de nuestro laboratorio y las poblaciones resistentes seleccionadas a cada insecticida (Tabla 1).

### 2.2 Insecticidas

Se utilizarán pimetozina, azadiractina, buprofecín, alfa-cipermetrín, piriproxifén, y piridabén.

### 2.3 Bioensayos

Se utilizan plántulas de algodón de unos 20 ó 25 cm de altura, con unas 4 hojas verdaderas. A una de las hojas más jóvenes se le fija una caja-pinza

sujeta mediante un palito de madera, con unas 40 hembras adultas en su interior, de manera que los individuos queden en el envés de la hoja y se mantiene durante 48 horas (Fig. 1).

Transcurrido este periodo de tiempo, se procede al desmontaje del ensayo, se quita la caja-pinza y se aspira la mosca. A cada planta se le asigna un número y se introduce en una jaula de malla como las que se utilizan para la cría, que se mantendrá en el laboratorio durante 12 días.

Transcurrido este tiempo, suficiente para alcanzar el estadio N2, se observa cada planta en la lupa binocular, y con un rotulador permanente se van marcando una por una las ninfas N2 hasta llegar a un máximo de 30 (Fig. 2).

Una vez marcadas las 21 plantas que se utilizan para cada bioensayo (6 dosis más un control y 3 repeticiones para cada una), se reparten por dosis, de manera que el número de ninfas en cada repetición sea lo más homogéneo posible (sólo en los casos en los que no se alcanzan los 30 ninfas/hoja)

Se separan las plantas que se tratan con cada dosis, se preparan las 6 dosis necesarias y el control, todas ellas con agua destilada y mojante, y se procede al tratamiento (Fig. 3). Éste se lleva a cabo introduciendo por completo la hoja con las ninfas durante 10 segundos en la dosis correspondiente. Al sacarla se deja que gotee el exceso de líquido y se dejan secar al aire entre 30 y 60 minutos.

Transcurrido ese periodo de tiempo, una vez que las plantas están secas, se introducen en la jaula en la que estaban antes de tratamiento, y se mantienen de nuevo en el laboratorio hasta el momento del conteo de la mortalidad, día 30 desde que se inició el bioensayo. Se ha fijado este periodo de tiempo, porque en estudios previos se ha visto que en las condiciones de nuestro laboratorio es el tiempo necesario para que todos los huevos lleguen al menos a estado de pupa. Por ello, en el conteo, se consideran como individuos vivos aquellos que se han desarrollado hasta llegar a estado de pupa, y también los exuvios (el adulto ya ha emergido). Por otro lado, se consideran muertos los huevos no eclosionados, y tanto las ninfas muertas como aquellas ninfas que a pesar de tener buen aspecto aún no han llegado a estado de pupa (Fig. 4).

### 2.4 Bioensayos de sinergistas

Este tipo de bioensayos se realizan para poder determinar que posibles mecanismos están

implicados en la resistencia a insecticidas. Se basan en añadir un producto que por sí sólo no tiene efecto plaguicida, pero sin embargo cuando se le añade a los insecticidas, éstos incrementan su actividad. Los sinergistas utilizados en este estudio serán el butóxido de piperonilo (PBO), el S,S,S tributil fosforotrioato (DEF) y el dietil maleato (DEM). El PBO es un inhibidor del citocromo P450, el DEF inhibe las esterasas y el DEM inhibe glutatión-S-transferasas (GSTs).

La metodología de estos bioensayos es similar a los descritos anteriormente. Se diferencian en que dos horas antes de ser tratadas las plantas con el insecticida se realiza un tratamiento con el sinergista. Todas las plantas son tratadas con una única dosis subletal y se deja un control para asegurarnos que realmente el sinergista por sí sólo no tiene efecto sobre *B. tabaci*. El resto del bioensayo sigue los pasos de un bioensayo normal.

### 2.5 Fecundidad y fertilidad

Se utilizan plántulas de algodón de unos 20 ó 25 cm de altura, con unas 4 hojas verdaderas. A una de las hojas más jóvenes se le fija una caja-pinza sujeta mediante un palito de madera, con unas 30 hembras adultas en su interior, de manera que los individuos queden en el envés de la hoja y se mantiene durante 48 horas (Fig. 1).

Transcurrido este periodo de tiempo, se procede al desmontaje del ensayo, se quita la caja-pinza y se aspira la mosca y se cuentan. En cada planta se cuentan los huevos depositados, obteniendo la fecundidad media por hembra. Las hojas se vuelven a leer a los 8 días para estimar el porcentaje de huevos eclosionados (fertilidad).

### 3. Resultados

Se espera llegar a conocer los mecanismos implicados en la resistencia a insecticidas en *B. tabaci* y el coste ecológico que conllevan. Todo ello nos ayudará a diseñar estrategias eficaces de manejo de la resistencia.

### 4. Agradecimientos

Agradecer la financiación del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2011-25164) y los fondos europeos FEDER.

### 5. Referencias bibliográficas

[1] Elbert A., Nauen R., 2000. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to

insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Manage. Sci.* 56: 60-64.

[2] Nauen, R.; Stump, N. and Elbert, A. 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science.* 58: 868-875.

[3] Li, A.Y., Dennehy, T.J., Li, S., Wigert, M.E., Zaborac, M., Nichols, R.L., 2001. Sustaining Arizona's fragile success in whitefly resistance management, In: Dugger, P. and Richter, D. (Eds.), *Proceedings Beltwide Cotton Conferences.* National Cotton Council, Memphis, TN, pp. 1108-1114.

[4] Cahill, M., Jarvis, W., Gorman, K., Denholm, I., 1996. Resolution of baseline responses and documentation of resistance to buprofezin in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.* 86: 117-122.

[5] Horowitz, A.R., Ishaaya, I., 1994. Managing resistance to insect growth regulators in the sweetpotato whitefly (Homoptera: aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 866-871.

[6] Roditakis, E., Roditakis, N.E., Tsagkarakou, A. 2005. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Pest Management Science.* 61: 577-582.

[7] Ahmad, M., Arif, M., Naveed M. 2010. Dynamics of Resistance to organophosphate and carbamate insecticides in the cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) from Pakistan. *Journal of pesticide science.* 83: 409-420.

### Tablas y Figuras

Tabla 1. Poblaciones

Población	Resistente a
KO	Susceptible
KOPIME	Pimetrozina
KOAZA	Azadiractín
KOBU	Buprofezín
KOPIX	Piriproxifén
KOPIB	Piridabén
KOALFA	Alfa-cipermetrín



**Figura 1.** Cajas-pinza en plántulas de algodón



**Figura 2.** Marcado de ninfas en hojas de algodón



**Figura 3.** Tratamiento



**Figura 4.** Pupa viva y ninfa muerta de *B. tabaci*