Universidad Politécnica de Cartagena
Departamento de Producción Vegetal

RESISTENCIA
A NUEVOS INSECTICIDAS
EN MOSCAS BLANCAS
DE CULTIVOS HORTÍCOLAS

Tesis doctoral

Inmaculada Moreno Vicente

Director

Pablo Bielza Lino

2018

**CONFORMIDAD DE SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE DEPÓSITO DE
TESIS DOCTORAL POR EL/LA DIRECTOR/A DE LA TESIS**

D. Pablo Bielza Lino Director de la Tesis doctoral "Resistencia a nuevos insecticidas en moscas blancas de cultivos hortícolas".

INFORMA:

Que la referida Tesis Doctoral, ha sido realizada por D^a. Inmaculada Moreno Vicente, dentro del Programa de Doctorado en Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, dando mi conformidad para que sea presentada ante el Comité de Dirección de la Escuela Internacional de Doctorado para ser autorizado su depósito.

La rama de conocimiento en la que esta tesis ha sido desarrollada es:

- ☐ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☒ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 15 de febrero de 2018

EL/LA DIRECTOR/A DE LA TESIS

Fdo.: Pablo Bielza Lino

COMITÉ DE DIRECCIÓN ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

CONFORMIDAD DE DEPÓSITO DE TESIS DOCTORAL
POR LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA

D. Francisco Artés Hernández, Presidente de la Comisión Académica del Programa Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario.

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada, “Resistencia a nuevos insecticidas en moscas blancas de cultivos hortícolas”, ha sido realizada, dentro del mencionado Programa de Doctorado, por D^a. Inmaculada Moreno Vicente, bajo la dirección y supervisión del Dr. Pablo Bielza Lino.

En reunión de la Comisión Académica, visto que en la misma se acreditan los indicios de calidad correspondientes y la autorización del Director de la misma, se acordó dar la conformidad, con la finalidad de que sea autorizado su depósito por el Comité de Dirección de la Escuela Internacional de Doctorado.

La Rama de conocimiento por la que esta tesis ha sido desarrollada es:

- ☐ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☒ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 15 de febrero de 2018

EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA

COMITÉ DE DIRECCIÓN ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Es de importancia para quien desee
alcanzar una certeza en su investigación,
el saber dudar a tiempo.

Aristóteles.

A mi familia

Agradecimientos

Agradecimientos

En estas líneas me gustaría agradecer a todas aquellas personas que durante estos años, de forma directa o indirecta, han contribuido a que mi paso por el Lab. 1,55 sea inolvidable.

En primer lugar, a Pablo, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo “a pesar de no haber cursado su asignatura”, por empujarme y animarme a terminar esta tesis, por sus conocimientos, su tiempo, y sus valiosas sugerencias, y porque nunca olvidaré que hay que ser PROACTIVO.

A Josefina y a Dina, porque cuando nos cruzamos por los pasillos y me preguntan, siento que se alegran de que me haya decidido a terminarla.

A mis compañeros presentes y pasados, daros mil gracias por estos maravillosos siete años, jamás pensé que iba a estar tan triste, y lo peor es que nunca me han gustado las despedidas. Bien sabéis que soy RR, pero debo confesar que hoy me siento más SS que nunca, son tantos recuerdos... de verdad que os voy a echar mucho de menos, a cada uno de vosotros.

Especialmente a mi equipo diario, mis niñas. A mi peque, Ana, por todos estos años y los de atrás, por nuestra complicidad, por las risas y algún llanto que otro, por muchas anécdotas para recordar y como no, por acordarte de mí aquel día de 2010; al fin y al cabo hoy estoy aquí GRACIAS a tí. A Carol, porque para mí ganaste en las distancias cortas, porque nos complementamos a nivel personal y profesional, y por estar tan unidas, especialmente este último año. Por todo esto y más, os llevo para siempre.

A Juan y Miguel, porque cada vez que os recuerdo me sacáis una sonrisa, porque siempre os tengo presentes y por hacerme taaan feliz. Nunca me había reído tanto.

A Enrique y Virginia, porque a pesar de que siempre hubieron 16 km de distancia entre nosotros, congeniamos muy bien, pasando muchos ratos buenos.

A Lidia y Charo, porque empezamos a la vez en este largo camino y me he puesto en sus pieles, día tras día.

A mi rubia, M^a Ángeles, porque hicimos del comedor nuestra casa, compartiendo muchas historias y por ser mi guía gastronómica favorita.

A Antonio, por el apoyo mutuo durante estos últimos meses y por ser los amos de la A-30.

A las nuevas generaciones. A Amador, por todas esas tardes haciéndome compañía y sacándome una sonrisa, y por su disponibilidad y ayuda siempre que la hemos necesitado. También a Nerea y Manos, por esas fotos express, qué hubiese sido de mí sin vuestros iphones.

A mi familia y amig@s “mi corrillo del cillo”, con los que he podido compartir historias para recordar y por las que aún están por llegar.

A mis padres, por su cariño, su paciencia, su comprensión y su apoyo incondicional, sin esperar nada a cambio.

A mi hermana y mi cuñado, por cuidarme siempre, por su compañía diaria, porque en su casa me siento como en la mía y por traerme mi motivación diaria, a mi sobrina, jamás pensé que se podía querer tanto.

Y como no, a Julián, por estar siempre, cada día, incluso por mucha distancia que ahora nos separe, porque tú pones la sabiduría y yo la “alegría”, y porque me he hecho una mujer a tu lado, 877.

Inma

Resumen

Resumen

La ‘mosca blanca del tabaco’ *Bemisia tabaci* (Gennadius) y la ‘mosca blanca de los invernaderos’ *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), son las dos especies de mosca blanca de mayor importancia económica, debido a los graves daños que ocasionan tanto en cultivos hortícolas como ornamentales a nivel mundial.

Debido a un uso excesivo de los insecticidas, ambas especies de mosca blanca presentan una enorme facilidad para desarrollar resistencia a numerosos productos, incluso materias activas novedosas han llegado a causar fallos de control por problemas de resistencia. Teniendo en cuenta que cada vez hay menos agentes de control químico eficaces para el control de mosca blanca, es de vital importancia el uso adecuado de los insecticidas disponibles en el mercado, así como la incorporación de diferentes materias activas con nuevos modos de acción.

En este trabajo se han determinado los niveles de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en diferentes poblaciones de *B. tabaci*. Cabe señalar, que estas poblaciones fueron recolectadas en invernaderos del sureste español (Murcia y Almería) y que mostraban posibles fallos de control a ambos ketoenoles. En general, la toxicidad a ambos insecticidas varía significativamente entre las poblaciones bioensayadas, mostrando valores de CL_{50} muy altos en la mayoría de los casos.

También se continuó estudiando las posibles resistencias cruzadas entre spiromesifén y los insecticidas de uso común para el control de mosca blanca, a partir de una población seleccionada en laboratorio para la resistencia a spiromesifén (R-SPI). Según los datos obtenidos podemos decir que spiromesifén no presenta resistencia cruzada con ninguno de los insecticidas ensayados. Sólo en el caso de pimetrocina cabe la posibilidad de una resistencia cruzada positiva, aunque parece más probable que la esta resistencia estuviera ya presente en las poblaciones originales de campo.

Finalmente, para saber si la resistencia a ambos ketoenoles se trataba de una resistencia metabólica, se llevaron a cabo bioensayos con sinergistas. Nuestros resultados descartaron que las P-450 monooxigenasas, las glutatión S-transferasas y las esterasas estuviesen implicadas en la resistencia a spiromesifén y spirotetramat. De forma general, teniendo en cuenta la ausencia de resistencia metabólica y resistencia cruzada con otros insecticidas con diferentes modos acción, y la existencia de resistencia cruzada entre ambos ketoenoles, todo apunta a que la resistencia a ambos insecticidas sea debida a una mutación en el punto de acción.

En resumen, todos estos datos pueden ser útiles para mitigar o evitar el desarrollo de resistencias a ambos insecticidas, así como para plantear nuevas estrategias de manejo de la resistencia a insecticidas.

Por otra parte, en este trabajo también se ha establecido la línea base o susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de *T. vaporariorum* a ciantraniliprol. Este estudio es fundamental, ya que antes de registrar un nuevo producto es necesario comprobar su eficacia en campo y conocer la susceptibilidad basal, para poder diferenciarla de una posible resistencia futura.

Nuestros resultados revelaron la situación actual de alta susceptibilidad a ciantraniliprol ($CL_{50} = 0,055 \text{ mg L}^{-1}$), siendo los valores descritos similares a la línea base de susceptibilidad a dicho producto en *B. tabaci*, establecida en estudios previos, concretamente en 2015 ($CL_{50} = 0,048 \text{ mg L}^{-1}$). Estos datos van a servir como base o referencia dentro del programa de manejo de la resistencia.

Así pues se confirma que ciantraniliprol muestra una alta eficacia en el control de mosca blanca, aunque al igual que el resto de insecticidas requiere de un alto nivel de vigilancia puesto que siempre está presente la amenaza del desarrollo de resistencias.

En definitiva, podemos concluir que sería recomendable vigilar el desarrollo de resistencias a spiromesifén y spirotetramat en *B. tabaci*, con el fin de evitar o disminuir su evolución, y que ciantraniliprol es una herramienta valiosa para ser incorporada en las estrategias de gestión de la resistencia a insecticidas en mosca blanca, debido a su alta eficacia.

Abstract

Abstract

The tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) and the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) are whitefly species with a great economic importance because of the serious damage they cause in horticultural and ornamental crops worldwide.

In many agricultural systems, the extensive use of insecticides against whitefly pests has resulted in high resistance levels to conventional and novel chemical control agents, causing control failure by resistance development. The ease with which these pest insects develop resistance makes it crucial to implement insecticide resistance management (IRM) strategies. Therefore, new insecticides with different modes of action and no cross-resistance with those commonly used must be incorporated into IRM strategies.

Firstly, the level of resistance to spiromesifen and spirotetramat in Spanish populations of *B. tabaci* was determined in this work. The field strains were collected in greenhouses from southeastern Spain (Murcia and Almería) after several years of intensive use of these compounds. In general, toxicity to both insecticides varied significantly between all populations, showing very high LC₅₀ values in most cases.

The cross-resistance between spiromesifen and the commonly used insecticides in whitefly control was also studied in a strain further selected from spiromesifen-resistant field populations (R-SPI). According to the results, spiromesifen did not show cross-resistance to any of the other insecticides tested. The only exception was pymetrozine, although it is likely that the resistance to pymetrozine was already present in the original field populations.

In addition, to determine if whitefly resistance to both ketoenols was metabolic, synergist bioassays were conducted. Our results indicated that cytochrome P-450, glutathione S-transferases and esterases were not involved in spiromesifen and spirotetramat resistance. The lack of a metabolic mechanism and cross-resistance with other modes of action, together with the cross-resistance between both insecticides, suggest a target-site resistance mechanism.

In summary, these data can be useful to mitigate or prevent the resistance development to both ketoenols and for proposing new strategies for the management of insecticide resistance.

Secondly, the baseline susceptibility of Mediterranean strains of *T. vaporariorum* to cyantraniliprole was established. These data will be useful for monitoring susceptibility of *T. vaporariorum* field populations to cyantraniliprole as part of a resistance management program. Future shifts in susceptibility of these populations to cyantraniliprole can now be evaluated on the basis of comparisons with the baseline susceptibility data presented.

Our results indicate a high susceptibility to cyantraniliprole in Mediterranean *T. vaporariorum* populations ($LC_{50} = 0,055 \text{ mg L}^{-1}$). All the LC_{50} values reported in this study are similar to those reported in previous studies of cyantraniliprole against another species of whitefly *B. tabaci* ($LC_{50} = 0,048 \text{ mg L}^{-1}$).

In general, this study confirmed the effectiveness of cyantraniliprole against these whitefly populations, becoming a promising tool in IPM programs. However, this product requires a high level of vigilance, because the threat of resistance development is ever-present.

In summary, it would be advisable to monitor the resistance development to spiromesifen and spirotetramat in *B. tabaci* in order to avoid or reduce its evolution. By contrast, cyantraniliprole could be a valuable tool into integrated pest management (IPM) programmes because of its high efficacy.

Índices

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción general	1
1.1. <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) y <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood).....	1
1.1.1. Taxonomía	1
1.1.2. Origen y distribución.....	2
1.1.3. Hospedantes.....	4
1.1.4. Biología	4
1.1.5. Morfología.....	6
1.1.6. Comportamiento y ecología.....	11
1.1.7. Complejo de especies o biotipos de <i>B. tabaci</i>	12
1.1.8. Daños ocasionados.....	13
1.1.8.1. Daños directos	13
1.1.8.2. Daños indirectos	14
1.2. Métodos de control.....	17
1.2.1. Control cultural.....	17
1.2.2. Control biológico.....	18
1.2.3. Control químico	19
1.2.3.1. Materias activas objeto de tesis.....	23
1.3. Resistencia a insecticidas	25
1.3.1. Definiciones y tipos.....	25
1.3.2. Mecanismos de resistencia	26
1.3.3. Resistencia a insecticidas en <i>B. tabaci</i> y <i>T. vaporariorum</i>	30
1.4. Bibliografía	31
2. Materiales y métodos generales.....	55
2.1. Poblaciones de <i>B. tabaci</i>	55
2.1.1. Poblaciones de campo de <i>B. tabaci</i>	55
2.1.2. Población de <i>B. tabaci</i> seleccionada a spiromesifén (R-SPI)	58

2.2. Poblaciones de <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	60
2.3. Cría y mantenimiento de las poblaciones	61
2.4. Insecticidas utilizados.....	66
2.5. Bioensayos	67
2.5.1. Materiales empleados	67
2.5.1.1. Cajas pinza.....	67
2.5.1.2. Cajas de polipropileno transparentes	68
2.5.2. Bioensayos de <i>Bemisia tabaci</i>	69
2.5.2.1. Bioensayo de ninfas.....	69
2.5.2.2. Bioensayo de ninfas con sinergistas	73
2.5.2.3. Bioensayo de huevos.....	74
2.5.2.4. Bioensayo de adultos	75
2.5.2.5. Bioensayo sistémico de ninfas	77
2.5.3. Bioensayo de <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	82
2.5.3.1. Bioensayo sistémico de ninfas	82
2.6. Análisis de datos.....	85
2.7. Bibliografía	86
 3. Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de <i>B. tabaci</i> (Gennadius).....	87
3.1. Introducción.....	87
3.2. Materiales y métodos	90
3.2.1. Poblaciones.....	90
3.2.2. Insecticidas.....	90
3.2.3. Bioensayos de ninfas	90
3.2.4. Análisis de datos.....	91
3.3. Resultados y discusión.....	91
3.4. Conclusiones	96
3.5. Bibliografía	97

4. Resistencia cruzada entre spiromesifén e insecticidas de uso común para el control de <i>B. tabaci</i> (Gennadius)	103
4.1. Introducción.....	103
4.2. Materiales y métodos	105
4.2.1. Poblaciones.....	105
4.2.2. Insecticidas	105
4.2.3. Bioensayos de ninfas y adultos	105
4.2.4. Análisis de datos.....	105
4.3. Resultados y discusión.....	106
4.3.1. Población resistente a spiromesifén (R-SPI).....	106
4.3.2. R-SPI frente a otros insecticidas en ninfas y adultos	106
4.4. Conclusiones	113
4.5. Bibliografía	114
5. Mecanismos de resistencia a insecticidas del grupo 23 en <i>B. tabaci</i> (Genn.)	117
5.1. Introducción.....	117
5.2. Materiales y métodos	118
5.2.1. Poblaciones.....	118
5.2.2. Insecticidas	118
5.2.3. Sinergistas.....	119
5.2.4. Bioensayos de ninfas con sinergistas	119
5.2.5. Análisis de datos.....	119
5.3. Resultados y discusión.....	120
5.4. Conclusiones	123
5.5. Bibliografía	124
6. Susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de <i>T. vaporariorum</i> (Westwood) a ciantraniliprol	127
6.1. Introducción.....	127

6.2. Materiales y métodos	130
6.2.1. Poblaciones.....	130
6.2.2. Insecticida.....	130
6.2.3. Bioensayo sistémico de ninfas.....	130
6.2.4. Análisis de datos.....	130
6.3. Resultados y discusión.....	131
6.4. Conclusiones	135
6.5. Bibliografía	135
Conclusiones Generales.....	143

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Introducción general	1
Figura 1.1. Distribución geográfica actual de <i>Bemisia tabaci</i>	3
Figura 1.2. Distribución geográfica actual de <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	3
Figura 1.3. Ciclo biológico de <i>T. vaporariorum</i> (izquierda) y <i>B. tabaci</i> (derecha)	6
Figura 1.4. Huevos de <i>B. tabaci</i> (izquierda) y <i>T. vaporariorum</i> (derecha)	7
Figura 1.5. Ninfa I de <i>B. tabaci</i> (izquierda) y <i>T. vaporariorum</i> (derecha)	8
Figura 1.6. Ninfa II de <i>B. tabaci</i> (izquierda) y <i>T. vaporariorum</i> (derecha)	8
Figura 1.7. Ninfa III de <i>B. tabaci</i> (izquierda) y <i>T. vaporariorum</i> (derecha)	9
Figura 1.8. Ninfa IV o “pupa” de <i>B. tabaci</i> (izquierda) y <i>T. vaporariorum</i> (derecha)	10
Figura 1.9. Adulto de <i>B. tabaci</i> (izquierda) y <i>T. vaporariorum</i> (derecha)	11
Figura 1.10. Planta de pimiento infectada de fumagina o negrilla	14
Figura 1.11. Planta de tomate infectada por TYLCV	16
Figura 1.12. Planta y fruto de calabacín infectado por ToLCNDV	16
2. Materiales y métodos generales	55
Figura 2.1. Localización y hospedante de las poblaciones españolas (Murcia y Almería) de <i>B. tabaci</i> recolectadas	57
Figura 2.2. Tratamiento de selección	59
Figura 2.3. Localización y hospedante de las poblaciones de <i>T. vaporariorum</i> recolectadas	60
Figura 2.4. Cámaras de cultivo para la siembra de material vegetal	61
Figura 2.5. Jaulas de malla anti-trips	62
Figura 2.6. Mantenimiento de bioensayos en jaulas de malla anti-trips	63
Figura 2.7. Cría de una población de <i>B. tabaci</i>	64
Figura 2.8. Distribución de las poblaciones en el laboratorio	64
Figura 2.9. Distribución de las poblaciones en la cámara de cultivo	65
Figura 2.10. Suelta de <i>Phytoseiulus persimilis</i> en una población de <i>B. tabaci</i> invadida por <i>Tetranychus urticae</i>	65

Figura 2.11. Insecticidas para el control de mosca blanca	66
Figura 2.12. Cajas pinza utilizadas para bioensayos de <i>B. tabaci</i> y <i>T. vaporariorum</i>	68
Figura 2.13. Caja y tapa con ventilación utilizada para bioensayo de adultos de adultos de <i>B. tabaci</i>	68
Figura 2.14. Caja y tapa con ventilación utilizada para bioensayo sistémico de ninfas de <i>B. tabaci</i>	69
Figura 2.15. Puesta de adultos de <i>B. tabaci</i> para su oviposición	70
Figura 2.16. Retirada de adultos de <i>B. tabaci</i>	70
Figura 2.17. Marcado de ninfas N2 de <i>B. tabaci</i>	71
Figura 2.18. Tratamiento de ninfas N2 de <i>B. tabaci</i>	72
Figura 2.19. Vista a la lupa de ninfa N4 (izquierda) y exuvio (derecha) de <i>B. tabaci</i>	72
Figura 2.20. Sinergistas utilizados.....	74
Figura 2.21. Vista a la lupa de ninfas N2 y huevos muertos de <i>B. tabaci</i>	75
Figura 2.22. Montaje del bioensayo de adultos de <i>B. tabaci</i>	76
Figura 2.23. Montaje del bioensayo de adultos de <i>B. tabaci</i>	77
Figura 2.24. Selección de plántulas de algodón	78
Figura 2.25. Montaje del bioensayo sistémico de ninfas de <i>B. tabaci</i>	79
Figura 2.26. Desmontaje y conteo de huevos del bioensayo sistémico de ninfas de.....	80
Figura 2.27. Tratamiento del bioensayo sistémico de ninfas de <i>B. tabaci</i>	81
Figura 2.28. Puesta de adultos de <i>T. vaporariorum</i> para su oviposición.....	82
Figura 2.29. Desmontaje y conteo de huevos del bioensayo sistémico de ninfas de <i>T. vaporariorum</i>	83
Figura 2.30. Tratamiento del bioensayo sistémico de ninfas de <i>T. vaporariorum</i>	84
Figura 2.31. Solución insecticida sobrante para reponer el bioensayo sistémico de ninfas de <i>T. vaporariorum</i>	85
 3. Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de <i>B. tabaci</i> (Gennadius)	 87
 Figura 3.1. Propiedades físicas y químicas más relevantes de spirotetramat.....	 90

4. Resistencia cruzada entre spiromesifén e insecticidas de uso común para el control de <i>B. tabaci</i> (Gennadius).....	103
5. Mecanismos de resistencia a insecticidas del grupo 23 en <i>B. tabaci</i> (Genn.).....	117
6. Susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de <i>T. vaporariorum</i> (Westwood) a ciantraniliprol.....	127
Figura 6.1. Susceptibilidad a ciantraniliprol en ninfas de poblaciones de campo de la cuenca mediterránea de <i>T. vaporariorum</i>	133
Figura 6.2. Susceptibilidad basal de poblaciones de la cuenca mediterránea de <i>T. vaporariorum</i> y <i>B. tabaci</i>, respectivamente, a ciantraniliprol.....	134
Conclusiones Generales.....	143

ÍNDICE DE TABLAS

1. Introducción general	1
Tabla 1.1. Posición taxonómica de <i>B. tabaci</i> y <i>T. vaporariorum</i>	1
2. Materiales y métodos generales.....	55
Tabla 2.1. Origen, hospedante, año de recolección e historial de tratamientos de poblaciones de Murcia de <i>B. tabaci</i> utilizadas.....	56
Tabla 2.2. Origen, hospedante, año de recolección e historial de tratamientos de poblaciones de Almería de <i>B. tabaci</i> utilizadas.....	57
Tabla 2.3. Origen, hospedante y año de recolección de las poblaciones de <i>T. vaporariorum</i> utilizadas.	60
Tabla 2.4. Insecticidas utilizados.....	67
3. Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de <i>B. tabaci</i> (Gennadius).....	87
Tabla 3.1. Datos de toxicidad a spiromesifén de poblaciones de <i>B. tabaci</i> del sureste español en estado de ninfa.	93
Tabla 3.2. Datos de toxicidad a spirotetramat de poblaciones de <i>B. tabaci</i> del sureste español en estado de ninfa.	95
4. Resistencia cruzada entre spiromesifén e insecticidas de uso común para el control de <i>B. tabaci</i> (Gennadius)	103
Tabla 4.1. Toxicidad a diferentes insecticidas para la población sensible (LAB-S) y la seleccionada a spiromesifén (R-SPI) de <i>B. tabaci</i> , en estado de ninfa.....	109
Tabla 4.2. Toxicidad a diferentes insecticidas para la población sensible (LAB-S) y la seleccionada a spiromesifén (RSPI-14) de <i>B. tabaci</i> , en estado de ninfa.	111
Tabla 4.3. Toxicidad a spiromesifén en poblaciones de <i>B. tabaci</i> seleccionadas a diferentes insecticidas, en estado de ninfa.	112

Tabla 4.4. Toxicidad a imidacloprid y tiametoxam para la población sensible (LAB-S), población de campo (AR) y seleccionada a spiromesifén (R-SPI) de <i>B. tabaci</i> , en estado de adulto.	113
5. Mecanismos de resistencia a insecticidas del grupo 23 en <i>B. tabaci</i> (Genn.)	117
Tabla 5.1. Sinergistas utilizados.	119
Tabla 5.2. Datos de toxicidad a spiromesifén y spiromesifén + PBO o PROFENOFÓS para RSPI-14 en estado de ninfa.	120
Tabla 5.3. Toxicidad a spiromesifén y spiromesifén + PBO para la población sensible (LAB-S), la seleccionada a spiromesifén (R-SPI) y poblaciones de campo, y spiromesifén + DEM o PROFENOFÓS para la seleccionada a spiromesifén de <i>B. tabaci</i> , en estado de ninfa.	121
Tabla 5.4. Toxicidad a spirotetramat para la población sensible (LAB-S) y la seleccionada a spiromesifén (R-SPI), y spirotetramat + PBO o DEM o PROFENOFÓS para la seleccionada a spiromesifén de <i>B. tabaci</i> , en estado de ninfa.	122
6. Susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de <i>T. vaporariorum</i> (Westwood) a ciantraniliprol	127
Tabla 6.1. Datos de susceptibilidad a ciantraniliprol en poblaciones de campo de <i>T. vaporariorum</i> , en estado de ninfa.	131
Tabla 6.2. Susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de <i>T. vaporariorum</i> y <i>B. tabaci</i> , respectivamente, a ciantraniliprol.	134
Conclusiones Generales	143

CAPÍTULO 1

1. Introducción general

1.1. *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)

Los aleuródidos (Hemiptera: Aleyrodidae) conocidos vulgarmente como “moscas blancas” son pequeños insectos polífagos, que causan graves daños tanto en cultivos hortícolas como ornamentales a nivel mundial. Se estima que esta familia cuenta con más de 1200 especies descritas.

En este trabajo, se van a llevar a cabo diferentes estudios con las dos especies de mayor importancia económica, las cuales presentan una alta similitud, aunque se encuentran en géneros diferentes, éstas son *Bemisia tabaci* (Gennadius), más conocida como la “mosca blanca del tabaco” y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), conocida vulgarmente como la “mosca blanca de los invernaderos”.

1.1.1. Taxonomía

Según la EPP0 (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2017) la taxonomía de estas dos especies de mosca blanca es la siguiente:

Tabla 1.1. Posición taxonómica de *B. tabaci* y *T. vaporariorum*.

Especie	<i>B. tabaci</i> (Gennadius, 1889)	<i>T. vaporariorum</i> (Westwood, 1856)
Reino	Animalia	Animalia
Filo	Arthropoda	Arthropoda
Subfilo	Hexapoda	Hexapoda
Clase	Insecta	Insecta
Orden	Hemiptera	Hemiptera
Suborden	Sternorrhyncha	Sternorrhyncha
Superfamilia	Aleyrodoidea	Aleyrodoidea
Familia	Aleyrodidae	Aleyrodidae
Subfamilia	Aleyrodinae	Aleyrodinae
Género	<i>Bemisia</i> (Fue descrito por primera vez por Quaintance y Baker en 1914, con un total de 37 especies, según Mound y Hasley, 1978)	<i>Trialeurodes</i>

Fuente: <https://gd.eppo.int/taxon/BEMITA> (*B. tabaci*)

<https://gd.eppo.int/taxon/TRIABA> (*T. vaporariorum*)

[Consulta: 17/02/2018]

1.1.2. Origen y distribución

El origen geográfico de las moscas blancas es muy controvertido (Byrne y Bellows, 1991). *B. tabaci* fue descrita por primera vez en 1889 como plaga del tabaco en Grecia, y designada por Gennadius como *Aleyrodes tabaci*. En 1897 se encontró en Estados Unidos, denominándose *Aleyrodes inconspicua* (Quaintance, 1900; Oliveira *et al.*, 2001). Y en 1957 fue cuando las especies descritas hasta entonces, fueron sinonimizadas por Rusell en una especie única, *Bemisia tabaci* (Cenis, 1996).

Algunos científicos sugieren que puede ser originaria de África tropical, desde donde se dispersó a Europa y Asia, y fue posteriormente introducida al Neotrópico, principalmente por transporte de material de plantas (Brown y Bird, 1992; Campbell *et al.*, 1996). Sin embargo, otros científicos sugieren que esta especie puede ser nativa de India o Pakistán, donde se ha encontrado la mayor diversidad de especies de sus enemigos naturales (Brown *et al.*, 1995).

Actualmente se extiende en un amplio rango de sistemas agrícolas, desde subtropicales hasta tropicales, pero también está presente en áreas de climas templados. Es una especie distribuida globalmente y se encuentra en todos los continentes con excepción de la Antártica (Martin *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2001).

En España se documenta por primera vez en el año 1943 por Gómez- Menor, como especie plaga esporádica, aunque no fue hasta los años sesenta cuando se empezó a considerar especie dañina en algunos cultivos hortícolas. Desde los años noventa, se considera que esta especie está perfectamente establecida en la costa mediterránea. Desde julio de 1989 se empieza a detectar su presencia masiva en Almería y en otoño de 1990, en las zonas costeras de Murcia y Valencia (Lacasa y Contreras, 1995).

T. vaporariorum es originaria de la zona tropical americana (Vet *et al.*, 1980), pudiendo ser Brasil o México los lugares específicos de origen (Castresana, 1989; Byrne y Bellows, 1991). Westwood describe a *T. vaporariorum* en 1856 y supone que su aparición en Inglaterra en ese año proviene de una importación de orquídeas desde México (van Lenteren y Noldus, 1990). Esta especie se ha convertido en cosmopolita, con una amplia distribución que comprende cinco continentes: Asia, Europa, América, Oceanía y África (Russel, 1980; Soto, 1997).

En España fue citada por primera vez en 1944, y en la actualidad se encuentra en casi todas las provincias españolas, tanto peninsulares como insulares. Adquiere carácter de plaga a partir de los años setenta. La proliferación de invernaderos parece ser una de las causas de su importancia en cultivos hortícolas, donde la plaga puede pasar el invierno.

En la Figura 1.1 y 1.2, que aparecen a continuación, podemos observar claramente que *B. tabaci* está más expandida a nivel mundial que *T. vaporariorum*.

Figura 1.1. Distribución geográfica actual de *Bemisia tabaci*

Fuente: <https://gd.eppo.int/taxon/BEMITA/distribution>

[Consulta: 17/02/2018]

Figura 1.2. Distribución geográfica actual de *Trialeurodes vaporariorum*

Fuente: <https://gd.eppo.int/taxon/TRIAVA/distribution>

[Consulta: 17/02/2018]

1.1.3. Hospedantes

B. tabaci ha sido registrada alimentándose de más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres (Mound y Halsey, 1978; Greathead, 1986; Secker *et al.*, 1998). Estas especies se ubican en 74 familias, incluyendo hortalizas, plantas ornamentales, cultivos industriales y numerosas especies silvestres. Entre los hospederos atacados por este insecto se encuentran comúnmente plantas que pertenecen a las familias Cruciferae, Cucurbitaceae, Solanaceae, Leguminosae, entre otras (Brown, 1993).

Aunque *Bemisia* ha sido considerada como una especie polífaga, se han descubierto poblaciones monófagas (Brown *et al.*, 1995; Perring, 2001; Thompson, 2003). Al respecto, se sugiere que existe un amplio rango de diferencias genéticas entre las poblaciones de *B. tabaci* que le permiten adaptarse a nuevos hospederos y climas en distintas regiones geográficas (Basu, 1995; Oliveira *et al.*, 2001), y que también podrían asociarse con las variaciones morfológicas que sufre la especie en las diferentes especies de plantas (Mohanty y Basu, 1986).

T. vaporariorum es sumamente polífaga, hasta el punto de que se ha registrado sobre 898 especies de plantas, de 121 familias y 469 géneros (Xu *et al.*, 1994). Existe una preferencia por ciertos hospederos hortícolas, donde desarrolla su mayor potencial biótico expresado en una mayor longevidad y fecundidad, como son berenjena, pepino, tomate y pimiento (citadas de mayor a menor preferencia) (Onillon, 1977; van Boxtel *et al.*, 1978; van de Merendok y van Lenteren, 1978).

En cultivos hortícolas en invernaderos de Almería, Rodríguez (1994) considera alta la incidencia de *T. vaporariorum* en berenjena, melón y calabacín; media en pepino, sandía y tomate; y baja en pimiento. En *B. tabaci* su incidencia es importante en tomate, pimiento, pepino, melón, calabacín, berenjena, judía y sandía.

1.1.4. Biología

Todas las especies de aleuródidos, o moscas blancas son hemimetábolos (metamorfosis incompleta), puesto que el individuo pasa por varias mudas hasta transformarse en individuo adulto, sin pasar por una etapa de inactividad y sin cesar de alimentarse. Este tipo de metamorfosis se caracteriza por la ausencia de fase de pupa, presentando las siguientes etapas de desarrollo durante su ciclo de vida: huevo, ninfa (comprendiendo cuatro estadios ninfales: ninfa I, II, III y IV) y adulto (Cardona *et al.*, 2005).

La forma de reproducción de la mayoría de especies de mosca blanca es por partenogénesis arrenotóquica (Byrne y Bellows, 1991; Horowitz y Gerling, 1992; Perring *et al.*, 1993), y no como señala Rodríguez (1994) sexual y también arrenotóquica. Esta forma de reproducción implica la existencia de machos y hembras, los machos son haploides y las hembras diploides. De forma que la hembra puede ovipositar huevos fertilizados con el esperma almacenado, que darán lugar a hembras, o no ser fertilizados, dando lugar a machos.

Los principales parámetros biológicos de estas dos especies, tales como longevidad, fecundidad y fertilidad, van a depender de la temperatura, hospedante, variedad y estado fisiológico de la planta (van Lenteren y Noldus, 1990).

Según ciertos estudios realizados, la longevidad para hembras adultas de *B. tabaci* puede situarse en 15,4 días a 28 °C a 30,1 días a 16 °C, con la existencia de período de preoviposición corto, de 2 a casi 4 días (Enkegaard, 1990). Sin embargo, para *T. vaporariorum* puede presentar valores, de 8,3 días a 27 °C a 42,5 días a 18 °C (Castresana *et al.*, 1982). En ambas especies la longevidad de los adultos es muy variable, dependiendo de la planta y temperatura, aunque en algunos casos existe una gran variabilidad aún utilizando las mismas temperaturas y plantas hospedantes (van Lenteren y Noldus, 1990), lo cuál indica la influencia de otras variables no tenidas en cuenta al estimar dicha longevidad.

En cuanto a la fecundidad, *B. tabaci* puede estar comprendida entre 2,5 y 7,1 huevo por hembra y día (Enkegaard, 1990), siendo prácticamente similar para *T. vaporariorum*, entre 2,1 y 7,0 huevos por hembra y día (Christochowitz *et al.*, 1981). Las hembras de ambas especies depositan los huevos en las hojas, unidos a ella mediante un pedicelo corto que es insertado en el tejido hospedante (Paulson y Beardsley, 1985). En el caso de *B. tabaci*, éstas colocan los huevos normalmente en el envés de las hojas, aunque en algunos cultivos prefieren el haz (Simmons, 1994). Los huevos se disponen individualmente o en grupos irregulares y en ocasiones en semicírculo, pudiendo estar recubiertos por una secreción cerosa blanca (Eichelkraut y Cardona, 1989). El comportamiento de oviposición en las hembras de *T. vaporariorum* es similar, teniendo una mayor tendencia a dejar los huevos dispuestos en círculos o semicírculos en el envés de las hojas (Adán *et al.*, 1989), aunque esto es inapreciable cuando la infestación es muy alta.

Cuando emerge la ninfa I del huevo, presenta movilidad, caracterizándose por sus movimientos muy lentos, a los cuatro días aproximadamente la ninfa atrofia sus patas y

antenas y clava su aparato bucal, en dicha posición permanece inmóvil hasta completar su ciclo de desarrollo (Eichelkraut y Cardona, 1989).

A continuación, los adultos emergen de la pupa por una incisión que realizan en forma de T, y después de un período de quietud tras la emergencia, tienden a moverse a la parte alta de la planta, estabilizando su posición a 2,5 hojas del ápice (van Lenteren y Noldus, 1990).

Figura 1.3. Ciclo biológico de *T. vaporariorum* (izquierda) y *B. tabaci* (derecha)

Fuente: Jordá, 1998 [Dibujos de Alfredo Lacasa]

1.1.5. Morfología

Como ya se ha comentado en el apartado anterior, estas dos especies de mosca blanca presentan un ciclo evolutivo similar, presentando tres estados de desarrollo: huevo, cuatro estadios ninfales y adulto.

Huevo

El huevo de ambas especies es similar a simple vista, es de forma oval y alargada (elíptico asimétrico), el extremo posterior termina en punta redondeada ancha, y el anterior, estrecho, acaba en una prolongación llamada pedicelo mediante la cual se fija a la hoja. Su tamaño es aproximadamente de 0,15 mm de longitud máxima y 0,07 mm de anchura máxima. Recién puestos son de color blanco amarillento, aunque cuando están próximos a eclosionar los de *B. tabaci* adquieren un color amarillo dorado o anaranjado, y los de *T. vaporariorum* van pardeando y ennegreciendo al madurar, tornándose de castaño oscuro a casi negro. En el caso de *B. tabaci*, el corión del huevo del cual emerge la ninfa I, permanece erecto, mientras que en *T. vaporariorum* se aplana lateralmente y se dobla con el ápice dirigido hacia abajo.

Figura 1.4. Huevos de *B. tabaci* (izquierda) y *T. vaporariorum* (derecha)

Fuente: <https://www.redyerba.com/usuario/til-la-roche-mendez/blog/lucha-biologica-la-mosca-blanca> (izquierda)

<https://fitosofia.blogspot.com.es/2015/12/mosca-blanca-de-invernaderos-segunda.html> (derecha)

[Consulta: 23/06/17]

Ninfa I

Más conocida como ninfa móvil o “crawler”. La ninfa N1, emerge por la parte superior del huevo cuando éste se encuentra maduro, presentando una longitud alrededor de 0,26-0,29 mm y una anchura de 0,16 mm. Es de color amarillo pálido, aplanada y de contorno elíptico alargado. Su contorno está provisto de finos pelos, regularmente espaciados y dispuestos simétricamente, siendo los dos pares posteriores más largos que el resto. Posee tres pares de patas bien desarrolladas, un par de antenas con cuatro artejos y un par de ojos rojos casi inapreciables. En el caso de *B. tabaci* se aprecia una franja de color amarillo más intenso en su parte posterior.

Es un estado de desarrollo activo en locomoción, que se desplaza en busca de un lugar adecuado para fijarse y comenzar a alimentarse (lo que suele producirse a pocos milímetros del huevo), por eso sus patas y antenas son relativamente grandes. Produce

unas secreciones ceras alrededor de su cuerpo y por el orificio anal excreta gotas de melaza.

Figura 1.5. Ninfa I de *B. tabaci* (izquierda) y *T. vaporariorum* (derecha)

Fuente: <https://www.redyerba.com/usuario/til-la-roche-mendez/blog/lucha-biologica-la-mosca-blanca> (izquierda)

<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=9167> (derecha)

[Consulta: 23/06/17]

Ninfa II

Una vez fijada la ninfa I, se produce la muda, transformándose en ninfa II, para lo cual atrofia las antenas y las patas permaneciendo inmóvil. En cuanto a su forma, es similar a la ninfa I, pero el color es más transparente y el cuerpo más aplanado, presentando un tamaño mayor, de longitud 0,36-0,42 mm y de anchura 0,24-0,33 mm.

Figura 1.6. Ninfa II de *B. tabaci* (izquierda) y *T. vaporariorum* (derecha)

Fuente: <https://fitosofia.blogspot.com.es/2015/12/mosca-blanca-de-invernaderos-segunda.html> (izquierda)

<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=9167> (derecha)

[Consulta: 23/06/17]

Ninfa III

El tercer estadio aparece tras la segunda muda. De aspecto es similar a la ninfa II, con la diferencia de que presenta un contorno ondulado más marcado y es de mayor tamaño, de longitud 0,53-0,60 mm y de anchura 0,36-0,40 mm. Además, ya se observan claramente dos manchas abdominales simétricas denominadas micetomas.

Figura 1.7. Ninfa III de *B. tabaci* (izquierda) y *T. vaporariorum* (derecha)

Fuente: <https://fitosofia.blogspot.com.es/2015/12/mosca-blanca-de-invernaderos-segunda.html> (izquierda)

<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=9167> (derecha)

[Consulta: 23/06/17]

Ninfa IV o “pupa”

Existen algunas discrepancias en la utilización del término “pupa”, puesto que no lo es realmente, ya que existe alimentación en la primera parte del estado, y la transformación en adultos se produce en la parte final del mismo, sin que exista una muda pupal. Por ello sería más correcto utilizar el nombre de ninfa IV en lugar de pupa (Gill, 1990). Sin embargo, la terminología “pupa” sigue siendo la más utilizada en la actualidad.

Tras la tercera muda emerge este último estadio ninfal. La forma del cuerpo sigue siendo elíptica y alargada, con una longitud de 0,75-0,90 mm y anchura de 0,40-0,60 mm, con la región de la cabeza semicircular y un contorno generalmente irregular. En su interior y a ambos lados pueden verse dos bandas de color blanco que son los esbozos alares. En este último estadio se pueden observar diferencias determinantes para distinguir ambas especies. Debido al desarrollo interno del adulto, el dorso puede ser más o menos convexo o elevado, lo que distingue a *B. tabaci* de *T. vaporariorum*. En el caso de la primera, la superficie dorsal es convexa en el centro, permaneciendo bajas las áreas marginales, en la segunda, el dorso es plano y su relieve se eleva en su totalidad, con unos márgenes rodeados con secreción de cera, corta y blanca, en forma de franja laminar. Otro carácter

para diferenciar ambas especies está basado en las setas marginales. En el caso de *T. vaporariorum*, éstas se encuentran muy desarrolladas, variando su longitud según la planta hospedante, sin embargo, *B. tabaci* no presenta estas setas. En el caso de las setas dorsales, ambas especies las pueden presentar, aunque son mucho más potentes en el caso de *T. vaporariorum*.

Figura 1.8. Ninfa IV o “pupa” de *B. tabaci* (izquierda) y *T. vaporariorum* (derecha)

Fuente: <https://es.slideshare.net/utzsamaj/gua-ilustrada-de-plagas-y-enemigos-naturales-en-invernaderos>

[Consulta: 23/06/17]

Adulto

Los adultos de ambas especies son muy similares en su aspecto, son de color blanco, miden aproximadamente 0,90-1,20 mm de largo y 0,32-0,40 mm de ancho, con una longitud de antena de 0,29-0,50 mm. El macho generalmente es más pequeño y más delgado que la hembra, diferenciándose en la parte basal del abdomen, siendo en la hembra de forma redondeada y oval, mientras que en el macho termina en forma de punta. El cuerpo es de color amarillo y está cubierto por un fino polvo blanco, lo que provoca una coloración totalmente blanca, característica de las alas que en principio eran transparentes.

Como diferencia, *B. tabaci* tiene un color ligeramente más amarillo y el tamaño algo menor que *T. vaporariorum*.

En reposo, se encuentra con las alas dispuestas en forma de tejado sobre el dorso del cuerpo, dejando al descubierto la cabeza y el tórax. En el caso de *B. tabaci*, coloca sus alas más en tejado contra su abdomen, con un ángulo aproximado de 45° con la superficie de la hoja. En cambio, *T. vaporariorum* presenta una disposición de las alas, casi paralela con respecto al plano que forma con la superficie de la hoja.

Los ojos compuestos de color rojo oscuro constituyen un carácter que sirve para diferenciar ambas especies. Los ojos están compuestos por unidades visuales llamados

omatidios, que en el caso de las moscas blancas se aglomeran en dos áreas, siendo las áreas inferiores de mayor tamaño. En el caso de *B. tabaci*, las dos áreas de omatidios se encuentran unidas, mientras que en *T. vaporariorum* se encuentran completamente separadas.

Figura 1.9. Adulto de *B. tabaci* (izquierda) y *T. vaporariorum* (derecha)

Fuente: <http://www.genehtik.com/plagas-y-hongos/plagas/mosca-blanca/> (izquierda)

<http://www.biodiversidadvirtual.org/insectarium/Trialetrodes-vaporariorum-img276797.html> (derecha)

[Consulta: 23/06/17]

1.1.6. Comportamiento y ecología

Son muchos los estudios de ecología realizados para *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, en cultivos al aire libre y cultivos en invernaderos, respectivamente.

Cabe señalar, que el crecimiento de población de plaga es bastante complejo dependiendo de la influencia de factores abióticos (como temperatura y humedad), hábitats, plantas hospedantes, variedad, condiciones fisiológicas de la misma, enemigos naturales, etc. Así mismo, las lluvias fuertes son un factor importante en la dinámica de población de mosca blanca, porque disminuyen el número de adultos en campo y pueden desprender gran cantidad de ninfas, lo cual ocasiona disminución de los niveles de infestación (Cardona *et al.*, 2005).

Hay muchos estudios, en ausencia de medidas de control, de la dinámica de población en *B. tabaci* al aire libre, la cual presenta tendencias distintas según el cultivo, pudiendo ser exponencial, lineal, etc. (Butler *et al.*, 1985; Meyerdirk y Coudriet, 1986). En cambio, en el caso de *T. vaporariorum*, en cultivos hortícolas en invernaderos, los crecimientos de población de la plaga tienen claramente una tendencia exponencial. Todos estos estudios han permitido el desarrollo de modelos de simulación de la dinámica de población en ambas especies (Rumei, 1982; Arx von *et al.*, 1983; van Lenteren y Noldus, 1990). Aun así, se ha demostrado que *B. tabaci* tiene un mayor potencial biótico que tiende a desplazar a *T. vaporariorum*.

Además, se conocen otros aspectos de comportamiento de estos insectos plaga. La mayoría de los adultos emergen durante el día y se mueven poco en la noche. Al principio los vuelos son muy cortos, aunque a partir de los nueve días de vida pueden llegar a desplazarse hasta dos metros al día. Su actividad aumenta en las primeras horas de la mañana y se mantiene a lo largo de todo el día. Aunque este insecto es mal volador, las corrientes de aire lo dispersan fácilmente de un cultivo a otro.

Durante el invierno al aire libre, en ausencia de cultivos, *B. tabaci* tiende a trasladarse a otros hospedantes secundarios, donde pasa el invierno generalmente en estadio N4, por ser el estadio más resistente a bajas temperaturas (Horowitz y Gerling, 1992; Powell y Bellow, 1992). Seguidamente, con la llegada de la primavera, los adultos tienden a volver de nuevo hacia los cultivos, iniciándose el desarrollo de poblaciones importantes.

Otro aspecto de comportamiento de ambas especies, en cultivos protegidos, es su tendencia a desplazarse hacia las zonas más cálidas del invernadero, encontrando mayores focos de plaga en estos puntos, y en uno u otro extracto en función del cultivo.

1.1.7. Complejo de especies o biotipos de *B. tabaci*.

La existencia de biotipos de mosca blanca se propuso por los años 50 después de observar que eran difíciles de distinguir por el numeroso rango de hospederos, clima y adaptabilidad. El término “biotipo” se utilizaba para diferenciar entre dos o más individuos morfológicamente parecidos, pero que se diferenciaban en su comportamiento biológico y en su genoma (Bush, 1993). Generalmente estos biotipos estaban descritos por: hospederos, fitotoxicidad, resistencia a plaguicidas, morfología o comportamiento (Brown *et al.*, 1995; Hilge, 2004).

Estudios recientes sugieren que en lugar de una mezcla de biotipos, *B. tabaci* es un complejo de especies crípticas, es decir, que están aisladas reproductivamente de otras especies (Wang *et al.*, 2010a, 2011; Elbaz *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011 y Liu *et al.*, 2012) aunque son morfológicamente indistinguibles (De Barro *et al.*, 2011).

El término “complejo” busca agrupar organismos que perteneciendo a diferentes especies exhiben patrones fenotípicos muy similares entre sí y su separación en diferentes grupos taxonómicos incluye perfiles genéticos que permiten distinguirlos (Almeida y Araujo, 2013). El uso de secuencias de ADN ha sido una nueva herramienta para la distinción y separación de especies morfológicamente indistinguibles, trayendo como consecuencia el incremento exponencial de nuevos complejos de especies señaladas en la literatura (Bickford *et al.*, 2007). Así pues, una manera de distinguir estas especies de *B. tabaci* fue

mediante la secuenciación del gen mitocondrial CO1. El análisis de estas secuencias muestra que la diferencia genética de las poblaciones de *B. tabaci* está relacionada o asociada directamente con el origen geográfico, excepto para las especies MED (Mediterránea) y MEAM1 (Oriente Medio-Asia menor 1) que se encuentran en todo el mundo (De Barro *et al.*, 2005, 2011; De Barro, 2012; De la Rua *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2011; Alemandri *et al.*, 2012).

Como consecuencia del desarrollo y auge de las técnicas moleculares, De Barro *et al.* (2011) propusieron sustituir el término biotipo por el de especies crípticas sugeridas según el patrón geográfico de distribución que muestran estas especies. En los últimos años, el número de especies sugeridas de este complejo varía entre 31 y 36 (Boykin *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2013; Firdaus *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2014).

Entre las especies más destructivas e invasivas dentro del complejo de *B. tabaci* se encuentran las especies MED y MEAM1 nombradas anteriormente, más conocidas como biotipo Q y B, respectivamente (Perring, 2001; De Barro *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011; Pan *et al.*, 2012). Actualmente se considera que la especie MED es una plaga más grave que la especie MEAM1, debido a su mayor capacidad para transmitir virus (Pan *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013) y para desarrollar resistencia a insecticidas (Ghanim y Kontsedalov, 2007; Rauch y Nauen, 2003; Luo *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2014; Gauthier *et al.*, 2014). Aun así, cabe señalar que la especie MEAM1 también es reconocida por su gran capacidad para transmitir begomovirus (Bedford *et al.*, 1994, Morales, 2010).

En definitiva, teniendo en cuenta esta nueva denominación, las poblaciones de *B. tabaci* utilizadas para llevar a cabo este trabajo pertenecen a la especie MED (Mediterránea), denominada antiguamente como 'biotipo Q'.

1.1.8. Daños ocasionados

La mosca blanca puede ocasionar distintos tipos de daños que podemos clasificar en dos grupos:

1.1.8.1. Daños directos

Estos daños son producidos cuando las ninfas y adultos se alimentan chupando la savia del floema, lo cual reduce el vigor de la planta y la calidad del producto, disminuyendo la producción. Para su alimentación, introducen el estilete en la hoja, atravesando la epidermis hasta alcanzar las células del parénquima floemático, y succionan la savia. Al

mismo tiempo inyectan toxinas a través de la saliva. Cuando los ataques son intensos se producen síntomas de deshidratación, detención del crecimiento y marchitez prematura de la planta. También se observan clorosis (Berlinger, 1986).

1.1.8.2. Daños indirectos

Los daños indirectos se clasifican en dos tipos, los producidos por la secreción de melaza y los debidos a su acción como agente transmisor de virus.

En el primer caso, los adultos de mosca blanca expulsan los desechos de la alimentación en forma de melaza, depositándola sobre las hojas, frutos y flores y produciendo la formación de un hongo más conocido como fumagina o negrilla (hongos del género *Cladosporium*). También se puede detectar la presencia de secreción cerosa excretada de los estadios ninfales avanzados, la cual puede propiciar el desarrollo de otras plagas, como cochinillas y ácaros. Todos estos síntomas provocan una disminución de la capacidad fotosintética, que se manifiesta mediante clorosis, debilitamiento general de la planta y posible defoliación (dependiendo de la variedad del cultivo). Asimismo, los frutos cubiertos por la melaza sufren una depreciación importante.

Figura 1.10. Planta de pimiento infectada de fumagina o negrilla

Fuente: https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/raif/novedades/historico/2017/novedad_171004.html

[Consulta: 05/03/18]

En cuanto al papel de la mosca blanca como agente transmisor de virus, señalar que los aleuródidos pueden transmitir más de 300 virus fitopatógenos, siendo la principal especie transmisora de virus *B. tabaci*.

La gran mayoría de virus transmitidos por *B. tabaci* pertenecen al género *Begomovirus* (familia *Geminiviridae*), y algunos otros virus pertenecientes a los géneros *Crinivirus* (familia *Closteroviridae*), *Carlavirus* e *Ipomovirus* (familia *Potyviridae*). En cambio, la mayor parte de virus transmitidos por *T. vaporariorum* pertenecen al género *Crinivirus*.

Dentro del género de los *Begomovirus* el más importante en nuestros cultivos de tomate protegidos es el virus del rizado amarillo o virus de la cuchara (*Tomato Yellow Leaf Curl Virus*, TYLCV), debido a las enormes pérdidas económicas que ocasiona. Este virus se detectó por primera vez en zonas de Murcia y Almería, en otoño de 1992, agravándose su importancia en el verano de 1996, especialmente en las zonas productoras de tomate situadas alrededor de la ciudad de Alicante. Los síntomas que presentan las plantas afectadas por este virus son los siguientes: una reducción de la superficie de los folíolos de las hojas, rizado internervial, amarilleo y enrollado de los bordes hacia arriba, dándoles un aspecto acucharado (Conti *et al.*, 2000). Dentro de este grupo, también cabe destacar el virus del tomate de Nueva Delhi (*Tomato Leaf Curl New Delhi Virus*, ToLCNDV), dados los graves daños ocasionados desde que se detectó por primera vez en España (2013), afectando a cucurbitáceas, principalmente calabacín, melón y sandía, en zonas de Murcia y Almería. Tras establecer y poner en marcha las medidas de control necesarias, para minimizar sus efectos y evitar su propagación, se consiguió estabilizar esta alarmante situación en la primavera del 2014, no produciendo daño económico. La sintomatología es similar a la del virus citado previamente.

Figura 1.11. Planta de tomate infectada por TYLCV

Fuente: <http://ephytia.inra.fr/fr/C/5069/Tomate-Virus-des-feuilles-jaunes-en-cuillere-TYLCV>

[Consulta: 13/07/17]

Figura 1.12. Planta y fruto de calabacín infectado por ToLCNDV

Fuente: <http://www.innovagri.es/control-biologico/control-en-invernadero-del-virus-de-nueva-delhi.html>

[Consulta: 13/07/17]

Entre los *Crinivirus* que más afectan a nuestros cultivos protegidos, caben destacar el virus del amarilleo del pepino (CuYV), el virus del enanismo amarillo del pepino (CYSDV) y el virus de la clorosis del tomate (ToCV).

No obstante, en los últimos años también ha adquirido gran importancia el virus de las venas amarillas del pepino (CVYV), que pertenece al género de los *Ipomovirus*. Este virus aparece en el poniente almeriense alrededor del 2003, causando importantes daños en diversos cultivos de cucurbitáceas, principalmente en pepino. Las medidas de control llevadas a cabo y el uso de variedades resistentes han permitido disminuir el impacto de este virus en la agricultura.

Entre otros citamos el virus del mosaico amarillo del tomate (*Tomate Yellow Mosaic Virus*, TYMV) y el virus del mosaico dorado del tomate (*Tomato Golden Mosaic Virus*, TGMV).

1.2. Métodos de control

Hoy en día se trata de integrar los distintos métodos de lucha empleando conjuntamente, prácticas culturales, manejo del cultivo, productos químicos y lucha biológica, con la finalidad de lograr un control racional de la plaga reduciendo las aplicaciones de productos fitosanitarios.

1.2.1. Control cultural

Existen varias prácticas culturales que son comúnmente recomendadas y utilizadas para impedir o disminuir el acceso de mosca blanca al cultivo, tales como (Saunders *et al.*, 1998):

- Determinar la fecha de siembra óptima, intentando evitar la siembra de especies vegetales susceptibles.
- Llevar a cabo una rotación de cultivos así como evitar siembras escalonadas que suministren a las poblaciones de mosca blanca de una fuente continua de alimento.
- Utilizar plantas o cultivos secundarios como barrera o trampa (Salas, 2004).
- Eliminar las malas hierbas y restos vegetales de cosechas anteriores, en la parcela de cultivo y en sus alrededores, puesto que son potenciales focos de plaga y reservorio de virus.
- Al terminar la cosecha, realizar los tratamientos adecuados para evitar que persista cualquier estado de la plaga en la estructura.

- Colocar placas amarillas engomadas puede facilitar la detección de la plaga y su evolución, pudiendo optimizar los tratamientos.
- Controlar el plantel proveniente de semilleros, ya que es una de las fuentes más habituales de introducción de la plaga.

1.2.2. Control biológico

Debido a la búsqueda necesaria de métodos alternativos al control químico, la lucha biológica está en expansión en las distintas zonas hortícolas productoras, especialmente en cultivos protegidos.

Aunque la combinación de enemigos naturales y fitosanitarios es una técnica ampliamente utilizada con éxito en todo el mundo (Heinz *et al.*, 2004), también se conocen muchos estudios donde el uso de agentes de control biológico ha resultado muy exitoso, sin necesidad de emplear otras medidas de control complementarias (Huffaker y Messenger, 1976; van Driesche y Bellows, 1996; Collier y van Steenwyk, 2004; Stiling y Cornelissen, 2005).

Concretamente, para el control de mosca blanca ya se pueden utilizar una gran cantidad de enemigos naturales (Gerling *et al.*, 2001), los cuales se clasifican según su actividad en depredadores, parasitoides y patógenos.

La mayoría de los **depredadores** de *B. tabaci* son escarabajos (Coccinellidae), chinches (Miridae, Anthocoridae), neurópteros (Chrysopidae, Coniopterygidae), ácaros (Phytoseiidae) y arañas (Araneae) (Gerling *et al.*, 2001; Avilla *et al.*, 2004). El control biológico potencial ha sido reconocido en varias especies, como *Nesidiocoris tenuis* (Calvo y Urbaneja, 2004; Calvo *et al.*, 2009b) y *Macrolophus caliginosus* (Miridae) (Alomar *et al.*, 2006), *Delphastus catalinae* y *Serangium parcesetosum* (Coccinellidae), *Chrysoperla carnea* y *C. rufilabris* (Chrysopidae) (Gerling *et al.*, 2001). Dentro de los ácaros se han encontrado los géneros *Amblyseius* y *Typhlodromus* alimentándose de *B. tabaci* (Gerling, 2003). En muchos estudios, ya se ha mostrado al depredador *Amblyseius swirskii* (Athias- Henriot) (Acari: Phytoseiidae) como un enemigo natural con grandes posibilidades para el control biológico de *B. tabaci*, (Nomikou *et al.*, 2002, 2003; van Houten *et al.*, 2005; Messelink *et al.*, 2006, 2008; Calvo *et al.*, 2009a, 2015) con capacidad para alimentarse de polén y otras plagas, y sobrevivir a expensas de otras fuentes de alimento (Goleva y Zebitz, 2013).

Entre los **parasitoides** de las moscas blancas, los géneros *Encarsia*, *Eretmocerus* y *Amitus* son considerados como los más promisorios en los programas de control biológico de *T. vaporariorum* y *B. tabaci* y son los más estudiados en sus aspectos biológicos e

interacciones planta-plaga-parasitoide. Según Vázquez (2002) y López-Ávila (2001), *Encarsia formosa* Gahan sería la especie mejor conocida y más estudiada. Algunos estudios han mostrado que *E. formosa* puede parasitar efectivamente a las moscas blancas, aunque algunos factores como el origen del parasitoide, estadio u hospedante de donde provienen podrían afectar a su eficacia (Zhang *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2015). Por otra parte, se ha demostrado la eficacia en campo del parasitoide *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) (Téllez *et al.*, 2003; Stansly *et al.*, 2005), convirtiéndose en la base del control biológico de *B. tabaci* (Urbaneja *et al.*, 2003). Sin embargo, actualmente la cría en masa de *E. mundus* es muy problemática (A. Pekas, com. per.), por lo que se ha pasado a usar una especie próxima, *E. eremicus*.

Por último, el uso de **hongos entomopatógenos** también se considera una importante alternativa frente al control de mosca blanca, atacando principalmente a estadios inmaduros (Park y Kim, 2010; Norhelina *et al.*, 2013). Algunos de ellos, como *Beauveria bassiana* (Balsamo), *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize), *Lecanicillium lecani* (Zimmerman) y *Verticillium lecanii* (Zimmerman), han mostrado un alto potencial de control frente a moscas blancas en invernaderos (Fargues *et al.*, 2003; Cuthbertson y Collins, 2015). Experimentos realizados tanto en campo como en laboratorio han demostrado que el uso de nemátodos entomopatógenos también es eficaz frente a *B. tabaci*, siendo *Steinernema feltiae* un buen candidato para el manejo de esta plaga (Head *et al.*, 2004; Cuthbertson y Walters, 2005; Cuthbertson *et al.*, 2007).

1.2.3. Control químico

Con objeto de evitar aparición de resistencias, se recomienda alternar las distintas materias activas con distintos modos de acción.

Son muchos los grupos insecticidas utilizados para el control de mosca blanca, a continuación se definen los utilizados para llevar a cabo este trabajo.

Neonicotinoides

En este grupo se encuentran imidacloprid y tiametoxam, que según la clasificación de los modos de acción de IRAC pertenecen al grupo 4A Agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina.

Los neonicotinoides actúan de modo selectivo e irreversible sobre los receptores nicotínicos de la acetilcolina en las células nerviosas de los insectos, paralizándolos y provocando su muerte (Tomizawa y Casida, 2003; Millar y Denholm, 2007). Este grupo

químico es recomendado frente a un amplio espectro de insectos chupadores y determinados masticadores (Jeschke y Nauen, 2008).

El representante inicial de este grupo insecticida es imidacloprid, introducido en 1991 (Elbert *et al.*, 1991). Es un insecticida sistémico y residual con actividad por contacto e ingestión, es absorbido por vía radicular y foliar, lo cual le permite distribuirse uniformemente por toda la planta (Elbert *et al.*, 1998). Los insectos tratados muestran inmediatamente los síntomas del envenenamiento con excitación y parálisis. Muestra actividad antialimentaria paralizando la acción de alimentarse de los insectos. Esta acción evita inmediatamente la transmisión de virus y controla el daño producido por los insectos.

Piretroides

Entre los piretroides, alfa-cipermetrín es uno de los insecticidas más utilizados (Arafa *et al.*, 2015) para el control de mosca blanca. Presenta una actividad insecticida, no sistémico, actuando por contacto e ingestión. Según la clasificación de los modos de acción de IRAC, pertenece al grupo 3A Moduladores del canal de sodio.

Su acción, como casi todos los insecticidas, es a nivel sistema nervioso, generando una alteración de la transmisión del impulso nervioso. Su efecto fundamental debe a una modificación en el canal del sodio de la membrana nerviosa.

Los piretroides afectan tanto el sistema nervioso periférico como el central del insecto. Inicialmente estimulan las células nerviosas a producir descargas repetitivas y eventualmente causan parálisis. Tales efectos son causados por su acción sobre el canal de sodio, un hueco diminuto que le permite a los iones de sodio penetrar al axón y causar excitación nerviosa (Narahashi, 1992).

Reguladores del crecimiento

Particularmente, los reguladores del crecimiento afectan al crecimiento y al desarrollo de los insectos-plaga, como imitadores análogos de la hormona juvenil y como inhibidores de la síntesis de quitina. A los compuestos simuladores de la hormona juvenil se les conoce por juvenoides, los cuales alteran el desarrollo inmaduro y la emergencia como adultos.

Dentro de este grupo se encuentra piriproxifén que es un insecticida hormonal, con actividad por ingestión y contacto. Afecta a la fisiología de la morfogénesis, reproducción y embriogénesis de los insectos (Ishaaya y Horowitz, 1992; Naranjo *et al.*, 2004). Según la clasificación de los modos de acción de IRAC, pertenece al grupo 7C Miméticos de

hormonas juveniles. Muchos estudios han demostrado que piriproxifén es muy efectivo frente a mosca blanca, especialmente en huevos de *B. tabaci* (Ishaaya y Horowitz, 1992; Lee *et al.*, 2002; Naranjo *et al.*, 2004; Qureshi *et al.*, 2009), así como a otras plagas (Liu y Chen, 2001).

También azadiractín, un tetranortriterpeno derivado del árbol del Neem (*Azadirachta indica*). Actúa por contacto e ingestión. También como un fuerte repelente y antialimentario, atrasando o evitando la muda, reduciendo el crecimiento y la oviposición y causando una alta mortalidad, particularmente en estadios inmaduros, como bien es documentada en un amplio espectro de insectos fitófagos, incluyendo a *B. tabaci* (Mitchell *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2005). Es poco tóxico frente a insectos beneficiosos, lo cual incrementa su valor potencial para la gestión de plagas. Tanto su aplicación foliar como sistémica, puede proporcionar un control eficaz frente a moscas blancas u otras plagas (Thoeming *et al.*, 2003; Kumar y Poehling, 2006; Wen *et al.*, 2008). Según la clasificación de los modos de acción de IRAC pertenece al grupo “un” Compuestos de modo de acción desconocido o incierto.

Piridinazometrinas

A este grupo pertenece la pimetrocina, con actividad insecticida selectiva, por contacto e ingestión. Según la clasificación de los modos de acción de IRAC pertenece al grupo 9B Bloqueadores selectivos de la alimentación de homópteros.

Este insecticida es el único representante de las piridinas azometinas, una clase química de insecticidas, muy efectiva en el control de pulgones y moscas blancas debido a su alta actividad sistémica (Kristinsson, 1994; Wyss y Bolsinger, 1997; Fuog *et al.*, 1998). Este compuesto afecta a los nervios de la bomba salivar de algunos chupadores causando la inmediata interrupción de la alimentación a las pocas horas de ser aplicado y, en consecuencia, la muerte por inanición (Harrewijn y Kayser, 1997).

Piridazinonas

En este grupo químico se encuentra piridabén, con actividad insecticida y acaricida por contacto, por lo que debe pulverizarse muy bien la totalidad de la planta. Se caracteriza por su gran efecto de choque, larga persistencia y selectividad frente a insectos. Es un inhibidor metabólico que interrumpe el transporte de electrones en las mitocondrias en el Sitio 1. Según la clasificación de los modos de acción de IRAC pertenece al grupo 21A acaricidas e insecticidas METI, inhibidores del transporte de electrones en el complejo mitocondrial I.

Butenolidos

Flupiradifurona es un nuevo insecticida que pertenece a la clase química de los butenolidos, con actividad insecticida y sistémico (Nauen *et al.*, 2015). Según la clasificación de los modos de acción de IRAC, pertenece al grupo 4, en un nuevo subgrupo 4D, agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR) (Sparks y Nauen, 2015).

Actúa sobre el sistema nervioso central de los insectos como agonista del receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR) en las plagas objetivo. Este ingrediente activo imita al neurotransmisor natural, pero al contrario que la acetilcolina no puede inactivarse mediante la acetilcolinesterasa. El efecto duradero del producto da como resultado la alteración del sistema nervioso del insecto y su posterior colapso.

Esta materia activa muestra una excelente y rápida acción frente a un amplio espectro de insectos chupadores, incluyendo poblaciones de insectos resistentes a neonicotinoides, tales como áfidos o moscas blancas expresando mecanismos de resistencia metabólica (Jeschke *et al.*, 2015). Por tanto, este nuevo insecticida se ha convertido en una herramienta muy valiosa para la gestión de la resistencia en el control de plagas sostenibles.

Sulfoximinas

Las sulfoximinas son una nueva clase de insecticidas dirigidos a insectos plaga chupadores (Babcock *et al.*, 2011; Sparks *et al.*, 2012), siendo sulfoxaflor el componente principal para el desarrollo comercial de este nuevo grupo insecticida.

Sulfoxaflor es un insecticida con actividad por contacto e ingestión, presenta una estructura química novedosa y ausencia de resistencia cruzada. Según la clasificación de los modos de acción de IRAC, pertenece al grupo 4, subgrupo 4C, siendo el único miembro de este subgrupo. Respecto a su modo de acción, tiene interacciones únicas y complejas con los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR) en los insectos, que son distintas a las observadas con los neonicotinoides. Este insecticida es un agonista altamente eficaz de los receptores nicotínicos de acetilcolina con baja afinidad por el sitio de unión (acoplamiento) de neonicotinoides.

1.2.3.1. Materias activas objeto de tesis

Seguidamente, se detallan algunas de las características principales de las tres materias activas objeto de tesis, spiromesifén, spirotetramat y ciantraniliprol.

Spiromesifén

Spiromesifén fue introducido en España en el año 2009, con actividad insecticida y acaricida por contacto, no sistémico (Bretschneider *et al.*, 2003; Nauen *et al.*, 2003, 2005). Es un insecticida que pertenece a los derivados del ácido tetrónico, grupo 23 de la clasificación que propone el Comité de Acción contra la Resistencia a Insecticidas (IRAC), y fue descubierto y desarrollado por Bayer CropScience.

Este grupo de insecticidas es muy selectivo y están logrados para ser compatibles con el uso de muchos enemigos naturales (Nauen *et al.*, 2003; Elbert *et al.*, 2005). Además, tiene propiedades que son similares a los insecticidas reguladores del crecimiento (IGRs), que afectan al desarrollo de las etapas de la vida de la plaga sin ningún signo de actividad neurotóxica. Actúa como un inhibidor de la biosíntesis de lípidos e interfiere con el desarrollo de los huevos y estadios inmaduros, reduciendo la fecundidad de las hembras adultas (Bretschneider *et al.*, 2003).

En 2008, spiromesifén se mostró como una herramienta muy valiosa, siendo un excelente candidato de rotación en el programa de gestión de la resistencia para el control de mosca blanca (Prabhaker *et al.*, 2008). Las pulverizaciones foliares de spiromesifén eran eficaces contra mosca blanca en algodón, hortalizas, melones, y plantas ornamentales (Palumbo, 2004; Elbert *et al.*, 2005). Este agente de control químico, demostró su utilidad para el control de plagas resistentes como *B. tabaci* biotipo Q desde el sur de Europa e Israel, mostrando una alta eficacia tanto en ensayos de laboratorio como de campo (Guthrie *et al.*, 2003; Liu, 2004).

Spirotetramat

Spirotetramat fue registrado en España en el año 2012. Pertenece a la clase química de los ácidos tetrónicos y tetrámicos, grupo 23 de la clasificación de IRAC, siendo el tercer miembro de la familia de los ketoenoles (Marcic *et al.*, 2011), y fue descubierto y desarrollado por Bayer CropScience.

Cabe señalar, que esta materia activa muestra un comportamiento sistémico único a través del xilema y del floema, que es su doble sistemía (ascendente y descendente) permitiendo la movilidad del producto en la planta, siempre que se den las condiciones adecuadas para

ello. Una vez que spirotetramat penetra en las células vegetales, se transforma rápidamente a su forma enol, lo que le permite transportarse a través del floema teniendo una mejor distribución en la planta.

El perfil de toxicidad de spirotetramat es similar al de los reguladores del crecimiento de los insectos, el cual afecta al desarrollo de las fases de la vida de las plagas (Bretschneider *et al.*, 2007; Cantoni *et al.*, 2008; Brück *et al.*, 2009).

Esta materia activa actúa especialmente en la plaga objeto por ingestión, inhibiendo la síntesis de lípidos para provocar la interrupción del desarrollo, como la alimentación de los insectos de plantas tratadas (Bretschneider *et al.*, 2007).

En estudios previos, este compuesto mostraba una alta eficacia frente a estadios inmaduros, siendo también conocido por reducir la fecundidad en hembras adultas (Wachendorff *et al.*, 2002; Nauen *et al.*, 2005; Marcic *et al.*, 2010), por lo que se mostraba particularmente eficaz frente a una amplia gama de parásitos chupadores del grupo de los homópteros, como son áfidos, moscas blancas, psílidos y cochinillas (Nauen *et al.*, 2008b).

Debido a la falta de resistencia cruzada con otras clases de insecticidas químicos (Nauen *et al.*, 2008b), spirotetramat mostró ser una valiosa herramienta para el manejo de resistencia a insecticidas en muchas plagas y cultivos a nivel mundial.

Ciantraniliprol

Es una nueva diamida antranílica de segunda generación con un amplio espectro de acción, perteneciente al grupo 28 de la clasificación de IRAC. Fue descubierta por DuPont y desarrollada por Dupont y Syngenta.

Tiene un nuevo modo de acción, actuando en los receptores de la rianodina de los insectos, y consecuentemente afectando en su función muscular. Posee actividad sistémica (absorción por vía radicular) y por contacto (absorción por vía foliar). Según estudios realizados por Cameron *et al.* (2013, 2014), esta materia activa actúa rápidamente sobre el insecto, ocasionando que deje de alimentarse, se paralice y muera en un período de 1 a 3 días, disminuyendo a su vez la transmisión de virosis (Govindappa *et al.*, 2013; Jacobson y Kennedy, 2013).

Además, presenta un perfil medioambiental favorable, debido a su rápida degradación y a su baja toxicidad frente a organismos (Lahm *et al.*, 2005; Cordova *et al.*, 2006; Sattelle *et al.*, 2008).

Cabe señalar, que una de sus características principales es que funciona sobre un amplio espectro de plagas, a diferencia de las otras diamidas, como por ejemplo flubendiamida y cloranthraniliprol, que son específicas para lepidópteros.

Muchos estudios realizados en laboratorio han mostrado una alta eficacia de ciantraniliprol frente a *B. tabaci* (Li *et al.*, 2012; Caballero *et al.*, 2013; Grávalos *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017) y otras plagas, como *Dendroctonus ponderosae* (Fettig *et al.*, 2011), *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* (Foster *et al.*, 2012), mostrándose como una herramienta valiosa para el control de *Frankliniella occidentalis* (Bielza y Guillén, 2015).

1.3. Resistencia a insecticidas

1.3.1. Definiciones y tipos

El concepto de resistencia a insecticidas es complejo y controvertido, ya que es un fenómeno muy relativo (Brattsten, 1989), por lo que se han propuesto diversas definiciones de resistencia.

El Comité de Acción contra la Resistencia a Insecticidas (IRAC) la define como un cambio heredable en la sensibilidad de una población de una plaga, que se refleja en repetidos fallos de un producto, para alcanzar los niveles de control esperados al ser usado de acuerdo con las recomendaciones de la etiqueta para esa plaga.

Según Crow (1960) es el cambio genético en respuesta a la selección por plaguicidas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) (Brown y Pal, 1971) la define como la evolución de un brote de insectos, con la capacidad de tolerar dosis de tóxicos que serían mortales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1979) enmarca la resistencia como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos, al no ser afectada por la aplicación de insecticidas.

Técnicamente, se define 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.

Existen dos términos adicionales asociados con resistencia:

Resistencia cruzada (positiva o negativa): La resistencia cruzada “positiva” es el fenómeno por el cual una población de artrópodos, sometida a presión de selección con un plaguicida, adquiere resistencia a él y a otros insecticidas relacionados toxicológicamente que no han sido aplicados, pero que son afectados, al menos, por un mecanismo de resistencia común. La resistencia cruzada “negativa”, se presenta cuando una población que ha adquirido resistencia a un insecticida, regresa a una susceptibilidad cercana a la original, como consecuencia de la aplicación de otro insecticida que es toxicológicamente diferente (Georghiou y Lagunes, 1991).

Resistencia múltiple: Este término, se usa cuando una población adquiere resistencia a varios insecticidas, tanto a aquellos que han sido aplicados, como a otros que no han sido aplicados. En este caso, la población posee varios mecanismos de resistencia de forma simultánea (Georghiou, 1965).

1.3.2. Mecanismos de resistencia

Cada insecticida desencadena la selección de uno o más mecanismos de resistencia, además de un desconocido número de modificadores de conducta, especialmente en adultos.

Miller (1988) clasificó la resistencia en cuatro tipos: por comportamiento, por penetración reducida, en el punto de acción y metabólica.

1. Resistencia por comportamiento: Este mecanismo de resistencia se produce cuando los insectos resistentes no entran en contacto con el insecticida, debido a un comportamiento de escape. Consiste en un cambio en el comportamiento de los insectos y ácaros, en el que los individuos resistentes evitan el contacto con el insecticida, sobreviviendo a diferencia del resto. Cuando se realiza un tratamiento, los insectos susceptibles entran en contacto con el insecticida y mueren; por el contrario, los insectos resistentes evitan el contacto con el insecticida, gracias a unas pautas de comportamiento modificado. Aun así, ésta no es una resistencia real, se conoce como pseudoresistencia, ya que si los individuos resistentes fuesen directamente expuestos al insecticida, morirían. Cabe señalar, que este mecanismo de resistencia no es muy importante, ya que no confiere altos niveles de resistencia en el campo.

2. Resistencia por penetración reducida: Este mecanismo disminuye la cantidad de insecticida que entra en el cuerpo del insecto. Los insectos resistentes tienen una cutícula

que reduce la absorción del insecticida, es decir, una cutícula modificada con una penetración reducida de los insecticidas, a diferencia de los insectos susceptibles que tienen una cutícula normal. Por tanto, en un insecto susceptible, el insecticida penetra a través de la cutícula alcanzando el punto de acción y matando al insecto; por el contrario, en un insecto resistente, el insecticida no penetra a través de la cutícula de manera suficiente como para matar al insecto.

3. Resistencia metabólica: Este tipo de mecanismo se produce cuando los insectos resistentes detoxifican o degradan el insecticida. Es el mecanismo más universal, siendo responsable de la mayoría de los casos de resistencia. Como todos los animales y plantas, todos los insectos y ácaros tienen varios sistemas enzimáticos para detoxificar cualquier toxina que penetra en su cuerpo, pudiendo también degradar y metabolizar los insecticidas. Los insectos susceptibles presentan un sistema de detoxificación básico, de tal forma que cuando las moléculas del insecticida penetran en el insecto, los enzimas de detoxificación los metaboliza pero no son capaces de degradar todas las moléculas, por lo que algunas alcanzan su punto de acción y el insecto muere. En cambio, un insecto resistente tiene más enzimas de detoxificación y/o nuevas enzimas mutadas más eficientes y con una mayor afinidad por el compuesto insecticida, por tanto, el sistema de detoxificación mejorado permite la degradación de todas o casi todas las moléculas del insecticida, y el insecto sobrevive al tratamiento insecticida.

Existen tres sistemas enzimáticos principales responsables de la resistencia insecticida (Li *et al.*, 2007; Russell *et al.*, 2011): las P-450 monooxigenasas que metabolizan la materia activa del insecticida mediante oxidaciones, las esterasas mediante hidrólisis y las glutatión S-transferasas mediante conjugaciones.

- P-450 monooxigenasas: Las enzimas P-450 (mezcla funcional de oxidasas, citocromo P-450 monooxigenasas) son una compleja familia de enzimas establecida en la mayoría de los organismos, que poseen una gran variedad de actividades enzimáticas (oxidasa, reductasa, isomerasa, etc.). Este grupo de enzimas se caracteriza por alcanzar su pico de absorción de luz a los 450 nm y por utilizar el NADPH para oxidar el sustrato (Omura y Sato, 1964). Las enzimas P-450 tienen un importante papel en la adaptación de insectos a compuestos tóxicos de su planta hospedadora y están involucradas en el metabolismo de todos los insecticidas comúnmente usados. El citocromo P-450 está implicado como el factor principal en muchos casos de resistencia metabólica a carbamatos y también detoxifican insecticidas organofosforados, piretroides y organoclorados (DDT) entre otros (Casida, 1970; He *et al.*, 2002).

- Esterasas (ESTs): Este grupo de enzimas ha sido reconocido como uno de los sistemas más importantes en el metabolismo de compuestos xenobióticos, y su mecanismo está asociado con la producción masiva de enzimas hidrolíticas y de secuestro en varias especies de insectos (Devonshire, 1977; Mouches *et al.*, 1987). Las esterasas merecen especial atención, ya que pueden estar implicadas en la resistencia a los principales grupos químicos utilizados en los programas de control de plagas (Li *et al.*, 2007; Nauen, 2007). Algunos estudios han demostrado que estas enzimas están implicadas en la resistencia a organofosforados y piretroides (Li *et al.*, 2007; Hotelier *et al.*, 2010; Bass y Field, 2011). Dentro de este grupo enzimático podemos clasificar: carboxilesterasas, fosforotriesterasas, según produzcan hidrólisis de grupos carboxiester o fosforotriester (Bisset, 2002).
- Glutación S-Transferasas (GST): Estas enzimas tienen gran importancia en la detoxificación metabólica en todos los animales y son conocidas por estar involucradas en la resistencia de los insectos a los insecticidas organofosforados. Se clasifican de acuerdo con la reacción que catalizan como alquil, aril y epoxitransferasas (Terriere, 1984).
Las transferasas del glutatión son importantes en la detoxificación de organofosforados y proveen la forma más importante de resistencia metabólica al DDT a través de la dehidroclorinación (Lalah *et al.*, 1995).

4. Resistencia en el punto de acción: Se produce cuando los insectos resistentes tienen modificado el punto de acción del insecticida, por lo que no puede actuar. La resistencia en el punto de acción es la más grave, ya que confiere un nivel de resistencia muy alto y resistencia cruzada con otros insecticidas que actúan en el mismo punto de acción. Cada insecticida tiene un punto de acción en el insecto, el sitio de acción donde el insecticida actúa provocando su efecto plaguicida. Tras un tratamiento, el insecticida alcanza su punto de acción y se acopla, interaccionando y causando su efecto letal. En cambio, un insecto resistente tiene ese punto de acción modificado, alterado genéticamente, lo cual evita el acoplamiento al insecticida, impidiendo que actúe. Cuando se produce este mecanismo de resistencia, es aconsejable alternar insecticidas con diferentes modos de acción.

Existen tres puntos de acción principales de los insecticidas que son afectados por este mecanismo:

- Acetilcolinesterasa (AChE): Esta enzima tiene un papel clave en el sistema nervioso, para la terminación de impulsos nerviosos al catalizar la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina. AChE es el principal blanco para organofosforados

(OPs) y carbamatos, los cuales inhiben la actividad enzimática mediante fosforilación covalente o carbamilatando el residuo de serina dentro del sitio activo (Corbett, 1974). Los OPs son inhibidores irreversibles de AChE, provocando la caída del sistema nervioso central y la muerte del insecto (Fournier y Mutero, 1994). Se ha informado que un importante mecanismo de resistencia a OPs en insectos (Hemingway *et al.*, 2004; Temeyer *et al.*, 2004, 2007), son las mutaciones puntuales en el gen estructural que codifica la AChE que dan por resultado la producción de una enzima alterada.

- Cambios en el Receptor GABA (Ácido γ -aminobutírico): En artrópodos, GABA es un neurotransmisor inhibitorio en uniones neuromusculares y sinapsis del sistema nervioso central, el cual actúa a través de un receptor. Al unirse el GABA al receptor, puede fluir una corriente de iones de cloro, modificando el potencial eléctrico de las células. Estos receptores son también el sitio de unión de algunos tóxicos como la picrotoxina e insecticidas derivados del ciclodieno, los cuales bloquean la acción fisiológica normal del GABA. Los ciclodienos impiden que los iones de cloruro entren a la neurona, y por eso antagonizan el efecto GABA. Al encontrarse que los insectos que muestran resistencia a los ciclodienos son también resistentes a la picrotoxina, muchos investigadores han sugerido y demostrado que esta resistencia se origina en una modificación del receptor al GABA (Ffrench-Constant *et al.*, 1993).
- Canales de sodio dependientes del voltaje (kdr): Los canales de sodio dependientes del voltaje son el blanco de acción del DDT y piretroides. La alteración del canal de sodio provocada por el insecticida, es un importante mecanismo de resistencia que confiere insensibilidad nerviosa, causando decaídas lentas del potencial de acción y generando la iniciación de descargas repetitivas en los axones motores y sensoriales (Soderlund y Bloomquist, 1989), siendo conocida como resistencia “knockdown” o kdr. Los insecticidas piretroides y DDT interfieren con la velocidad de cierre de los canales iónicos quedando la membrana nerviosa excitada permanentemente y produciendo lesiones críticas primarias que conducirán a la muerte del insecto (Magnin *et al.*, 1985; Leclant, 1988).
Esta mutación kdr, ya se ha identificado en insectos resistentes a piretroides pertenecientes a los órdenes Diptera, Blattodea (Dong, 1997), Lepidoptera y Hemiptera (Martínez-Torres *et al.*, 1999).

En definitiva, señalar que los mecanismos más importantes son: la resistencia metabólica, por ser el mecanismo más común en la mayoría de casos de resistencia, y en el punto de acción, por ser la que confiere mayor resistencia en campo.

1.3.3. Resistencia a insecticidas en *B. tabaci* y *T. vaporariorum*

Ambas especies de mosca blanca han desarrollado resistencia a la mayoría de insecticidas utilizados para su control. La necesidad de una mayor diversidad de compuestos químicos para el control de mosca blanca ha dado lugar a la introducción de diferentes insecticidas con nuevos modos de acción. Así pues, para mantener el nivel de eficacia de estos nuevos compuestos, es necesario recaudar información de resistencia a insecticidas en ambas especies, con el fin de poder elaborar nuevas estrategias de control anti-resistencia.

B. tabaci ha desarrollado resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides en diferentes regiones del mundo, y a otras materias activas, incluyendo pimetozina y piriproxifén (Dittrich *et al.*, 1990; Denholm *et al.*, 1996; Castle *et al.*, 2009). Concretamente, *B. tabaci* MED se caracteriza por la capacidad de desarrollar altos niveles de resistencia a piriproxifén y a la mayoría de insecticidas neonicotinoides (Horowitz *et al.*, 2003, 2004).

En estudios previos, la resistencia a imidacloprid, tiametoxam y otros insecticidas neonicotinoides ha sido documentada en poblaciones de *B. tabaci* en varias partes del mundo (Cahill *et al.*, 1996; Nauen *et al.*, 2002; Nauen y Denholm, 2005; Wang *et al.*, 2010b; Fernández *et al.*, 2009; Houndété *et al.*, 2010; Schuster *et al.*, 2010; Vassiliou *et al.*, 2011; Bass *et al.*, 2015) incluyendo el suroeste de los Estados Unidos (Prabhaker *et al.*, 2005; Castle y Prabhaker, 2013) y Florida (Schuster *et al.*, 2010; Caballero *et al.*, 2014). La resistencia a imidacloprid se documentó por primera vez en la región de Almería del sur de España a mediados del decenio de 1990 (Cahill *et al.*, 1996; Elbert y Nauen, 2000), siendo también detectada en poblaciones de Italia y Alemania (Elbert y Nauen, 2000; Nauen *et al.*, 2002) y en Arizona, aunque a niveles más bajos (Li *et al.*, 2001). En algunos estudios se ha comprobado que la resistencia a neonicotinoides en *B. tabaci* MED y MEAM1 es debida al citocromo P-450 monooxigenasas (Nauen *et al.*, 2002; Karunker *et al.*, 2008).

La resistencia a alfa-cipermetrín también fue detectada en poblaciones de *B. tabaci* recolectadas en cultivos de berenjena en Grecia (Roditakis *et al.*, 2005). Los mecanismos involucrados en la resistencia a este compuesto parecen estar asociados tanto con una mutación en el punto de acción como con las esterasas (Roditakis *et al.*, 2009).

En cuanto a la otra especie de mosca blanca *T. vaporariorum*, también ha desarrollado resistencia en diferentes regiones de todo el mundo a numerosos grupos químicos, incluidos insecticidas piretroides (Wardlaw, 1985; Karatolos *et al.*, 2012a), neonicotinoides (Bi y Toscano, 2007; Gorman *et al.*, 2007; Karatolos *et al.*, 2010) y recientemente ketoenoles (Karatolos *et al.*, 2012b). En los últimos años se han realizado estudios para conocer los mecanismos responsables en la resistencia a insecticidas de *T. vaporariorum* (Karatolos *et al.*, 2011, 2012a, 2012b, 2012c). Al igual que en otras plagas agrícolas, como *B. tabaci* (Roditakis *et al.*, 2006), *Tuta absoluta* (Haddi *et al.*, 2012) y *Thrips tabaci* (Toda y Morishita, 2009), la resistencia a piretroides en *T. vaporariorum* parece ser debida a una mutación en el punto de acción causada por una alteración en el canal de sodio dependiente del voltaje (Karatolos *et al.*, 2012a). Además, los mecanismos involucrados en la resistencia a ketoenoles también han sido estudiados. En este caso, la mutación E645K en el gen ACCase, el sitio de acción de los ketoenoles, ha sido asociada con la resistencia a spiromesifén (Karatolos *et al.*, 2012b).

En la literatura ya se conocen casos de resistencia cruzada entre neonicotinoides y pimetrocina en ambas especies de mosca blanca. En el caso de *B. tabaci*, se sugiere que la resistencia a pimetrocina podría ser conferida por el citocromo P-450 monooxigenasas, al igual que la resistencia a imidacloprid (Nauen *et al.*, 2013). Otros experimentos también confirmaron resistencia cruzada entre pimetrocina y tiametoxam (Nauen *et al.*, 2013). Así pues, la resistencia cruzada entre pimetrocina y la mayoría de insecticidas neonicotinoides quedaría bien establecida en *B. tabaci* (Gorman *et al.*, 2010). De igual forma, estas resistencias cruzadas también fueron descritas en la mosca blanca de los invernaderos *T. vaporariorum* (Karatolos *et al.*, 2010). Por lo general, la resistencia cruzada entre los neonicotinoides y pimetrocina es conferida probablemente por el mismo mecanismo de detoxificación, como la sobreexpresión del citocromo P450-monooxigenasas, el cual es capaz de metabolizar ambos insecticidas a pesar de su aparente disimilitud estructural (Roditakis *et al.*, 2011; Nauen *et al.*, 2008a; Jones *et al.*, 2011).

1.4. Bibliografía

- Alemandri, V., De Barro, P., Bejerman, N., Argüello Caro, E.B., Dumón, AD., Mattio, M.F., Rodriguez, S.M., Truoli, G., 2012. Species within the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) complex in soybean and bean crops in Argentina. *Journal of Economical Entomology* 105: 48- 53.
- Almeida, L.A., Araujo, R., 2013. Highlights on molecular identification of closely related species. *Infection Genetic and Evolution* 13: 67-75.

- Alomar, O., Riudavets, J., Castañe, C., 2006. *Macrolophus caliginosus* in the biological control of *Bemisia tabaci* on greenhouse melons. *Biological Control* 36: 154-162.
- Arafa, M.H., Mohamed, D.A., Atteia, H.H., 2015. Ameliorative effect of N-acetyl cysteine on alpha-cypermethrin-induced pulmonary toxicity in male rats. *Environmental Toxicology* 30: 26-43.
- Arx von, R., Baumgärtner, J., Delucchi, V., 1983. A model to simulate the population dynamics to *Bemisia tabaci* Genn. (Stern., Aleyrodidae) on cotton in the Sudan Gezira. *Journal of Applied Entomology* 96: 341-363.
- Avilla, J., Albajes, R., Alomar, O., Castañe, C., Gabarra, R., 2004. Biological control of whiteflies on vegetable crops. *Biocontrol in protected culture*, Publisher: Ball Publishing Batavia, IL., Editors: Heinz, K.M., Van Driesche, R.G., Parrella, M.P., pp. 171-184.
- Babcock, J.M., Gerwick, C.B., Huang, J.X., Loso, M.R., Nakamura, G., Nolting, S.P., Rogers, R.B., Sparks, T.C., Thomas, J.D., Watson, G.B., Zhu, Y., 2011. Biological characterization of sulfoxaflor, a novel insecticide. *Pest Management Science* 67: 328-334.
- Barbosa, L., Marubayashi, J.M., De Marchi, B.R., Yuki, V.A., Pavan, M.A., Moriones, E., Navas Castillo, J., Krause Sakate, R., 2014. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. *Pest Management Science* 70(10): 1440-1445.
- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M.S., Nauen, R., 2015. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121: 78-87.
- Bass, C., Field, L.M., 2011. Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Science* 67: 886-890.
- Basu, A.N., 1995. *Bemisia tabaci* (Gennadius): Crop Pest and Principal Whitefly Vector of Plant Viruses. Westview Press, New Delhi, pp. 183.
- Bedford, I., Markham, P., Brown, J., Rosell, R., 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of whitefly (*Bemisia tabaci*) biotypes from different world regions. *Annals of Applied Biology* 125(2): 311-325.
- Berlinger, M.J., 1986. Host plant resistance to *Bemisia tabaci*. *Agriculture, Ecosystems and Environment Journal* 17: 69-82.

- Bi, J.L., Toscano, N.C., 2007. Current status of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, susceptibility to neonicotinoid and conventional insecticides on strawberries in southern California. *Pest Management Science* 63: 747-752.
- Bickford, D., Lohman, D., Sodhi, N., Ng, P., Meier, R., Winker, K., Ingram, K., Das, I., 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22(3): 148-155.
- Bielza, P., Guillén, J., 2015. Cyantraniliprole: a valuable tool for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) management. *Pest Management Science* 71: 1068-1074.
- Bisset, J., 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54(3): 202-219.
- Boykin, L.M., Bell, C.D., Evans, G., Small, I., De Barro, P.J., 2013. Is agriculture driving the diversification of the *Bemisia tabaci* species complex (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae)? Dating, diversification and biogeographic evidence revealed. *BMC Evolutionary Biology* 13: 228.
- Brattsen, L.B., 1989. Insecticide resistance: Research and Management. *Journal of Pesticide Science* 26: 329-332.
- Bretschneider, T., Benet-Buchholz, J., Fischer, R., Nauen, R., 2003. Spirodiclofen and spiromesifen -novel acaricidal and insecticidal tetrionic acid derivatives with a new mode of action. *Chimia* 57: 697-701.
- Bretschneider, T., Fischer, R., Nauen, R., 2007. Inhibitors of lipid synthesis. In W. Krämer and U. Schirmer (eds.), *Modern crop protection compounds*, vol. 3. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, Germany, pp. 909-925.
- Brown, A.W.A., Pal, K., 1971. Insecticide resistance in arthropods. In *World Health Organization Monograph Series* N°. 38. Geneva, World Health Organization, pp. 491.
- Brown, J., 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. En: *Las Moscas Blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe*. L. Hilje,; O. Arboleda (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica, pp. 1-9.
- Brown, J.K., Bird, J., 1992. Whitefly transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease Journal* 76(3): 220-225.

- Brown, J.K., Frohlich, D.R., Rosell, R.C., 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* (Genn.), or a species complex?. Annual Review of Entomology 40: 511-534.
- Brück, E., Elbert, A., Fischer, R., Krueger, S., Kühnhold, J., Klueken, A.M., Nauen, R., Niebes, J.F., Reckman, U., Schnorbach, H.J. *et al.*, 2009. Movento®, an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance. Crop Protection 28: 838-844.
- Bush, G., 1993. *Bemisia tabaci*; Biotype or species complex. In Memoria II Taller Latinoamericano y del Caribe sobre moscas blancas y geminivirus. Managua, Nic., pp. 17-26.
- Buttler, G.D., Henneberry, T.J., Natwick, E.T., 1985. *Bemisia tabaci* 1982 and 1983 populations in Arizona and California cotton fields. Southwestern Entomologist 10(1): 20-26.
- Byrne, D.N., Bellows, T.S., 1991. Whitefly biology. Annual Review of Entomology 36: 431-457.
- Caballero, R., Cyman, S., Schuster, D.J., 2014. Monitoring insecticide resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Florida. Florida Entomologist 96: 1243-1256.
- Caballero, R., Cyman, S., Schuster, D.J., Portillo, H.E., Slater, R., 2013. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B in southern Florida to cyantraniliprole. Crop Protection 44: 104-108.
- Cahill, M., Gorman, K., Day, S., Denholm, I., Elbert, A., Nauen, R., 1996. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Bulletin of Entomological Research 86: 343-349.
- Calvo, J., Bolckmans, K., Belda, J., 2009a. Development of a biological control-based Integrated Pest Management method for *Bemisia tabaci* for protected sweet pepper crops. Entomologia Experimentalis et Applicata 133: 9-18.
- Calvo, J., Bolckmans, K., Stansly, P., Urbaneja, A., 2009b. Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. Biological Control 54(2): 237-246.

- Calvo, J., Knapp, M., van Houten, Y., Hoogerbrugge, H., Belda, J., 2015. *Amblyseius swirskii*: What made this predatory mite such a successful biocontrol agent?. *Experimental and Applied Acarology* 65: 419-433.
- Calvo, J., Urbaneja, A., 2004. *Nesidiocoris tenuis* un aliado para el control biológico de mosca blanca. *Horticultura Internacional* 44: 20-25.
- Cameron, R., Lang, E.B., Alvarez, J.M., 2014. Use of honeydew production to determine reduction in feeding by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) adults when exposed to cyantraniliprole and imidacloprid treatments. *Journal of Economic Entomology* 107: 546-550.
- Cameron, R., Lang, E.B., Annan, I.B., Portillo, H.E., Alvarez, J.M., 2013. Use of fluorescence, a novel technique to determine reduction in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymph feeding when exposed to Benevia and other insecticides. *Journal of Economic Entomology* 106: 597-603.
- Campbell, B.C., Steffen-Campbell, J.D., Gill, R., 1996. Origin and radiation of whiteflies: an initial molecular phylogenetic assessment. In: Gerling, D. and Mayer, R. T. (eds.) *Bemisia* 1995: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. Intercept, Andover, UK, pp. 29-52.
- Cantoni, A., De Maeyer, L., Izquierdo Casas, J., Niebes, J.F., Peeters, D., Roffeni, S., Silva, J., Villalobos, A., 2008. Development of Movento® on key pests and crops in European countries. *Bayer Crop Science Journal* 61: 349-376.
- Cardona, C., Rodriguez, I.V., Bueno, J.M., Tapia, X., 2005. Biología de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en Habichuela y Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Department for International Development. Publicacion CIAT; No. 345. Cali, Colombia, p. 50.
- Casida, J.E., 1970. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 18: 753.
- Castle, S.J., Palumbo, J.C., Prabhaker, N., Horowitz, A.R., Denholm, I., Stansly, P.A., Naranjo, S.E., 2009. Ecological determinants of *Bemisia tabaci* resistance to insecticides. *Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest*. Springer. Dordrecht, The Netherlands, pp. 423-465.

- Castle, S.J., Prabhaker, N., 2013. Monitoring changes in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) susceptibility to neonicotinoid insecticides in Arizona and California. *Journal of Economic Entomology* 106: 1404-1413.
- Castresana, L., 1989. La mosca blanca de los invernaderos. *Horticultura* 44: 48-59.
- Castresana, L., Notario, A., Gallego, C., 1982. Fecundidad de *Trialeurodes vaporariorum* West. (Homoptera: Aleyrodidae) sobre tomate a 22 °C. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie: Agrícola* 17: 127-132.
- Cenis, J.L., 1996. El virus del rizado amarillo (Hoja en cuchara) del tomate (TYLCV) y su vector *Bemisia tabaci*. Serie Jornadas 8. Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia, pp. 97.
- Christochowitz, E.E., van der Fluit, N., van der Lenteren, J.C., 1981. Rate of development and oviposition frequency of *Trialeurodes vaporariorum*, *Encarsia formosa* (two strains) and *E. tricolor* at low glasshouse temperatures. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*. 46: 477-485.
- Collier, T., van Steenwyk, R., 2004. A critical evaluation of augmentative biological control. *Biological Control* 31: 245-256.
- Conti, M., Gallitelli, D., Lisa, V., Lovisolo, O., Martelli, G.P., Ragozzino, A., Rana, G.L., Vovlas, C. 2000. Virus del rizado amarillo del tomate. En "Principales virus de las plantas hortícolas". Ediciones Mundi-Prensa. ISBN: 84-7114-958-3, pp. 104-109.
- Corbett, J.R., 1974. The Biochemical mode of action of pesticides. Academic Press, London, UK, pp. 102-130.
- Cordova, D., Benner, E.A., Sacher, M.D., Rauh, J.J., Sopa, J.S., Lahm, G.P., Selby, T.P., Stevenson, T.M., Flexner, L., Gutteridge, S., Rhoades, D.F., Wu, L., Smith, R.M., Tao, Y., 2006. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84: 196-214.
- Crow, J.F., 1960. Genetics of insecticide resistance: general considerations. *Miscellaneous Publication of the Entomological Society of America* 2: 69-74.
- Cuthbertson, A.G., Collins, D.A., 2015. Tri-Tek (Petroleum Horticultural Oil) and *Beauveria bassiana*: Use in Eradication Strategies for *Bemisia tabaci* Mediterranean Species in UK Glasshouses. *Insects* 6: 133-140.

- Cuthbertson, A.G., Walters, K.F., 2005. Evaluation of exposure time of *Steinernema feltiae* against second instar *Bemisia tabaci*. *Test of Agrochemicals and Cultivars* 26: 34-35.
- Cuthbertson, A.G., Walters, K.F., Northing, P., Luo, W., 2007. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) under laboratory and glasshouse conditions. *Bulletin of Entomological Research* 97: 9-14.
- De Barro, P.J., 2012. The *Bemisia tabaci* species complex: questions to guide future research. *Journal of Integrative Agriculture* 11: 187-196.
- De Barro, P.J., Liu, S., Boykin, L.M., Dinsdale, A.B., 2011. *Bemisia tabaci*: A statement of species status. *Annual Review of Entomology* 56: 1-19.
- De Barro, P.J., Trueman, J. W.H., Frohlich, D.R., 2005. *Bemisia argentifolii* is a race of *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): the molecular genetic differentiation of *B. tabaci* populations around the world. *Bulletin of Entomological Research* 95: 193-203.
- De La Rua, P., Cenis, J.L., Simon, B., Cifuentes, D., Martinez-Mora, C., 2006. New insights into the mitochondrial phylogeny of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Mediterranean Basin. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 44: 25-33.
- Denholm, I., Cahill, M., Byrne, F.J., Devonshire, A.L., 1996. Progress with documenting and combating insecticide resistance in *Bemisia*. In: Gerling, D.; Mayer, R.T. (eds). *Bemisia: 1995, Taxonomy, biology, damage, control and management*. Intercept, Andover, Hants, UK, pp. 577-603.
- Devonshire, A.L., 1977. The properties of a carboxylesterase from the peach-potatoe aphid *Myzus persicae* (Sulz.), and its role in conferring insecticide resistance. *Biochemical Journal* 167: 675-683.
- Dittrich, V., Uk, S., Ernst, G.H., 1990. Chemical control and insecticide resistance of whiteflies. In: Gerling, D. (ed.). *Whiteflies: Their bionomics, pest status and management*. Intercept, Hants, UK, pp. 263-286.
- Dong, K., 1997. A single amino acid change in the para sodium channel protein is associated with Knockdown-resistance (*Kdr*) to pyrethroid insecticides in *German cockroaches*. *Insect Molecular Biology* 27: 93-100.

- Eichelkraut, K., Cardona, C., 1989. Biología, cría masal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), como plaga del frijol común. Turrialba 39: 51-55.
- Elbaz, M., Lahav, N., Morin, S., 2010. Evidence for pre-zygotic reproductive barrier between the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Bulletin of Entomological Research 100: 581-590.
- Elbert, A., Becker, B., Hartwig, J., Erdelen, C., 1991. Imidacloprid - A new systemic insecticide. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer 44: 113-136.
- Elbert, A., Brück, E., Melgarejo, J., Schnorbach, H.J., Sone, S., 2005. Field development of Oberon for whitefly and mite control in vegetables, cotton, corn, strawberries, ornamentals and tea. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 58: 441-468.
- Elbert, A., Nauen, R., 2000. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. Pest Management Science 56: 60-64.
- Elbert, A., Nauen, R., Leicht, W., 1998. Imidacloprid, a novel chloronicotinyl insecticide: Biological activity and agricultural importance. In I. Ishaaya and D. Degheele (eds.), Insecticides with novel modes of action, mechanism and application. Springer-Verlag, Germany, pp. 50-73.
- Enkegaard, A., 1990. Age- specific fecundity and adult longevity of the cotton whitefly. *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia at different temperatures. SROP/WPRS Bulletin 13(5): 55-60.
- FAO, 1979. Recommended methods for the detection and measurement of the resistance of agricultural pests to pesticides. FAO Plant Protection Bulletin 27: 29-32.
- Fargues, J., Vidal, C., Smits, N., Rougier, M., Boulard, T., Mermier, M., Nicot, P., Reich, P., Jeannequin, B., Ridray, G., Lagier, J., 2003. Climatic factors on entomopathogenic hyphomycetes infection of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) in Mediterranean glasshouse tomato. Biological Control 28: 320-331.
- Fernández, E., Grávalos, C., Haro, P.J., Cifuentes, D., Bielza, P., 2009. Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q-biotype in south-eastern Spain. Pest Management Science 65(8): 885-891.

- Fetting, C.J., Hayes, C.J., McKelvey, S.R., Mori, S.R., 2011. Laboratory assays of select candidate insecticides for control of *Dendroctonus ponderosae*. *Pest Management Science* 67: 548-555.
- Ffrench-Constant, R.H., Rocheleau, J.C., Steichen, T.A., Chalmers, A.E., 1993. "A point mutation in a *Drosophila* GABA receptor confers insecticide resistance", *Nature*, Volume 363: 449-451.
- Firdaus, S., Vosman, B., Hidayati, N., Jaya Supena, E.D., Visser, R.G., Van Heusden, A.W., 2013. The *Bemisia tabaci* species complex: additions from different parts of the world. *Insect Science* 20(6): 723-733.
- Foster, S.P., Denholm, I., Rison, J.L., Portillo, H.E., Margaritopoulos, J., Slater, R., 2012. Susceptibility of standar clones and European field populations of the green peach aphid, *Myzus persicae*, and the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), to the novel anthranilic diamide insecticide cyantraniliprole. *Pest Management Science* 68: 629-633.
- Fournier, D., Mutero, A., 1994. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. *Comparative biochemistry and physiology: Toxicology and Applied Pharmacology* 108: 19-31.
- Fuog, D., Fergusson, S.J., Flückiger, C., 1998. Pymetrozine: A novel insecticide affecting aphids and whiteflies. En: *Insecticides with novel modes of action*. Ishaaya, I., Degheele, D. Eds. SpringerVerlag, Berlin, pp. 40-49.
- Gauthier, N., Clouet, C., Perrakis, A., Kapantaidaki, D., Peterschmitt, M., Tsagkarakou, A., 2014. Genetic structure of *Bemisia tabaci* Med populations from home-range countries, inferred by nuclear and cytoplasmic markers: impact on the distribution of the insecticide resistance genes. *Pest Management Science* 70(10): 1477-1491.
- Georghiou, G.P., 1965. Genetic studies on insecticide resistance. In R. L. Metcalf (ed.), Vol. VI. John Wiley and Sons, New York. *Advances in Pest Control Research* 6: 171-230.
- Georghiou, G.P., Lagunes, T.A., 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: an index of cases reported through 1989. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, pp. 287.
- Gerling, D., 2003. Natural enemies of *Bemisia tabaci*, biological characteristics and potential as biological control agents: A review. Department of Zoology, Tel Aviv University, Ramat Aviv. Israel., pp. 99-110.

- Gerling, D., Alomar, O., Arnó, J., 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. *Crop Protection* 20: 779-799.
- Ghanim, M., Kontsedalov, S., 2007. Gene expression in pyriproxyfen resistant *Bemisia tabaci* Q-biotype. *Pest Management Science* 63(8): 776-783.
- Gill, R.J., 1990. The morphology of whiteflies. En: Gerling, D. Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept. Newcastle: 13-46.
- Goleva, I., Zebitz, C.P.W., 2013. Suitability of different pollen as alternative food for the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Acari, Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology* 61: 259-283.
- Gómez-Menor, J., 1943: Contribución al conocimiento de los Aleyródidos de España. (Hem. Homoptera). Ia notas. *Eos* 19: 173-209.
- Gorman, K., Devine, G., Bennison, J., Coussons, P., Punchard, N., Denholm, I., 2007. Report of resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 63: 555-558.
- Gorman, K., Slater, R., Blande, J.D., Clarke, A., Wren, J., McCaffery, A., Denholm, I., 2010. Cross-resistance relationships between neonicotinoids and pymetrozine in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 66: 1186-1190.
- Govindappa, M.R., Bhemanna, M., Arunkumar, H., Ghante, V.N., 2013. Bio-efficacy of newer insecticides against tomato leaf curl virus disease and its vector whitefly (*Bemisia tabaci*) in tomato. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 4: 226-231.
- Grávalos, C., Fernández, E., Belando, A., Moreno, I., Ros, C., Bielza, P., 2015. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest Management Science* 71: 1030-1036.
- Greathead, A.H., 1986. Host plants. In: *Bemisia tabaci* a Literature Survey on the Cotton Whitefly with an Annotated Bibliography. Cock, M. J. W. (ed.). CAB International Institute, Biological Control. Silwood Park, UK, pp. 17-26.
- Guthrie, F., Denholm, I., Devine, G.J., 2003. Biological evaluation of spiromesifen against *Bemisia tabaci* and a assesment of resistance risk. *Crop Science and Technology*, pp. 795-800.

- Haddi, K., Berger, M., Bielza, P., Cifuentes, D., Field, L.M., Gorman, K. *et al.*, 2012. Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 42: 506-513.
- Harrewijn, P., Kayser, H., 1997. Pymetrozine, a fast-acting and selective inhibitor of aphid feeding. *In-situ* studies with electronic monitoring of feeding behaviour. *Journal of Pesticide Science* 49: 130-140.
- He, H., Chen, A.C., Davey, R.B., Ivie, G.W., 2002. Molecular cloning and nucleotide sequence of a new P450 gene, CYP319A1, from the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32: 303-309.
- Head, J., Lawrence, A.J., Walters, K.F., 2004. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against *Bemisia tabaci* in relation to plant species. *Journal of Applied Entomology* 128: 543-547.
- Heinz, K.M., van Driesche, R.G., Parella, M.P., 2004. Biocontrol in protected culture. Ball Publishing, Batavias, Illinois, pp. 552.
- Hemingway, J., Hawkes, N.J., McCarroll, L., Ranson, H., 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34: 653-666.
- Hilge, L., 2004. Conocimiento bioecológico como fundamento para el manejo de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*): Experiencias en América Latina. CATIE. Turrialba, Costa Rica, p. 9.
- Horowitz, A.R., Gorman, K., Ross, G., Denholm, I., 2003. Inheritance of pyriproxyfen resistance in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Q biotype). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54: 177-186.
- Horowitz, A.R., Kontsedalov, S., Ishaaya, I., 2004. Dynamics of resistance to the neonicotinoids acetamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 97: 2051-2056.
- Horowitz, R.A., Gerling, D., 1992. Seasonal variation of sex ratio in *Bemisia tabaci* on cotton in Israel. *Environment Entomology Journal* 21: 556-559.

- Hotelier, T., Nègre, V., Marchot, P., Chatonnet, A., 2010. Insecticide resistance through mutations in cholinesterases or carboxylesterases: data mining in the ESTHER database. *Journal of Pest Science* 35: 315-320.
- Houndété, T.A., Kétoh, G.K., Hema, O.S.A., Brévault, T., Glitho, I.A., Martin, T., 2010. Insecticide resistance in field populations of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in West Africa. *Pest Management Science* 66(11): 1181-1185.
- Hu, J., De Barro, P., Zhao, H., Wang, J., Nardia, F., Liu, S.S., 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China. *PLoS One* 6(1): e16061.
- Huffaker, C.B., Messenger, P.S., 1976. *Theory and practice of biological control*. Academic Press. London, UK, pp.788.
- Ishaaya, I., Horowitz, A.R., 1992. Novel phenoxy juvenile hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 85: 2113-2117.
- Jacobson, A.L., Kennedy, G.G., 2013. Effect of cyantraniliprole on feeding behavior and virus transmission of *Frankliniella fusca* and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on *Capsicum annuum*. *Crop Protection* 54: 251-258.
- Jeschke, P., Nauen, R., 2008. Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science*, 64: 1084-1098.
- Jeschke, P., Nauen, R., Gutbrod, O., Beck, M.E., Matthiesen, S., Haas, M. *et al.*, 2015. Flupyradifurone (Sivanto™) and its novel butenolide pharmacophore: structural considerations. *Pest Biochemistry and Physiology* 121:31-38.
- Jones, C.M., Daniels, M., Andrews, M., Slater, R., Lind, R.J., Gorman, K., Williamson, M.S., Denholm, I., 2011. Age-specific expression of a P-450 monooxygenase (*CYP6CM1*) correlates with neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 101: 53-58.
- Jordá, C., 1998. La sanidad del cultivo del tomate: Fisiopatías, plagas, enfermedades, malas hierbas y su relación en el agrosistema. Capítulo II: Artrópodos. Editado por: Jordá, C., Arias, M., Tello, J., Lacasa, A., del Moral, J. *Phytoma-España*, Valencia, pp. 416.

- Karatolos, N., Denholm, I., Williamson, M., Nauen, R., Gorman, K., 2010. Incidence and characterisation of resistance to neonicotinoid insecticides and pymetrozine in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 66: 1304-1307.
- Karatolos, N., Gorman, K., Williamson, M.S., Denholm, I., 2012a. Mutations in the sodium channel associated with pyrethroid resistance in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*. *Pest Management Science* 68: 834-838.
- Karatolos, N., Pauchet, Y., Wilkinson, P., Chauhan, R., Denholm, I., Gorman, K. *et al.*, 2011. Pyrosequencing the transcriptome of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* reveals multiple transcripts encoding insecticide targets and detoxifying enzymes. *BMC Genomics* 12: 56.
- Karatolos, N., Williamson, M.S., Denholm, I., Gorman, K., Ffrench-Constant, R., Nauen, R., 2012b. Resistance to spiromesifen in *Trialeurodes vaporariorum* is associated with a single amino acid replacement in its target enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. *Insect Molecular Biology* 21: 327-334.
- Karatolos, N., Williamson, M.S., Denholm, I., Gorman, K., Ffrench-Constant, R.H., Bass, C., 2012c. Over-expression of a cytochrome P450 is associated with resistance to pyriproxyfen in the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *PLoS ONE* 7: e31077.
- Karunker, I., Benting, J., Lueke, B., Ponge, T., Nauen, R., Roditakis, E., Vontas, J., Gorman, K., Denholm, I., Morin, S., 2008. Overexpression of cytochrome P-450 *CYP6CM1* is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38: 634-644.
- Kristinsson, H., 1994. Pymetrozine: A new insecticide. In *Advances in the Chemistry of Insect Control III*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 85-102.
- Kumar, P., Poehling, H.M., 2006. Persistence of soil and foliar azadirachtin treatments to control sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) on tomatoes under controlled (laboratory) and field (netted greenhouse) conditions in the humid tropics. *Journal of Pest Science* 79: 189-199.

- Kumar, P., Poehling, H.M., Borgemeister, C., 2005. Effects of different application methods of Neem against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato plants. *Journal of Applied Entomology* 129: 889-497.
- Lacasa, A., Contreras, J., 1995. Las plagas. En: F. Nuez (Eds.) *El cultivo del tomate*. Mundi-Prensa. Madrid, pp. 386-467.
- Lahm, G.P., Selby, T.P., Freudenberger, J.H., Stevenson, T.M., Myers, B.J., Seburyamo, G., Smith, B.K., Flexner, L., Clark, C.E., Cordova, D., 2005. Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 15: 4898-4906.
- Lalah, J.O., Chien, C.I., Motoyama, N., Dauterman, W.C., 1995. Glutathione S-transferases: alpha-naphthyl acetate activity and possible role in insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology* 88(4): 768-70.
- Leclant, F., 1988. Resistencia a los insecticidas y acaricidas. *Información Técnica Económica Agraria* 77: 6-29.
- Lee, W., Park, J., Lee, G.S., Lee, S., Akimoto, S., 2013. Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. *PLoS One* 8(5): e63817.
- Lee, Y.S., Lee, S.Y., Park, E.C., Kim, J.H., Kim, G.H., 2002. Comparative toxicities of pyriproxyfen and thiamethoxam against the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal Asia-Pacific Entomology* 5: 117-122.
- Li, A.Y., Dennehy, T.J., Li, S., Wigert, M.E., Zarborac, M., Nichols, R.L., 2001. Sustaining Arizona's fragile success in whitefly resistance management. In: Dugger, C.P., Richter, D.A. (eds.), *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*. National Cotton Council, Memphis, TN, pp. 1108-1114.
- Li, X., Degain, B.A., Harpold, V.S., Marçon, P.G., Nichols, R.L., Fournier, A.J., Naranjo, S.E., Palumbo, J.C., Ellsworth, P.C., 2012. Baseline susceptibilities of B- and Q-biotype *Bemisia tabaci* to anthranilic diamides in Arizona. *Pest Management Science* 68: 83-91.
- Li, X., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R., 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology* 52: 231-253.

- Liu, B.M., Preisser, E.L., Chu, D., Pan, H.P., Xie, W., Wang, S.L., Wu, Q.J., Zhou, X.G., Zhang, Y.J., 2013. Multiple forms of vector manipulation by a plant infecting virus: *Bemisia tabaci* and tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virology* 87: 4929-4937.
- Liu, S.S., Colvin, J., De Barro, P.J., 2012. Species concepts as applied to the whitefly *Bemisia tabaci* systematics: how many species are there? *Journal of Integrative Agriculture* 11: 176-186.
- Liu, T.X., 2004. Toxicity and efficacy of spiromesifen, a tetrone acid insecticide, against sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on melons and collards. *Crop Protection* 23: 505-513.
- Liu, T.X., Chen, T.Y., 2001. Effects of a juvenile hormone analog pyriproxyfen on apterous form of *Lipaphis erysimi* (Homoptera: Aphididae). *Entomological Experimentalis et Applicata* 98: 295-301.
- López-Ávila, A., 2001. *Biología y control: Control biológico de las moscas blancas*. Corpoica. Centro de Investigación Tibaitatá, p. 4.
- Luo, C., Jones, C.M., Devine, G., Zhang, F., Denholm, I., Gorman, K., 2010. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Homoptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Protection* 29: 429-434.
- Magnin, M., Fournier, D., Pasteur, N., 1985. Mécanismes physiologiques de la résistance des insectes aux insecticides. *Cahiers ORSTOM, Série: Entomologie Médicale et Parasitologie* 23(4): 273-280.
- Marcic, D., Ogurlic, I., Mutavdzic, S., Perić, P., 2010. The effects of spiromesifen on life history traits and population growth of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology* 50: 255-267.
- Marcic, D., Perić, P., Petronijević, S., Prijović, M., Drobnjakovic, T., 2011. Cyclic Ketoenols - acaricides and insecticides with a novel mode of action. *Journal Pesticides and Phytomedicine (Belgrade)* 26: 185-195.
- Martin, J.H., Mifsud, D., Rapisarda, C., 2000. The whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) of Europe and Mediterranean basin. *Bulletin of Entomological Research* 90: 407-448.

- Martínez-Torres, D., Foster, S.P., Field, L.M., Devonshire, A.L., Williamson, M.S., 1999. A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Insect Molecular Biology* 8: 339-346.
- Messelink, G.J., van Maanen, R., van Steenpaal, S.E.F., Janssen, A., 2008. Biological control of thrips and whiteflies by a shared predator: Two pests are better than one. *Biological Control* 44: 372-379.
- Messelink, G.J., van Steenpaal, S.E.F., Ramakers, P.M.J., 2006. Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. *Biological Control* 51: 753-768.
- Meyerdirk, D.E., Coudriet, D.L., 1986. Population dynamics and control strategy for *Bemisia tabaci* in the Imperial valley. California. *Agriculture, Ecosystem and Environment Journal* 17: 61-67.
- Millar, N.S., Denholm, I., 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: Targets for commercially important insecticides. *Invertebrate Neuroscience* 7: 53-66.
- Miller, T.A., 1988. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. *Parasitology Today* 4: 8-12.
- Mitchell, P.L., Gupta, R., Singh, A.K., Kumar, P., 2004. Behavioural and developmental effects of neem extracts on *Clavigralla scutellaris* (Hemiptera: Heteroptera: Coreidae) and its egg parasitoid, *Gryon fulviventre* (Hymenoptera: Scelionidae). *Journal of Economic Entomology* 97(3): 916-923.
- Mohanty, A.K., Basu, A.N., 1986. Effect of host plants and seasonal factors on intraspecific variations in pupal morphology of the whitefly vector, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Entomological Research* 10: 19-26.
- Morales, F., 2010. Distribution and dissemination of begomoviruses in Latin America and the Caribbean. En: Stansly, P.A., Naranjo, S.E., (eds.). *Bemisia: bionomics and management of a global pest*. Springer. Dordrecht, pp. 283-318.
- Mouches, C., Magnin, M., Berge, J.B., De Silvestri, M., Beyssat, V., Pasteur, N., Georgiou, G.P., 1987. Overproduction of detoxifying esterases in organophosphate-resistant *Culex mosquitoes* and their presence in other insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 84: 2113-2116.

- Mound, L.A., Halsey, S.H., 1978. Whitefly of the World: a Systematic Catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and Natural Enemy Data. Wiley, New York, p. 340.
- Narahashi, T., 1992. Nerve membrane Na⁺ channels as targets of insecticides. Trends in Pharmacological Science 13: 36-241.
- Naranjo, S.E., Ellsworth, P.C., Hagler, J.R., 2004. Conservation of natural enemies in cotton: role of insect growth regulators in management of *Bemisia tabaci*. Biological Control 30: 52-72.
- Nauen, R., 2007. Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. Pest Management Science 63: 628-633.
- Nauen, R., Bielza, P., Denholm, I., Gorman, K., 2008a. Age-specific expression of resistance to a neonicotinoid insecticide in the whitefly *Bemisia tabaci*. Pest Management Science 64: 1106-1110.
- Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert, A., Fischer, R., Tiemann, R., 2003. Spirodiclofen and spiromesifen. Pesticide Outlook 14: 243-246.
- Nauen, R., Denholm, I., 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 58(4): 200-215.
- Nauen, R., Jeschke, P., Velten, R., Beck, M.E., Ebbinghaus-Kintscher, U., Thielert, W. *et al.*, 2015. Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide. Pest Management Science 71: 850-862.
- Nauen, R., Reckmann, U., Thomzik, J., Thielert, W., 2008b. Biological profile of spirotetramat (Movento®) - a new two-way systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. Bayer Crop Science Journal 61: 245-278.
- Nauen, R., Schnorbach, H.J., Elbert, A., 2005. The biological profile of spiromesifen (Oberon®) - a new tetrone acid insecticide/acaricide. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 58: 417-440.
- Nauen, R., Stumpf, N., Elbert, A., 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross-resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Pest Management Science 58(9): 868-875.

- Nauen, R., Vontas, J., Kausmann, M., Woelfel, K., 2013. Pymetrozine is hydroxylated by *CYP6CM1*, a cytochrome P-450 conferring neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science* 69: 457-461.
- Nomikou, M., Janssen, A., Schraag, R., Sabelis, M.W., 2002. Phytoseiid predators suppress population of *Bemisia tabaci* in the presence of alternative food. *Experimental and Applied Acarology* 27: 57-68.
- Nomikou, M., Janssen, A., Schraag, R., Sabelis, M.W., 2003. Phytoseiid predators of whiteflies feed and reproduce on non-prey food sources. *Experimental and Applied Acarology* 31: 15-26.
- Norhelina, L., Sajap, A.S., Mansour, S.A., Idris, A.B., 2013. Infectivity of five *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetales) strains on whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting brinjal, *Solanum melongena* (Solanaceae). *Academic Journal of Entomology* 6: 127-132.
- Oliveira, M.R.V., Henneberry, T.J., Anderson, P., 2001. History, current status, and collaborative research projects for *B. tabaci*. *Crop Protection* 20: 709-723.
- Omura, T., Sato, R., 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *Journal of Biological Chemistry* 239: 2370-2378.
- Onillon, J.C., 1977. Aspectos de la ecología de algunos aleuródidos. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* 3: 175-198.
- Palumbo, J.C., 2004. Comparative efficacy of Oberon (spiromesifen) against *Bemisia* whiteflies in spring cantaloupes. *Vegetable Report*, College of Agriculture and Life Sciences, The University of Arizona, Tucson, AZ.
- Pan, H.P., Chu, D., Yan, W.Q., Su, Q., Liu, B.M., Wang, S.L., Wu, Q.J., Xie, W., Jiao, X.G., Li, R.M., Yang, N., Yang, X., Xu, B.Y., Zhang, Y.J., 2012. Rapid spread of Tomato yellow leaf curl virus in China is aided differentially by two invasive whiteflies. *PLoS ONE* 7: e34817.
- Park, H., Kim, K., 2010. Selection of *Lecanicillium* strains with high virulence against developmental stages of *Bemisia tabaci*. *Mycobiology* 38: 210-214.

- Paulson, G.S., Beardsley, J.W., 1985. Whitefly (Hem.: Aleyrodidae) egg pedicel insertion into host plant stomata. *Annals of the Entomological Society of America* 78: 506-508.
- Perring, T.M., 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20: 725-737.
- Perring, T.M., Cooper, A.D., Rodríguez, R.J., Farrar, C.R., Bellows, T.S., 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259: 74-77.
- Powell, D.A., Bellows, T.S., 1992. Adult longevity, fertility and population growth rates for *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae) on two host plant species. *Journal of Applied Entomology* 113: 67-78.
- Prabhaker, N., Castle, S., Henneberry, T.J., Toscano, N.C., 2005. Assessment of cross-resistance potential to neonicotinoid insecticides in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 95: 535-543.
- Prabhaker, N., Castle, S.J., Buckelew, L., Toscano, N.C., 2008. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spiromesifen. *Journal of Economic Entomology* 101: 174-181.
- Quaintance, A.L., 1900. Contributions toward a monograph of the American Aleurodidae. United States Department of Agriculture. Division of Entomology Technical Series 8: 9-64.
- Quaintance, A.L., Baker, A.C., 1914. Classification of the Aleyrodidae Part II. Technical Series, United States Department of Agriculture Bureau of Entomology 27: 95-109.
- Qureshi, M.S., Midmore, D.J., Syeda, S.S., Reid, D.J., 2009. Pyriproxyfen controls silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), biotype B (Homoptera: Aleyrodidae) (SLW) better than buprofezin in bitter melons *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Australian Journal of Entomology* 48: 60-64.
- Rauch, N., Nauen, R., 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Archives Insect Biochemistry and Physiology* 54: 165-176.
- Roditakis, E., Grispou, M., Morou, E., Kristoffersen, J.B., Roditakis, N.E., Nauen, R., Vontas, J., Tsagkarakou, A., 2009. Current status of insecticide resistance in Q biotype *Bemisia tabaci* populations from Crete. *Pest Management Science* 65: 313-322.

- Roditakis, E., Morou, E., Tsagkarakou, A., Riga, M., Nauen, R., Paine, M., Morin, S., Vontas, J., 2011. 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 Science* 18: 23-29.
- Roditakis, E., Roditakis, N.E., Tsagkarakou, A., 2005. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Pest Management Science* 61: 577-582.
- Roditakis, E., Tsagkarakou, A., Vontas, J., 2006. Identification of mutations in the para sodium channel of *Bemisia tabaci* from Crete, associated with resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85: 161-166.
- Rodríguez, M.D., 1994. Aleuródidos. En: Moreno, R. (Ed). Sanidad vegetal en la horticultura protegida. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla, pp. 123-154.
- Rumei, X., 1982. Population dynamics of *Trialeurodes vaporariorum* (greenhouse whitefly): some comments on sampling techniques and prediction of population developments. *Journal of Applied Entomology* 94: 452-465.
- Russel, L., 1980. Host and distribution of five species of Homoptera: Aleyrodidae. *Annals of the Entomological Society of America* 56: 149-153.
- Russell, R.J., Scott, C., Jackson, C.J., Pandey, G., Taylor, M.C., Choppin, C.W., Liu, J.W., Oakeshott, J.G., 2011. The evolution of new enzyme function: lessons from xenobiotic metabolizing bacteria versus insecticide-resistant insects. *Evolutionary Applications* 4: 225-248.
- Salas, J., 2004. Evaluación de prácticas agrícolas para el manejo de *Bemisia tabaci* en tomate. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* No. 71, pp. 34-40.
- Satelle, D.B., Cordova, D., Cheek, T.R., 2008. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. *Invertebrate Neuroscience* 8: 107-119.
- Saunders, J.L., Coto, D.T., King, A.B.S., 1998. Las plagas Invertebradas de Cultivos Anuales Alimenticios en América Central. 2nd edición, Serie Técnica, Manual técnico No. 29, Turrialba, Costa Rica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, p. 185.

- Schuster, D.J., Mann, R.S., Toapanta, M., Cordero, R., Thompson, S., Cyman, S., Shurtleff, A., Morris, R.F., 2010. Monitoring neonicotinoid resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* in Florida. *Pest Management Science* 66(2): 186-195.
- Secker, A.E., Bedford, I.A., Markham, P.G., William, M.E.C., 1998. Squash, a reliable field indicator for the presence of B biotype of tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*. In: Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases. British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 837-842.
- Simmons, A.M., 1994. Oviposition on vegetables by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae): Temporal and leaf surface factors. *Environmental Entomology* 23: 381-389.
- Soderlund, D.M., Bloomquist, J.R., 1989. Neurotoxic action of pyrethroid insecticides. *Annual Review of Entomology* 34: 77-96.
- Soto, A., 1997. Requerimientos térmicos de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) y *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), y parasitismo de ésta sobre la plaga. Tesis de grado. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, p. 97.
- Sparks, T.C., Loso, M.R., Watson, G.B., Babcock, J.M., Kramer, V.J., Zhu, Y., Nugent, B.M., Thomas, J.D., 2012. Sulfoxaflor, in: Kramer, W., Schirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M., (eds.), *Modern Crop Protection Compounds, Insecticides*, second ed., vol. 3, Wiley-VCH, Weinheim, GR, pp. 1226-1237.
- Sparks, T.C., Nauen, R., 2015. IRAC: mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121: 122-128.
- Stansly, P.A., Calvo, J., Urbaneja, A., 2005. Release rates for control of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype "Q" with *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae) in greenhouse tomato and pepper. *Biological Control* 35: 124-133.
- Stiling, P., Cornelissen, T., 2005. What makes a successful biological control agent? A meta-analysis of biological control agent performance. *Biological Control* 34: 236-246.
- Sun, D.B., Xu, J., Luan, J.B., Liu, S.S., 2011. Reproductive incompatibility between the B and Q biotypes of the whitefly *Bemisia tabaci*: genetic and behavioural evidence. *Bulletin of Entomological Research* 101: 211-220.

- Téllez, M.M., Lara, L., Stansly, P.A., Urbaneja, A., 2003. *Eretmocerus mundus* (Hym.; Aphelinidae), parasitoide autóctono de *Bemisia tabaci* (Hom.: Aleyrodidae): primeros resultados de eficacia en judía. Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas 29: 511-521.
- Temeyer, K.B., Davey, R.B., Chen, A.C., 2004. Identification of a third *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) cDNA presumptively encoding an acetylcholinesterase. Journal of Medical Entomology 41: 259-268.
- Temeyer, K.B., Li, A.Y., Lohmeyer, K.H., Chen, A.C., Olafson, P.U., Sanson, D.W., Foil, L.D., 2007. Acetylcholinesterase mutation in diazinon-resistant *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). Journal of Veterinary Parasitology 154: 300-310.
- Terriere, C.L., 1984. Induction of detoxification enzymes in insects. Annual Review of Entomology 29: 71-78.
- Thoeming, G., Borgemeister, C., Setamou, M., Poehling, H.M., 2003. Systemic effects of neem on western flower thrip, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Journal of Economic Entomology 96: 817-825.
- Thompson, W.M.O., 2003. A new host plant species for the cassava biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). Journal of Applied Entomology 127: 374-376.
- Toda, S., Morishita, M., 2009. Identification of three point mutations on the sodium channel gene in pyrethroid-resistant *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). Journal of Economic Entomology 102: 2296-2300.
- Tomizawa, M., Casida, J.E., 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. Annual Review of Entomology 48: 339-364.
- Urbaneja, A., Stansly, P.A., Calvo, J., Beltrán, D., Lara, L., van der Blom, J., 2003. *Eretmocerus mundus*: control biológico de *Bemisia tabaci*. Phytoma España 144: 139-142.
- Van Bostel, W., Woest, J., van Lenteren, J.C., 1978. Determination of host-plant quality of eggplant (*Solanum melongena* L.), Cucumber (*Cucumis sativus* L.), Tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) and Paprika (*Capsicum annuum* L.) for the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera, Aleyrodidae). Medicine Faculty Landbouww Rijksuniv Gent. 43: 397-408.

- Van de Merendok, S., van Lenteren, J.C., 1978. Determination of mortality of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae) eggs, larvae, y pupae on four host-plant species: eggplant (*Solanum melongena* L.), Cucumber (*Cucumis sativus* L.), Tomato (*Lycopersicum esculentum* L.), and Paprika (*Capsicum annuum* L.). Medicine Faculty Landbouww Rijksuniv Gent. 43: 421-429.
- Van Driesche, R.D., Bellows, T.S., 1996. Biological Control. Chapman and Hall, New York, USA, pp. 539.
- Van Houten, Y.M., Ostlie, M.L., Hoogerbrugge, H., Bolckmans, K., 2005. Biological control of western flower thrips on sweet pepper using the predatory mites *Amblyseius cucumeris*, *Iphiseius degenerans*, *A. andersoni* and *A. swirskii*. IOBC/wprs Bulletin 28(1): 283-286.
- Van Lenteren, J.C., Noldus, L.P., 1990. Whitefly plant relationship: behavioral and ecological aspects. En: Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management (D. Gerling ed.). Intercept, Andover, Hants, UK, pp. 47-89.
- Vassiliou, V., Emmanouilidou, M., Perrakis, A., Morou, E., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Roidakis, E., 2011. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* from Cyprus. Insect Science 18(1): 30-39.
- Vázquez, L., 2002. Avances del control biológico de *Bemisia tabaci* en la Región Neotropical. Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. 66: 82-95.
- Vet, L.E.M., van Lenteren, J.C., Woets, J., 1980. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). IX – A review of the biological control of the greenhouse whitefly with suggestions for future research. Zeitschrift für angewandte Entomologie 89: 442-454.
- Wachendorff, U., Nauen, R., Schnorbach, H.J., Rauch, N., Elbert, A., 2002. The biological profile of spiroticlofen (Envidor®) - a new selective tetronic acid acaricide. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 55: 149-176.
- Wang, P., Sun, D.B., Qiu, B.L., Liu, S.S., 2011. The presence of six cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex in China as revealed by crossing experiments. Insect Science 18: 67-77.

- Wang, R., Zhang, W., Che, W., Qu, C., Li, F., Desneux, N., Luo, C., 2017. Lethal and sublethal effects of cyantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) MED. Crop Protection 91: 108-113.
- Wang, X.S., Chen, Q.Z., Zhang, S.Z., Liu, T.X., 2015. Parasitism, host feeding and immature development of *Encarsia formosa* reared from *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* on *Trialeurodes ricini*. Journal of Applied Entomology 139: 647-726.
- Wang, X.W., Luan, J.B., Li, J.M., Bao, Y.Y., Zhang, C.X., Liu, S.S., 2010a. De novo characterization of a whitefly transcriptome and analysis of its gene expression during development. BMC Genomics 11: 400.
- Wang, Z., Yan, H., Yang, Y., Wu, Y., 2010b. Biotype and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. Pest Management Science 66(12): 1360-1366.
- Wardlaw, L.R., 1985. Pyrethroid resistance in glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*, Westwood). Med Fact Landbouw Rijksuniv Gent. 50: 164-165.
- Wen, J.H., Hou, M.L., Lu, W., Li, J.W., 2008. Bioactivities of sublethal concentrations of azadirachtin on laboratory populations of *Bemisia tabaci*. Chinese Journal of Biological Control 24: 16-21.
- Wyss, P., Bolsinger, M., 1997. Translocation of pymetrozine in plants. Pest Management Science 50: 195-202.
- Xie, W., Liu, Y., Wang, S.L., Wu, Q.J., Pan, H.P., Zhang, Y.J., 2014. Sensitivity of the whitefly *Bemisia tabaci* to several new insecticides in China: effects of insecticide type and whitefly species, strain, and stage. Journal of Insect Science 14: 261.
- Xu, R., Zhang, Y., Ma, W., 1994. The probing and feeding process of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood. Insect Science 1: 67-76.
- Zhang, S.Z., Wan, H., Zhang, F., Hua, B.Z., 2003. Parasitic suitability of two strains of *Encarsia formosa* on *Bemisia tabaci*. Chinese Journal of Biological Control 19: 149-153.

CAPÍTULO 2

---

2. Materiales y métodos generales

Para llevar a cabo los diferentes estudios se han utilizado poblaciones de *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*.

2.1. Poblaciones de *B. tabaci*

2.1.1. Poblaciones de campo de *B. tabaci*

La población sensible de referencia LAB-S fue recolectada en Águilas (Murcia), en agosto de 2006, procedente de un invernadero de pimiento que no había sido expuesto a tratamientos insecticidas durante al menos cinco años, puesto que se dedicaba a la cría de enemigos naturales para el control de mosca blanca. Esta población se mantiene sin exposición a insecticidas desde entonces.

La población SCICLI fue recolectada en cultivo de pimiento bajo invernadero en Sicilia (Italia), en septiembre de 2013.

Del 2014 al 2016, se recogieron 28 poblaciones de campo localizadas en distintas áreas agronómicas de Murcia y Almería (Tabla 2.1 y 2.2, Figura 2.1):

- “Campo de Cartagena”. Invernaderos de pimiento dulce
- “Alto-Guadalentín”: Invernaderos de tomate en Águilas-Lorca
- “Bajo-Guadalentín”: Invernadero de tomate en Mazarrón (Cañada Gallego)
- “Almería-Levante”. Invernadero de tomate en la Costa de Mazarrón-Vera
- “Almería –Poniente”. Invernaderos con varios cultivos (pimiento, tomate, berenjena, judía francesa, pepino, melón, sandía y calabacín)
- “Almería-Comarca Metropolitana”: Invernaderos de tomate y pepino

Para que las poblaciones recolectadas fuesen lo más representativas posibles a la población original, los individuos se recogieron intentando cubrir la mayor superficie de la parcela, y evitando recoger de las orillas, para descartar individuos inmigrantes de parcelas lindantes, sometidos a algún tratamiento.

Tabla 2.1. Origen, hospedante, año de recolección e historial de tratamientos de poblaciones de Murcia de *B. tabaci* utilizadas.

Área	Población	Provincia	Localidad	Hospedante	Año	Tratamientos
Referencia	LAB-S	Murcia	Águilas	Pimiento	2006	Ninguno
	SCICLI	Sicilia	Ragusa	Pimiento	2013	Desconocido
Campo de Cartagena	JL02	Murcia	San Javier	Pimiento	2014	2 spiromesifén 1 spirotetramat
	JL04*	Murcia	Torre Pacheco	Pimiento	2014	4 azadiractín 3 spiromesifén
	JL05*	Murcia	San Javier	Pimiento	2014	3 spiromesifén 1 piriproxifén 1 tiametoxam
	AR01	Murcia	San Javier	Pimiento	2014	2 spiromesifén
	AR02	Murcia	Torre Pacheco	Pimiento	2014	3 spiromesifén 1 imidacloprid
	AR11	Murcia	Torre Pacheco	Pimiento	2015	1 spiromesifén
	AR12	Murcia	Cartagena	Pimiento	2015	2 spiromesifén 1 spirotetramat 1 piriproxifén
	AR13	Murcia	Fuente Álamo	Pimiento	2015	2 spiromesifén 1 piriproxifén
	AR14	Murcia	Torre Pacheco	Pimiento	2015	1 spirotetramat 2 spiromesifén
	AR15	Murcia	Torre Pacheco	Pimiento	2015	1 spirotetramat 2 spiromesifén
	AR16	Murcia	San Javier	Pimiento	2015	Desconocido
	AR17	Murcia	San Javier	Pimiento	2015	2 spiromesifén
	AR18	Murcia	Cartagena	Pimiento	2015	1 spiromesifén 2 piriproxifén
Comarca-Alto Guadalentín	AR19	Murcia	Águilas	Tomate	2016	1 spiromesifén 1 spirotetramat 1 abamectina 1 piriproxifén
	AR20	Murcia	Águilas	Tomate	2016	1 spiromesifén 1 spirotetramat 1 tiacloprid 1 piriproxifén 1 abamectina
	AR21	Murcia	Lorca	Tomate	2016	1 tiacloprid 1 spiromesifén 1 abamectina 1 pimetrocina
	AR23	Murcia	Águilas	Tomate	2016	1 piriproxifén 1 spiromesifén 1 spirotetramat
	AR24	Murcia	Águilas	Tomate	2016	1 spiromesifén 1 spirotetramat 1 piriproxifén
Comarca-Bajo Guadalentín	AR22	Murcia	Mazarrón	Tomate	2016	1 tiacloprid 1 spiromesifén 1 pimetrocina 1 abamectina

*Las poblaciones JL04 y JL05 fueron mezcladas debido al bajo número de individuos.

Tabla 2.2. Origen, hospedante, año de recolección e historial de tratamientos de poblaciones de Almería de *B. tabaci* utilizadas.

Área	Población	Provincia	Localidad	Hospedante	Año	Historial tratamientos
Almería- Levante	AR04	Almería	Palomares	Tomate	2014	2 spiromesifén 1 tiacloprid 1 piriproxifén 1 acetamiprid 1 clorpirifos
Almería- Poniente	LV01	Almería	Roquetas	Berenjena	2014	1 flonicamid
	LV102	Almería	Adra	Berenjena	2015	Desconocido
	LV103	Almería	La Mojonera	Pimiento	2015	1 spiromesifén
	LV105	Almería	Las Norias	Berenjena	2016	1 abamectina 1 clorpirifos
	LV108	Almería	La Mojonera	Pimiento	2016	1 spiromesifén 1 pimetrocina
Almería- Comarca Metropolitana	LV104	Almería	Viator	Tomate	2016	1 acetamiprid 1 spiromesifén 1 tiacloprid
	LV106	Almería	La Cañada	Pepino	2016	1 spiromesifén 1 pimetrocina
	LV107	Almería	La Cañada	Tomate	2016	Desconocido

Figura 2.1. Localización y hospedante de las poblaciones españolas (Murcia y Almería) de *B. tabaci* recolectadas

2.1.2. Población de *B. tabaci* seleccionada a spiromesifén (R-SPI)

La población seleccionada a spiromesifén (R-SPI) fue fundada a partir de la población AR, siendo AR una mezcla de las poblaciones mediterráneas de *B. tabaci* más resistentes a spiromesifén (AR= AR01+AR14+AR16) (ver el nivel de resistencia de las poblaciones en el Capítulo 3-Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de *B. tabaci*, Tabla 3.1).

Para llevar a cabo el proceso de selección, en primer lugar, se realiza una copia de la población AR. Para ello, se utiliza planta limpia de algodón, pimiento y berenjena, es decir, libre de tratamientos insecticidas y se coloca en una jaula con malla anti-trips.

Seguidamente, se introducen aproximadamente 500 individuos recogidos al azar de la población original y se mantiene en condiciones de laboratorio, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 60% HR y fotoperiodo 16:8 (horas de luz: horas de oscuridad), para la reproducción y multiplicación de los individuos.

Una vez se instala la población, se somete a varios tratamientos sucesivos con spiromesifén, con una dosis muy por encima de la dosis recomendada, y dejando entre ellos el tiempo suficiente para que los supervivientes se multipliquen y se recupere la población. Esta nueva población se nombra como R-SPI.

La metodología a seguir para realizar el tratamiento es la siguiente:

En primer lugar, con ayuda de un pulverizador de mano, se trata una planta limpia, libre de tratamientos insecticidas, y se deja secar en la cámara de gases.

A continuación, con ayuda de un aerógrafo se van soplando los adultos de mosca blanca, de tal forma que queden dentro de la jaula, y a su vez se van extrayendo las plantas con ninfas y huevos. Se procede al tratamiento de las plantas y se dejan secar durante 30 minutos aproximadamente en la cámara de gases.

Una vez seca la planta limpia, tratada inicialmente, se inserta a la población, para que los adultos de mosca blanca que se encuentran en la jaula sin material vegetal, puedan posarse de nuevo y realizar sus puestas. Asimismo, las plantas con puestas tratadas posteriormente, una vez secas, también se vuelven a introducir en la jaula.

Esta jaula se conserva en condiciones de laboratorio, el tiempo necesario para que los supervivientes se multipliquen y pueda someterse al siguiente tratamiento, y así sucesivamente para el resto de tratamientos.

Una vez se considera que R-SPI puede estar seleccionada, se realiza un bioensayo de ninfas para determinar el nivel de resistencia de esta población a dicho producto.

En el caso de que la población esté seleccionada, se realiza un tratamiento de recuerdo una vez al año, para mantener el nivel de resistencia adquirido. En el caso contrario, la población debe ser sometida a un nuevo proceso de selección.

Figura 2.2. Tratamiento de selección

2.2. Poblaciones de *Trialeurodes vaporariorum*

Del 2011 al 2015, se recolectaron 16 poblaciones de campo distribuidas en la cuenca mediterránea, siendo seis poblaciones de España, una de Portugal, cinco de Grecia, tres de Italia y una de Francia (Tabla 2.3 y Figura 2.3).

Tabla 2.3. Origen, hospedante y año de recolección de las poblaciones de *T. vaporariorum* utilizadas.

Población	País	Provincia	Localidad	Hospedante	Año
ARROYO	España	Extremadura	Badajoz	Cerraja	2011
MÉRIDA	España	Extremadura	Mérida	Malva Real	2011
TORREMAYOR	España	Extremadura	Badajoz	Cerraja	2011
CABRILS	España	Barcelona	Cabrils	Tomate y tabaco	2012
CARTAGENA	España	Murcia	Cartagena	Tomate	2012
TRICEA	España	Murcia	Cartagena	Tomate	2015
OPORTO	Portugal	Oporto	Póvoa de Varzim	Tomate	2013
GRECIA	Grecia	Central Macedonia	Thessaloniki	Tomate	2011
THESSALONIKI	Grecia	Central Macedonia	Thessaloniki	Tomate	2012
PELLA	Grecia	Central Macedonia	Galatades	Tomate	2013
MYLOTOPOS	Grecia	Central Macedonia	Pella	Tomate	2013
PALAIFYTO	Grecia	Central Macedonia	Pella	Tomate	2015
ITALIA	Italia	Apulia	Bari	Tomate	2012
MILÁN	Italia	Lombardía	Milán	Tomate	2013
BARI	Italia	Apulia	Bari	Tomate	2015
SAINT ÈSTEVE	Francia	Languedoc-Pirineos	Perpignan	Tomate	2013

Figura 2.3. Localización y hospedante de las poblaciones de *T. vaporariorum* recolectadas

2.3. Cría y mantenimiento de las poblaciones

El material empleado para llevar a cabo la cría y el mantenimiento de las poblaciones es el siguiente:

- Material vegetal libre de tratamientos insecticidas: Semanalmente se realiza una siembra de semillas de algodón, berenjena, pimiento y tomate, con el fin de abastecer a nuestras poblaciones con la planta necesaria y poder llevar a cabo nuestros bioensayos. Estas siembras se mantienen en cámaras de cultivo para su desarrollo, en la Finca Tomás Ferró de la ETSIA. En ningún caso, se realizan tratamientos con insecticidas. En el caso de que la planta sea invadida por alguna plaga, se elimina todo el material vegetal de esa cámara y se aplica un compuesto químico para desinfectar (diclorvos 20% o formaldehído 35-40%), manteniendo esa cámara inutilizable, al menos durante una o dos semanas, antes de volver a introducir material vegetal libre de residuos.

Figura 2.4. Cámaras de cultivo para la siembra de material vegetal

- **Jaulas de malla anti-trips:** Estas jaulas son elaboradas en el laboratorio y se utilizan para realizar la cría de cada una de las poblaciones y también, el mantenimiento de los bioensayos.

Para la ejecución de las jaulas, se utilizan dos bandejas de polipropileno negras, malla plástica de cuadros (2,5 x 2,5 cm) y malla anti-trips. En primer lugar, sobre una de las bandejas, se coloca la malla plástica sujeta con bridas, y dejando una apertura en el frente para facilitar la introducción y extracción de material vegetal. Esta estructura, es cubierta con una funda de malla anti-trips, que contiene una cremallera delantera, para facilitar el acceso al interior de la jaula. Inmediatamente se coloca la otra bandeja, de tal forma que una bandeja quede sobrepuesta sobre la otra y la tela quede enganchada entre las dos, para que los individuos no puedan escapar fácilmente. Las medidas de la jaula una vez finalizada son, 59 cm de frente, 42 cm de lateral y 52cm de alto.

Figura 2.5. Jaulas de malla anti-trips

Figura 2.6. Mantenimiento de bioensayos en jaulas de malla anti-trips

A continuación, se detalla la metodología a seguir para llevar a cabo la cría y el mantenimiento de las poblaciones:

Todas las poblaciones estudiadas fueron procedentes de campo, recibidas en diferentes hospedantes y en distintos estadios ninfales. Uno de los problemas más comunes que presentan la mayoría de estas poblaciones, es que al venir de campo, traen consigo la presencia de enemigos naturales. Por ello, en todos los casos, antes de iniciar la cría, con ayuda de un aspirador entomológico, se aspiran todos los adultos en un vial y se comprueba a la lupa que entre los adultos recolectados no haya ningún enemigo natural. Seguidamente, en las jaulas de malla anti- trips, ya descritas anteriormente, se coloca planta limpia (libre de residuos) y se realiza la suelta de los individuos.

En el caso de no recibir ningún adulto, sólo hojas con diferentes estadios ninfales, se colocan las hojas con el peciolo inmerso en agua, para que las hojas duren el mayor tiempo posible y pueda emerger el adulto. Estas poblaciones se revisan continuamente, ya que se encuentran en alerta, por la posible presencia de enemigos naturales. En el caso de su aparición, se aspiran los adultos y se colocan en una nueva jaula.

Para la cría, en el caso de *B. tabaci*, es preferible utilizar planta de algodón, pimiento y berenjena y en el caso de *T. vaporariorum*, berenjena y tomate, teniendo en cuenta que cada especie de mosca blanca se adapta mejor a un cultivo u a otro, dependiendo del hospedante del que provienen.

Figura 2.7. Cría de una población de *B. tabaci*

Es importante remarcar, que se conservan dos jaulas de cada población, para evitar posibles pérdidas por contaminación u otras causas. Una de las réplicas se almacena en el laboratorio y la otra en una cámara de cultivo, destinada al grupo de Protección de Cultivos de la ETSIA, en condiciones de 25 ± 2 °C, 60% HR y fotoperiodo 16:8 (horas de luz: horas de oscuridad).

Figura 2.8. Distribución de las poblaciones en el laboratorio

Figura 2.9. Distribución de las poblaciones en la cámara de cultivo

Para llevar a cabo el mantenimiento, cada una de las jaulas, se riega una vez a la semana y se introduce planta en el caso de que sea necesario, deshaciéndonos a su vez de las plantas secas o marchitas, siempre y cuando no presenten ninfas o pupas.

En ocasiones, las jaulas se invaden de araña roja, concretamente *Tetranychus urticae*, y para combatirla se realizan sueltas de *Phytoseiulus persimilis*, los cuales se aplican directamente sobre las hojas afectadas, sólo una vez a la semana durante dos semanas consecutivas, tiempo suficiente para controlar el foco.

Figura 2.10. Suelta de *Phytoseiulus persimilis* en una población de *B. tabaci* invadida por *Tetranychus urticae*

2.4. Insecticidas utilizados

Los insecticidas utilizados para realizar nuestros bioensayos son los comúnmente utilizados o recomendados para el control de mosca blanca (Tabla 2.4), como son: spiromesifén, spirotetramat, imidacloprid, alfa-cipermetrín, pimetrocina, piriproxifén, piridabén, tiametoxam y azadiractín. También materias activas nuevas e innovadoras, como ciantraniliprol, flupiradifurona y sulfoxaflor, que aún no se encuentran en uso comercial en España, sino en fase de registro.

Cabe señalar, que todos estos insecticidas son de uso foliar, excepto ciantraniliprol sistémico, que se aplica en el riego, es decir, es absorbido por las raíces y el tallo.

Para todos los insecticidas se preparan diferentes diluciones y un control, preparadas en agua destilada y con la adición de un mojante para mejorar la absorción, en este caso Tween 20 (en proporción 1mL L⁻¹). En el caso de ciantraniliprol no es necesario el uso de mojante puesto que es un insecticida de absorción sistémica.

Para evitar posibles contaminaciones, tanto la preparación del insecticida como el tratamiento del material vegetal, se realiza en una cámara de extracción de gases.

Figura 2.11. Insecticidas para el control de mosca blanca

Tabla 2.4. Insecticidas utilizados.

Materia activa	Grupo IRAC	Nombre comercial	Casa comercial
Spiromesifén 24% SC	23 Derivados de los ácidos tetrónico y tetrámico	Oberon	Bayer CropScience
Spirotetramat 15% OD	23 Derivados de los ácidos tetrónico y tetrámico	Movento	Bayer CropScience
Imidacloprid 20% SL	4A Neonicotinoides	Confidor	Bayer CropScience
Alfa-cipermetrín 10% EC	3A Piretroides	Fastac	Basf
Pimetrocina 50% WG	9B Bloqueadores selectivos de la alimentación	Plenum	Syngenta Agro
Piriproxfén 10% EC	7C Miméticos de la hormona juvenil	Juvinal	Kenogard
Piridabén 20% WP	21A Acaricidas METI	Sanmite	Basf
Tiametoxam 25% WG	4A Neonicotinoides	Actara	Syngenta Agro
*Ciantraniliprol 20 SC	28 Diamidas	Verimark	Dupont Ibérica
Flupiradifurona 20% SL	4D Butenolides	Sivanto Prime	Bayer CropScience
Azadiractín 3,2% EC	UN Modo de acción desconocido o incierto	Align	Sipcam Iberia
Sulfoxaflor 21,8% SC	4C Sulfoximinas	Toretto	Dow AgroSciences

*Ciantraniliprol 20SC se aplica en el riego, es absorbido por la raíz y el tallo, a diferencia de los demás insecticidas que son de uso foliar.

2.5. Bioensayos

2.5.1. Materiales empleados

2.5.1.1. Cajas pinza

Para el montaje de los bioensayos de ninfas y huevos de *B. tabaci* y de ninfas de *T. vaporariorum*, se utilizan cajas pinza elaboradas en el laboratorio, para facilitar la puesta de la mosca en las plantas y establecer una zona localizada para la oviposición de estos individuos.

Para su elaboración, en primer lugar, se cortan tubos Falcon o tubos de centrífuga de unos 50 mL, dejando unos 3 cm de altura por la parte del tapón, y discos de plástico de unos 4 cm de diámetro y 1 mm de grosor, que van a servir como base para los tubos cortados. Seguidamente, con pegamento se fija una pinza metálica tanto al tubo de centrífuga como

al disco de polipropileno, fijando una de las patas, doblada perpendicularmente, a la pared del tubo y la otra directamente al disco, de tal forma que la caja pinza se pueda abrir y cerrar fácilmente para engancharla en las hojas. Finalmente, se hace un agujero en los tapones de los tubos, de 2 cm aproximadamente, y se cubren con malla metálica, para mejorar la ventilación y los problemas de condensación y los individuos no mueran por asfixia.

Figura 2.12. Cajas pinza utilizadas para bioensayos de *B. tabaci* y *T. vaporariorum*

2.5.1.2. Cajas de polipropileno transparentes

Para llevar a cabo el bioensayo de adultos de *B. tabaci*, se utilizan cajas redondas de polipropileno transparentes de unos 39 mm de diámetro. Para la ventilación de las cajitas y evitar posibles problemas de condensación, se hace un agujero de unos 25 mm de diámetro aproximadamente en cada una de las tapas, cubriéndolo con malla metálica.

Figura 2.13. Caja y tapa con ventilación utilizada para bioensayo de adultos de *B. tabaci*

Para el montaje del bioensayo sistémico de ninfas de *B. tabaci*, también se utilizan estas cajas de polipropileno, pero esta vez se hacen dos agujeros de 25 mm, uno en la tapa y otro en la base de cada caja, cubriéndolos a su vez con malla metálica. Además, en la pared de la caja también se realiza un agujero, de unos 3 mm aproximadamente, para facilitar la entrada y salida de las plántulas.

Figura 2.14. Caja y tapa con ventilación utilizada para bioensayo sistémico de ninfas de *B. tabaci*

2.5.2. Bioensayos de *Bemisia tabaci*

Seguidamente, se explica la metodología a seguir para llevar a cabo los diferentes tipos de bioensayos, dependiendo del insecticida utilizado y del estado de desarrollo (huevo, ninfa o adulto) a estudiar.

2.5.2.1. Bioensayo de ninfas

Día 0

En primer lugar, se seleccionan 18 plántulas de algodón de 20 a 25 cm de altura y con dos hojas verdaderas cada una de ellas. En cada una de las hojas se coloca una caja-pinza con unos 40 individuos en su interior, de tal forma que los adultos puedan posarse en el envés de las hojas para realizar sus puestas. A continuación, se enumeran las plantas y se colocan en una jaula de cristal de metacrilato durante 48 horas para su oviposición y en condiciones de laboratorio (25 ± 2 °C, 60% HR y fotoperiodo 16 horas de luz: 8 horas de oscuridad).

Figura 2.15. Puesta de adultos de *B. tabaci* para su oviposición

Día 2

Se procede al desmontaje del bioensayo. Para ello, con ayuda de un aspirador entomológico se recogen los individuos de las plántulas y las cajas-pinza y se devuelven a su población correspondiente. Seguidamente, las plántulas se colocan en una jaula de malla anti-trips durante 12 días, hasta que las puestas alcancen el estadio N2.

Figura 2.16. Retirada de adultos de *B. tabaci*

Día 14

Una vez transcurrido este tiempo, se marcan 30 ninfas N2 en cada una de las plántulas con ayuda de una lupa binocular. A continuación, se procede al tratamiento (cuatro dosis y un control y tres repeticiones por dosis), se reparten las plántulas de tal forma que el número de ninfas marcadas sea lo más homogéneo posible por dosis (sólo en los casos en los que no se alcancen 30 ninfas N2/hoja).

Para llevar a cabo el tratamiento, se preparan las dosis necesarias con agua destilada y mojante Tween 20 (una gota cada 100 mL), se introducen las hojas durante 10 segundos en su dosis correspondiente y se dejan secar al aire durante una hora aproximadamente. Una vez secas, se vuelven a colocar en una jaula de malla anti-trips y en condiciones de laboratorio durante 15 días, tiempo suficiente para que el insecticida actúe.

Figura 2.17. Marcado de ninfas N2 de *B. tabaci*

Figura 2.18. Tratamiento de ninfas N2 de *B. tabaci*

Día 30

Se procede a la lectura del bioensayo, considerando individuos vivos aquellos que han alcanzado el estado de ninfa N4 y también a los exuvios (los adultos ya han emergido) e individuos muertos, a las ninfas muertas y huevos no eclosionados.

Figura 2.19. Vista a la lupa de ninfa N4 (izquierda) y exuvio (derecha) de *B. tabaci*

2.5.2.2. Bioensayo de ninfas con sinergistas

Los sinergistas son sustancias que actúan bloqueando los sistemas metabólicos enzimáticos que los insectos resistentes emplean para metabolizar o detoxificar los insecticidas. Al frenar o impedir esa metabolización, las concentraciones del insecticida en el cuerpo del insecto alcanzan niveles más altos durante más tiempo, aumentando así su eficacia. Estas sustancias aplicadas por sí solas no producen mortalidad, pero al mezclarlas con el insecticida en cuestión, producen una mortalidad mayor que cuando se aplica la materia activa sólo.

En este caso, se va a realizar este tipo de bioensayo para determinar cuáles son los mecanismos metabólicos de resistencia involucrados, mediante la evaluación de los insecticidas spiromesifén y spirotetramat y en combinación con los sinergistas, butóxido de piperonilo (PBO) como inhibidor del citocromo P450 monooxigenasas, dietil maleato (DEM) como inhibidor de glutatión S-transferasas y profenofós como inhibidor de las esterasas.

La metodología a seguir es similar a la del bioensayo de ninfas detallado anteriormente, con la diferencia de que se aplica el sinergista antes de proceder al tratamiento con el insecticida. Una vez han sido marcadas las ninfas en todas las plantas, éstas se tratan con una única dosis subletal del sinergista. En el caso del PBO a 100 ppm, DEM a 100 ppm y profenofós a 10 ppm (la solución se prepara con agua destilada, mojante y el sinergista en cuestión). Se dejan secar las plantas durante dos horas aproximadamente y se procede al tratamiento insecticida con sus respectivas concentraciones.

Remarcar, que en este bioensayo se realizan dos controles en lugar de uno, uno compuesto de agua destilada y mojante, y el otro con agua destilada, mojante y sinergista, con el fin de asegurarnos de que el insecticida es el causante de la mortalidad y de que el sinergista aplicado por sí solo no causa efecto.

Figura 2.20. Sinergistas utilizados

2.5.2.3. Bioensayo de huevos

Cabe señalar, que este tipo de bioensayo sólo se realiza cuando tratamos con piriproxifén (Juvinal 10EC), ya que es el único insecticida que actúa como ovicida.

La metodología a seguir es muy parecida a la utilizada para el bioensayo de ninfas cambiando algunas pautas.

Día 0

Al igual que para el bioensayo de ninfas, se seleccionan 18 plántulas de algodón con una altura de 20 a 25 cm y con dos hojas verdaderas, se coloca una caja-pinza en una de estas hojas con 40 individuos en su interior, de tal forma que los adultos puedan realizar sus puestas en el envés de las hojas. Se colocan las plántulas en jaulas de cristal de metacrilato para su oviposición, durante 24 horas y en condiciones de laboratorio.

Día 1

Se procede al desmontaje del bioensayo, se aspiran las moscas, las cuales se devuelven a su población correspondiente, se enumeran las plántulas y se cuentan los huevos a la lupa. A continuación, se procede al tratamiento (cuatro dosis y un control y tres repeticiones por dosis) y se reparten las plántulas, de tal forma que el número de huevos sea lo más homogéneo posible por dosis. Para llevar a cabo el tratamiento, se preparan las concentraciones con agua destilada y mojante, introduciendo las hojas durante 10 segundos en su dosis correspondiente. Una vez tratadas, se dejan secar al aire durante una

hora aproximadamente y se colocan en una jaula de malla anti-trips y en condiciones de laboratorio durante 13 días para que el insecticida actúe.

Día 14

Se procede a la lectura del bioensayo, llegado este momento las puestas ya han alcanzado el estadio N2, por tanto, se consideran individuos vivos a las ninfas N2 e individuos muertos a las ninfas muertas y huevos muertos o no eclosionados.

Figura 2.21. Vista a la lupa de ninfas N2 y huevos muertos de *B. tabaci*

2.5.2.4. Bioensayo de adultos

Día 0

En primer lugar, se seleccionan hojas de pimiento, libres de tratamientos insecticidas, con un tamaño suficiente para cubrir la superficie de las cajas.

Al igual que para el resto de bioensayos se preparan diferentes concentraciones, dependiendo del insecticida, y un control; se realizan tres repeticiones por concentración.

Se procede al tratamiento de las hojas, sumergiéndolas durante 10 segundos en su respectiva concentración. Se dejan secar durante 30 minutos aproximadamente, separadas por dosis y con el peciolo en agua, para que no se marchiten y se mantengan turgentes. Una vez secas, se cortan discos de pimiento de 37 mm de diámetro, teniendo en cuenta un total de tres discos por concentración.

Se prepara agar al 2% con agua destilada y se colocan 5 mL en cada una de las cajas de polipropileno transparentes, descritas anteriormente. Una vez ha solidificado el agar, se

colocan los discos de pimiento tratados con sus respectivas dosis y con el envés hacia arriba.

Figura 2.22. Montaje del bioensayo de adultos de *B. tabaci*

Seguidamente, con ayuda de un aspirador entomológico, se insertan 10 adultos sobre cada disco tratado, se cierran las cajas y se mantienen en condiciones de laboratorio (evitando la luz solar directa) durante 48 horas, para que el insecticida actúe.

Figura 2.23. Montaje del bioensayo de adultos de *B. tabaci*

Día 2

Se procede a la lectura del bioensayo. En este caso, se cuentan adultos vivos y muertos, con ayuda de una lupa binocular.

2.5.2.5. Bioensayo sistémico de ninfas

Este bioensayo sólo se realiza cuando se utiliza ciantraniliprol 20SC, ya que es un insecticida que se aplica en el riego y es absorbido por las raíces y el tallo, a diferencia del resto de insecticidas utilizados, que son de uso foliar.

La metodología a seguir fue adaptada de Grávalos *et al.* (2015).

Día 0

Se seleccionan 36 plántulas de algodón que reúnan las siguientes características, que el tallo tenga una longitud mínima de 10 cm y que tengan una hoja verdadera con un diámetro aproximadamente de 2 cm. Se enjuagan las raíces y se cortan con ayuda de una regla y un bisturí, teniendo en cuenta que todas las plantas mantengan una altura de 10 cm. Las plántulas se mantienen en agua destilada el mayor tiempo posible para evitar que se marchiten.

Seguidamente, se colocan las plántulas en las cajas de polipropileno descritas anteriormente, se introducen 45-50 adultos en cada caja y se apoyan en tubos de centrífuga de 50 mL tipo falcon con agua destilada, de tal forma que el tallo de las plántulas esté siempre en contacto directo con el agua. Para la sujeción de los tubos, se utilizan gradillas metálicas.

El ensayo se mantiene durante 24 horas en una jaula de metacrilato ventilada y en condiciones de laboratorio (27 ± 1 °C, 16:8 horas (Luz: Oscuridad) y 60-65% HR), para su oviposición.

Figura 2.24. Selección de plántulas de algodón

Figura 2.25. Montaje del bioensayo sistémico de ninfas de *B. tabaci*

Día 1

Se procede al desmontaje y al tratamiento del ensayo. Con ayuda de un aspirador entomológico se retiran los adultos de las cajas y se devuelven a su población correspondiente. Se enumeran las plántulas y se cuentan los huevos a la lupa, aproximadamente 80-100 huevos por hoja. Las plántulas se mantienen en agua destilada mientras se prepara el insecticida.

Figura 2.26. Desmontaje y conteo de huevos del bioensayo sistémico de ninfas de *B. tabaci*

Se preparan las concentraciones, cuatro dosis de ciantraniliprol sistémico (0,5-0,1-0,05-0,01 ppm) y un control, con 6 repeticiones por dosis.

Se utilizan 5 gradillas de aluminio (una para cada concentración) con 6 viales de cristal de 30 mL en cada una y se etiquetan con su respectiva dosis o control. Se añaden 20 mL de la respectiva solución en cada vial y se reparten las plántulas, seis por dosis, teniendo en cuenta el número de huevos para que sea lo más homogéneo posible.

Estas gradillas a su vez se introducen en una jaula de malla anti-trips, durante 13 días y en condiciones de laboratorio, para que el insecticida actúe.

Figura 2.27. Tratamiento del bioensayo sistémico de ninfas de *B. tabaci*

Día 14

Transcurrido este tiempo, se procede a la lectura del bioensayo, considerando individuos vivos a las ninfas vivas e individuos muertos, tanto a los huevos sin eclosionar como a las ninfas muertas.

2.5.3. Bioensayo de *Trialeurodes vaporariorum*

2.5.3.1. Bioensayo sistémico de ninfas

El procedimiento a seguir es similar al bioensayo sistémico de ninfas de *B. tabaci*, con la diferencia de que se utiliza planta de judía en lugar de planta de algodón, ya que esta especie de mosca blanca se adapta mejor a este hospedante.

A continuación, se detalla la metodología llevada a cabo:

Día 0

En primer lugar, se seleccionan 18 plántulas de judía (*Phaseolus vulgaris*) de unos 20 ó 25 cm de altura, con dos hojas verdaderas cada una de ellas.

A cada una de las hojas se le fija una caja-pinza con 45-50 adultos de mosca blanca en su interior y se mantienen durante 24 horas en una jaula de metacrilato ventilada y en condiciones de laboratorio (27 ± 1 °C, 16:8 horas (Luz: Oscuridad) y 60-65% HR), para su oviposición.

Figura 2.28. Puesta de adultos de *T. vaporariorum* para su oviposición

Día 1

Tras este periodo de tiempo, se retiran las cajas-pinza, se recogen los individuos con ayuda de un aspirador entomológico y se devuelven a su población correspondiente. A continuación, se enumeran las hojas y se cuentan los huevos a la lupa (aproximadamente 80-100 huevos/hoja).

Figura 2.29. Desmontaje y conteo de huevos del bioensayo sistémico de ninfas de *T. vaporariorum*

Se procede al tratamiento, cuatro dosis (0,5-0,1-0,05-0,01 ppm) con ciantraniliprol sistémico y un control.

Se utilizan 5 gradillas de aluminio con 6 viales de cristal de 30 mL en cada una y se etiquetan con su respectiva dosis o control, se añade la solución y tapa correspondiente en cada vial (estas tapas tienen dos orificios, por uno se introduce el peciolo de la hoja y por el otro se va a reponer la solución insecticida cuando sea necesario, con ayuda de una pipeta Pasteur). Se cortan las hojas por la base del peciolo, y se reparten 6 hojas por dosis, haciendo un total de 30 hojas y teniendo en cuenta el número de huevos, para que sea lo más homogéneo posible.

Estas gradillas a su vez, se colocan en una jaula con malla anti-trips y se mantienen durante 13 días en condiciones de laboratorio para que el insecticida actúe.

Figura 2.30. Tratamiento del bioensayo sistémico de ninfas de *T. vaporariorum*

Por otro lado, la solución sobrante se coloca en botes de plástico etiquetados con las diferentes concentraciones de insecticida, para recargar los viales cada vez que sea necesario (3-4 días aproximadamente), de tal forma que el peciolo se encuentre en contacto con el insecticida todo el tiempo, ya que éste tiende a evaporarse con el paso de los días. Esta solución sobrante se conserva en condiciones de laboratorio, al igual que el insecticida aplicado.

Figura 2.31. Solución insecticida sobrante para reponer el bioensayo sistémico de ninfas de *T. vaporariorum*

Día 14

Se procede a la lectura del bioensayo, considerando como individuos vivos a las ninfas N2, e individuos muertos a los huevos no eclosionados y a las ninfas muertas.

2.6. Análisis de datos

Los datos se analizan utilizando el programa estadístico PoloPlus® para el análisis probit (Russell *et al.*, 1977).

Antes de realizar el tratamiento en cada uno de nuestros bioensayos, se discuten o reajustan las dosis, con el fin de obtener mortalidades comprendidas entre 0-100%.

Para determinar las diferencias significativas entre las poblaciones, se calculan las concentraciones que causan una mortalidad al 50% (CL_{50}) y sus límites fiduciales al 95%. En el caso de que las poblaciones presenten diferencias significativas, los límites fiduciales se solapan. En caso contrario, no se solapan.

También se calculan los factores de resistencia a nivel de CL_{50} (FR_{50}) para cada población, en relación a la CL_{50} de la población susceptible de referencia. En el caso de no tener una población sensible de laboratorio, de la población de campo más susceptible al producto estudiado. Cuando se obtiene un $FR_{50} \geq 10$ podemos hablar de posibles resistencias entre las poblaciones. En cambio, cuando el $FR_{50} < 10$, las diferencias significativas entre las CL_{50} de las diferentes poblaciones, son atribuibles a una variación natural de la susceptibilidad a dicho producto.

Una vez se realiza la lectura del bioensayo, en el caso de que el control presente una mortalidad natural, se aplica la fórmula de Abbott, para corregir las mortalidades obtenidas en cada una de las dosis utilizadas (Abbott, W.S., 1925).

Cabe señalar, que cuando la mortalidad en el control es mayor o igual al 15 % o el ensayo muestra una alta variabilidad, es decir, una mortalidad heterogénea entre repeticiones de una misma dosis, se repite el bioensayo.

2.7. Bibliografía

Abbott, W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.

Grávalos, C., Fernández, E., Belando, A., Moreno, I., Ros, C., Bielza, P., 2015. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest Management Science* 71: 1030-1036.

Rusell, R.M., Robertson, J.L., Savin, N.E., 1977. POLO: a new computer program for probit analysis. *Bulletin of the Entomological Society of America* 23: 209-213.

CAPÍTULO 3

3. Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de *B. tabaci* (Gennadius)

3.1. Introducción

La mosca blanca del tabaco, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) es una plaga polífaga, que ocasiona graves daños en cultivos hortícolas y ornamentales a nivel mundial. Sin embargo, el número de productos químicos disponibles para su control es limitado, y la resistencia desarrollada por los insectos a veces compromete la utilización de fitosanitarios aplicados normalmente (Ishaaya, 2001), por lo que los agricultores tienden a utilizar siempre las mismas materias activas.

En los sistemas de manejo integrado de plagas (MIP) prioritariamente se intentan combatir las plagas evitando el uso de agentes de control químico (IOBC, 2008). Por tanto, los tratamientos no deben realizarse regularmente, ni de forma preventiva, sólo en el caso de que sean indispensables. En cambio, los agentes modernos de protección de cultivos, sí que pueden ser introducidos en los programas de manejo integrado de plagas, debido a su baja toxicidad y por ser compatibles con el uso de muchos enemigos naturales (Grafton-Cardwell *et al.*, 2008; Rosell *et al.*, 2008).

En muchos sistemas agrícolas de todo el mundo, *B. tabaci* ha desarrollado resistencia a muchos insecticidas (Dittrich *et al.*, 1990; Denholm *et al.*, 1996; Palumbo *et al.*, 2001; Fernández *et al.*, 2009) tales como los reguladores del crecimiento, buprofezín y piriproxifén (Horowitz y Ishaaya, 1994; Cahill *et al.*, 1996a; Horowitz *et al.*, 1999, 2005) y neonicotinoides (Cahill *et al.*, 1996b; Horowitz *et al.*, 2004, 2005; Nauen y Denholm, 2005). Todo ello ha dado lugar a la introducción de diferentes productos químicos con nuevos modos de acción.

Durante la última década, se han introducido los derivados del ácido tetrónico y tetrámico, un nuevo grupo de insecticidas y acaridas también conocido como ketoenoles (Marcic *et al.*, 2010), el cual ha proporcionado un nuevo y valioso modo de acción para ser utilizado en la gestión de muchas plagas agrícolas, incluyendo moscas blancas, pulgones, trips, ácaros y psílidos. Este nuevo grupo químico incluye las siguientes materias activas: spiromesifén, spirodiclofén y spirotetramat, las cuales han tenido un fuerte impacto,

siendo económicamente beneficiosas para los agricultores (Nauen *et al.*, 2005; Marcic *et al.*, 2010).

Spiromesifén (nombre comercial Oberón) es un derivado del ácido tetrónico, con actividad acaricida e insecticida (Bretschneider *et al.*, 2003; Nauen *et al.*, 2003, 2005) frente a moscas blancas (*Bemisia* y *Trialeurodes* spp.) y diferentes especies de ácaros (*Tetranychus* y *Panonychus* spp.). Este compuesto presenta un nuevo modo de acción, diferente al del resto de productos existentes en el mercado. Actúan inhibiendo la biosíntesis de lípidos, lo cual reduce la fecundidad de los adultos e incapacita el crecimiento de los estadios juveniles. El modo predominante de intoxicación de las moscas es tanto por contacto como por alimentación directa, afectando más rápidamente a los estadios juveniles que a los adultos. Las ninfas tratadas con spiromesifén no realizan su muda correctamente y por tanto no llegan a estado de adulto (Nauen *et al.* 2005). Entre los años 2009 y 2012, spiromesifén se convirtió en una herramienta fundamental para los agricultores de cultivos hortícolas y ornamentales protegidos en España. Concretamente, en 2012 se mostró como un ingrediente activo excepcional, no presentando resistencias cruzadas con insecticidas resistentes utilizados comúnmente para el control de mosca blanca y ácaros (Palumbo, 2004; Grávalos, 2014).

Se considera que spiromesifén tiene un perfil medioambiental favorable (Nicolaus *et al.*, 2005), siendo compatible con los polinizadores (Nauen *et al.*, 2002; Nicolaus *et al.*, 2005; Bielza *et al.*, 2005). Además, este producto contribuyó al éxito de los programas de control integrado, gracias a su compatibilidad con los principales enemigos naturales empleados en cultivos hortícolas en invernadero (*Orius laevigatus*, *Amblyseius swirskii*, *Nesidiocoris tenuis*, *Eretmocerus mundus*, etc.) (Bielza *et al.*, 2008; Izquierdo, 2009).

Spirotetramat (nombre comercial Movento) es un nuevo derivado del ácido tetrámico y el tercer miembro de la familia ketoenol (Marcic *et al.*, 2011). Este producto mostró ser un excelente candidato de rotación con otros productos fitosanitarios, dentro de las estrategias de manejo de la resistencia de insectos chupadores (Elbert *et al.*, 2008). En estudios previos, proporcionó un control efectivo sobre moscas blancas, pulgones y otras plagas homópteras (Nauen *et al.*, 2008), mostrando una mayor eficacia en estadios inmaduros de estos insectos u ácaros. Spirotetramat muestra una actividad de contacto limitada, siendo eficaz principalmente después de la ingestión (Nauen *et al.*, 2008). Actúa como un inhibidor de la síntesis de lípidos, lo que se traduce en la inhibición del acetil CoA carboxilasa para retrasar el desarrollo de los insectos. Es el primer insecticida con dos vías sistémicas, es decir, una vez dentro de la planta se mueve tanto hacia los brotes nuevos

como a las raíces, lo que le permite controlar plagas que por sus hábitos alimenticios son difíciles de alcanzar con una aspersión normal.

Frecuentemente los insectos chupadores se encuentran ocultos en las partes de la planta o se pueden desarrollar en nuevos brotes después de la aplicación insecticida. Dado que la penetración foliar es de esencial importancia para permitir el transporte de un producto en el sistema vascular de la planta y para explotar plenamente su potencial biológico, el desarrollo de spirotetramat por Bayer CropScience AG, abrió nuevos horizontes para el control de parásitos chupadores (Van Waetermeulen *et al.*, 2007; Nauen *et al.*, 2008). Las propiedades físicas y químicas de este producto aparecen resumidas en la Figura 3.1.

Se conoce que, entre los sistemas de cultivo, los invernaderos tienen mayor riesgo de desarrollo de resistencias, al tratarse de espacios cerrados donde se aplican reiterados tratamientos insecticidas sobre las mismas plagas. La zona de cultivo intensivo de hortalizas del sureste español, especialmente Almería, acrecentaba la selección de resistencias, por ser un sistema de producción intensivo con frecuentes aplicaciones insecticidas (Bielza *et al.*, 2008). A consecuencia de esto, aparecieron severos problemas de resistencia en mosca blanca y trips (Espinosa *et al.*, 2002; Bielza, 2008). Por todo esto, es necesario vigilar el posible desarrollo de resistencias a nuevos productos (como ketoenoles) en poblaciones de mosca blanca, especialmente poblaciones de biotipo Q multi-resistentes recogidas en el sureste español, por ser probablemente una de las áreas más problemáticas en el mundo, en lo que a resistencia a insecticidas se refiere.

En muchas ocasiones, tras la repetida exposición de un producto fitosanitario, con el tiempo aparecen supuestos fallos de control químico en numerosas plagas. A veces, puede ser debido a que no se aplica el producto en el estadio adecuado o algún fallo en la aplicación. En cambio, en otros casos el insecticida desarrolla resistencia, ya sea debido a la aplicación de diferentes insecticidas que presentan el mismo modo de acción o bien por aplicaciones reiteradas u excesivas de dicho compuesto. En este estudio se sospechó de un posible fallo de control químico de estos dos ketoenoles, spiromesifén y spirotetramat, los cuales habían sido muy eficaces hasta el momento. Por ello, se decidió llevar a cabo un seguimiento de ambas materias activas, en diferentes poblaciones de invernadero de mosca blanca, recolectadas en Murcia y Almería, mediante la realización de bioensayos de ninfas y utilizando concentraciones discriminantes de los insecticidas.

Brand name	Movento®
Common name (ISO):	Spirotetramat
Chemical name (IUPAC):	ethyl-cis-3-(2,5-dimethylphenyl)-8-methoxy-2-oxo-1-azaspiro[4.5]dec-3-en-4-yl carbonate
CAS number:	[203313-25-1]
Empirical formula:	C ₂₁ H ₂₇ NO ₅
Structural formula:	
Molecular weight:	373.45 g/mol
Colour/appearance:	Light beige powder
Vapor pressure:	1.5 × 10 ⁻⁸ Pa at 25 °C
Water solubility:	29.9 mg/L at pH 7
Melting point:	142 °C

Figura 3.1. Propiedades físicas y químicas más relevantes de spirotetramat

Fuente: Brück *et al.*, 2009

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Poblaciones

Para llevar a cabo este estudio se utilizaron treinta poblaciones de *B. tabaci*, dos poblaciones de referencia (una de ellas fue recolectada en Sicilia, con el fin de tener más información de lo que ocurre en otras regiones mediterráneas, ya que al igual que en Murcia y Almería, esta región también tiene muchos invernaderos en cultivo intensivo y problemas de resistencia) y veintiocho poblaciones de campo, recolectadas en el sureste español (para ver más detalles consultar páginas 55-57, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.1.1).

3.2.2. Insecticidas

Los bioensayos se llevaron a cabo con spiromesifén (Oberon 24 SC, Bayer CropScience, Valencia, España) y spirotetramat (Movento 15 OD, Bayer CropScience, Valencia, España). En todos los casos, el día en el que se realizó el tratamiento se prepararon diferentes soluciones del insecticida en agua destilada, y en caso necesario se añadió mojante Tween 20 en proporción 1 mL L⁻¹.

3.2.3. Bioensayos de ninfas

Para determinar el estado actual de la resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de *B. tabaci*, se llevaron a cabo bioensayos de ninfas (ver el procedimiento en las páginas 69-72, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.5.2.1).

3.2.4. Análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico PoloPlus® para el análisis probit (consultar páginas 85 y 86, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.6).

3.3. Resultados y discusión

En las Tablas 3.1 y 3.2, podemos observar los datos de toxicidad a spiromesifén y spirotetramat respectivamente, en veintinueve poblaciones de *B. tabaci* del sureste español y una población italiana.

Para determinar un posible desarrollo de resistencia de las poblaciones de campo a spiromesifén y spirotetramat, se utilizó un rango de concentraciones en lugar de una única dosis, debido a que a veces pueden darse cambios bruscos en la susceptibilidad de las poblaciones al producto en cuestión. Las dosis de diagnóstico utilizadas para spiromesifén fueron 1, 5 y 25 mg L⁻¹, según Nauen y Konanz (2005) y para spirotetramat, 10 y 40 mg L⁻¹, como bien propusieron Elbert *et al.* (2008).

Como bien nos indican las mortalidades obtenidas para cada una de estas dosis (Tabla 3.1 y 3.2), la mayoría de poblaciones mostraron una susceptibilidad reducida a los ketoenoles. Por ello, se decidió volver a bioensayar todas las poblaciones, utilizando dosis de spiromesifén y spirotetramat diferentes a las de diagnóstico, con el fin de determinar los valores de CL₅₀ (Tabla 3.1 y 3.2).

En general, la toxicidad a spiromesifén y spirotetramat (Tabla 3.1 y 3.2), varía significativamente entre las poblaciones españolas bioensayadas, mostrando valores de CL₅₀ muy altos para ambos insecticidas.

En cuanto a spiromesifén (Tabla 3.1), las poblaciones de referencia, LAB-S y SCICLI, mostraron ser susceptibles con valores de CL₅₀ de 0,78 y 2,47 mg L⁻¹, respectivamente. Estos datos son similares a otros obtenidos en estudios previos, como es el caso de poblaciones españolas en 2009 (CL₅₀= 1,1-7,7 mg L⁻¹) (Fernández *et al.*, 2009), en cinco poblaciones de España y una de Israel en 2005 (CL₅₀= 0,09-1,45 mg L⁻¹) (Nauen y Konanz, 2005), en doce poblaciones de Arizona y California recogidas entre 2005 y 2006 (CL₅₀= 0,21 y 6,08 mg L⁻¹) (Prabhaker *et al.*, 2008), y en doce poblaciones de Florida también recolectadas durante 2005 y 2006, con valores de CL₅₀ comprendidos entre 0,46 y 2,08 mg L⁻¹ (Mann *et al.*, 2012). Todos estos datos indican una alta susceptibilidad a spiromesifén en poblaciones de *B. tabaci* de diferentes partes del mundo.

Otro estudio a tener en cuenta es el de Liu (2004) y Prabhaker *et al.* (2008), los cuales consideraban que las ninfas más jóvenes de mosca blanca eran más susceptibles a spiromesifén que las ninfas mayores, aumentando los valores obtenidos de CL_{50} con la edad. Todos nuestros datos obtenidos para ambos ketoenoles (Tabla 3.1 y 3.2) son el resultado de ninfas tratadas a los quince días de edad, mientras que otros autores como Nauen y Konanz (2005) realizaron los tratamientos sobre ninfas de diez a doce días de edad y Prabhaker *et al.*, 2008, sobre ninfas de ocho días.

Mientras que las poblaciones de referencia (LAB-S y SCICLI) presentaron un porcentaje de mortalidad de 100% a 25 mg L⁻¹ y alrededor de 80% a 5 mg L⁻¹, ninguna de las poblaciones restantes alcanzó porcentajes tan altos, obteniendo un mismo rango de mortalidad de 0 a 61%, tanto a 5 mg L⁻¹, como a 25 mg L⁻¹. Entre ellas, las poblaciones más susceptibles a spiromesifén fueron AR15 y LV103, con valores de CL_{50} de 6,18 y 2,55 mg L⁻¹ respectivamente (7,9 y 3,3 veces), no presentando diferencias significativas con la población de referencia SCICLI. Sin embargo, seis poblaciones de campo, LV108, LV107, AR01, AR20, AR14, AR16 y AR23, fueron extremadamente resistentes a dicho producto (>38461, >38461, 17654, 17364, >12821, 10351 y 10165 veces), obteniendo valores de CL_{50} de >30000, >30000, 13770, 13544, >10000, 8074 y 7929 mg L⁻¹, respectivamente. Curiosamente, la población de Almería-Poniente (LV01), donde no se habían encontrado fallos de control, mostró una resistencia moderada (54 veces), al igual que AR02, AR12, AR13, AR21, LV102 y LV106 (60, 27, 26, 47, 82 y 53 veces), no presentando diferencias significativas entre ellas, ni tampoco con tres poblaciones altamente resistentes, JL04/05, AR04 y LV104 (476, 254 y 288 veces), y una población susceptible, AR15 (8 veces).

Teniendo en cuenta las mortalidades obtenidas con las dosis discriminantes, JL02 y AR24 fueron tan resistentes como LV104 o AR20. De la misma forma, la población recolectada en el campo de Cartagena, AR17, también mostró mortalidades muy bajas en las dosis de diagnóstico (0% a 25 ppm). En el caso de AR22, las mortalidades mostraron un comportamiento similar a JL04/05. Para AR11 y AR19, las mortalidades en las dosis de diagnóstico fueron medias (30% a 25 ppm), por lo que podríamos esperar una resistencia moderada como en el caso de LV01. Sin embargo, LV105 presenta mortalidades altas (53,7% a 5 ppm y 49,5% a 25 ppm), por lo que podríamos decir que esta población va a ser igual de susceptible que LV103 (60,5% a 5 ppm y 49,4% a 25 ppm).

Cabe señalar, que todas estas poblaciones excepto LV01, fueron recolectadas de cultivos con un nivel de población de *B. tabaci* de medio a alto, donde se habían dado fallos de control. Por tanto, no representan la situación general en ninguna de esas zonas.

Como bien nos indica el historial de tratamientos de cada una de estas poblaciones (ver Capítulo 2-Materiales y Métodos generales, Tablas 2.1 y 2.2), todas las poblaciones de campo procedentes de Murcia y cinco de las poblaciones procedentes de Almería (AR04, LV103, LV108, LV104 y LV106) fueron tratadas con spiromesifén al menos una vez, esto podría explicar los valores obtenidos de alta toxicidad al producto en cuestión.

Tabla 3.1. Datos de toxicidad a spiromesifén de poblaciones de *B. tabaci* del sureste español en estado de ninfa.

Población	% Mortalidad			Pendiente ($\pm$ ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀
	1 ppm	5 ppm	25 ppm			
LAB-S	5,9	85,3	100	2,70 ($\pm$ 0,44)	0,78 (0,51-1)	
SCICLI	18,8	76,3	100	2,53 ($\pm$ 0,50)	2,47 (1,41-3,49)	3,2
JL02	2,4	9,5	17,9		>25	>32
JL04/05	18,8	49,4	42,4	0,40 ($\pm$ 0,14)	371,58 (97,74-2582)	476
AR01	0	11,3	10,2	0,59 ($\pm$ 0,11)	13770 (6082-71383)	17654
AR02	4,7	30,6	55,3	0,74 ($\pm$ 0,11)	46,78 (24,55-119,97)	59,9
AR04	11	20,7	15,9	0,58 ($\pm$ 0,20)	198,25 (53,53-372,15)	254
AR11	13,3	24,4	30,1		>25	>32
AR12	18,4	31,1	53,3	0,70 ($\pm$ 0,17)	21,29 (10,53-94,44)	27
AR13	22,2	33,7	53,3	0,62 ($\pm$ 0,14)	20,02 (10,58-70,26)	26
AR14	11,5	19,3	13,3		>10000	>12821
AR15	27,6	55,2	60,9	0,61 ($\pm$ 0,14)	6,18 (2,46-17,71)	7,9
AR16	8,5	0	6,3	0,33 ($\pm$ 0,07)	8073,6 (2208-96435)	10351
AR17	10,3	7,3	0		>25	>32
AR18	10,8	37,5	25,2		>25	>32
AR19	13,7	19,6	30,1		>100	>128
AR20	0,7	0	12,5	0,84 ($\pm$ 0,15)	13544 (3805,7-37474)	17364
AR21	25,9	54,1	43,5	0,44 ($\pm$ 0,11)	36,82 (13,22-192,69)	47
AR22	18,1	52,2	34,1		>25	>32
AR23	4,8	7,8	4,6	0,72 ($\pm$ 0,14)	7929 (3173,3-16183)	10165
AR24	0	3,5	18,6		>100	>128
LV01	11	26,5	42,9	0,72 ($\pm$ 0,18)	42,06 (15,84-1034,94)	54
LV102	11,8	45,1	52,9	0,35 ($\pm$ 0,12)	64,06 (5,29-155,04)	82
LV103	35,6	60,5	49,4	0,91 ($\pm$ 0,31)	2,55 (1,20-5,67)	3,3
LV104	8,5	8,2	12,7	2,84 ($\pm$ 0,54)	225,18 (185,46-285,643)	288
LV105	36,5	53,7	49,5		>100	>128
LV106	19,5	29,6	45,9	0,55 ($\pm$ 0,12)	40,94 (16,18-128,23)	53
LV107	2,8	6,8	7,7		>30000	>38461
LV108	2,1	3,8	7,2		>30000	>38461

ppm= mg L⁻¹; ET: error típico; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ de la población susceptible de referencia.

Respecto a spirotetramat (Tabla 3.2), la población de referencia más susceptible fue LAB-S, con un valor de CL_{50} de 2,35 mg L⁻¹. Al comparar con estudios previos, podemos observar que nuestra población de referencia SCICLI, es ligeramente menos sensible que otras poblaciones recogidas en diferentes partes del mundo, con valores de CL_{50} comprendidos entre 0,26 y 1 ppm (Elbert *et al.*, 2008), pero se encuentra dentro del rango de susceptibilidad mostrado por poblaciones de Arizona y California recolectadas en 2008 y 2009, comprendido entre 0,91 y 27,98 ppm (Prabhaker *et al.*, 2014).

Ambas poblaciones de referencia (LAB-S y SCICLI) alcanzaron porcentajes de mortalidad altos, de 98-99% a 40 ppm y entre 65-85% a 10 ppm. En cambio, ninguna de las poblaciones restantes alcanzó porcentajes tan altos, obteniendo rangos de mortalidad comprendidos entre 0-42% a 10 ppm y 5-74% a 40 ppm. Entre estas poblaciones, las más susceptibles a spirotetramat fueron LV01 y LV102, recolectadas en Almería-Poniente, con valores de CL_{50} de 14,22 y 23,72 mg L⁻¹ (6,1 y 10 veces) y la más tolerante fue JL04/05, con un valor de CL_{50} de 306,49 mg L⁻¹ (130 veces). Al igual que con spiromesifén, las poblaciones AR23, AR16, AR20, AR01 y LV108 fueron las más resistentes a spirotetramat (105, 103, 80, 79 y 71 veces) aunque en menor medida, con valores de CL_{50} de 247, 243, 187, 185 y 167 mg L⁻¹ respectivamente, y no presentando diferencias significativas entre ellas. De la misma forma, LV104, LV107, AR04, LV106, AR21, LV103 y AR02, también mostraron una alta resistencia a spirotetramat, pero con valores más moderados (49, 43, 42, 41, 35, 33 y 27 veces), obteniendo una CL_{50} de 114, 101, 98, 97, 83, 78 y 64 mg L⁻¹ respectivamente, y no presentando diferencias significativas entre ellas ni con AR23 y LV108.

En cuanto a las poblaciones con las que no se obtuvo un valor de CL_{50} , si observamos los porcentajes de mortalidad obtenidos con las dosis discriminantes, podemos comprobar que JL02, AR12, AR13, AR14, AR15, AR24 y LV105 tienen un comportamiento similar a AR21, LV106, LV107 y LV108 (29, 31, 36 y 39% a 40 ppm) con mortalidades comprendidas entre 25-40% a 40 ppm. Sin embargo, AR11, AR19 y AR22 mostraron mortalidades muy bajas en las dosis discriminantes (9, 14 y 7% a 40 ppm), asemejándose en su comportamiento a las poblaciones AR01, AR16, AR20, AR23, LV103 y LV104, que presentaron una alta o moderada resistencia a spirotetramat, con mortalidades de 5-16% a 40 ppm.

Tabla 3.2. Datos de toxicidad a spirotetramat de poblaciones de *B. tabaci* del sureste español en estado de ninfa.

Población	% Mortalidad		Pendiente ($\pm$ ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀
	10 ppm	40 ppm			
LAB-S	83,9	99,1	3,60 ($\pm$ 0,51)	2,35 (1,45-3,02)	
SCICLI	66,7	98,4	2,85 ($\pm$ 0,50)	7,11 (2,77-9,82)	3
JL02	22,5	39,6		>40	>17
JL04/05	13,7	14,4	4,08 ($\pm$ 0,59)	306,49 (259,98-349,84)	130
AR01	12,1	6,4	1,32 ($\pm$ 0,22)	184,90 (135,71-284,36)	79
AR02	7,7	50	1,17 ($\pm$ 0,16)	63,71 (29,05-120,21)	27
AR04	8,1	21,6	1,25 ($\pm$ 0,17)	98,39 (70,56-140,22)	42
AR11	0	9,2		>40	>17
AR12	40,9	37,5		>40	>17
AR13	39,8	39,1		>40	>17
AR14	0	37,8		>100	>43
AR15	23	25,3		>40	>17
AR16	12,5	9,2	2,63 ($\pm$ 0,33)	243,04 (192,50-296,04)	103
AR17	9,8	15,9		>40	>17
AR18	35,3	50,6		>100	>43
AR19	31,2	13,8		>100	>43
AR20	0	12,3	1,24 ($\pm$ 0,16)	187,17 (118,04-281,63)	80
AR21	2,6	28,7	1,60 ($\pm$ 0,20)	82,79 (51,39-125,04)	35
AR22	12,9	6,6		>100	>43
AR23	2,1	5,6	2,15 ($\pm$ 0,40)	247,24 (74,49-401,44)	105
AR24	9,2	25,6		>100	>43
LV01	41,8	73,7	1,41 ($\pm$ 0,38)	14,22 (6,97-21,20)	6,1
LV102	20,7	17,2	0,97 ($\pm$ 0,16)	23,72 (1,75-58,90)	10
LV103	8,6	4,9	1,40 ($\pm$ 0,24)	78,47 (41,22-113,71)	33
LV104	6,8	16,4	1,59 ($\pm$ 0,27)	114,40 (16,68-226,20)	49
LV105	23,7	37,5		>100	>43
LV106	6,1	31,2	1,49 ($\pm$ 0,25)	97,06 (56,98-447,92)	41
LV107	12,3	36,2	1,29 ($\pm$ 0,17)	100,85 (40,17-196,94)	43
LV108	12,8	39,3	0,85 ($\pm$ 0,17)	167,19 (83,04-570,05)	71

ppm= mg L⁻¹; ET: error típico; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ de la población susceptible de referencia.

Definitivamente, cabe señalar que éste es el primer estudio donde se encuentran resistencias a spiromesifén y spirotetramat en *B. tabaci*, aunque sí que se conoce resistencia a spiromesifén en la otra especie de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Karatolos *et al.*, 2012). Si hacemos una comparación entre estos dos estudios, podemos comprobar que el valor de CL₅₀ obtenido para nuestra población susceptible de referencia de *B. tabaci* (LAB-S) (0,78 mg L⁻¹), es similar al de la población sensible de *T. vaporariorum* (0,61 mg L⁻¹). Sin embargo, al comparar el resto de

poblaciones, nuestros datos (Tabla 3.1) muestran un mayor nivel de resistencia a spiromesifén, con valores de CL_{50} hasta mayores de 30000 mg L⁻¹, siendo mucho más elevados que los obtenidos en el caso de *Trialeurodes*, con valores de CL_{50} comprendidos entre 4,20 y 15,7 mg L⁻¹, y también que la dosis de campo recomendada para dicho producto (144 mg L⁻¹). Estas diferencias pueden ser debidas a que nuestras poblaciones de *Bemisia* fueron recogidas de cultivos de invernaderos donde se habían producido posibles fallos de control a spiromesifén y spirotetramat. En cambio, en el caso de *Trialeurodes*, las poblaciones utilizadas provenían de campo, pero fueron seleccionadas para la resistencia a spiromesifén en laboratorio.

3.4. Conclusiones

Entre los años 2015 y 2017, la toxicidad a spiromesifén y spirotetramat varía en poblaciones de *B. tabaci* del sureste español, recolectadas concretamente en invernaderos en los que se sospechaban posibles fallos de control a ambos insecticidas. En general, la mayoría de las poblaciones mostraron valores de baja susceptibilidad para ambos ketoenoles.

Los datos obtenidos al bioensayar las poblaciones mediterráneas con spiromesifén fueron bastante heterogéneos. Todas las poblaciones de campo, excepto AR15 y LV103, fueron muy tolerantes a spiromesifén en comparación con las poblaciones de referencia (LAB-S y SCICLI). Algunas de ellas, mostraron valores de CL_{50} muy por encima de la dosis de campo recomendada (>144 ppm). En resumen, como bien indican nuestros datos, podemos confirmar que se ha desarrollado resistencia a spiromesifén en poblaciones mediterráneas de *B. tabaci* (Tabla 3.1).

En cuanto a los bioensayos realizados con spirotetramat, todas las poblaciones de campo, excepto LV01 y LV102, fueron muy tolerantes en relación a las poblaciones de referencia, mostrando valores de CL_{50} por encima de la dosis de campo (>97,5 ppm) en la mayoría de los casos. De igual forma que con spiromesifén (Tabla 3.1), pero en menor medida, los datos obtenidos revelan el desarrollo de resistencia a spirotetramat en poblaciones de mosca blanca del sureste español (Tabla 3.2).

En 2009, tanto spiromesifén como spirotetramat eran aconsejables en las estrategias de manejo de la resistencia a insecticidas, debido a su eficacia en campo, su perfil ecotoxicológico favorable, por sus efectos subletales y por la ausencia de resistencias cruzadas con otros productos. Todo esto ha llevado a un sobreuso de ambos insecticidas que ha desembocado en el inicio de desarrollo de resistencias en mosca blanca. Por ello, es

de gran importancia vigilar el desarrollo de resistencias a ambos ketoenoles, especialmente en poblaciones de *B. tabaci* del sureste español, con el fin de mitigar o evitar su evolución.

Los resultados de este estudio podrían ser utilizados en el desarrollo de tácticas de manejo integrado de plagas para mitigar el desarrollo de resistencia de los insectos a ambos ketoenoles.

Debido al potencial que presenta esta especie de mosca blanca para desarrollar resistencia, y concretamente a la problemática de España de resistencia en cultivos hortícolas, que implican a *B. tabaci* y otras especies coexistentes como *F. occidentalis* (Bielza, 2008), es esencial el uso correcto de insecticidas, para evitar el desarrollo de resistencias, ya que cada vez se dispone de menos productos químicos para el control de mosca blanca.

3.5. Bibliografía

- Bielza, P., 2008. Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Pest Management Science 64: 1131-1138.
- Bielza, P., Contreras, J., Quinto, V., Izquierdo, J., Mansanet, V., Elbert, A., 2005. Effects of Oberon® 240 SC on bumblebees pollinating greenhouse tomatoes. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 58: 469-484.
- Bielza, P., Fernández, E., Grávalos, C., Izquierdo, J., 2008. Testing for non-target effects of spiromesifen on *Eretmocerus mundus* and *Orius laevigatus* under greenhouse conditions. Biocontrol 54 (2): 229-236.
- Bretschneider, T., Benet-Buchholz, J., Fischer, R., Nauen, R., 2003. Spirodiclofen and spiromesifen –novel acaricidal and insecticidal tetrionic acid derivatives with a new mode of action. Chimia 57: 697-701.
- Brück, E., Elbert, A., Fischer, R., Krueger, S., Kühnhold, J., Klueken, A.M., Nauen, R., Niebes, J.F., Reckman, U., Schnorbach, J.J. *et al.*, 2009. Movento®, an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance. Crop Protection 28: 838-844.

- Cahill, M., Denholm, I., Byrne, F.J., Devonshire, A.L., 1996a. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci*: Current status and implications for management. In Brighton crop protection conference: Pests and diseases, International Conference, Brighton, vol. 3. British Crop Protection Council, Farnham, United Kingdom, pp. 75-80.
- Cahill, M., Gorman, K., Day, S., Denholm, I., Elbert, A., Nauen, R., 1996b. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Bulletin of Entomological Research 86: 343-349.
- Denholm, I., Cahill, M., Byrne, F.J., Devonshire, A.L., 1996. Progress with documenting and combating insecticide resistance in *Bemisia*. In: Gerling, D., Mayer, R.T. (Eds.), *Bemisia*: 1995 Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. Intercept Ltd., Andover, Hants, UK, pp. 577-603.
- Dittrich, V., Uk, S., Ernst, G.H., 1990. Chemical control and insecticide resistance of whiteflies. In: Gerling, D. (Ed.), *Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management*. Intercept, Andover, UK, pp. 263-286.
- Elbert, A., Nauen, R., Salmon, E., 2008. Resistance management guidelines for the new ketoenol insecticide Movento®. Bayer CropScience Journal 61(2): 403-416.
- Espinosa, P.J., Bielza, P., Contreras, J., Lacasa, A., 2002. Insecticide resistance in field populations of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) in Murcia (south-east Spain). Pest Management Science 58: 967-971.
- Fernández, E., Grávalos, C., Haro, P.J., Cifuentes, D., Bielza, P., 2009. Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q biotype in south-eastern Spain. Pest Management Science 65(8): 885-891.
- Grafton-Cardwell, E.E., Lee, J.E., Robillard, S.M., Gorden, J.M., 2008. Role of imidacloprid in integrated pest management of California citrus. Journal of Economic Entomology 101: 451-460.
- Grávalos, C., 2014. La resistencia a spiromesifén y ciantraniliprol en *Bemisia tabaci* (Gennadius). Tesis doctoral (UPCT), pp. 112-113.
- Horowitz, A.R., Ishaaya, I., 1994. Managing resistance to insect growth regulators in the sweet potato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomology 87: 866-871.

- Horowitz, A.R., Kontsedalov, S., Ishaaya, I., 2004. Dynamics of resistance to the neonicotinoids acetamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 97: 2051-2056.
- Horowitz, A.R., Kontsedalov, S., Khasdan, V., Ishaaya, I., 2005. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58: 216-225.
- Horowitz, A.R., Mendelson, Z., Cahill, M., Denholm, I., Ishaaya, I., 1999. Managing resistance to the insect growth regulator, pyriproxyfen, in *Bemisia tabaci*. *Journal of Pesticide Science* 55: 272-276.
- IOBC (International Organisation for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants), 2008. IOBC Global Newsletter <http://www.unipa.it/iobc/view.php> Status: 09.2008.
- Ishaaya, I., 2001. *Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance*, first ed. Springer, Berlin, pp. 209-338.
- Izquierdo, J., 2009. Spiromesifen: selectividad sobre los principales organismos de control biológico en cultivos hortícolas. Comunicación oral al VI Congreso Nacional de Entomología Aplicada, p. 18.
- Karatolos, N., Williamson, M.S., Denholm, I., Gorman, K., Ffrench-Constant, R., Nauen, R., 2012. Resistance to spiromesifen in *Trialeurodes vaporariorum* is associated with a single amino acid replacement in its target enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. *Insect Molecular Biology* 21(3): 327-334.
- Liu, T.X., 2004. Toxicity and efficacy of spiromesifén, a tetrone acid insecticide, against sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on melons and collards. *Crop Protection* 23: 505-513.
- Mann, R.S., Schuster, D.J., Cordero, R., Toapanta, M., 2012. Baseline toxicity of spiromesifen to biotype B of *Bemisia tabaci* in Florida. *Florida Entomologist* 95(1): 95-98.
- Marcic, D., Ogurlic, I., Mutavdzic, S., Perić, P., 2010. The effects of spiromesifen on life history traits and population growth of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology* 50: 255-267.

- Marcic, D., Perić, P., Petronijević, S., Prijović, M., Drobnjaković, T., 2011. Cyclic Ketoenols - Acaricides and Insecticides with a Novel Mode of Action. *Pesticides and Phytomedicine* (Belgrade) 26: 185-195.
- Nauen, R., Bretschneider, T., Brünck, E., Elbert, A., Reckmann, U., Wachendorff, U., Tiemann, R., 2002. BSN 2060: a novel compound for whitefly and spider mite control. *Pests and Diseases* 39-44.
- Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert, A., Fischer, R., Tiemann, R., 2003. Spirodiclofen and spiromesifen. *Pesticide Outlook* 14: 243-246.
- Nauen, R., Denholm, I., 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58: 200-215.
- Nauen, R., Konanz, S., 2005. Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58(3): 485-502.
- Nauen, R., Reckmann, U., Thomzik, J., Thielert, W., 2008. Biological profile of spirotetramat (Movento®) - a new two-way systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. *Bayer Crop Science* 61: 245-278.
- Nauen, R., Schnorbach, H.J., Elbert, A., 2005. The biological profile of spiromesifen (Oberon®) - a new tetrionic acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58: 417-440.
- Nicolaus, B., Romijn, C., Bowers, L., 2005. Ecotoxicological profile of the insecticide Oberon®. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58: 353-370.
- Palumbo, J.C., 2004. Comparative efficacy of Oberon (spiromesifen) against *Bemisia* whiteflies in spring cantaloupes. *Vegetable Report*, College of Agriculture and Life Sciences, The University of Arizona, Tucson, AZ.
- Palumbo, J.C., Horowitz, A.R., Prabhaker, N., 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20: 739-765.
- Prabhaker, N., Castle, S.J., Bucklelew, L., Toscano, N.C., 2008. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spiromesifen. *Journal of Economic Entomology* 101: 174-181.

- Prabhaker, N., Castle, S.J., Perring, T.M., 2014. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spirotetramat. *Journal of Economic Entomology* 107(2): 773-780.
- Rosell, G., Quero, C., Coll, J., Guerrero, A., 2008. Biorational insecticides in pest management. *Journal of Pesticide Science* 33: 103-121.
- Van Waetermeulen, X., Brück, E., Elbert, A., Fischer, R., Krueger, S., Kühnhold, J., Nauen, R., Niebes, J.F., Reckmann, U., Schnorbach, H.J., Steffens, R., 2007. Spirotetramat, an innovative fully systemic insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance. *Proceedings of the XVI International Plant Protection Congress* 1: 60-67.

CAPÍTULO 4

---

4. Resistencia cruzada entre spiromesifén e insecticidas de uso común para el control de *B. tabaci* (Gennadius)

4.1. Introducción

Como bien sabemos la mosca blanca del tabaco *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), es una plaga de gran importancia a nivel mundial debido a los graves daños y a las pérdidas económicas que ocasiona. Además, tiene gran facilidad para desarrollar resistencia a numerosos productos fitosanitarios, incluyendo materias activas novedosas como bien revelan nuestros datos en el capítulo anterior, lo que a veces dificulta su control.

Aunque cada vez más se intenta evitar la aplicación de agentes de control químico extendiéndose el uso de técnicas de control integrado, sigue siendo necesario el desarrollo de nuevas materias activas con diferentes modos de acción y sin resistencias cruzadas con los insecticidas utilizados habitualmente, para ser incorporadas en las estrategias de gestión de la resistencia a insecticidas (GRI).

La resistencia a los insecticidas es un rasgo heredado genéticamente, que permite a una población de insectos tolerar mayor dosis de insecticidas que normalmente serían letales a la mayoría de individuos en una población normal. El fenotipo resistente se transmite a las generaciones sucesivas, y por lo tanto está sujeto a la selección repetida a través de la exposición a insecticidas y otros estímulos ambientales (Gorman, 2009). La resistencia a un insecticida puede conferir resistencia cruzada a otros insecticidas frente a plagas que pueden haber estado o no expuestas.

Para saber gestionar la resistencia a insecticidas en cualquier plaga, es fundamental el estudio de resistencia cruzada del producto en cuestión con otros insecticidas. La gestión de la resistencia es un objetivo global y difícil de lograr debido a la implicación de varios factores bioquímicos de resistencia (factores bióticos y abióticos) y al posible desarrollo de resistencia cruzada (Georghiou, 1972; Metcalf, 1980).

La resistencia cruzada se produce cuando la resistencia a un compuesto también confiere protección contra otros. Ésta se debe a los mecanismos comunes de resistencia que incluyen la reducción de la penetración de la cutícula, aumento de la tasa metabólica, o

alteración en el sitio de acción (Elbert *et al.*, 2007). Es más común entre los miembros de un mismo grupo químico (intragrupo), que generalmente están estrechamente relacionados, tanto estructural como funcionalmente. En estudios previos en *B. tabaci* aparecen varios ejemplos de resistencia cruzada intragrupo para la mayoría de los principales grupos químicos, incluyendo insecticidas organofosforados (Kranthi *et al.*, 2001), piretroides (Sivasupramaniam *et al.*, 1997) y neonicotinoides (Prabhaker *et al.*, 2005; Karunker *et al.*, 2008).

Sin embargo, la resistencia cruzada también puede ser imprevisible, afectando a compuestos con estructuras diferentes y distintos modos de acción (intergrupo). Algunos ejemplos incluyen una sobreexpresión de la proteína CYP6G1 en la mosca *Drosophila melanogaster* Meigen que confieren resistencia a un canal de sodio modulador (DDT) y al neonicotinoide imidacloprid (Daborn *et al.*, 2001), y un mecanismo no identificado que protege la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood frente a benzoilurea (teflubenzurón), así como a un inhibidor de la síntesis de quitina tiadiazina (buprofezin) (Gorman *et al.*, 2002). Otros estudios también mostraron resistencia cruzada intergrupo entre neonicotinoides y pimetrocina (Gorman *et al.*, 2010) en *B. tabaci*, y entre piretroides y carbamatos en *Frankliniella occidentalis* (Espinosa *et al.*, 2002), concretamente entre acrinatrín y formetanato tanto en condiciones de campo como de laboratorio.

Llevar a cabo un estudio de resistencia cruzada es particularmente crucial para la evaluación de nuevos productos, los cuales pueden o no ver su eficacia afectada por la selección de resistencia en el pasado (Denholm y Devine, 2001). Aclarar las relaciones de resistencia cruzada entre insecticidas, proporciona información esencial para respaldar la elección de un producto dentro de las estrategias de manejo de la resistencia.

Teniendo en cuenta la problemática de resistencia a insecticidas presente en el sureste español, es conveniente llevar a cabo estudios sobre resistencias cruzadas entre materias activas novedosas y las usadas comúnmente para el control de mosca blanca. Por ello, con el fin de desarrollar una mejor estrategia de manejo de la resistencia, el objetivo de este estudio fue determinar si existía resistencia cruzada entre nuestra población seleccionada en laboratorio para la resistencia a spiromesifén (R-SPI) y los insecticidas utilizados frecuentemente para el control de mosca blanca, tanto en adultos como en ninfas.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Poblaciones

Para llevar a cabo este estudio se utilizaron tres poblaciones de *B. tabaci*, una de referencia (LAB-S), una mezcla de poblaciones de campo del sureste español resistentes a spiromesifén (AR), y por último, una población seleccionada a spiromesifén en laboratorio (R-SPI) (ver más detalles de las poblaciones en las páginas 55-59, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartados 2.1.1 y 2.1.2).

4.2.2. Insecticidas

Los insecticidas utilizados fueron: spiromesifén (Oberon 24 SC, Bayer CropScience, Valencia, España), spirotetramat (Movento 15 OD, Bayer CropScience, Valencia, España), imidacloprid (Confidor 20 LS, Bayer Crop Science, Valencia, España), alfa-cipermetrín (Fastac 10 EC, Basf, Sevilla, España), pimetrocina (Plenum 50 WG, Syngenta Agro, Madrid, España), piriproxifén (Juvinal 10 EC, Kenogard, Barcelona, España), piridabén (Sanmite 20 WP, Basf, Sevilla, España), tiametoxam (Actara 25 WG, Syngenta Agro, Madrid, España), ciantraniliprol (Cyazypyr 20 SC, Verimark™, DuPont Crop Protection, Newark, DE), flupiradifurona (Sivanto Prime 20 SL, Bayer Crop Science, Valencia, España), azadiractín (Aling 3,2 EC, Sipcam Iberia, Valencia, España), y sulfoxaflor (Toretto 21,8 SC, Dow AgroSciences, Madrid, España). En todos los bioensayos, el día en el que se realizó el tratamiento se prepararon diferentes soluciones del insecticida en agua destilada, y en caso necesario se añadió mojante Tween 20 en proporción 1 mL L⁻¹.

4.2.3. Bioensayos de ninfas y adultos

Para determinar si existían resistencias cruzadas entre spiromesifén y los insecticidas comúnmente utilizados para el control de *B. tabaci*, se llevaron a cabo bioensayos de ninfas y de adultos (ver el procedimiento en las páginas 69-72 y 75-82, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartados 2.5.2.1, 2.5.2.4 y 2.5.2.5).

4.2.4. Análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico PoloPlus® para el análisis probit (consultar páginas 85 y 86, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.6).

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Población resistente a spiromesifén (R-SPI)

La población seleccionada a spiromesifén (R-SPI) fue fundada a partir de la población AR. Esta población base AR, es una mezcla de las poblaciones que presentaron mayor resistencia a spiromesifén en comparación con la población sensible de referencia (LAB-S) (ver datos en el Capítulo 3-Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de *B. tabaci*, Tabla 3.1). Como podemos comprobar, las poblaciones más resistentes fueron AR01, AR14 y AR16, mostrando factores de resistencia de 17654, >12821 y 10351 respectivamente. Señalar, que a pesar de que AR20 y AR23 también mostraron valores altos de toxicidad frente a spirosimesifén, con factores de resistencia de 17364 y 10165, aún no se disponía de estas poblaciones cuando se fundó la población base.

Para llevar a cabo el proceso de selección (ver procedimiento en el Capítulo 2-Materiales y Métodos generales, páginas 58 y 59, apartado 2.1.2), la población base AR fue sometida a cinco tratamientos sucesivos con spiromesifén, con una dosis de 1000 ppm cada uno y dejando entre ellos un tiempo de 3-4 meses aproximadamente, para que los supervivientes se multiplicaran y se recuperara la población. Esta nueva población se nombró como R-SPI.

Una vez se consideró que la población R-SPI podía estar seleccionada, se realizó un bioensayo de ninfas para determinar su nivel de resistencia, obteniendo un valor de $CL_{50} > 30000 \text{ mg L}^{-1}$ (concretamente a esta dosis se obtuvo un 26,6% de mortalidad), y un factor de resistencia >38462, en relación a LAB-S (Tabla 4.1 que aparece a continuación). Por tanto, al comparar la toxicidad en R-SPI con la de la población base AR, con un valor de CL_{50} de 8534 mg L^{-1} y un factor de resistencia de 10941, se comprobó un aumento de resistencia y se consideró que la población había sido seleccionada.

4.3.2. R-SPI frente a otros insecticidas en ninfas y adultos

En esta parte del estudio, se llevó a cabo un seguimiento sobre resistencias cruzadas entre la población seleccionada a spiromesifén (R-SPI) con algunos insecticidas de uso común para el control de mosca blanca (spirotetramat, imidacloprid, alfa-cipermetrín, pimetrocina, piriproxifén, piridabén, tiametoxam, flupiradifurona, azadiractín y sulfoxaflor) y ciantraniliprol (se encuentra en fase de registro en España). Para ello se realizaron bioensayos de ninfas (Tabla 4.1) con todos estos insecticidas. También se decidió realizar bioensayos de adultos (Tabla 4.4) con imidacloprid y tiametoxam, ya que

en estudios anteriores se comprobó que *B. tabaci* expresa su resistencia en neonicotinoides en estado de adultos (Nauen *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2009), es decir que el mecanismo de resistencia es específico del estado de desarrollo.

En general, los datos obtenidos en la Tabla 4.1 muestran una baja variabilidad, siendo muy homogéneos entre ellos. Cabe destacar el elevado valor obtenido para spiromesifén, siendo R-SPI una población muy resistente con un factor de resistencia >38462. Con la mayoría de los insecticidas, R-SPI presenta un comportamiento similar al de la población sensible de referencia (LAB-S). Sólo los bioensayos realizados con spirotetramat y pimetrocina se muestran más heterogéneos, sugiriendo una posible resistencia cruzada.

En el caso de spirotetramat era de esperar, ya que pertenece al grupo insecticida de los ketoenoles al igual que spiromesifén. Además partimos de que la población R-SPI fue creada con poblaciones de campo que mostraban posibles fallos de control a ambos insecticidas. De hecho, como bien podemos comprobar la población resistente a spiromesifén (R-SPI) mostró resistencia a spirotetramat, con un valor de CL_{50} de 386 $mg\ L^{-1}$ y un FR_{50} de 164 veces (Tabla 4.1). Si comparamos estos datos con los niveles de resistencia a spirotetramat de las poblaciones originales con las que se formó R-SPI (AR01, AR14 y AR16), con valores de CL_{50} comprendidos entre 184,9-243 $mg\ L^{-1}$ (FR_{50} = 79-103 veces) (ver datos en el Capítulo 3-Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de *B. tabaci*, Tabla 3.1), y también con la población base AR (mezcla de AR01, AR14 y AR16), con un valor de CL_{50} de 227,9 $mg\ L^{-1}$ (FR_{50} = 97 veces) (Tabla 4.1), podemos confirmar que el nivel de resistencia de R-SPI a spirotetramat aumentó solo ligeramente como consecuencia de los tratamientos de selección con spiromesifén. De igual forma ocurre si comparamos los niveles de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en las poblaciones de campo, los cuales mostraron FR_{50} más elevados para spiromesifén (>38461 veces, para las poblaciones LV107 y LV108) que para spirotetramat (130 veces, en el caso de la población JL04/05) (ver datos en el Capítulo 3- Nivel de resistencia a spiromesifén y spirotetramat en poblaciones españolas de *B. tabaci*, Tabla 3.1 y 3.2).

Cabe señalar, que dentro del grupo químico de los ketoenoles, spiromesifén junto con spirodiclofén son derivados del ácido tetrónico mientras que spirotetramat es un derivado del ácido tetrámico. Esto podría tener un efecto significativo en el nivel de tolerancia conferido por el mecanismo de resistencia. En diferentes estudios se ha encontrado existencia o ausencia de resistencias cruzadas entre estos ketoenoles. Por ejemplo, en poblaciones de diferentes especies de ácaros (*Tetranychus urticae*, *Panonychus ulmi* y *P. citri*) seleccionadas en laboratorio para la resistencia a spirodiclofén, las cuales

mostraron FR_{50} más bajos para spiromesifén y spirotetramat (Van Pottelbergue *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2011). Además, en un estudio donde se probaron los tres ketoenoles, una población de *P. ulmi* resistente a spiroadiclofén, con un $FR > 7000$, mostró una resistencia mucho más baja a spiromesifén ($FR=30$), un derivado del ácido tetrónico, y no presentó resistencia cruzada con spirotetramat, un derivado del ácido tetrámico (Kramer *et al.*, 2011).

La única excepción de una posible resistencia cruzada positiva fue con pimetrocina, ya que la población R-SPI mostró un elevado nivel de resistencia (>343 veces) en comparación con LAB-S. Aun así, teniendo en cuenta que spiromesifén y pimetrocina tienen modos de acción muy diferentes, es muy improbable que la resistencia cruzada sea debida a una mutación en el punto de acción. Además, si observamos los resultados obtenidos en el capítulo siguiente (ver datos en el Capítulo 5- Mecanismos de resistencia a insecticidas del grupo 23 en *B. tabaci*, Tabla 5.3), los cuales sugieren la ausencia de mecanismos enzimáticos implicados en la resistencia a spiromesifén, también quedaría descartado un mecanismo de resistencia común con pimetrocina. En un estudio previo, ya se demostró que la resistencia a pimetrocina es común en poblaciones españolas de *B. tabaci* (Elbert y Nauen, 2000). Por lo tanto, lo más probable es que la resistencia a pimetrocina estuviese ya presente en las poblaciones originales con las que se formó R-SPI, y se haya mantenido en la resistencia con spiromesifén.

Respecto a piriproxifén, no mostró resistencia cruzada con spiromesifén, puesto que R-SPI y LAB-S mostraron un comportamiento similar, con un FR_{50} de 2,2 veces (Tabla 4.1). En la literatura ya se conoce que spiromesifén se mostró igual de efectivo frente a poblaciones de *B. tabaci* resistentes a piriproxifén como a la población susceptible de referencia, y a otras poblaciones seleccionadas para la resistencia a diferentes insecticidas, tales como neonicotinoides, organofosforados, carbamatos, endosulfán o piretroides (Nauen *et al.*, 2005).

De la misma forma, spiromesifén no presentó resistencia cruzada con imidacloprid en poblaciones de campo de *B. tabaci* (Schuster *et al.*, 2010). Asimismo, una población seleccionada para la resistencia a imidacloprid mostró ausencia de resistencia cruzada a spiromesifén (Prabhaker *et al.*, 2008).

En el caso de piridabén, flupiradifurona y azadiractín, los valores de CL_{50} obtenidos (3,99, 16,53 y 55,91 mg L⁻¹ respectivamente) fueron algo menores que para LAB-S, pero al no mostrar diferencias significativas entre ellos, se descarta una ligera resistencia cruzada negativa.

En definitiva, como bien indican nuestros resultados, podemos confirmar que spiromesifén no presenta resistencias cruzadas en ninfas con ninguno de los insecticidas estudiados (Tabla 4.1). Sólo cabe la posibilidad de una resistencia cruzada positiva en el caso de pimetrocina, aunque sería preciso llevar a cabo más estudios para poder confirmar esta hipótesis.

Tabla 4.1. Toxicidad a diferentes insecticidas para la población sensible (LAB-S) y la seleccionada a spiromesifén (R-SPI) de *B. tabaci*, en estado de ninfa.

Insecticida	DC	Población	Pendiente (±ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀
Spiromesifén	144	LAB-S	2,70 (±0,44)	0,78 (0,51-1)	
		AR	0,34 (±0,07)	8534,12 (2888,18-35955)	10941
		R-SPI		>30000	>38462
Spirotetramat	97,5	LAB-S	3,60 (±0,51)	2,35 (1,45-3,02)	
		AR	2,34 (±0,26)	227,91 (182,67-276,24)	97
		R-SPI	2,25 (±0,33)	386,07 (140,18-538,43)	164
Imidacloprid	150	LAB-S	1,93 (±0,39)	16,33 (11,80-21,70)	
		R-SPI	1,66 (±0,28)	55,05 (17,97-92,81)	3,4
Alfa-cipermetrín	40	LAB-S	1,28 (±0,19)	137,81 (39,29-265,74)	
		R-SPI	1,17 (±0,22)	328,83 (157,19-2496,38)	2,4
Pimetrocina	300	LAB-S	1,03 (±0,09)	29,17 (3,17-107,38)	
		R-SPI		>10000	>343
Piriproxifén	75	LAB-S	2,33 (±0,30)	7,84 (3,95-11,38)	
		R-SPI	0,52 (±0,10)	17,50 (3,35-39,98)	2,2
Piridabén	200	LAB-S	2,57 (±0,50)	6,37 (4,31-8,38)	
		R-SPI	1,12 (±0,16)	3,99 (0,46-11,75)	0,6
Tiametoxam	50	LAB-S	1,41 (±0,16)	29,43 (18,28-50,68)	
		R-SPI	1,87 (±0,20)	53,92 (40,08-71,74)	1,8
Ciantraniliprol	75	LAB-S	2,15 (±0,09)	0,038 (0,027-0,053)	
		R-SPI	1,45 (±0,11)	0,045 (0,03-0,066)	1,2
Flupiradifurona	1	LAB-S	1,84 (±0,22)	24,43 (18,74-31,03)	
		R-SPI	1,51 (±0,15)	16,53 (9,22-28,43)	0,7
Azadiractín	48	LAB-S	1,09 (±0,19)	78,97 (46,02-186,85)	
		R-SPI	1,67 (±0,45)	55,91 (25,17-94,71)	0,7
Sulfoxaflor	0,4	LAB-S	0,84 (±0,09)	19,10 (9,48-47,99)	
		R-SPI	0,61 (±0,13)	53,99 (18,79-489,24)	2,8

DC: dosis de campo en mg L⁻¹; ET: error típico; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ de la población susceptible de referencia.

Cabe señalar, que ya hay un estudio sobre la resistencia cruzada entre los insecticidas de uso común para el control de *B. tabaci* y spiromesifén (Grávalos, 2014). En este caso, además de estudiar las resistencias cruzadas entre la población seleccionada a spiromesifén (RSPI-14) y los insecticidas de uso frecuente (Tabla 4.2), también se llevó a cabo el estudio al contrario, es decir, entre poblaciones seleccionadas a los insecticidas de uso común (R-CYA, R-PIME, R-AZA, R-PIX, R-BU, R-PIB y R-ALFA) y spiromesifén (Tabla 4.3).

Si realizamos una comparativa de nuestros resultados (Tabla 4.1) con los obtenidos en 2014 (Tabla 4.2), podemos comprobar que la población sensible de referencia (LAB-S) tiene un comportamiento similar, con valores de CL_{50} de 0,78 y 1,08 mg L⁻¹ respectivamente. En cambio, al comparar nuestra población seleccionada a spiromesifén (R-SPI) con la seleccionada a spiromesifén en 2014 (RSPI-14), los datos muestran una diferencia considerable en cuanto al nivel de resistencia adquirido, siendo >30000 mg L⁻¹ para R-SPI y de 17,13 mg L⁻¹ para RSPI-14. Esto puede ser debido a que R-SPI se fundó a partir de poblaciones de campo que mostraban fallos de control a spiromesifén y spirotetramat, a diferencia de RSPI-14 que se formó a partir de poblaciones de campo susceptibles y fue seleccionada para la resistencia a spiromesifén en laboratorio.

En cuanto a los datos obtenidos con imidacloprid, alfa-cipermetrín y ciantraniliprol, tanto LAB-S como las poblaciones seleccionadas a spiromesifén (R-SPI y RSPI-14) mostraron un comportamiento similar, con ausencia de resistencias cruzadas en ambos estudios.

En cambio, con el resto de insecticidas se obtuvieron resultados muy diversos. Los datos obtenidos en 2014 parecían mostrar una ligera resistencia cruzada negativa a piriproxifén y una ligera y moderada resistencia cruzada positiva en el caso de piridabén y azadiractín (Tabla 4.2), a diferencia de nuestros resultados, los cuales muestran ausencia de resistencias cruzadas para estos tres insecticidas (Tabla 4.1). Por último, respecto a pimetrocina, nuestro estudio parece indicar una posible resistencia cruzada positiva, mientras que en el estudio de 2014 no se pudo concretar nada, lo único que se sabía es que a 300 mg L⁻¹ se alcanzó un 29% de mortalidad. En general, estas diferencias en la presencia de resistencias cruzadas, podrían estar asociadas al historial de tratamientos en campo de las poblaciones originales con las que se formó R-SPI y RSPI-14.

Por otra parte, si comparamos nuestro estudio (Tabla 4.1) con el caso contrario, de poblaciones seleccionadas a diferentes insecticidas frente a spiromesifén (Tabla 4.3), podemos observar ausencia de resistencias cruzadas en la mayoría de los insecticidas para

ambos casos. En cambio, con pimetrocina y alfa-cipermetrín los resultados se mostraron diferentes.

En nuestro estudio, los resultados con pimetrocina parecían indicar una posible resistencia cruzada positiva, mientras que en 2014, la población R-PIME no presentó diferencias significativas con LAB-S, mostrando ausencia de resistencia cruzada. Respecto a alfa-cipermetrín, nuestro estudio muestra ausencia de resistencia cruzada y el estudio de 2014 parece indicar lo contrario. Al igual que en el caso anterior, estas diferencias pueden ser atribuibles al historial de tratamientos a los que fueron sometidas las poblaciones originales con las que se formaron estas poblaciones seleccionadas.

Tabla 4.2. Toxicidad a diferentes insecticidas para la población sensible (LAB-S) y la seleccionada a spiromesifén (RSPI-14) de *B. tabaci*, en estado de ninfa.

Insecticida	DC	Población	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀
Spiromesifén	144	LAB-S	1,08 (0,60-1,81)	
		RSPI-14	17,13 (7,76-26,84)	16
Imidacloprid	150	LAB-S	15,19 (1,29-81,08)	
		RSPI-14	15,07 (7,78-25,69)	1
Alfa-cipermetrín	40	LAB-S	141,2 (40,29-255,6)	
		RSPI-14	446,66 (220,3-1108)	3
Pimetrocina	300	LAB-S	317,1 (148,2-608,5)	
		RSPI-14	>300	>0,9
Piriproxifén	75	LAB-S	20,86 (13,77-30,37)	
		RSPI-14	3,98 (1,12-6,87)	0,2
Piridabén	200	LAB-S	0,34 (0,21-0,51)	
		RSPI-14	1,98 (0,96-4,63)	5,8
Ciantraniliprol	75	LAB-S	0,039 (0,034-0,045)	
		RSPI-14	0,030 (0,008-0,043)	0,8
Azadiractín	48	LAB-S	2,65 (0,53-6,55)	
		RSPI-14	74,92 (53,78-95,67)	28

Datos Grávalos, 2014

DC: dosis de campo en mg L⁻¹; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%;
LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ de la población susceptible de referencia.

Tabla 4.3. Toxicidad a spiromesifén en poblaciones de *B. tabaci* seleccionadas a diferentes insecticidas, en estado de ninfa.

Población Seleccionada	Spiromesifén	
	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀
LAB-S	1,08 (0,60-1,81)	
R-ALFA	19,24 (13,75-26,04)	18
R-PIME	1,22 (0,56-3,27)	1,1
R-PIX	3,71 (1,85-7,94)	3,4
R-PIB	7,67 (1,81-17,78)	7,1
R-CYA	0,54 (0,31-0,80)	0,5
R-AZA	2,53 (0,04-8,08)	2,3

Datos Grávalos, 2014

CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%

LC: límites de confianza o límites fiduciales

FR₅₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ de la población susceptible de referencia

A continuación, los datos que aparecen en la Tabla 4.4 nos indican que la respuesta de R-SPI frente a neonicotinoides es variable en adultos. En el caso de imidacloprid, las poblaciones AR y R-SPI mostraron un comportamiento similar, no presentando diferencias significativas entre ellas. En cambio, al comparar ambas poblaciones con la población de referencia (LAB-S), los valores de CL₅₀ presentaron diferencias significativas, con factores de resistencia de 11 y 18 en comparación con LAB-S, lo cual apunta a una posible existencia de resistencia cruzada.

Antes de confirmar la existencia o ausencia de resistencia cruzada entre imidacloprid y spiromesifén en adultos, hay que tener en cuenta que las diferencias de LAB-S con AR y R-SPI son muy ligeras, ya que el límite de confianza superior de LAB-S (5,25 mg L⁻¹) e inferiores de AR y R-SPI (6,23 y 8,38 mg L⁻¹ respectivamente) no se solapan pero están muy próximos. Además, cabe señalar que todos los valores de CL₅₀ están muy por debajo de las dosis de campo recomendadas para spiromesifén e imidacloprid (144 y 150 mg L⁻¹, respectivamente). Teniendo en cuenta la problemática en el sureste español de resistencias a neonicotinoides en mosca blanca (Cahill *et al.*, 1996; Elbert y Nauen, 2000), esto nos lleva a pensar que las poblaciones originales con las que se fundó R-SPI ya presentaban resistencia a imidacloprid. Así pues, estas diferencias en la resistencia a imidacloprid pueden ser atribuibles a que las poblaciones originales con las que se formó R-SPI ya presentaban resistencia a dicho neonicotinoide.

En cuanto a los bioensayos realizados con tiametoxam, las poblaciones AR y R-SPI mostraron valores similares, no presentando diferencias significativas entre ellas ni tampoco con LAB-S. En este caso, quedaría descartada una posible resistencia cruzada.

Al comparar los resultados obtenidos para ninfas y adultos en neonicotinoides, podemos observar que los adultos son algo más resistentes que las ninfas, mostrando factores de resistencia para imidacloprid y tiametoxam de 3,4 y 1,8 en ninfas (Tabla 4.1), y de 18 y 2,9 en adultos (Tabla 4.4), respectivamente.

Tabla 4.4. Toxicidad a imidacloprid y tiametoxam para la población sensible (LAB-S), población de campo (AR) y seleccionada a spiromesifén (R-SPI) de *B. tabaci*, en estado de adulto.

Insecticida	DC	Población	Pendiente ($\pm$ ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀
Imidacloprid	150	LAB-S	1,07 ($\pm$ 0,36)	1,79 (0,73-5,25)	
		AR	1,09 ($\pm$ 0,28)	20,19 (6,23-45,48)	11
		R-SPI	0,90 ($\pm$ 0,24)	31,87 (8,38-129,93)	18
Tiametoxam	50	LAB-S	1,38 ($\pm$ 0,35)	2,83 (0,19-6,17)	
		AR	1,40 ($\pm$ 0,34)	8,44 (4,03-13,96)	3
		R-SPI	2,83 ($\pm$ 0,98)	8,34 (5,07-13,31)	2,9

DC: dosis de campo en mg L⁻¹; ET: error típico; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ de la población susceptible de referencia.

4.4. Conclusiones

En general, los datos obtenidos al bioensayar la población resistente a spiromesifén con los insecticidas comúnmente usados para el control de mosca blanca en ninfas, presentan una baja variabilidad siendo muy homogéneos entre ellos. En la mayoría de los casos R-SPI se comporta de la misma forma que la población sensible de referencia, lo que descarta la presencia de resistencia cruzada. Sólo en el caso de spirotetramat y pimetrocina los valores difieren del resto (Tabla 4.1).

Teniendo en cuenta estos datos, podemos confirmar que los genes implicados en la resistencia a spiromesifén en ninfas, no confieren resistencia a imidacloprid, alfa-cipermetrín, piriproxifén, piridabén, tiametoxam, ciantraniliprol, flupiradifurona, azadiractín y sulfoxaflor.

Sin embargo, cabe la posibilidad de que confieran resistencia a pimetrocina, aunque sería necesario realizar más bioensayos para poder confirmar una posible resistencia cruzada

positiva, puesto que lo más probable es que las poblaciones originales con las que se formó R-SPI ya fuesen resistentes a esta materia activa.

En cuanto a los bioensayos de adultos, la respuesta de R-SPI frente a neonicotinoides es variable (Tabla 4.4), mostrándose en general algo más resistentes que las ninfas. En el caso de tiametoxam, los datos revelaron ausencia de resistencia cruzada al igual que en ninfas. En cambio, en cuanto a imidacloprid, los resultados mostraron indicios de una posible resistencia cruzada a diferencia de los datos obtenidos en ninfas. Sin embargo, estas diferencias en la resistencia a imidacloprid pueden ser atribuibles a que las poblaciones originales con las que se formó R-SPI ya presentaban resistencia a dicho neonicotinoide.

En resumen, debido a la ausencia de resistencia cruzada con la mayoría de insecticidas de uso común para el control de mosca blanca, es aconsejable utilizar de manera alternativa estos productos, puesto que tienen diferentes modos de acción, con el fin de poder llevar a cabo una buena gestión de la resistencia a spiromesifén y spirotetramat.

4.5. Bibliografía

- Cahill, M., Gorman, K., Day, S., Denholm, I., Elbert, A., Nauen, R., 1996. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 86: 342-349.
- Daborn, P., Boundy, S., Yen, J., Pittendrigh, B., Ffrench-Constant, R., 2001. DDT resistance in *Drosophila* correlates with CYP6G1 over-expression and confers cross-resistance to the neonicotinoid imidacloprid. *Molecular Genetics and Genomics* 266: 556-563.
- Denholm, I., Devine, G., 2001. Insecticide resistance, in *Encyclopaedia of Biodiversity*, Vol. 3. Academic Press/Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 465-477.
- Elbert, A., Nauen, R., 2000. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Management Science* 56: 60-64.
- Elbert, A., Nauen, R., McCaffery, A., 2007. IRAC, insecticide resistance and mode of action classification of insecticides. *Modern Crop Protection Compounds* 1: 753-771.
- Espinosa, P., Bielza, P., Contreras, J., Lacasa, A., 2002. Field and laboratory selection of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) for resistance to insecticides. *Pest Management Science* 58: 920-927.

- Fernández, E., Grávalos, C., Haro, P.J., Cifuentes, D., Bielza, P., 2009. Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q biotype in south-eastern Spain. *Pest Management Science* 65(8): 885-891.
- Georghiou, G.P., 1972. The evolution of resistance to pesticides. *Annual Review of Ecology and Systematics* 3: 133-168.
- Gorman, K., 2009. *Insecticide Resistance in the Glasshouse Whitefly*. VDM Verlag, Saarbrücken, Germany.
- Gorman, K., Hewitt, F., Denholm, I., Devine, G.J., 2002. New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. *Pest Management Science* 58: 123-130.
- Gorman, K., Slater, R., Blande, J.D., Clarke, A., Wren, J., McCaffery, A., Denholm, I., 2010. Cross-resistance relationships between neonicotinoids and pymetrozine in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 66: 1186-1190.
- Grávalos, C., 2014. La resistencia a spiromesifén y ciantraniliprol en *Bemisia tabaci* (Gennadius). Tesis doctoral (UPCT), pp. 110-112.
- Karunker, I., Benting, J., Lueke, B., Ponge, T., Nauenn, R., Roditakis, E., Vontas, J., Gorman, K., Denholm, I., Morin, S., 2008. Over- expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38: 634-644.
- Kramer, T., Nauen, R., 2011. Monitoring of spiroticlofen susceptibility in field populations of European red mites, *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae), and the cross-resistance pattern of a laboratory-selected strain. *Pest Management Science* 67: 1285-1293.
- Kranthi, K.R., Jadhav, D.R., Wanjari, R.R., Ali, S.S., Russell, D., 2001. Carbamate and organophosphate resistance in cotton pests in India, 1995 to 1999. *Bulletin of Entomological Research* 91: 37-46.
- Metcalf, R.L., 1980. Changing role of insecticides in crop protection. *Annual Review of Entomology* 25: 219-256.

- Nauen, R., Bielza, P., Denholm, I., Gorman, K., 2008. Age-specific expression of resistance to neonicotinoid insecticides in the whitefly, *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science* 64: 1106-1110.
- Nauen, R., Schnorbach, H.J., Elbert, A., 2005. The biological profile of spiromesifen (Oberon) -a new tetronic acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58: 417-440.
- Prabhaker, N., Castle, S.J., Buckelew, L., Toscano, N.C., 2008. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spiromesifen. *Journal of Economic Entomology* 101: 174-181.
- Prabhaker, N., Castle, S.J., Henneberry, T.J., Toscano, N.C., 2005. Assessment of cross-resistance potential to neonicotinoid insecticides in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 95: 535-542.
- Schuster, D.J., Mann, R.S., Toapanta, M., Cordero, R., Thompson, S., Cyman, S., Shurtleff, A., Roy, F., 2010. Monitoring neonicotinoid resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* in Florida. *Pest Management Science* 66: 186-195.
- Sivasupramaniam, S., Dennehy, T.J., Williams, L. III., 1997. Management of pyrethroid-resistant whiteflies in Arizona cotton: selection, cross-resistance and dynamics. *Proc Beltwide Cotton Conf*, Vol. 2, New Orleans, LA, pp. 1252-1259.
- Van Pottelberge, S., Van Leeuwen, T., Khajehali, J., Tirry, L., 2009. Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spiroticlofen-resistant strain of *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science* 65:3 58-366.
- Yu, D.Y., Wang, C.F., Yu, Y., Huang, Y.Q., Yao, J.A., Hu, J.F., 2011. Laboratory selection for spiroticlofen resistance and cross-resistance in *Panonychus citri*. *African Journal of Biotechnology* 10: 3424-3429.

CAPÍTULO 5

---

5. Mecanismos de resistencia a insecticidas del grupo 23 en *B. tabaci* (Gennadius)

5.1. Introducción

Spiromesifén y spirotetramat son derivados del ácido tetrónico y tetrámico, que pertenecen al grupo 23 en la clasificación de IRAC (Marcic *et al.*, 2011). Este grupo de insecticidas tiene un modo de acción específico y es muy compatible con el uso de muchos enemigos naturales (Nauen *et al.*, 2003; Elbert *et al.*, 2005). Además, muestra una alta toxicidad en estados inmaduros y reduce significativamente la fecundidad y fertilidad de hembras adultas (Nauen *et al.*, 2005; Kuhnhold *et al.*, 2008) (ver más detalles sobre ambos ketoenoles en las páginas 23 y 24, Capítulo 1-Introducción general, apartado 1.2.3.1). Señalar, que ambos insecticidas requieren de un alto nivel de vigilancia debido a la amenaza del desarrollo de resistencias, como siempre ocurre en el caso de insecticidas eficaces.

De hecho, como se puede ver en capítulos anteriores, se han detectado resistencias tanto a spiromesifén como a spirotetramat en poblaciones de *B. tabaci* del sureste español, recolectadas concretamente en invernaderos con posibles fallos de control a ambos insecticidas. También, se ha demostrado la ausencia de resistencias cruzadas de ambos ketoenoles con la mayoría de insecticidas de uso frecuente para el control de mosca blanca.

Así pues, conocer los mecanismos implicados en la resistencia de ambos insecticidas sería de gran importancia para llevar a cabo un buen manejo de la resistencia, así como para elaborar estrategias adecuadas. Por ello, en este capítulo se decidió abordar este estudio.

El uso excesivo de insecticidas para el control de *B. tabaci* ha llevado a una amplia propagación y a una resistencia múltiple de la plaga, con mecanismos metabólicos y también en el punto de acción involucrados (Morin *et al.*, 2002; Karunker *et al.*, 2008). Cabe señalar, que en la literatura no se han encontrado estudios sobre la resistencia de *B. tabaci* a spiromesifén y spirotetramat, por lo que se desconocen los mecanismos de resistencia que puedan estar implicados.

En la mayoría de los casos, el principal mecanismo de resistencia a insecticidas es la 'resistencia metabólica' (Benbrook, 1986), mediada por una mayor producción de enzimas de detoxificación (Scott *et al.*, 1990; Farnham, 1999; Feyereisen, 2015). Por ello, se decidió llevar a cabo bioensayos con sinergistas, para conocer si los mecanismos implicados en la resistencia a spiromesifén y spirotetramat eran metabólicos.

Los sinergistas o inhidores enzimáticos son compuestos que generalmente tienen poca o ninguna toxicidad intrínseca en los insectos, pero que actúan inhibiendo uno o más de los sistemas enzimáticos de defensa que utilizan los insectos para detoxificar los insecticidas.

Según la bibliografía, el sinergista más utilizado es el butóxido de piperonilo (PBO), como inhibidor de las P-450 monooxigenasas (Young *et al.*, 2005, 2006; Feyereisen, 2015). De hecho, se ha demostrado que el PBO en combinación con determinados insecticidas puede disminuir el desarrollo de resistencia en *B. tabaci* en condiciones de laboratorio (Zimmer *et al.*, 2017). En estudios previos, la resistencia a neonicotinoides en *B. tabaci* parece estar exclusivamente asociada con la resistencia metabólica y principalmente resulta de la sobreexpresión del citocromo P-450 CYP6CM1 (Karunker *et al.*, 2008, 2009; Roditakis *et al.*, 2011; Nauen *et al.*, 2013).

El objetivo de este trabajo fue estudiar si los mecanismos metabólicos estaban implicados en la resistencia a spiromesifén y spirotetramat de poblaciones del sureste español de *B. tabaci*, mediante la realización de bioensayos con sinergistas. Este estudio puede ser de gran importancia, con el fin de mitigar o evitar el desarrollo de resistencia a ambos ketoenoles, así como para diseñar nuevas estrategias anti-resistencias.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Poblaciones

En este estudio se utilizaron siete poblaciones de *B. tabaci*, una de referencia (LAB-S), cinco poblaciones de campo del sureste español resistentes a spiromesifén (AR01, AR02, AR04, JL04/05 y LV01), y por último, una población seleccionada a spiromesifén en laboratorio (R-SPI) (ver más detalles en las páginas 55-59, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartados 2.1.1 y 2.1.2).

5.2.2. Insecticidas

Los bioensayos fueron tratados con los siguientes insecticidas: spiromesifén (Oberon 24 SC, Bayer CropScience, Valencia, España) y spirotetramat (Movento 15 OD, Bayer

CropScience, Valencia, España). El día en el que se realizó el tratamiento se prepararon diferentes soluciones del insecticida en agua destilada, y en caso necesario, se añadió mojante Tween 20 en proporción 1 mL L⁻¹.

5.2.3. Sinergistas

En la tabla que aparece a continuación, podemos observar los sinergistas o inhibidores metabólicos utilizados.

Tabla 5.1. Sinergistas utilizados.

Sinergistas	Enzimas de detoxificación	Dosis subletal (mg L ⁻¹)
Butóxido de piperonilo (PBO)	P-450 monooxigenasas	100
Dietil maleato (DEM)	Glutación S-transferasas	100
Profenofós (PROF)	Esterasas	10

Cabe señalar, que no se utilizó el S,S,S, tributil trifosforotritioato (DEF) como inhibidor de las esterasas, porque ya había ocasionado muchos problemas en estudios previos, no llegando a alcanzar los objetivos propuestos. Hay que tener en cuenta que este sinergista se utiliza como defoliante para la recolección de algodón, que es precisamente el material vegetal utilizado en nuestros bioensayos. Por ello, se decidió utilizar profenofós, el cual pudimos comprobar en estudios anteriores que utilizado a dosis subletales antes del tratamiento insecticida, tiene un buen funcionamiento como inhibidor de las esterasas (Byrne *et al.*, 2000).

El día en el que se realizó el tratamiento se preparó una única solución del sinergista a la dosis subletal, en agua destilada, y se aplicó dos horas antes de tratar con el insecticida.

5.2.4. Bioensayos de ninfas con sinergistas

Para determinar los mecanismos de resistencia implicados en la resistencia a spiromesifén y spirotetramat, se llevaron a cabo bioensayos de ninfas con sinergistas (ver el procedimiento en las páginas 73 y 74, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.5.2.2).

5.2.5. Análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico PoloPlus® para el análisis probit (consultar páginas 85 y 86, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.6).

5.3. Resultados y discusión

A continuación, en la Tabla 5.2, podemos observar los resultados obtenidos en estudios previos de bioensayos realizados con spiromesifén, spiromesifén con PBO y spiromesifén con profenofós, para una población de *B. tabaci* seleccionada a spiromesifén en 2014 (RSPI-14) (Grávalos, 2014).

Tabla 5.2. Datos de toxicidad a spiromesifén y spiromesifén + PBO o PROFENOFÓS para RSPI-14 en estado de ninfa.

Insecticida	Población	Pendiente ($\pm$ ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FS
Spiromesifén	LAB-S	2,37 ($\pm$ 0,27)	1,08 (0,60-1,81)	
	RSPI-14	1,44 ($\pm$ 0,14)	17,13 (7,76-26,84)	
Spiromesifén + PBO	RSPI-14	1,77 ($\pm$ 0,19)	19,82 (12,90-29,64)	1,2
Spiromesifén + PROF	RSPI-14	1,78 ($\pm$ 0,15)	25,92 (13,98-47,15)	1,5

Datos Grávalos, 2014.

ET: error típico; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FS: Factor de sinergismo.

Al comparar los tres valores de CL₅₀ obtenidos con RSPI-14 no aparecen diferencias significativas en ninguno de los casos, por lo que se consideró que las P-450 monooxigenasas y las esterasas no estaban implicadas en la resistencia a spiromesifén. Además, parecía poco probable que la resistencia fuese debida a una mutación en el punto de acción, ya que los niveles de resistencia adquiridos eran muy bajos (con valores de CL₅₀ de 17,13, 19,82 y 25,92 mg L⁻¹ respectivamente) teniendo en cuenta que la dosis de campo de spiromesifén es de 144 mg L⁻¹. Esto pareció indicar que la resistencia a spiromesifén podía ser debida a otro sistema enzimático (las glutatión S-transferasas), o a otro tipo de mecanismo de resistencia. En cambio, los resultados obtenidos actualmente, los cuales se muestran a continuación (Tabla 5.3 y 5.4), nos llevaron a pensar de manera diferente.

Tabla 5.3. Toxicidad a spiromesifén y spiromesifén + PBO para la población sensible (LAB-S), la seleccionada a spiromesifén (R-SPI) y poblaciones de campo, y spiromesifén + DEM o PROFENOFÓS para la seleccionada a spiromesifén de *B. tabaci*, en estado de ninfa.

Insecticida	Población	Pendiente (±ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FS
Spiromesifén	LAB-S	2,70 (±0,44)	0,78 (0,51-1)	
	R-SPI		>30000	
	AR01	0,59 (±0,11)	13770 (6082-71383)	
	AR02	0,74 (±0,11)	46,78 (24,55-119,97)	
	AR04	0,58 (±0,20)	198,25 (53,53-372,15)	
	JL04/05	0,40 (±0,14)	371,58 (97,74-2582)	
	LV01	0,72 (±0,18)	42,06 (15,84-1035)	
Spiromesifén + PBO	LAB-S	0,40 (±0,14)	2,91 (0,66-826,44)	0,27
	R-SPI	0,36 (±0,09)	6856,57 (2199,59-84297,79)	>4,4
	AR01	1,43 (±0,29)	6124 (2050-9610)	2,2
	AR02	0,68 (±0,09)	16,91 (6,20-62,58)	2,8
	AR04	0,72 (±0,18)	42,24 (20,61-113,95)	4,7
	JL04/05	0,58 (±0,14)	154,02 (51,59-337,27)	2,4
	LV01	3,17 (±0,58)	30,47 (11,98-45,62)	1,4
Spiromesifén + DEM	R-SPI		>30000	
Spiromesifén + PROF	R-SPI		>30000	

ET: error típico; CL₅₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FS: Factor de sinergismo.

En primer lugar, cabe señalar que al comparar nuestra población seleccionada a spiromesifén (R-SPI) (Tabla 5.3) con la seleccionada a spiromesifén en 2014 (RSPI-14) (Tabla 5.2), podemos observar una diferencia considerable en cuanto al nivel de resistencia adquirido, siendo >30000 mg L⁻¹ (con un 26,6% de mortalidad a esa dosis) para R-SPI y de 17,13 mg L⁻¹ para RSPI-14. Esto ya descartaría la idea de que la resistencia no pueda ser debida a una mutación en el punto de acción. Aun así, se decidió llevar a cabo bioensayos con sinergistas, para descartar una posible resistencia metabólica.

En la Tabla 5.3 se presentan los datos obtenidos de los bioensayos realizados con spiromesifén, spiromesifén con PBO, spiromesifén con DEM, y spiromesifén con profenofós.

Al observar los resultados obtenidos de los bioensayos realizados con spiromesifén y spiromesifén con PBO, podemos comprobar que en la población sensible de referencia (LAB-S) el PBO no causó ningún sinergismo en la actividad de spiromesifén. En cambio, en las poblaciones de campo del sureste español (AR01, AR02, AR04, JL04/05 y LV01) el PBO se mostró ligeramente sinérgico, aunque al comparar los valores de CL₅₀ para

spiromesifén sólo y con PBO, ninguna de las poblaciones presentó diferencias significativas.

Una tendencia similar fue observada en la población más resistente a spiromesifén (R-SPI), con un valor de $CL_{50} > 30000 \text{ mg L}^{-1}$ en el caso de aplicar sólo spiromesifén, siendo reducido a 6857 mg L^{-1} con un pretratamiento de PBO. Aun así, R-SPI sigue siendo extremadamente resistente a spiromesifén, concretamente 2356 veces más resistente que la población sensible de referencia (LAB-S).

Pese a que el PBO disminuyó ligeramente los niveles de resistencia adquiridos en todas las poblaciones de campo bioensayadas, no consiguió restaurar la susceptibilidad a spiromesifén en ningún caso. Estos resultados indican que a pesar de un aumento de detoxificación del insecticida, las P-450 monooxigenasas no parecen ser el principal mecanismo en la resistencia a spiromesifén, ya que al comparar los valores de CL_{50} de las poblaciones bioensayadas con o sin PBO no se muestran diferencias significativas.

Al comparar los resultados obtenidos de R-SPI con spiromesifén, spiromesifén + DEM, y spiromesifén + profenofós, podemos observar que los tres valores de CL_{50} obtenidos son $> 30000 \text{ mg L}^{-1}$. Así pues, al obtener un valor de CL_{50} similar en todos los casos, podemos sugerir que las glutatión S-transferasas (GTS) o las esterasas no están implicadas en la resistencia a spiromesifén.

Tabla 5.4. Toxicidad a spirotetramat para la población sensible (LAB-S) y la seleccionada a spiromesifén (R-SPI), y spirotetramat + PBO o DEM o PROFENOFÓS para la seleccionada a spiromesifén de *B. tabaci*, en estado de ninfa.

Insecticida	Población	Pendiente ($\pm$ ET)	$CL_{50} \text{ (mg L}^{-1}\text{) (95\% LC)}$	FS
Spirotetramat	LAB-S	3,60 ($\pm$ 0,51)	2,35 (1,45-3,02)	
	R-SPI	2,25 ($\pm$ 0,33)	386,07 (140,18-538,43)	
Spirotetramat + PBO	R-SPI	1,37 ($\pm$ 0,25)	158,11 (21,82-309,28)	2,4
Spirotetramat + DEM	R-SPI	2,73 ($\pm$ 0,30)	217,73 (121,55-307,58)	1,8
Spirotetramat + PROF	R-SPI	5,67 ($\pm$ 0,62)	440,50 (265,53-589,45)	0,9

ET: error típico; CL_{50} : concentración letal que causa una mortalidad del 50%; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FS: Factor de sinergismo.

En la Tabla 5.4, se muestran los resultados obtenidos de los bioensayos realizados con spirotetramat, spirotetramat + PBO, spirotetramat + DEM y spirotetramat + profenofós.

Al igual que con spiromesifén (Tabla 5.3), el PBO también mostró un ligero sinergismo en la actividad de spirotetramat (Tabla 5.4). A pesar de ello, al comparar los valores de CL_{50} de spirotetramat con o sin PBO, podemos observar que no presentan diferencias significativas, lo cual parece indicar que las P-450 monooxigenasas no son las implicadas en la resistencia a spirotetramat.

En cuanto al DEM, también podemos comprobar un ligero efecto sinérgico en la actividad de spirotetramat, aunque en menor medida que con el PBO. Aun así, R-SPI tiene un comportamiento similar con o sin DEM, ya que los valores de CL_{50} no muestran diferencias significativas, lo que sugiere que las glutatión S-transferasas tampoco son las implicadas en la resistencia a este ketoenol.

En último lugar, profenofós no tuvo ningún efecto en la toxicidad de spirotetramat para la población seleccionada R-SPI, lo cual parece descartar la posibilidad de que las esterasas sean las implicadas en dicha resistencia.

En general, ningún sinergista consiguió restaurar la susceptibilidad a spiromesifén y spirotetramat en las poblaciones de *B. tabaci* bioensayadas, ni siquiera el PBO pese al ligero efecto sinérgico mostrado en ambos ketoenoles.

Resumiendo, al tener en cuenta los elevados niveles de resistencia adquiridos, la ausencia de resistencia metabólica y resistencia cruzada con otros insecticidas con diferentes modos acción, y la existencia de resistencia cruzada entre ambos ketoenoles, todo apunta a que la resistencia a spiromesifén y spirotetramat sea debida a una mutación en el punto de acción.

5.4. Conclusiones

Nuestros resultados parecen indicar que la resistencia a spiromesifén y spirotetramat no es una resistencia metabólica, puesto que las poblaciones bioensayadas con o sin sinergistas (PBO, DEM y profenofós) (Tabla 5.3 y 5.4) mostraron un comportamiento similar, no presentando diferencias significativas en ninguno de los casos. A pesar de que el PBO tuvo un ligero efecto sinérgico en ambos ketoenoles, ningún sinergista consiguió restablecer la susceptibilidad de estas poblaciones de *B. tabaci*. Por todo ello, parece descartable la posibilidad de que las P-450 monooxigenasas, las glutatión S-transferasas y las esterasas estuviesen implicadas en la resistencia a ambos ketoenoles.

En general, los datos obtenidos sugieren que la resistencia adquirida a ambos insecticidas puede ser debida a una mutación en el punto de acción, ya que en todos los casos (Tabla 5.3 y 5.4) los niveles de resistencia obtenidos fueron muy elevados.

En resumen, este estudio puede servir de ayuda para mitigar o superar el desarrollo de resistencias a spiromesifén y spirotetramat en ninfas de *B. tabaci* del sureste español. Los datos obtenidos pueden ser incorporados dentro de un programa de manejo de la resistencia a ambos ketoenoles, con el fin de mejorar o llevar a cabo nuevas estrategias.

5.5. Bibliografía

- Benbrook, C.M., 1986. Pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academic Press. Washington, D. C., p. 471.
- Byrne, F.J., Gorman, K., Cahill, M., Denholm, I., Devonshire, A.L., 2000. The role of B-type esterases in conferring insecticide resistance in the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn). Pest Management Science 56: 867-874.
- Elbert, A., Brück, E., Melgarejo, J., Schnorbach, H.J., Sone, S., 2005. Field development of Oberon for whitefly and mite control in vegetables, cotton, corn, strawberries, ornamentals and tea. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 58: 441-468.
- Farnham, A.W., 1999. The mode of action of piperonyl butoxide with reference to studying pesticide resistance. Academic Press, San Diego. In Piperonyl Butoxide (Jones, D.G., ed.), pp. 199-213.
- Feyereisen, R., 2015. Insect P450 inhibitors and insecticides: challenges and opportunities. Pest Management Science 71: 793-800.
- Grávalos, C., 2014. La resistencia a spiromesifén y ciantraniliprol en *Bemisia tabaci* (Gennadius). Tesis doctoral (UPCT), pp. 112-113.
- Karunker, I., Benting, J., Lueke, B., Ponge, T., Nauen, R., Roditakis, E. *et al.*, 2008. Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Insect Biochemistry and Molecular Biology 38: 634-644.

- Karunker, I., Morou, E., Nikou, D., Nauen, R., Sertchook, R., Stevenson, B.J. *et al.*, 2009. Structural model and functional characterization of the *Bemisia tabaci* CYP6CM1vQ, a cytochrome P450 associated with high levels of imidacloprid resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 39: 697-706.
- Kuhnhold, J., Klueken, A.M., Maeyer, L., Waetermeulen, X.V., Bruck, E., Elbert, A., 2008. Movento®, an innovative solution for sucking insect pest control in agriculture: field performance in fruits and vegetables. *Bayer Crop Science Journal* 61: 279-306.
- Marcic, D., Perić, P., Petronijević, S., Prijović, M., Drobnjaković, T., 2011. Cyclic Ketoenols - acaricides and insecticides with a novel mode of action. *Journal Pesticides and Phytomedicine (Belgrade)* 26: 185-195.
- Morin, S., Williamson, M.S., Goodson, S.J., Brown, J.K., Tabashnik, B.E., Dennehy, T.J., 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32: 1781-1791.
- Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert, A., Fischer, R., Tiemann, R., 2003. Spirodiclofén and spiromesifén. *Pesticide Outlook* 14: 243-246.
- Nauen, R., Schnorbach, H.J., Elbert, A., 2005. The biological profile of spiromesifén (Oberon®) – a new tetrionic acid insecticide/acaricide. *Bayer Crop Science Journal*. 58: 417-440.
- Nauen, R., Vontas, J., Kaussmann, M., Woelfel, K., 2013. Pymetrozine is hydroxylated by CYP6CM1, a cytochrome P450 conferring neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science* 69: 457-461.
- Roditakis, E., Morou, E., Tsagkarakou, A., Riga, M., Nauen, R., Paine, M.J.I. *et al.*, 2011. 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 Science* 18: 23-29.
- Scott, J.G., Cochran, D.G., Siegfried, B.D., 1990. Insecticide toxicity, synergism and resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology* 83: 1698-1703.
- Young, S.J., Gunning, R.V., Moores, G.D., 2005. The effect of piperonyl butoxide on pyrethroid-resistance associated esterases in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science* 61: 397-401.

- Young, S.J., Gunning, R.V., Moores, G.D., 2006. Effect of pretreatment with piperonyl butoxide on pyrethroid efficacy against insecticide-resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Bemisia tabaci* (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 62: 114-119.
- Zimmer, C.T., Panini, M., Singh, K.S., Randall, E.L., Field, L.M., Roditakis, E., Mazzoni, E., Bass, C., 2017. Use of the synergist piperonyl butoxide can slow the development of alpha-cypermethrin resistance in the whitefly *Bemisia tabaci*. *Insect Molecular Biology* 26 (2): 152-163.

CAPÍTULO 6

6. Susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de *T. vaporariorum* (Westwood) a ciantraniliprol*

6.1. Introducción

La mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), es una plaga muy polífaga y cosmopolita (Inbar y Gerling, 2008), que habita especialmente en zonas templadas del mundo, afectando gravemente tanto a cultivos hortícolas como ornamentales a nivel mundial. Todas las etapas de desarrollo de esta especie causan daños considerables a las plantas, tanto directamente, cuando se alimentan chupando la savia del floema, como indirectamente, mediante la extracción de nutrientes y la secreción de grandes cantidades de melaza, que dan lugar a la formación de hongos en las hojas de las plantas (Liu *et al.*, 1993), y/o mediante su capacidad para transmitir numerosos virus, especialmente crinivirus, causando graves pérdidas en cultivos de tomate y cucurbitáceas (Jones, 2003; Capinera, 2008).

El control de *T. vaporariorum* está mayormente basado en insecticidas tales como neonicotinoides (agonistas de los receptores nicotínicos de acetilcolina postsináptica, nAChRs) (Millar y Denholm, 2007), piretroides (moduladores de canales de sodio) (Soderlund y Bloomquist, 1989), y últimamente ketoenoles (Inhibidores de la biosíntesis de lípidos de acetil-coenzima A carboxilasa – ACCase) (Nauen *et al.*, 2002, 2005). Por ello, como consecuencia de esta elevada presión insecticida, estos agentes de control químico han desarrollado resistencias en numerosas poblaciones de *T. vaporariorum* de distintas partes del mundo (Wardlow, 1985; Bi y Toscano, 2007; Gorman *et al.*, 2007; Karatolos *et al.*, 2010; 2012a; 2012b; Longhurst *et al.*, 2013), llegando a alcanzar factores de resistencia muy elevados, de 662 para bifentrín (Karatolos *et al.*, 2012a), 23,8 para imidacloprid (Longhurst *et al.*, 2013), y 25,7 para spiromesifén (Karatolos *et al.*, 2012b).

Con el fin de mantener bajo control las poblaciones de mosca blanca y dada la facilidad con que esta plaga desarrolla resistencias, se hace necesario el desarrollo de nuevos insecticidas con diferentes modos de acción y sin resistencias cruzadas con los productos fitosanitarios comúnmente utilizados.

Las diamidas antranílicas han demostrado ser eficaces para el control de numerosas plagas de insectos de diferentes órdenes (Knight y Flexner, 2007; Yeoh y Lee, 2007;

Koppenhöfer y Fuzy, 2008; Jacobson y Kennedy, 2011). Además, a diferencia de otros insecticidas, las diamidas se utilizan normalmente a dosis bajas, causando diversas alteraciones fisiológicas y de comportamiento en muchos insectos a dosis subletales (Teixeira *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013, 2015).

Ciantraniliprol es una nueva diamida antranílica de segunda generación, conocida comúnmente como Cyazypyr® (nombre comercial del ingrediente activo por DuPont). Es un insecticida descubierto por DuPont y desarrollado por Dupont y Syngenta. Su característica principal es que actúa sobre un amplio espectro de plagas, a diferencia de otras diamidas como flubendiamida y clorantraniliprol, que son específicas para lepidópteros. Además, actúa principalmente en estadios inmaduros reduciendo la alimentación (Cameron *et al.*, 2013, 2014), lo que produce una disminución en la transmisión de virosis (Portillo *et al.*, 2009; Stansly *et al.*, 2010; Govindappa *et al.*, 2013; Jacobson y Kennedy, 2013). Tiene acción tanto por vía foliar como sistémica (es absorbido por las raíces y el tallo). Sus nombres comerciales son Benevia® y Excirel® (aplicaciones foliares) y Verimark® (aplicaciones en el suelo proporcionando actividad sistémica).

Esta nueva diamida, tiene propiedades físicas muy interesantes (Log P: 1,9 a pH: 4 y solubilidad en agua de 15 mg L⁻¹ a 20°C), lo cual explica su amplio espectro de acción. Presenta un perfil medioambiental favorable, debido a su rápida degradación y a su baja toxicidad frente a organismos (Lahm *et al.*, 2005; Cordova *et al.*, 2006; Satelle *et al.*, 2008). Es compatible con organismos beneficiosos, lo que le permite su incorporación en un programa de manejo integrado de plagas (IPM). En general, las diamidas antranílicas han demostrado ser seguras para un gran número de insectos beneficiosos y ácaros (Dinter *et al.*, 2008).

En la clasificación de IRAC, del Comité de Acción contra la Resistencia a insecticidas, ciantraniliprol está incluido en el grupo 28, activando receptores de la rianodina de los insectos (Cordova *et al.*, 2006; Nauen, 2006; Satelle *et al.*, 2008), los cuales juegan un papel crítico en su función muscular.

Este grupo de insecticidas funciona como selector de canales iónicos que modulan la liberación de calcio. Las moléculas de ciantraniliprol se unen a los receptores de la rianodina, causando una liberación incontrolada de calcio y evitando una mayor contracción muscular, lo que produce un letargo y una parálisis muscular de los insectos, provocando su muerte (Cordova *et al.*, 2006; Lahm *et al.*, 2005, 2009).

Durante los últimos años, algunos estudios han indicado la alta eficacia de ciantraniliprol frente a la otra especie de mosca blanca *B. tabaci* (Li *et al.*, 2012; Caballero *et al.*, 2013;

Grávalos *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017) y otras plagas, como *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* (Foster *et al.*, 2012; De Little y Umina, 2017). Además, este compuesto se ha considerado una herramienta útil para el control de *Frankliniella occidentalis* (Bielza y Guillén, 2015), no presentando resistencia cruzada con organofosforados, carbamatos y piretroides (Li *et al.*, 2012; Foster *et al.*, 2012; Grávalos *et al.*, 2015). Todo esto lo convierte en un candidato adecuado para mitigar la resistencia desarrollada por otros insecticidas comúnmente utilizados para el control de mosca blanca.

Sin embargo, en estudios recientes se muestra cómo *Plutella xylostella* L. ha alcanzado altos niveles de resistencia a ciantraniliprol en China y en Brasil (Liu *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2017), así como a otras diamidas, como flubendiamida y clorantraniliprol (Han *et al.*, 2012; Troczka *et al.*, 2012; Wang y Wu, 2012; Gong *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2014, 2017; Yan *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015; Steinbach *et al.*, 2015, 2017). De igual forma, estas diamidas también han conferido resistencia en *Tuta absoluta*, como es el caso de clorantraniliprol en 2014, en invernaderos de tomate en Italia, tras repetidas aplicaciones de dicho producto (Roditakis *et al.*, 2015).

A modo de aclaración, es importante saber, que antes de incorporar un insecticida en las estrategias de gestión de la resistencia a insecticidas, debemos conocer el nivel de susceptibilidad que presentan diferentes poblaciones de partida (en este caso de *T. vaporariorum* a ciantraniliprol), lo cual se conoce como susceptibilidad basal. Estos estudios deben ser tenidos en cuenta como base o referencia para controlar o llevar a cabo un seguimiento de la evolución potencial de la resistencia en trabajos futuros. Para determinar el nivel de susceptibilidad de estas poblaciones de partida, es necesario llevar a cabo numerosos bioensayos, especialmente en ninfas, ya que se ha demostrado que la toxicidad de ciantraniliprol es algo mayor en ninfas que en adultos (Grávalos *et al.*, 2015), como bien sugería Caballero *et al.*, 2013.

Por tanto, el objetivo de este trabajo es obtener la susceptibilidad basal en ninfas de poblaciones de campo de *T. vaporariorum* de la cuenca mediterránea, para así poder establecer las bases de un programa de gestión anti-resistencias antes del registro y uso comercial del insecticida.

6.2. Materiales y métodos

6.2.1. Poblaciones

Para llevar a cabo este estudio se utilizaron dieciséis poblaciones de campo de *T. vaporariorum* de la cuenca mediterránea (consultar página 60, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.2).

6.2.2. Insecticida

Verimark® (Cyazypyr® 20SC; DuPont Crop Protection, Newark, DE) se utilizó en todos los bioensayos realizados. El día en el que se realizó el tratamiento, se prepararon diferentes soluciones del insecticida en agua destilada.

6.2.3. Bioensayo sistémico de ninfas

Para determinar el nivel de susceptibilidad de las diferentes poblaciones de partida de *T. vaporariorum* frente a ciantraniliprol, se realizaron bioensayos sistémicos de ninfas (ver el procedimiento en las páginas 82-85, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.5.3.1).

6.2.4. Análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico PoloPlus® para el análisis probit (consultar páginas 85 y 86, Capítulo 2-Materiales y métodos generales, apartado 2.6).

6.3. Resultados y discusión

Para establecer la línea base o susceptibilidad basal de *T. vaporariorum* frente a ciantraniliprol se realizaron bioensayos sistémicos de ninfas con poblaciones de campo de la cuenca mediterránea, se agruparon y se analizaron para obtener un valor compuesto de CL_{50} ($mg\ L^{-1}$). Los resultados pueden verse en la Tabla 6.1 que aparece a continuación.

Tabla 6.1. Datos de susceptibilidad a ciantraniliprol en poblaciones de campo de *T. vaporariorum*, en estado de ninfa.

Población	Pendiente ($\pm ET$)	CL_{50} ($mg\ L^{-1}$) (95% LC)	FR ₅₀	CL_{90} ($mg\ L^{-1}$) (95% LC)	FR ₉₀
ARROYO	1,66 ($\pm 0,16$)	0,017 (0,009-0,026)	1	0,102 (0,061-0,299)	1
CABRILS	0,89 ($\pm 0,10$)	0,019 (0,006-0,036)	1,1	0,511 (0,230-2,833)	5
MILÁN	1,70 ($\pm 0,10$)	0,026 (0,020-0,032)	1,5	0,147 (0,110-0,215)	1,4
MÉRIDA	1,41 ($\pm 0,10$)	0,031 (0,020-0,045)	1,8	0,251 (0,149-0,620)	2,5
OPORTO	1,24 ($\pm 0,11$)	0,032 (0,022-0,046)	1,9	0,350 (0,176-1,459)	3,4
CARTAGENA	1,93 ($\pm 0,22$)	0,037 (0,019-0,054)	2,2	0,173 (0,121-0,316)	1,7
MYLOTOPOS	1,21 ($\pm 0,11$)	0,045 (0,035-0,060)	2,6	0,517 (0,285-1,414)	5,1
ITALIA	2,78 ($\pm 0,19$)	0,047 (0,039-0,055)	2,8	0,136 (0,111-0,180)	1,3
THESSALONIKI	1,68 ($\pm 0,12$)	0,048 (0,028-0,075)	2,8	0,279 (0,156-0,957)	2,7
TORREMAYOR	3,76 ($\pm 0,45$)	0,059 (0,041-0,071)	3,5	0,130 (0,102-0,258)	1,3
PELLA	0,95 ($\pm 0,16$)	0,060 (0,030-0,289)	3,5	1,319 (0,279-4060)	12,9
GRECIA	3,59 ($\pm 0,42$)	0,063 (0,037-0,079)	3,7	0,143 (0,105-0,490)	1,4
BARI	2,18 ($\pm 0,08$)	0,070 (0,055-0,086)	4,1	0,270 (0,203-0,415)	2,6
SAINT ÈSTEVE	1,55 ($\pm 0,18$)	0,086 (0,065-0,122)	5,1	0,576 (0,302-2,407)	5,6
TRICEA	2,36 ($\pm 0,13$)	0,157 (0,104-0,211)	9,2	0,548 (0,390-0,956)	5,4
PALAIFYTO	1,66 ($\pm 0,16$)	0,194 (0,143-0,247)	11,4	0,546 (0,417-0,823)	5,4
LÍNEA BASE	0,98 ($\pm 0,02$)	0,055 (0,037-0,080)	3,2	1,108 (0,552-3,585)	10,9

ET: error típico; CL_{50} y CL_{90} : concentración letal que causa una mortalidad del 50% y del 90%, respectivamente; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀ y FR₉₀: factor de resistencia a nivel de CL_{50} o CL_{90} de cada población, en relación a la CL_{50} o CL_{90} de la población susceptible de referencia.

Cabe señalar, que puesto que no hay una población sensible de laboratorio se tomó como población de referencia la más susceptible a ciantraniliprol, en este caso Arroyo.

En estos datos (Tabla 6.1), puede apreciarse claramente que la susceptibilidad a ciantraniliprol varía entre las poblaciones de *T. vaporariorum* de distintos lugares de la cuenca mediterránea. Los valores de CL_{50} varían entre 0,017 $mg\ L^{-1}$ (Arroyo) y 0,194 $mg\ L^{-1}$ (Palaifyto), lo que supone una variabilidad de 11,4 veces entre la menos sensible y la más resistente. De entre todas las poblaciones, Arroyo, fue la población más susceptible en comparación con el resto de poblaciones ensayadas, pero no se diferencia con cinco poblaciones de campo (los valores de CL_{50} van de 0,019 a 0,037 $mg\ L^{-1}$). Palaifyto, fue

significativamente más tolerante que el resto de poblaciones, pero no se diferencia de Pella y Tricea, con un valor de CL_{50} de 0,060 y 0,157 mg L⁻¹, respectivamente. Estos datos tienen suficiente consistencia como para agruparlos y obtener un valor compuesto de CL_{50} de 0,055 mg L⁻¹ para *T. vaporariorum*, que será el valor de referencia para futuros estudios de seguimiento de resistencias. Todos los resultados obtenidos para *T. vaporariorum* en este trabajo, son similares a los resultados publicados para la otra especie de mosca blanca *Bemisia tabaci* (CL_{50} = 0,048 (0,034-0,063) mg L⁻¹ (95% LC)) (Grávalos *et al.*, 2015).

En general, teniendo en cuenta el año de recolección de las poblaciones hay un claro incremento de los valores de CL_{50} observado con el tiempo (ver año de recolección de las poblaciones en el Capítulo 2-Materiales y Métodos generales, Tabla 2.3). Aunque todos los valores de CL_{50} obtenidos son muy bajos, es indicativo que los valores más altos corresponden a las poblaciones recolectadas en 2015 (Palaifyto y Tricea). Esto puede ser debido al inicio del desarrollo de resistencias a diamidas, vinculado con el uso extensivo de diamidas registradas para el control de las principales plagas de tomate como *Tuta absoluta* (Roditakis *et al.*, 2015).

Ya que ciantraniliprol aún no se encuentra en uso comercial, es necesario llevar a cabo estudios sobre el manejo de la resistencia para determinar la variación natural de la tolerancia a dicho producto. Es muy importante conocer esta variabilidad con el fin de no confundirla con verdadera resistencia a esta nueva diamida tras su introducción comercial. Respecto al factor de resistencia o susceptibilidad de cada de las poblaciones en comparación con la población sensible de referencia, nuestros ensayos de laboratorio muestran una respuesta consistente, con ligeras variaciones (9,2 veces y 11,4 veces) en la susceptibilidad a ciantraniliprol. Esta respuesta de *T. vaporariorum* a ciantraniliprol podría estar influenciada por el historial de tratamientos insecticidas, aunque cabe señalar que ninguna de nuestras poblaciones estuvo en contacto con ciantraniliprol en condiciones de campo, por lo que las diferencias observadas en las CL_{50} son atribuibles a la variación natural y no a la resistencia a dicho producto. Además, al comparar nuestros datos con la dosis de campo de este producto, de 75 ppm, podemos observar claramente la alta susceptibilidad de nuestras poblaciones de mosca blanca. También, otras diamidas como flubendiamida y clorantraniliprol han sido utilizados en los últimos años, lo cual puede tener un impacto sobre la variabilidad de la susceptibilidad.

Figura 6.1. Susceptibilidad a ciantraniliprol en ninfas de poblaciones de campo de la cuenca mediterránea de *T. vaporariorum*

En la Figura 6.1 que aparece anteriormente, podemos observar claramente todas las poblaciones de *T. vaporariorum* (Tabla 6.1), ordenadas de mayor a menor susceptibilidad frente a ciantraniliprol, y la línea base o susceptibilidad basal, que va a servir como base o referencia dentro del programa de gestión de la resistencia a insecticidas, para poder hacer comparaciones posteriores y comprobar cambios ocurridos en futuros trabajos.

Debido a que no hay artículos publicados sobre la toxicidad de ciantraniliprol en *T. vaporariorum* para poder contrastar nuestros resultados, se han tenido en cuenta los datos obtenidos en poblaciones mediterráneas de la otra especie de mosca blanca *B. tabaci*. En la Tabla 6.2 y/o Figura 6.2 se muestra la línea base o susceptibilidad basal frente a ciantraniliprol obtenida con nuestras poblaciones de *T. vaporariorum*, así como la de poblaciones de *B. tabaci* establecida en estudios previos (Grávalos *et al.*, 2015). Al comparar los valores de CL₅₀ de ambas especies podemos observar que son similares. Así bien, podríamos decir que ciantraniliprol es igual de tóxico para las dos especies.

Tampoco existen apenas diferencias entre los valores que hemos obtenido para *T. vaporariorum* y los que se obtuvieron para *B. tabaci* hace unos años en Estados Unidos, más concretamente en Arizona (Li *et al.*, 2012), obteniendo una CL₅₀ de 0,015 a 0,191

mg L⁻¹ (de la más susceptible a la más tolerante), y en el Sur de Florida (Caballero *et al.*, 2013) con valores de CL₅₀ comprendidos entre 0,013-0,034 mg L⁻¹, y recientemente en poblaciones de China (Wang *et al.*, 2017) con una CL₅₀ de 2,1 (1,72-2,42) mg L⁻¹, siendo el único valor que presenta diferencias significativas con nuestros valores obtenidos, aunque estas diferencias serían atribuibles a una variación natural de la susceptibilidad a ciantraniliprol.

Tabla 6.2. Susceptibilidad basal de poblaciones mediterráneas de *T. vaporariorum* y *B. tabaci*, respectivamente, a ciantraniliprol.

Línea base	Pendiente (±ET)	CL ₅₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₅₀	CL ₉₀ (mg L ⁻¹) (95% LC)	FR ₉₀
<i>T. vaporariorum</i>	0,98 (±0,02)	0,055 (0,037-0,080)	3,2	1,108 (0,552-3,585)	10,9
<i>B. tabaci</i>	1,81 (±0,04)	0,048 (0,034-0,063)	1,2	0,242 (0,167-0,435)	1,6

ET: error típico; CL₅₀ y CL₉₀: concentración letal que causa una mortalidad del 50% y del 90%, respectivamente; LC: límites de confianza o límites fiduciales; FR₅₀ y FR₉₀: factor de resistencia a nivel de CL₅₀ o CL₉₀ de cada población, en relación a la CL₅₀ o CL₉₀ de la población susceptible de referencia.

Figura 6.2. Susceptibilidad basal de poblaciones de la cuenca mediterránea de *T. vaporariorum* y *B. tabaci*, respectivamente, a ciantraniliprol

6.4. Conclusiones

En general, todas nuestras poblaciones de campo de *T. vaporariorum* de la cuenca mediterránea muestran una alta susceptibilidad a ciantraniliprol. Todos los valores de CL₅₀ obtenidos son similares a los de otros estudios previos de ciantraniliprol, en la otra especie de mosca blanca *B. tabaci* (Li *et al.*, 2012; Caballero *et al.*, 2013; Grávalos *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017).

La línea base o susceptibilidad basal establecida va a servir de referencia dentro del programa de gestión de resistencia a insecticidas (GRI) en poblaciones mediterráneas de mosca blanca, para poder llevar a cabo un seguimiento de la evolución potencial de la resistencia y comprobar posibles cambios ocurridos en futuros trabajos.

Actualmente, como bien releva este estudio, ciantraniliprol sigue mostrando una alta eficacia para el control de mosca blanca, pudiendo desempeñar un papel importante en la mitigación de la resistencia a insecticidas en *T. vaporariorum*, y mostrándose como una herramienta prometedora en el programa de manejo de la resistencia a insecticidas (IPM). Aun así, este producto requiere de un alto nivel de vigilancia, puesto que siempre está presente la amenaza del desarrollo de resistencias que en el caso de insecticidas eficaces puede ser muy elevada.

6.5. Bibliografía

- Bi, J.L., Toscano, N.C., 2007. Current status of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, susceptibility to neonicotinoid and conventional insecticides on strawberries in southern California. *Pest Management Science* 63: 747-752.
- Bielza, P., Guillén, J., 2015. Cyantraniliprole: a valuable tool for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) management. *Pest Management Science* 71: 1068-1074.
- Caballero, R., Cyman, S., Schuster, D.J., Portillo, H.E., Slater, R., 2013. Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B in southern Florida to cyantraniliprole. *Crop Protection* 44: 104-108.
- Cameron, R., Lang, E.B., Alvarez, J.M., 2014. Use of honeydew production to determine reduction in feeding by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) adults when exposed to cyantraniliprole and imidacloprid treatments. *Journal of Economic Entomology* 107: 546-550.

- Cameron, R., Lang, E.B., Annan, I.B., Portillo, H.E., Alvarez, J.M., 2013. Use of fluorescence, a novel technique to determine reduction in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymph feeding when exposed to Benevia and other insecticides. *Journal of Economic Entomology* 106: 597-603.
- Capinera, J.L., 2008. Greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), in *Encyclopedia of entomology*, ed. by Capinera, J.L., Springer, Dordrecht, pp. 1723-1726.
- Cordova, D., Benner, E.A., Sacher, M.D., Rauh, J.J., Sopa, J.S., Lahm, G.P. *et al.*, 2006. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84: 196-214.
- De Little, S.C., Umina, P.A., 2017. Susceptibility of Australian *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) to three recently registered insecticides: spirotetramat, cyantraniliprole and sulfoxaflor. *Journal of Economic Entomology* 110(4): 1764-1769.
- Dinter, A., Brugger, K., Bassi, A., Frost, N.M., Woodward, M.D., 2008. Chlorantraniliprole (DPX-E2Y45, DuPont™ Rynaxypyr®, Coragen® and Altacor® insecticide) - a novel insecticide demonstrating low toxicity and low risk for beneficial insects and predatory mites. *IPM IOBC Bulletin* 35: 128-136.
- Foster, S.P., Denholm, I., Rison, J.L., Portillo, H.E., Margaritopoulos, J., Slater, R., 2012. Susceptibility of standard clones and European field populations of the green peach aphid, *Myzus persicae*, and the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), to the novel anthranilic diamide insecticide cyantraniliprole. *Pest Management Science* 68: 629-633.
- Gong, W., Yan, H.H., Gao, L., Guo, Y.Y., Xue, C.B., 2014. Chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal Economic of Entomology* 107: 806-814.
- Gorman, K., Devinem, G., Bennison, J., Coussons, P., Punchard, N., Denholm, I., 2007. Report of resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 63: 555-558.

- Govindappa, M.R., Bhemanna, M., Arunkumar, H., Ghante, V.N., 2013. Bio-efficacy of newer insecticides against tomato leaf curl virus disease and its vector whitefly (*Bemisia tabaci*) in tomato. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 4: 226-231.
- Grávalos, C., Fernández, E., Belando, A., Moreno, I., Ros, C., Bielza, P., 2015. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest Management Science* 71: 1030-1036.
- Guo, L., Desneux, N., Sonoda, S., Liang, P., Han, P., Gao, X.W., 2013. Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Crop Protection* 48: 29-34.
- Han, W., Zhang, S., Shen, F., Liu, M., Ren, C., Gao, X., 2012. Residual toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Management Science* 68: 1184-1190.
- Inbar, M., Gerling, D., 2008. Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. *Annual Review of Entomology* 53: 431-448.
- Jacobson, A.L., Kennedy, G.G., 2013. Effect of cyantraniliprole on feeding behavior and virus transmission of *Frankliniella fusca* and *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on *Capsicum annuum*. *Crop Protection* 54: 251-258.
- Jacobson, A.L., Kennedy, G.G., 2011. The effect of three rates of cyantraniliprole on the transmission of tomato spotted wilt virus by *Frankliniella occidentalis* and *Frankliniella fusca* (Thysanoptera: Thripidae) to *Capsicum annuum*. *Crop Protection* 30: 512-515.
- Jones, D., 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109: 195-219.
- Karatolos, N., Denholm, I., Williamson, M., Nauen, R., Gorman, K., 2010. Incidence and characterisation of resistance to neonicotinoid insecticides and pymetrozine in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 66: 1304-1307.
- Karatolos, N., Gorman, K., Williamson, M.S., Denholm, I., 2012a. Mutations in the sodium channel associated with pyrethroid resistance in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*. *Pest Management Science* 68: 834-838.

- Karatolos, N., Williamson, M.S., Denholm, I., Gorman, K., Ffrench-Constant, R., Nauen, R., 2012b. Resistance to spiromesifen in *Trialeurodes vaporariorum* is associated with a single amino acid replacement in its target enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. *Insect Molecular Biology* 21: 327-334.
- Knight, A.L., Flexner, L., 2007. Disruption of mating in codling moth (Lepidoptera: ortrricidae) by chlorantranilipole, an anthranilic diamide insecticide. *Pest Management Science*. 63: 180-189.
- Koppenhöfer, A.M., Fuzy, E.M., 2008. Effect of the anthranilic diamide insecticide, chlorantraniliprole, on *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditida) efficacy against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biological Control* 45: 93-102.
- Lahm, G.P., Cordova, D., Barry, J.D., 2009. New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 17: 4127-4133.
- Lahm, G.P., Selby, T.P., Freudenberger, J.H., Stevenson, T.M., Myers, B.J., Seburyamo, G., Smith, B.K., Flexner, L., Clark, C.E., Cordova, D., 2005. Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 15: 4898-4906.
- Li, X., Degain, B.A., Harpold, V.S., Marçon, P.G., Nichols, R.L., Fournier, A.J. *et al.*, 2012. Baseline susceptibilities of B and Q biotype *Bemisia tabaci* to anthranilic diamides in Arizona. *Pest Management Science* 68: 83-91.
- Liu, T.X., Oetting, R.D., Buntin, G.D., 1993. Population dynamics and distribution of *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia following applications of three chemical insecticides. *Journal of Economic Entomology* 28: 126-135.
- Liu, X., Ning, Y., Wang, H., Wang, K., 2015. Cross-resistance, mode of inheritance, synergism, and fitness effects of cyantraniliprole resistance in *Plutella xylostella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 157: 271-278.
- Longhurst, C., Babcock, J.M., Denholm, I., Gorman, K., Thomas, J.D., 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 Science* 69: 809-813.

- Millar, N.S., Denholm, I., 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invertebrate Neuroscience* 7: 53-66.
- Nauen, R., 2006. Insecticide mode of action: return of the ryanodine receptor. *Pest Management Science* 62: 690-692.
- Nauen, R., Bretschneider, T., Bruck, E., Elbert, A., Reckmann, U., Wachendorff, U., Tiemann, R., 2002. BSN 2060: A novel compound for whitefly and spider mite control. The BCPC Conference: Pests and Diseases, Proceedings of the International Conference, British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 39-44.
- Nauen, R., Schnorbach, H.J., Elbert, A., 2005. The biological profile of spiromesifen (Oberon®) - a new tetrone acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58: 417-440.
- Portillo, H.E., Annan, I.B., Marçon, P.C., 2009. Cyazypyr (DPX-HGW86, Cyantraniliprole): a novel anthranilic diamide insecticide for control of whiteflies and other important arthropod pests. In: 5th International *Bemisia* Workshop Abstracts, pp. 60.
- Ribeiro, L.M.S., Siqueira, H.A.A., Wanderley-Teixeira, V., Ferreira, H.N., Silva, W.M., Silva, J.E., Teixeira, A.A.C., 2017. Field resistance of Brazilian *Plutella xylostella* to diamides is not metabolism-mediated. *Crop Protection* 93: 82-88.
- Ribeiro, L.M.S., Wanderley-Teixeira, V., Ferreira, H.N., Teixeira, A.A.C., Siqueira, H.A.A., 2014. Fitness costs associated with field evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bulletin of Entomological Research* 104: 88-96.
- Roditakis, E., Vasakis, E., Grispu, M., Stavrakaki, M., Nauen, R., Gravouil, M., Bassi, A., 2015. First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *Journal of Pest Science* 88 (1): 9-16.
- Satelle, D.B., Cordova, D., Cheek, T.R., 2008. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel control chemicals. *Invertebrate Neuroscience* 8: 107-119.
- Soderlund, D.M., Bloomquist, J.R., 1989. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annual Review of Entomology* 34: 77-96.
- Stansly, P.A., Kostyk, B., Riefer, R., 2010. Effect of rate and application method of Cyazypyr (HGW86) on control of silverleaf whitefly and southern armyworm in staked tomato, 2009. *Arthropod Management Tests* 35: 1-3.

- Steinbach, D., Gutbrod, O., Lümmer, P., Matthiesen, S., Schorn, C., Nauen, R., 2015. Geographic spread, genetics and functional characteristics of ryanodine receptor based target-site resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 63: 14-22.
- Steinbach, D., Moritz, G., Nauen, R., 2017. Fitness costs and life table parameters of highly insecticide-resistant strains of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) at different temperatures. *Pest Management Science* 73: 1789-1797.
- Teixeira, L.A., Gut, L.J., Wise, J.C., Isaacs, R., 2009. Lethal and sublethal effects of chlorantraniliprole on three species of *Rhagoletis* fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Pest Management Science* 65: 137-143.
- Trocza, B., Zimmer, C.T., Elias, J., Schorn, C., Bass, C., Davies, T.G. *et al.*, 2012. Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), is associated with a mutation in the membrane spanning domain of the ryanodine receptor. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 42: 873-880.
- Wang, R., Zhang, W., Che, W., Qu, C., Li, F., Desneux, N., Luo, C., 2017. Lethal and sublethal effects of cyantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) MED. *Crop Protection* 91: 108-113.
- Wang, X., Wu, Y., 2012. High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. *Journal of Economic Entomology* 105: 1019-1023.
- Wardlaw, L.R., 1985. Pyrethroid resistance in glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*, Westwood). *Med Fact Landbouw, Rijksuniv, Gent*, 50: 164-165.
- Yan, H.H., Xue, C.B., Li, G.Y., Zhao, X.L., Che, X.Z., Wang, L.L., 2014. Flubendiamide resistance and Bi-PASA detection of ryanodine receptor G4946E mutation in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 115: 73-77.
- Yeoh, B.H., Lee, C.Y., 2007. Tunneling responses of the Asian subterranean termite, *Coptotermes gestroi* in termiticide-treated sand (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* 50: 457-468.
- Zhang, R.M., Dong, J.F., Chen, J.H., Ji, Q.E., Cui, J.J., 2013. The sublethal effects of chlorantraniliprole on *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Integrative Agriculture* 12: 457-466

Zhang, R.M., Jang, E.B., He, S.Y., Chen, J.H., 2015. Lethal and sublethal effects of cyantraniliprole on *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). Pest Management Science 71: 250-256.

Conclusiones Generales

Debido al uso excesivo de spiromesifén y spirotetramat, podemos confirmar que se ha desarrollado resistencia a ambos ketoenoles en poblaciones de *B. tabaci* del sureste español. La mayoría de las poblaciones bioensayadas muestran una alta toxicidad a ambos insecticidas, alcanzando valores de CL_{50} (hasta $>30000 \text{ mg L}^{-1}$) muy por encima de las dosis de campo recomendadas, siendo 144 mg L^{-1} para spiromesifén y $97,5 \text{ mg L}^{-1}$ para spirotetramat. Por todo ello, ambos productos requieren de un alto nivel de vigilancia como siempre ocurre en el caso de insecticidas eficaces.

Se ha comprobado la ausencia de resistencia cruzada de spiromesifén con los insecticidas de uso común para el control de mosca blanca (imidacloprid, alfa-cipermetrín, piriproxifén, piridabén, tiametoxam, ciantraniliprol, flupiradifurona, azadiractín y sulfoxaflor). Sólo en el caso de pimetrocina se sospecha de una posible resistencia cruzada positiva, aunque todo parece indicar que esta resistencia ya estaba presente en las poblaciones originales de campo.

En ambos casos, los bioensayos realizados con sinergistas (PBO, DEM y profenofós) parecen descartar la implicación de las P-450 monooxigenasas, las glutatión S-transferasas y las esterasas en la resistencia a spiromesifén y spirotetramat. En general, los datos parecen indicar que la resistencia sea debida a una mutación en el punto de acción, ya que la mayoría de las poblaciones muestran niveles de resistencia muy elevados.

Definitivamente, estos resultados pueden ser incorporados dentro de un programa de manejo de resistencia a ambos ketoenoles, para disminuir o evitar el desarrollo de resistencias así como para diseñar estrategias de control adecuadas.

Por otra parte, los valores de alta susceptibilidad a ciantraniliprol obtenidos en poblaciones mediterráneas de *T. vaporariorum*, van a servir como base o referencia para poder llevar a cabo un seguimiento de la evolución potencial de la resistencia, y comprobar cambios ocurridos en futuros trabajos. En resumen, ciantraniliprol puede ser una herramienta muy valiosa en el programa de manejo de la resistencia a insecticidas (IPM), y puede jugar un papel importante en la disminución de la resistencia en mosca blanca, debido a su alta eficacia.

Llevar a cabo una buena gestión de materias activas novedosas es de vital importancia para conservar su eficacia, ya que cada vez se disponen de menos agentes de control químico para el control de mosca blanca.