



# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ÚRSULO GALVÁN

VARIABILIDAD GENÉTICA DE MOSCA BLANCA  
(HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) DE  
HORTALIZAS EN LA REGIÓN  
CENTRO COSTERA DE VERACRUZ

TESIS

Que para obtener el título de:  
INGENIERÍA EN AGRONOMÍA

Presenta:  
BERENICE PREZA MURRIETA

No. Control SEP: 14882219

Úrsulo Galván, Ver., Abril de 2019.



**SEP**  
SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO**  
Instituto Tecnológico de Ursulo Galván

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Úrsulo Galván, Ver., **27/MARZO/2019**

**No. DE OFICIO: DEP /243/2019**

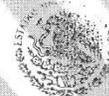
**Asunto: Autorización de Impresión**

**C. BERENICE PREZA MURRIETA**  
PRESENTE

Por este conducto me dirijo a usted para comunicarle que su trabajo titulado: **VARIABILIDAD GENÉTICA DE MOSCA BLANCA (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) DE HORTALIZAS EN LA REGIÓN CENTRO COSTERA DE VERACRUZ.**, Como opción de titulación integral mediante: **Tesis Profesional** después de haber sido revisado por su Asesor y los integrantes de la Comisión de Revisión y usted haber cumplido con todas las correcciones y los requisitos indispensables, ha sido autorizada su impresión; **por lo que deberá entregar a este Departamento 01 Ejemplar encuadernado con pasta dura de color Verde y 05 CD'S.**, debiendo presentarse en formato digital atendiendo a las instrucciones para tal efecto.

**ATENTAMENTE**  
Excelencia en Educación Tecnológica®  
"Nuestro Esfuerzo es Progreso"

**M.A. CAROLINA SAC-NICTE MÉNDEZ GONZÁLEZ**  
**JEFA DEL DEPTO. DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES**



SECRETARIA DE  
EDUCACION PUBLICA  
Instituto Tecnológico  
de Ursulo Galván  
DIVISION DE ESTUDIOS  
PROFESIONALES

C.p. Archivo  
CSMG/jhb

Carretera Cardel – Chachalacas Km. 4.5, C.P.91667,  
Úrsulo Galván, Ver. Teléfono (296) 9625029 Ext. 108  
[www.itursulogalvan.edu.mx](http://www.itursulogalvan.edu.mx)





**SEP**  
SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Úrsulo Galván, Ver, 26/Marzo/2019

ASUNTO: Liberación de Proyecto para Titulación integral.

M.A. CAROLINA SAC-NICTE MÉNDEZ GONZÁLEZ  
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
P R E S E N T E

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la Titulación integral

|                        |   |
|------------------------|---|
| f) Nombre del Egresado | BERENICE PREZA MURRIETA   |
| g) Carrera:            | INGENIERIA EN AGRONOMÍA   |
| h) No. de Control      | 14882219  |
| i) Nombre del proyecto | VARIABILIDAD GENÉTICA DE MOSCA BLANCA (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) DE HORTALIZAS EN LA REGIÓN CENTRO COSTERA DE VERACRUZ. |
| j) Producto            | TESIS   |

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

**A T E N T A M E N T E**  
"Nuestro esfuerzo es progreso"

Q.C. ADRIANA E. RIVERA MEZA  
JEFA DEL DEPTO. DE INGENIERIAS

|                              |                                     |                                    |
|------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| <br>DR. JACEL ADAME GARCÍA   | <br>DR. FELIPE R. FLORES DE LA ROSA | <br>DR. FELIX DAVID MURILLO CUEVAS |
| Nombre y Firma del Directora | Nombre y Firma del Director Externo | Nombre y Firma del Asesor          |

c.c.p. Expediente

Carretera Cárdenal - Chuchalacas Km. 4.5, C.P. 91667,  
Úrsulo Galván, Ver. Teléfono (296) 9625029 Ext. 102  
www.itursulogalvan.edu.mx



## **Agradecimientos**

Agradezco al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento del proyecto “Variabilidad de Poblaciones de Mosquita Blanca Evaluada Mediante Análisis Morfológico y Molecular en la Región Centro Costera de Veracruz (6849.18-P)”.

A mi directora interna de tesis **Doctora Jacel Adama García**, por su apoyo incondicional, su amistad y sus enseñanzas para realizar y poder terminar mi tesis; y por ser parte de su equipo de laboratorio porque la verdad no tenía idea de que hacer.

A mi director externo de tesis **Doctor Felipe Roberto Flores de la Rosa**, por ayudarme con el análisis y la interpretación de los datos de los resultados.

A mi asesor **Doctor Félix David Murillo Cuevas**, por darme la oportunidad de participar en su proyecto y en la revisión de mi tesis.

A **Efraín Antonio Vázquez** por quedarse conmigo hasta tarde a correr los geles y PCR que tenía que hacer. Y a todos los integrantes del laboratorio **Victor, Fer, Cora, Toño, Denys** por hacer que el tiempo en el laboratorio no fuera aburrido.

## Dedicatoria

A mi **madre Virginia Murrieta Hernández** que con mucho esfuerzo, sacrificio y dedicación me dio la oportunidad de cumplir y poder terminar una meta más en mi vida, por apoyarme siempre y estar conmigo cuando más lo he necesitado. Me da gusto poder compartir uno de los mejores momentos de mi vida contigo y de esta etapa que hoy termina. Qué más puedo decirte, eres mi mamá y siempre has estado para mí aun en los peores momentos agradezco a Dios por el simple hecho de que estés aquí conmigo

A mi **padre Guadalupe Preza Luna**, aunque hoy no puedas leer ni ver esto te agradezco que siempre hayas estado al pendiente de mí y por el esfuerzo que hiciste por tratar de sacarme adelante, empezamos juntos esta nueva etapa y no pudimos terminarla juntos; me encantaría que pudieras compartir esta felicidad conmigo, donde quiera que te encuentres espero que estés muy orgulloso de mí.

A mis **hermanos Jovana y Esaú Preza Murrieta**, ustedes son muy importantes para mí aunque no se los demuestre mucho, gracias por su apoyo aunque tuvimos peleas y disgustos siempre estuvieron apoyándome, aunque ustedes no lo vean así, gracias por acompañarme en esta etapa que hoy termina para mí.

## Resumen

En este trabajo se evaluó la variabilidad genética de poblaciones de *Bemisia tabaci* sobre cuatro variedades del cultivo de jitomate: a) *Solanum lycopersicum* L. cv. Toroty; b) *S. lycopersicum* cv. CECOT, c) *S. lycopersicum* cv. Pegaso y d) *S. lycopersicum* cv. Pegaso F1) y una variedad de melón *Cucumis melo* L. cv. SummerDew en la en la región centro costera de Veracruz, mediante el polimorfismo de ADN amplificado al azar (RAPD). Se colectaron 50 individuos de cada una de las poblaciones. Se realizó la extracción de ADN de cada individuo, y a partir de este, se obtuvieron los perfiles electroforéticos para cada una de las moscas blancas colectadas empleando cinco oligonucleótidos. Asimismo, se realizaron análisis genéticos (UPGMA) y estadísticos (Análisis de Correspondencia (AC) y AMOVA) para buscar una posible estructura genético-poblacional. Los resultados muestran una gran diversidad genética al ser polimórficos el 100% de los fragmentos generados mediante RAPDS, sin embargo, los perfiles electroforéticos mostraron una similitud alta entre individuos obtenidos del mismo cultivar. El análisis UPGMA y el AC agrupan los individuos de acuerdo al cultivar del que fueron colectados, mostrando una posible estructura poblacional, lo cual fue corroborado por el AMOVA ( $\Phi_{iTP} = 0.243$ ,  $p < 0.01$ ), explicando el 24% de la variación genética total debido a la procedencia de la muestra. Los resultados del presente trabajo sugieren fuertemente la presencia de múltiples especies crípticas pertenecientes al complejo *B. tabaci*.

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| I. INTRODUCCIÓN .....                                      | 1  |
| II. ANTECEDENTES .....                                     | 3  |
| III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....                       | 6  |
| IV. OBJETIVOS.....   | 7  |
| 4.1 General.....   | 7  |
| 4.2 Específicos.....                                       | 7  |
| V. HIPÓTESIS .....   | 8  |
| VI. MARCO TEÓRICO .....                                    | 9  |
| 6.1 Generalidades .....                                    | 9  |
| 6.1.1. Hospederos .....                                    | 10 |
| 6.1.2 Taxonomía.....                                       | 10 |
| 6.1.3 Morfología.....                                      | 11 |
| 6.2. Plagas y enfermedades del tomate y melón.....         | 12 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....                            | 14 |
| 7.1 Colecta de adultos de mosca blanca .....               | 14 |
| 7.2 Extracción de ADN genómico.....                        | 14 |
| 7.3 Amplificación de los marcadores moleculares RAPD ..... | 15 |
| 7.3 Análisis bioinformático. ....                          | 16 |
| VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                         | 18 |
| IX. FUENTES DE CONSULTA.....                               | 29 |
| X. ANEXOS .....  | 35 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores para amplificación de los marcadores moleculares RAPDs. ....   | 16 |
| Cuadro 2. Oligonucleótidos utilizados y número de bandas obtenidas de las poblaciones de <i>B. tabaci</i> . ....                                      | 18 |
| Cuadro 3. Resultados del Analisis de Varianza Molecular (AMOVA). Se muestra el valor de fijación de población (PhiPT) y su probabilidad asociada..... | 21 |
| Cuadro 4. Media y Desviacion Estandar sobre Loci para cada población, índice de Shannon.....  | 28 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Moscas colectadas de los cultivos a) Toroty b) CECOT c) Pegaso d) Pegaso F1 e) SummerDew .....                          | 19 |
| Figura 2. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-02. ....  | 22 |
| Figura 3. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-04. ....  | 22 |
| Figura 4. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-10. ....  | 23 |
| Figura 5 Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-13. ....   | 23 |
| Figura 6. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPG-12). .... | 24 |
| Figura 7. Dendrograma de las 50 muestras de moscas blancas, generado por UPGMA .....  | 25 |
| Figura 8 Análisis de correspondencia entre las moscas blancas y el cultivo hospedante. ....                                       | 27 |

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hortalizas en México asciende a poco más de 8.6 millones de toneladas anualmente, las cuales aportan el 16 % del valor agrícola total del país, éstas son producidas en 280 mil hectáreas dedicadas a esta actividad, donde los principales productores son: Baja California, Estado de México, Jalisco, Sinaloa, Sonora, Michoacán, Morelos y Oaxaca (Hidroponia, 2016).

La mosca blanca *Bemisia tabaci* es un insecto de importancia agrícola, ya que algunas especies causan graves pérdidas económicas en los cultivos, principalmente en zonas tropicales y subtropicales, tanto en invernadero como en cultivos a cielo abierto (González y Gallardo 1999; Lugo *et al.*, 2011) y como daños indirectos las moscas blancas tienen la capacidad de transmitir virus a sus hospederos, afectando el desarrollo normal de las plantas, el rendimiento y la calidad de los productos a cosechar (Arnal *et al.* 1994; Morales y Anderson, 2001; Lugo *et al.*, 2011).

Las moscas blancas, es un complejo de numerosas especies morfológicamente indistinguibles; en las últimas tres décadas, dos de sus miembros (MED y MEAM1) se han convertido en algunas de las plagas agrícolas más dañinas del mundo. Afectan a una amplia gama de cultivos de importancia agrícola, los daños son relacionados con la alimentación y la transmisión de numerosos virus de plantas (Elfekih *et al.*, 2018).

La introducción de especies invasoras es uno de los principales impulsores de la disminución de la riqueza de especies en sitios específicos (Sax *et al.*, 2007) y han surgido como amenazas importantes para el bienestar social y económico de las comunidades; más de 120,000 especies han invadido Australia, Brasil, India, Sudáfrica,

los Estados Unidos de América y el Reino Unido; las características que hacen que las especies sean invasoras son diversas e idiosincrásicas, pero un elemento importante para una especie invasora es la capacidad de adaptarse rápidamente al cambio ambiental (Poulin *et al.*, 2002). Cuando la adaptación es genética, entonces la evidencia de ello puede rastrearse comparando los genomas de especies invasoras y no invasivas. El complejo de especies *B. tabaci*, contiene algunas de las plagas agrícolas más dañinas del mundo, así como especies que no muestran capacidad invasiva (Perring *et al.*, 1993).

Análisis filogenéticos indican que *B. tabaci* es un complejo compuesto por 28 especies morfológicamente indistinguibles (Shu-sheng *et al.*, 2012); así mismo las especies filogenéticas tienen una importancia biológica limitada, debido a que sus criterios y grados de diferencia son intrínsecamente subjetivos (Avice, 2000). Un análisis combinado de la filogenética molecular y la incompatibilidad reproductiva ha demostrado ser un enfoque productivo para estudiar la sistemática de complejos de especies morfológicamente indistinguibles (Heraty *et al.* 2007).

La mosca blanca tiene una distribución global y una amplia diversidad genética (Dinsdale *et al.*, 2010), por lo que el estado de esta plaga de *B. tabaci* ha aumentado considerablemente en los últimos 20 años, debido a las invasiones generalizadas de lo que se ha denominado biotipos B y Q de la mosca blanca (De Barro *et al.*, 2011).

## II. ANTECEDENTES

Autores como Jones y Kitching (1981) definen una plaga como un organismo que daña los cultivos, destruye productos, transmite o causa enfermedades, es molesto o, de alguna otra manera, entra en conflicto con las necesidades o los intereses humanos.

La preocupación internacional por preservar la biodiversidad extiende aún más la definición de plaga a una especie que puede causar el declive de las especies nativas o altera la estructura y función de los ecosistemas naturales (Worner, 2002). Más recientemente, las invasiones de plagas han sido reconocidas como una causa importante de pérdida de biodiversidad, pero las plagas como "vectores" también se pueden considerar como factores de aparición o reaparición de virus (Anderson *et al.*, 2004).

La historia de *B. tabaci* como plaga se remonta a 1889; sin embargo, gran parte de la atención actual sobre *B. tabaci* se centra en una serie de eventos de invasión importantes (Brown *et al.*, 1995). El primer evento de invasión mundial importante que se conoce es el del biotipo B, que comenzó a finales de los años 80 principalmente a través del comercio de plantas ornamentales (Broadbent *et al.*, 1989). En los últimos años, esto ha sido seguido por la propagación global de Q (Mediterráneo), que se ha extendido desde su origen en los países que bordean la Cuenca del Mediterráneo a al menos 10 países (Canadá, China, Guatemala, Japón, México, Países Bajos, Nueva Zelanda, Corea del Sur, Uruguay, Estados Unidos) (Sseruwagi, 2006).

El concepto de biotipo en *B. tabaci* cobró importancia con la invasión del sur de los Estados Unidos por una *B. tabaci* que se comportaron de manera muy diferente a la de

la población nativa. El invasor tenía un perfil de esterasa y un rango de hospedadores diferentes a los de la población indígena y, con base a las observaciones anteriores de la utilización diferencial del hospedador, se lo llamó biotipo B y la población nativa como biotipo A (Bedford *et al.*, 1993).

Estudios realizados por Gawel (1993) sobre aloenzimas y RAPD-PCR mostraron diferencias consistentes adicionales entre los biotipos A y B, además, eran reproductivamente incompatibles. Pero a diferencia de las aplicaciones anteriores del término raza huésped o biotipo, Dinsdale (2010) menciona que el término ahora se aplicaba a dos grupos que, hasta la intervención humana más reciente, estaban consideradas como alopátricas. Según Perring (2001) la aplicación del biotipo era comprensible dado el nivel de conocimiento en ese momento. Desde la determinación de A y B, ha habido una explosión en la designación de biotipo.

De acuerdo a Brown *et al.*, (1995) algunos rasgos utilizados para caracterizar los biotipos incluyen la capacidad de dispersarse ampliamente y la resistencia a los insecticidas, en el caso de la resistencia a los insecticidas Barat *et al.*, (2008) lo estudio solo para el biotipo B, el autor la detectó en individuos que pertenecen a Asia I, Mediterráneo y los grupos genéticos del Nuevo Mundo, además de que argumentó que aunque B contiene genotipos tanto susceptibles como resistentes carece de la variabilidad encontrada en poblaciones que no son del Biotipo B.

De acuerdo a Zang (2006) existe una estructura genética que permite dividir *B. tabaci* en una serie de subgrupos bien definidos. Además, como las descripciones de la gran mayoría de los biotipos se basan principalmente en marcadores genéticos, ya sean proteínas o ADN, y no en datos biológicos, el término biotipo en el contexto de *B. tabaci* es un término sustituto para un grupo genético. Por lo tanto, el autor sugirió que es hora

de dejar de lado la terminología del biotipo promulgada por Bird en 1957 y centrarse en la estructura genética.

Los diferentes biotipos de *B. tabaci* son reconocidos usualmente por la presencia de reacciones fitotóxicas específicas y marcadores bioquímicos de esterasas (Perring, 2001). Junto con ello, el uso de marcadores moleculares ha contribuido considerablemente al estudio de la variación de esta mosca blanca, ya que permiten obtener resultados más confiables, precisos, reproducibles y son capaces de detectar pequeñas variaciones en el genoma (Rosales *et al.*, 2010).

Se han realizado trabajos con la finalidad de evaluar la variabilidad genética de las poblaciones de *B. tabaci*, como el reportado por Alvarado *et al.* (2013) quienes evaluaron dos sub-poblaciones de *B. tabaci* sobre el cultivo del pimentón (*Capsicum annuum* L.) empleando el polimorfismo de ADN amplificado al azar (RAPD), los autores obtuvieron un perfil electroforético para cada uno de los individuos colectados en el que se pudieron verificar bandas polimórficas, lo que les permitió concluir que se presenta una amplia variabilidad intra e interpoblacional de la mosca blanca, infiriéndose la existencia de barreras espaciales y/o temporales que han limitado el flujo genético entre ambas subpoblaciones (Alvarado *et al.*, 2013).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Durante los últimos años la plaga mosca blanca han sido considerada como uno de los principales problemas fitosanitarios de importancia económica en hortalizas, esto debido al impacto que tienen sobre los cultivos y a la dificultad para controlarla, ya que estos organismos han ido adquiriendo una plasticidad genética alta debido a las presiones ambientales y de manejo de los cultivos, lo cual ha provocado el surgimiento de diferentes rasgos funcionales y variaciones fenotípicas, así como de resistencia a los productos químicos de control.

Además de que se requiere verificar si las moscas blancas presentan variabilidad genética de acuerdo al hospedero que habitan, esto con la finalidad de saber si las moscas blancas han evolucionado de acuerdo a las condiciones que se les presenten, o sí son iguales morfológica y genéticamente

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1 General**

Estimar la variabilidad genética de mosca blanca asociada al cultivo de hortalizas mediante marcadores RAPDs.

### **4.2 Específicos**

- Estimar el nivel de variabilidad genética de individuos de mosca blanca mediante perfiles electroforéticos de RAPDs.
- Determinar si existe estructura poblacional entre los individuos de mosca blanca acorde con el cultivar de procedencia

## **V. HIPÓTESIS**

Existe un alto nivel de variabilidad genética en mosca blanca, asociada a diversos cultivos de hortalizas en el estado de Veracruz.

## VI. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Generalidades

*Bemisia tabaci* (Gennadius) (Insecta: Hemiptera: Homoptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae: Aleyrodinae) es un insecto de alimentación del floema que vive predominantemente de especies herbáceas. Es una plaga considerable de la producción ornamental, vegetal, de leguminosas y de algodón, que causa daños directamente a través de la alimentación e indirectamente a través de la transmisión de virus patógenos de plantas, principalmente begomovirus (Jones, 2003).

Las moscas blancas tienen machos haploides y hembras diploides (Delatte *et al.*, 2005). Anteriormente se pensaba que *B. tabaci* era una especie única compuesta de varios grupos bien diferenciados, y recientemente esos grupos habían sido referidos como especies, y ahora se considera que *B. tabaci* está compuesta por un complejo de 24 especies crípticas que apenas se cruzan y forman diferentes formas filogenéticas (Dinsdale *et al.*, 2010).

El primer concepto de variabilidad genética entre los diferentes grupos de *B. tabaci* se basó en las diferencias biológicas en la forma de utilización del huésped, ya que la existencia de razas se relaciona con la planta huésped (De Barro *et al.*, 2011). Existe una estructura genética que permite dividir *B. tabaci* en una serie de subgrupos bien definidos, y es igualmente cierto que no hay 36 biotipos. Además, como las descripciones de la gran mayoría de los biotipos se basan principalmente en marcadores genéticos, ya sean proteínas o ADN, y no en datos biológicos, el término biotipo en el contexto de *B. tabaci* es un término sustituto para un grupo genético. Por lo tanto, es hora de dejar de lado la terminología del biotipo promulgada por Bird en 1957 y centrarse en la estructura genética (De Barro *et al.*, 2011).

Algunas de las especies más importantes de moscas blancas *Aleurotrachelus socialis* Bondar, *Bemisia tuberculata* Bondar, *Trialeurodes variabilis* Quaintance, *T. vaporariorum* (Westwood), *Bemisia tabaci* - *Gennadius Aleurathrixus aepim* y *Tetraleurodes* sp., siendo los géneros *Bemisia* y *Trialeurodes* los más comunes en el caso del algodón *Trialeurodes vaporariorum* o *Trialeurodes variabilis*: llamada mosca blanca de los invernaderos, descrita por primera vez en Inglaterra en 1856 y registrada en Estados Unidos en Es originaria de América tropical o subtropical (probablemente Brasil o México) y su rango de hospederos incluye plantas de más de 250 géneros distribuidos en cerca de 85 familias (Tsai y Wang, 1996).

#### 6.1.1. Hospederos

Los principales cultivos que ataca son: jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill), sandía (*Citrullus vulgaris* Schard), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), chile (*Capsicum annuum* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), melón (*Cucumis melo* L.), col (*Brassica oleracea* L.), cítricos (*Citrus* sp.), entre otros (Romero y Anaya, 1998). El cultivo en el que mejor se desarrolla *B. argentifolii* es la berenjena (*Solanum melongena* L.) (Tsai y Wang, 1996).

#### 6.1.2 Taxonomía

La mosca blanca o también conocida como mosca blanca, mosca blanca de la hoja plateada; pertenece a la Clase: Insecta; Orden: Hemiptera; Familia: Aleyrodidae; Género: *Bemisia*; Especie: *argentifolii* Bellows y Perring, *tabaci* Gennadius (Viscarret, 1996).

### 6.1.3 Morfología

- La mosca blanca posee metamorfosis incompleta, es decir, su ciclo biológico presenta los estadios de huevecillo, ninfa y adulto (Mau y Lee, 2007).
- Huevo. El huevecillo tiene forma oval con la parte anterior más aguda que la posterior, es de color amarillo pálido recién ovipositado y de color castaño oscuro antes de la eclosión, miden en promedio 0.2 mm y el corion es liso y brillante (Ortega, 2008).
- Ninfa. Las ninfas pasan por cuatro instares, el primero recibe el nombre de “caminante” y el último de “pupa”. El primer instar ninfal es de forma oval, aplanada, semitransparente, de color verde amarillento, mide en promedio 0.3 mm de largo y con apariencia de una pequeña escama. La ninfa de primer instar empieza su movimiento sobre el envés de las hojas después de 1-2 horas de eclosionado el huevecillo, hasta que encuentran un sitio donde alimentarse y ahí se establecen, usualmente el proceso dura un día. Al fijarse la ninfa del primer estadio, inserta sus partes bucales (estilete) en la hoja para alimentarse y permanece en este sitio hasta llegar al estado adulto. El segundo instar mide en promedio 0.5 mm de largo. El tercero y cuarto instar miden en promedio 0.7 y 0.8 mm de largo, respectivamente. En la etapa final del tercer y cuarto instar poseen manchas oculares distintivas, por lo que se les denomina comúnmente ninfas de ojos rojos. El cuarto instar ninfal, o “pupa”, tiene manchas oculares prominentes, es ovalada, plana y con los márgenes externos redondeados (Ortega, 2008).
- Adulto. Los adultos de mosca blanca de la hoja plateada son insectos pequeños de 0.8 a 1.2 mm de longitud, presentan un cuerpo de color amarillo pálido y alas de color blanco (Ortega, 2008).

## 6.2. Plagas y enfermedades del tomate y melón

Entre las principales plagas del cultivo del tomate se encuentra *Phyllophaga* spp. comúnmente conocida como Gallina ciega (CATIE, 1990). También se presentan plagas de áfidos como el Pulgón verde (*Myzus persicae* Sultzer), Homoptera: Aphididae, Tortuguillas (*Diabrotica* sp.) y el Minador de la hoja (*Liriomyza* sp. diptera). (CATIE, 1990).

Otra plaga de importancia es la mosca blanca que es un insecto chupador, de la cual existen numerosas especies; aunque *Bemisia tabaci* es la más difundida, y posiblemente la más dañina. Tiene una distribución prácticamente en toda el área tropical del mundo, aunque ha sobrepasado esos límites y colonizado áreas ubicadas en otras latitudes (CATIE, 1990). Los daños que *Bemisia tabaci* ocasiona al tomate es la transmisión de diferentes enfermedades virales (CATIE, 1990).

La mosca blanca es la responsable de transmitir los geminivirus, estos se localizan en el floema y para ser transmitidos se requiere que el vector pase por un período de alimentación de 2-24 horas (adquisición del virus), luego por un período de alimentación-inoculación de 2-3 días (CATIE, 1990). El insecto permanece protegido en el envés de las hojas durante toda su vida, tiene una gran capacidad para desarrollar resistencia a los insecticidas, muestra gran plasticidad genética para desarrollar biotipos y adaptarse a condiciones agroclimáticas nuevas o adversas, tiene hábitos migratorios, colonizando constantemente nuevos campos de cultivos tanto el vector como el virus presentan múltiples hospedantes, ya sean estas plantas cultivadas o malezas (CATIE, 1990).

En lo que respecta al melón, se presentan plagas como los minadores de hoja *Liriomyza sativa* Blanchard y *L. trifolii* Burgess, gusano soldado *Spodoptera exigua* Hübner, gusano del fruto de melón *Diaphania* spp., falso medidor *Trichoplusia ni* Hübner, Trips *Frankliniella occidentalis* Pergande, pulgones *Aphis gossypii* Sulzer; *Myzus persicae* Glover y la araña roja *Tetranychus* spp. (Pinales *et al.*, 2001).

También se presentan nematodos como *Meloidogyne* spp., diversos virus (Mosaico Amarillo del zucchini; Mosaico del pepino; Mosaico de la sandía; Mosaico del tabaco) y bacterias como las que causan la podredumbre blanda *Erwinia carotovora subsp. carotovora* (Jones) Bergey (Pinales *et al.*, 2001).

En melón la mosca blanca que se presenta es *Bemisia argentifolii* Bellows & Perrin, plaga que ocasiona los siguientes tipos de daño a sus plantas hospederas: succión de la savia, lo que reduce el vigor de la planta y su producción; excreción de mielecilla, sobre la cual se desarrollan hongos de color negro conocidos comúnmente como "fumagina", que interfieren con la actividad fotosintética de las hojas y pueden disminuir la calidad de la cosecha; transmisión de enfermedades virales e inyección de toxinas, las cuales inducen desórdenes fisiológicos en las plantas (Pinales *et al.*, 2001).

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Colecta de adultos de mosca blanca

El material de estudio se colectó en el cultivo de jitomate tipo Saladet variedad Toro (CECOT) en invernadero, ubicado en el Campo Experimental Cotaxtla del Inifap, en el km 34 de la carretera libre Veracruz-Córdoba en las coordenadas 18°55'53.85"N y 96°11'29.22"O, perteneciente al municipio de Medellín de Bravo, Veracruz. También se colectaron adultos de mosca blanca de las variedades de jitomate tomate Pegaso, Pegaso F1, y Toroty, así como del melón (SummerDew F1) cultivados a cielo abierto en los terrenos de producción del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván, localizado en el km 4.5 de la carretera Cardel-Chachalacas en las coordenadas 19°24'45.87"N y 96°21'26.82"O, perteneciente al municipio de Úrsulo Galván, Veracruz. Los dos sitios ubicados en la región centro costera de Veracruz, México. Las condiciones ambientales del estudio corresponden a una planicie costera a 6 msnm con un clima tropical subhúmedo, el cual es un ambiente propicio para la expresión de plagas, especialmente para hortalizas.

De cada variedad se colectaron todos los adultos que estuvieran en la hoja y se transportaron al laboratorio de Biología Molecular para su selección. Allí se colocaron en alcohol al 70% hasta el momento de realizar la extracción de ADN.

### 7.2 Extracción de ADN genómico

El método empleado para la extracción de ADN de las moscas fue el de Raya et al. (2014), en que se ocupó toda la mosca debido a su tamaño. El método consiste en rehidratar los tejidos celulares para lo cual las moscas blancas se dejaron reposar durante 5 min en solución de buffer TE (1 M Tris-HCl pH 9, 0.5 M EDTA). Posterior a

esto la mosca se pasó a un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL y se agregaron 5  $\mu\text{L}$  de proteinasa K (20 mg  $\mu\text{L}^{-1}$ ) y se maceró con ayuda de la punta de la micropipeta. Se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de resina grado molecular Chelex® 5%. Las muestras se incubaron en termociclador (pQLab®) con las siguientes temperaturas: 15 min a 95°C, 20 min a 60°C y 5 min a 99°C. Una vez transcurrido el tiempo las muestras colocaron a -10°C en congeladora durante 60 min. Pasado este tiempo se centrifugaron durante 30 minutos a 14,500 rpm. Se tomó el sobrenadante y se colocó en un tubo de 200  $\mu\text{L}$  nuevo y estéril. Se determinó la calidad y concentración del ADN mediante lecturas en absorbancia a 260 y 280 nm en un nanodrop (Thermo Scientific Nano Drop OneC®).

### 7.3 Amplificación de los marcadores moleculares RAPD

La amplificación de los marcadores moleculares RAPDS se realizó en una mezcla de reacción con volumen final de 25  $\mu\text{L}$  constituida por 50-100 ng de ADN; 1 U de Taq polimerasa (Gotaq flexi DNA Polymerase, Promega®), 200  $\mu\text{M}$  de dNTPs, 200 pM de iniciador, buffer de reacción 1X y 2.5 mM de  $\text{MgCl}_2$ .

Los iniciadores utilizados en las distintas reacciones fueron de 10 bases de longitud y secuencia arbitraria (Operon technology, Inc) (Cuadro 1). La amplificación por PCR se realizó con los siguientes ciclos térmicos: una desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, 45 ciclos bajo las siguientes condiciones desnaturalización a 94°C por 1 min, alineación a 36°C por 1 min, extensión a 72°C por 1 min y una extensión final a 72° por 5 minutos.

Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores para amplificación de los marcadores moleculares RAPDs.

| No. | Clave  | Secuencia           |
|-----|--------|---------------------|
| 1   | OPA-02 | 5'-TGC CGA GCT G-3' |
| 2   | OPA-04 | 5'-AAT CGG GCT G-3' |
| 3   | OPA-10 | 5'-GTG ATC GCA G-3' |
| 4   | OPA-13 | 5'-CAG CAC CCA C-3' |
| 5   | OPG-12 | 5'-CAG CTC ACG A-3' |

La visualización de los productos amplificados se realizó en una cámara de electroforesis horizontal (Bio-Rad®), en un gel de agarosa 1.8 % (p/v). Las condiciones de electroforesis fueron de 90 V durante 40 min en buffer TBE 0.5 X. Las bandas de ADN se visualizaron bajo luz UV después de que se tiñó el gel en 100 mL de solución 1 X TBE adicionado con 2  $\mu$ L de bromuro de etidio ( $10 \text{ mg mL}^{-1}$ ) durante 20 min y las bandas se visualizaron con el sistema de fotodocumentación (GelDoc BioRad®).

### 7.3 Análisis bioinformático.

Los datos registrados en el sistema de fotodocumentación se transformaron en una matriz binaria, donde cada combinación individuo–producto de amplificación se codificó con 1 o 0 según el producto se encuentre presente o ausente respectivamente. A partir de esta matriz se realizó un dendrograma mediante el cálculo del coeficiente de similitud de Jaccard entre individuos, tal como es establecido para especies diploides con uso de marcadores moleculares dominantes, en estudios sobre individuos sin relación genética conocida (Laurentin, 2009), y se usó el método de la media aritmética no ponderada realizado en la página web DendroUPGMA: A dendrogram construction utility (<http://genomes.urv.cat/UPGMA/>).

Por otra parte, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) y se determinaron los índices de diversidad de Shannon y el análisis de correspondencia empleando el software About GenAlEx 6.503+ Ribbon®.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la colecta de moscas blancas de los diferentes cultivos, se seleccionaron diez de cada uno, las cuales correspondían a la especie. *Bemisia tabaci* (Figuras 1). Del total, 50 moscas blancas, recolectadas y analizadas en geles de agarosa se observaron bandas polimórficas en las amplificaciones con los iniciadores empleados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Oligonucleótidos utilizados y número de bandas obtenidas de las poblaciones de *B. tabaci*.

| No. | Clave  | Número de muestras amplificadas | Número total de bandas obtenidas | Número de bandas polimórficas |
|-----|--------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 1   | OPA-02 | 39                              | 10                               | 10                            |
| 2   | OPA-04 | 32                              | 11                               | 16                            |
| 3   | OPA-10 | 35                              | 9                                | 13                            |
| 4   | OPA-13 | 28                              | -                                | -                             |
| 5   | OPG-12 | 30                              | 12                               | 11                            |

Con el iniciador OPA-02 se pudieron amplificar 39 muestras de las cuales solo las colectadas de la variedad de tomate Toroty amplificaron las diez (Figura 2). Por otra parte, con el OPA-10 se lograron amplificar 35 muestras (Figura 4), con el que nuevamente el ADN de todas las moscas blancas obtenidas de tomate de la variedad Toroty lograron amplificar y finalmente el OPG-12 amplificó 30 entre las que se encuentran los amplificados de todas las moscas obtenidas de tomate variedad Pegaso F1 (Figura 6).

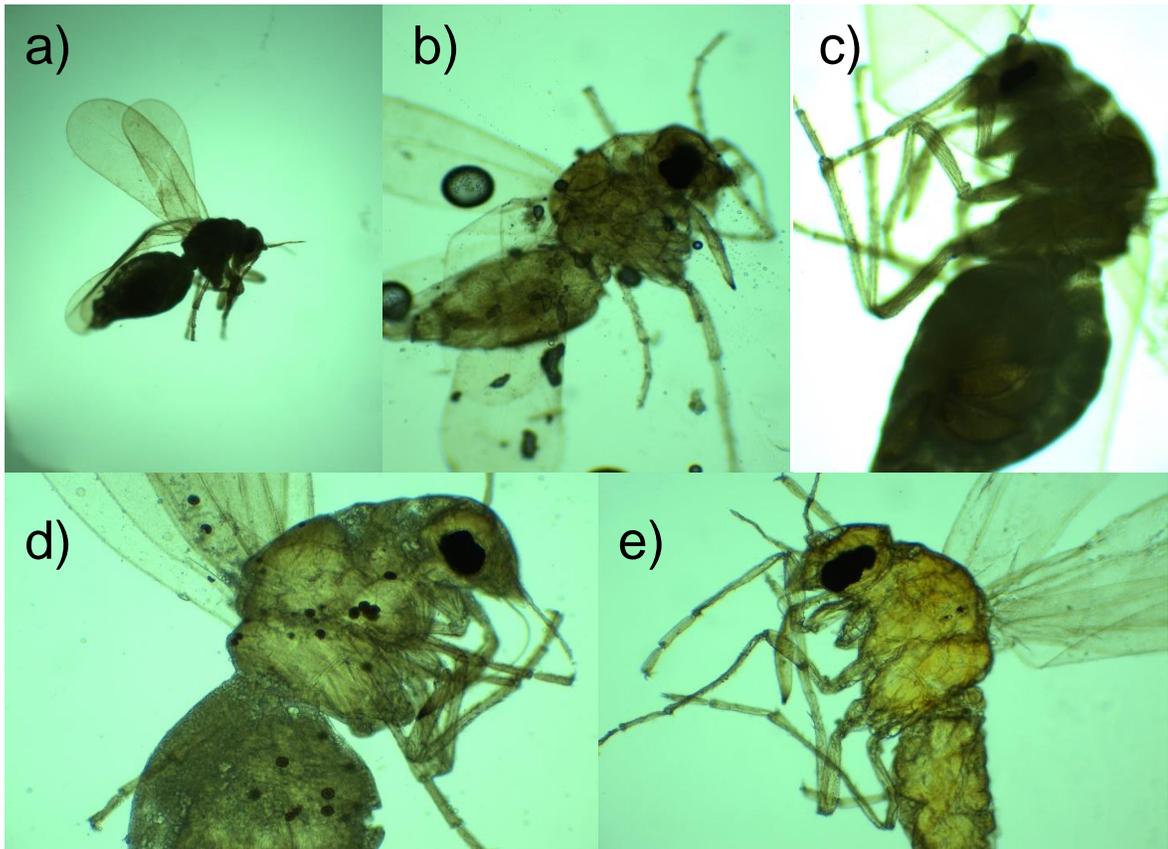


Figura 1. Moscas colectadas de los cultivos a) Toroty b) Toro (CECOT) c) Pegaso d) Pegaso F1 e) SummerDew

El OPA-02 fue el iniciador que amplificó el mayor número de muestras y el iniciador que amplificó menos fue el OPA-13, además de que este iniciador no reveló un patrón adecuado de bandas obtenidas ya que la amplificación no fue homogénea (Figura 5). Lo anterior concuerda con lo publicado por Alvarado y Laurentin (2013) quienes reportan que el iniciador que menos amplificó fue el OPA-13.

Los fragmentos amplificados en este trabajo resultaron 100 % polimórficos, en un rango de tamaño de 250 a 1000 pb, muy cercano a lo reportado por Alvarado y Laurentin (2013), ellos lograron amplificar bandas desde los 50 pb hasta los 1 000 pb. De acuerdo a Posso et al, (2006) altos niveles de polimorfismo sugieren la existencia de un intenso

flujo genético dentro de las sub-poblaciones, el cual permite la expresión de un rango de caracteres y comportamientos que, aunque variables, confirman características que definen a la especie. El conjunto de bandas amplificadas con cada uno de los iniciadores, revela la presencia de un bajo nivel de variación intrapoblacional y alto en la variación intraespecífica ( $p=0.001$ ).

El AMOVA muestra que la mayor variación genética total se encuentra dentro de las poblaciones (76%), sin embargo, una porción significativa de variación se encuentra entre poblaciones (24%,  $\Phi_{PT}=0.243$ ,  $p<0.001$ ) de acuerdo al cultivo hospedero (Cuadro 3). Este resultado sugiere que existe una estructura genético-poblacional relacionado con el cultivar, es decir, algunos genotipos de *B. tabaci* tiene preferencia por ciertos cultivares. Esto concuerda con estudios previos que muestran una relación similar de la variación genética explicada por el cultivar del cual se obtiene la muestra (Lima *et al.*, 2002). Dicha relación genotipo-cultivar puede estar relacionado con la presencia de múltiples especies crípticas en la zona de estudio (Liu *et al.*, 2012) que se podrían mantener reproductivamente aisladas (Xu *et al.*, 2010).

Se observan bandas intensas y reproducibles en la mayoría de las muestras, es destacable que todos los individuos de la muestra de una misma población generan un patrón de bandas muy similar, aunque se observan bandas menos intensas que son más variables (Fig. 6, 7 y 8).

Estos resultados concuerdan con lo publicado por Lima *et al.* (2002) y Guirao *et al.* (1994) quienes detectaron mayor variación dentro de la población de moscas en entre poblaciones (56.79% y 22.73% respectivamente) argumentan que el biotipo B de mosca blanca se disemina a través de las áreas, infestando numerosos hospederos, además de que predomina sobre el biotipo A.

Cuadro 3 Resultados del Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Se muestra el valor de fijación de población (PhiPT) y su probabilidad asociada.

| <b>Fuente de variación</b> | <b>df</b> | <b>ss</b> | <b>ms</b> | <b>Est. Var.</b> | <b>%</b> | <b>PhiPT</b> | <b>P</b> |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|------------------|----------|--------------|----------|
| Entre Pob.                 | 4         | 149.280   | 37.320    | 2.844            | 24%      | 0.243        | 0.001*   |
| Dentro Pob.                | 45        | 399.700   | 8.882     | 8.882            | 76%      |              |          |
| Total                      | 49        | 548.980   |           | 11.726           | 100%     |              |          |

Con OPA-2, en las poblaciones de Toroty y Pegaso aparece una banda de 380 pares de bases (pb), mientras que en las poblaciones de Toro (CECOT) y SummerDew no aparece, solamente se presenta una banda de 300 pb y en la población SummerDew aparece una doble banda de 320 y 300 pb las cuales están ausentes en todas las demás poblaciones (Figura 2). Con el OPA-4 es en las poblaciones de Toroty y Toro (CECOT) y Pegaso en las que no aparece la banda de 250 pb que, si se presenta en las demás poblaciones, se observa que este iniciador no amplificó adecuadamente en la población de Pegaso F1 (Figura 3). Con OPA-10 en las muestras Toroty aparece una banda muy marcada de 950 pb misma que no se aprecia en las demás poblaciones colectadas (Figura 4).

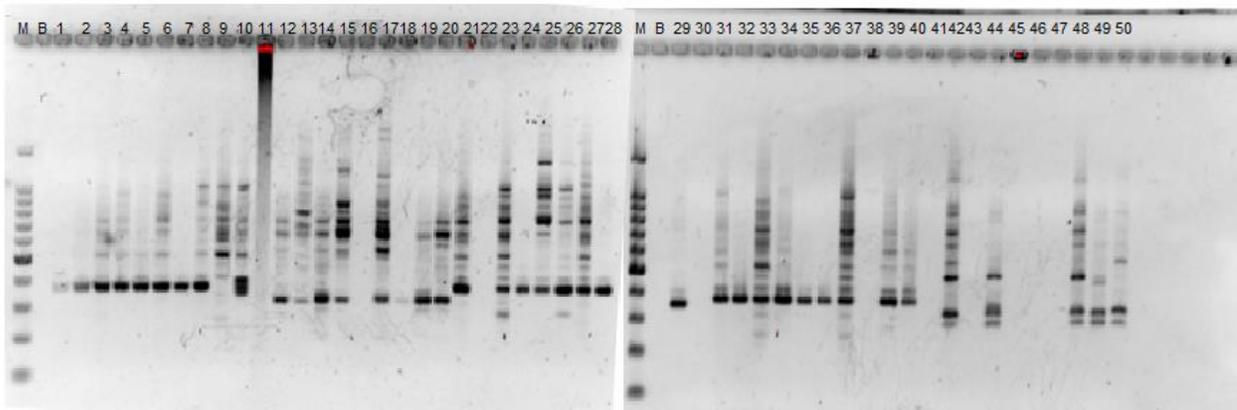


Figura 2. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-02, del ADN individual de adultos de *Bemisia tabaci* de a) *Solanum lycopersicum* L. cv. Toroty (carriles 01-10); b) *S. lycopersicum* cv. Toro (CECOT) (carriles 11-20), c) *S. lycopersicum* cv. Pegaso (carriles 21-30) y d) *S. lycopersicum* cv. Pegaso F1 (carriles 31-40) y melón *Cucumis melo* L. cv. SummerDew (carriles 41-50).

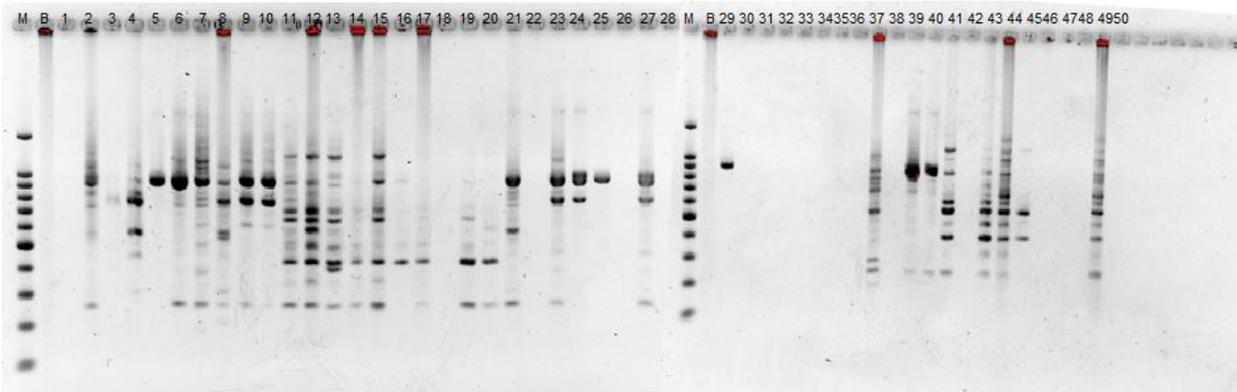


Figura 3. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-04, del ADN individual de adultos de *Bemisia tabaci* de a) *Solanum lycopersicum* L. cv. Toroty (carriles 01-10); b) *S. lycopersicum* cv. Toro (CECOT) (carriles 11-20), c) *S. lycopersicum* cv. Pegaso (carriles 21-30) y d) *S. lycopersicum* cv. Pegaso F1 (carriles 31-40) y melón *Cucumis melo* L. cv. SummerDew (carriles 41-50).

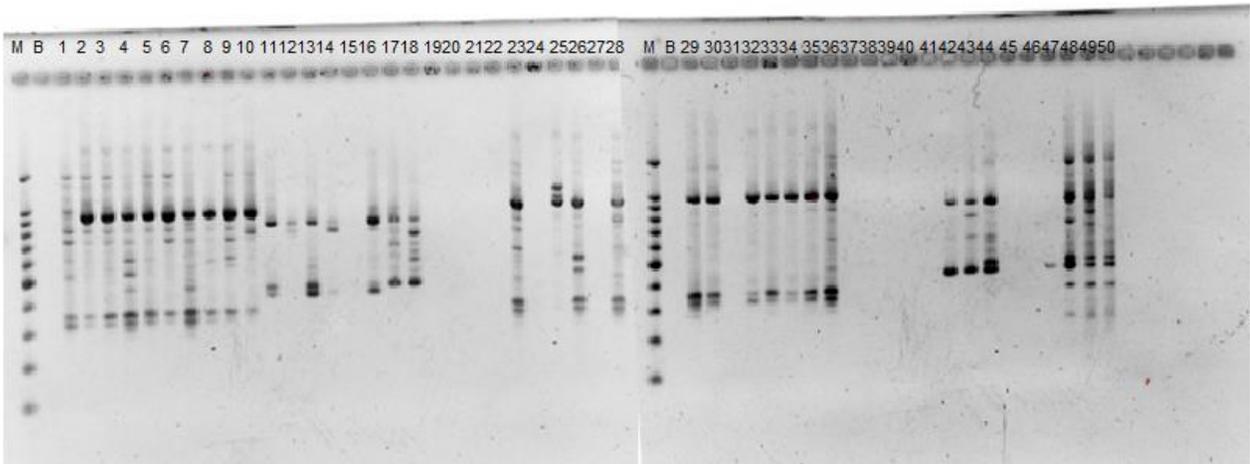


Figura 4. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-10, del ADN individual de adultos de *Bemisia tabaci* de a) *Solanum lycopersicum* L. cv. Toroty (carriles 01-10); b) *S. lycopersicum* cv. Toro (CECOT) (carriles 11-20), c) *S. lycopersicum* cv. Pegaso (carriles 21-30) y d) *S. lycopersicum* cv. Pegaso F1 (carriles 31-40) y melón *Cucumis melo* L. cv. SummerDew (carriles 41-50).

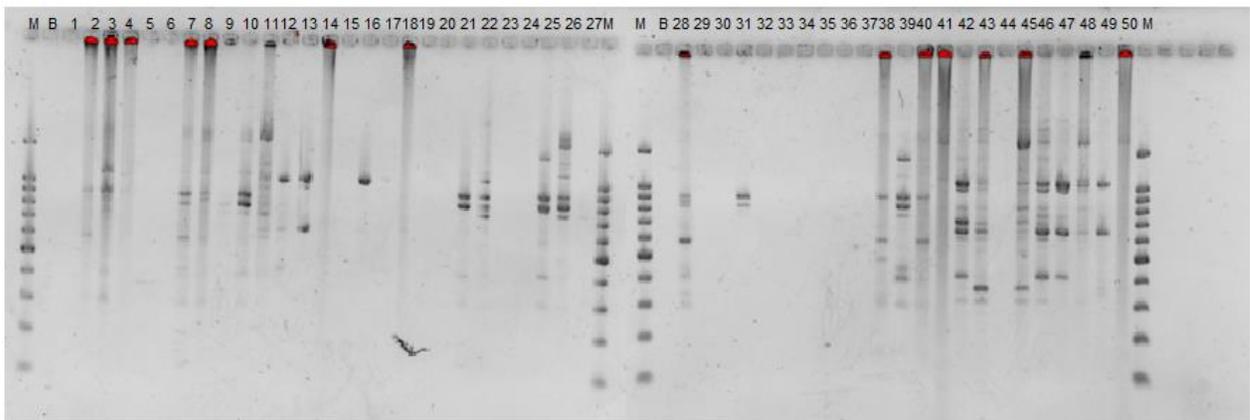


Figura 5. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPA-13, del ADN individual de adultos de *Bemisia tabaci* de a) *Solanum lycopersicum* L. cv. Toroty (carriles 01-10); b) *S. lycopersicum* cv. Toro (CECOT) (carriles 11-20), c) *S. lycopersicum* cv. Pegaso (carriles 21-30) y d) *S. lycopersicum* cv. Pegaso F1 (carriles 31-40) y melón *Cucumis melo* L. cv. SummerDew (carriles 41-50).

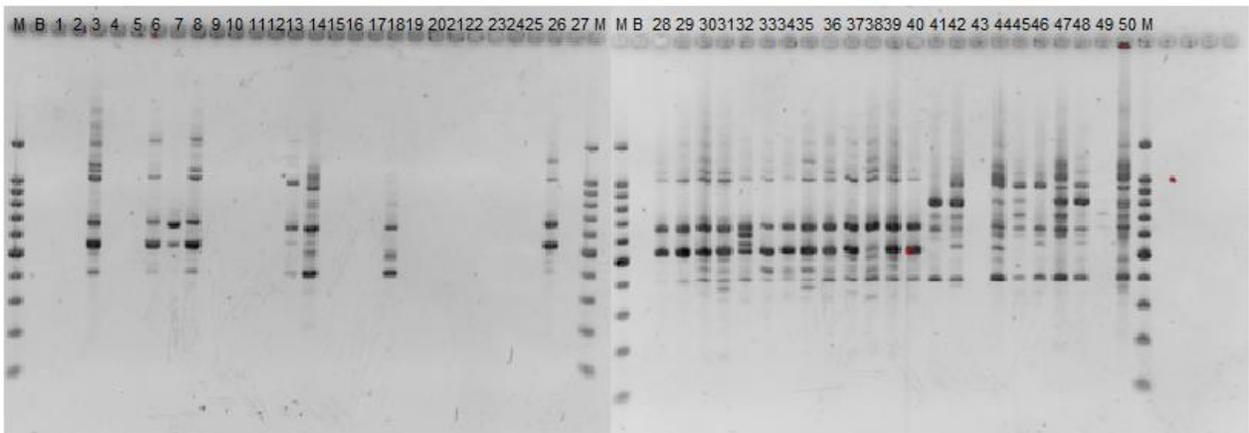


Figura 6. Variación intrapoblacional e intraespecífica. Cada carril corresponde a la amplificación con el iniciador OPG-12, del ADN individual de adultos de *Bemisia tabaci* de a) *Solanum lycopersicum* L. cv. Toroty (carriles 01-10); b) *S. lycopersicum* cv. Toro (CECOT) (carriles 11-20), c) *S. lycopersicum* cv. Pegaso (carriles 21-30) y d) *S. lycopersicum* cv. Pegaso F1 (carriles 31-40) y melón *Cucumis melo* L. cv. SummerDew (carriles 41-50).

El dendrograma UPGMA basado en la similaridad del coeficiente de Jaccard obtenido a partir de 50 muestras analizadas, revela la presencia de cuatro grandes grupos. El primero contiene las poblaciones de *B. tabaci* colectadas de tomate del CECOT, vc. Toro. Este grupo está básicamente dividido en dos subgrupos pero todas las moscas pertenecen al mismo cultivo. El segundo gran grupo está dividido en dos subgrupos, el primero incluye todas las moscas colectadas de melón y como otro subgrupo a una muestra de tomate vc. Toro del CECOT.

El tercer gran grupo contiene dos subgrupos pero todos de tomate Pegaso F1, solo se incluyeron algunas moscas colectadas de la variedad Pegaso. El cuarto gran grupo contiene dos subgrupos, en el primero agrupa las muestras de moscas colectadas en tomate Pegaso y el otro subgrupo contiene todas las de Toroty. En el dendrograma se observan dos muestras de moscas colectadas de la variedad Pegaso que no se

agruparon con ninguna de las muestras colectadas en los distintos hospederos. Lo anterior indica y confirma en nivel alto de variabilidad intrapoblacional de las moscas blancas, ya que se agrupan de acuerdo al cultivo aunque sea diferente variedad (Lima *et al.*, 2002) (Figura 7).

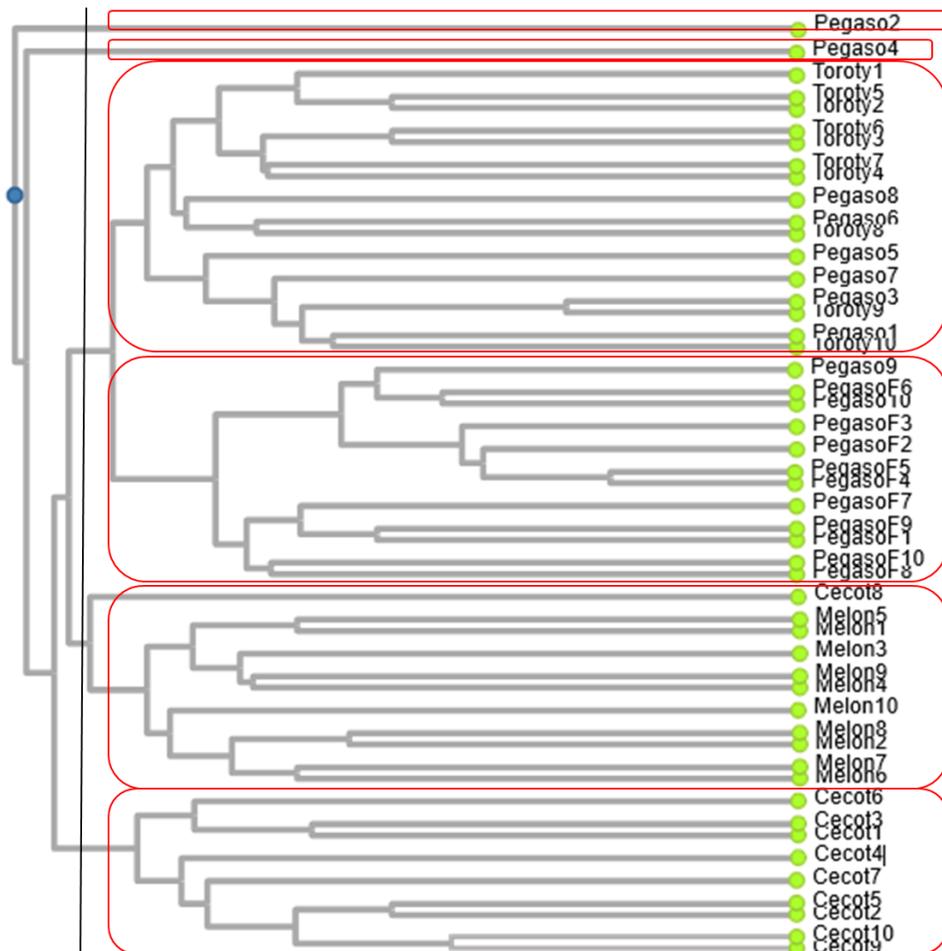
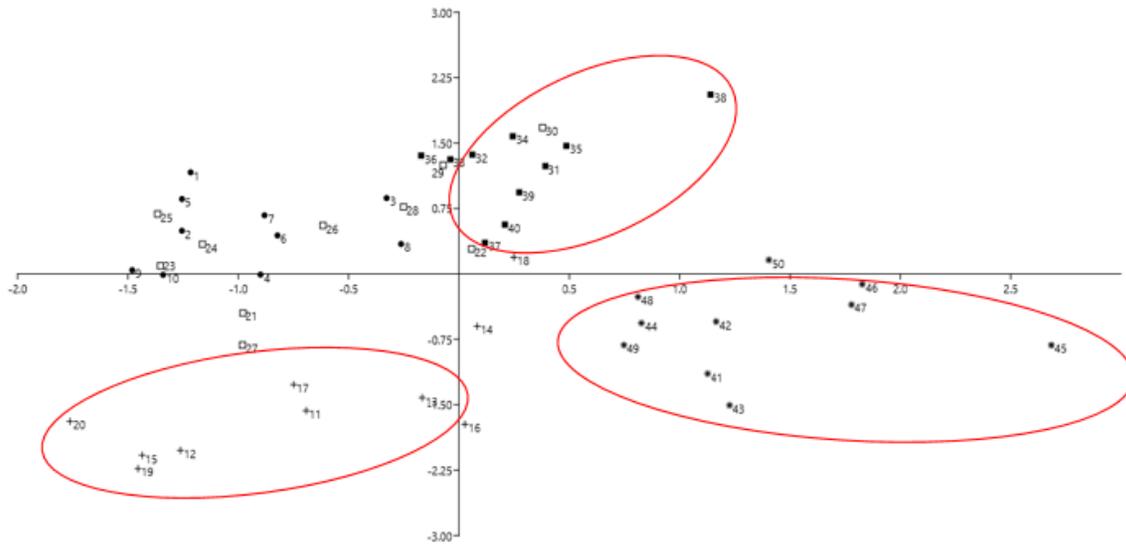


Figura 7. Dendrograma de las 50 muestras de moscas blancas, generado por UPGMA.

Lo anterior concuerda con lo publicado por Lima *et al.* (2002) quienes al emplean marcadores moleculares RAPD para estimar la diversidad genética de poblaciones de *B. tabaci*. Al igual que en este trabajo los patrones de RAPD muestran que las poblaciones de esta mosca tienen una variabilidad genética considerable.

Al analizar las moscas mediante el coeficiente de similaridad de Jaccard, se observó un promedio de 0.77 entre los individuos de mosca analizados, este resultado también se acerca a lo reportado por Lima et al. (2002) quienes detectaron un promedio de 0.73. El análisis realizado demuestra en general, que las moscas blancas colectadas en la región centro de Veracruz específicamente en la localidad de Cotaxtla y Úrsulo Galván se agrupan de acuerdo al cultivo hospedero, afirmación también realizada por Lima et al. (2002).

El análisis de correspondencia (Figura 8), en general presenta congruencia con el dendrograma, logrando establecerse una clara diferenciación entre poblaciones de acuerdo al cultivo hospedero. El análisis de correspondencias también muestra, aunque pequeño, que existe flujo genético entre las poblaciones, debido a que se observa que moscas colectas de la variedad Toroty, Pegaso F1 y Pegaso se encuentran dispersos en el cuarto cuadrante. La congruencia entre los análisis genéticos (UPGMA), y estadísticos (AC, AMOVA) sugieren la presencia de diversas especies, por lo cual un reconocimiento de la diversidad mediante análisis filogenéticos es necesaria (Tocko-Marabena et al., 2017), ya que esto podría corroborar y soportar la teoría de que la diversificación de especies dentro del complejo *B. tabaci* podría estar influida por la agricultura (Boykin et al., 2013).



Tomate Toroty ●; Tomate Cecot +; Tomate Pegaso □; Tomate Pegaso F1 ■; Melón Summer Dew \*.

Figura 8. Análisis de correspondencia entre las moscas blancas y el cultivo hospedante.

Se observa que la media del número de alelos diferentes (NA) dentro de las poblaciones están entre 0.874 a 1.282, siendo la menor la población de jitomate del CECOT y la mayor la población de melón. En lo que respecta al número de alelos efectivos (NE) dentro de las poblaciones, las medias oscilan entre 1.123 a 1.252, que pertenecen a jitomate Pegaso y a melón respectivamente. La heterocigosidad esperada (H) dentro de las poblaciones se presentó con medias que van de 0.086 para Pegaso F1 hasta 0.165 para melón.

El índice de Shannon (I) muestra rangos que van de 0.145 hasta 0.264. Esta estimación demuestra valores bajos de variación en la población de Pegaso F1, pero las moscas blancas asociadas al cultivo de melón fueron las que mostraron mayor riqueza de diversidad genética de acuerdo con el índice (0.264), seguido por las moscas blancas asociadas a tomate Pegaso y Toroty (0.178 y 0.174 respectivamente) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Media y Desviación Estándar sobre Loci para cada población, índice de Shannon

| Población    |               | N      | Na    | Ne    | I     | He    |
|--------------|---------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| Toroty       | Media         | 10.000 | 0.903 | 1.164 | 0.174 | 0.107 |
|              | Desviacion E. | 0.000  | 0.098 | 0.026 | 0.022 | 0.015 |
| CECOT        | Media         | 10.000 | 0.874 | 1.141 | 0.158 | 0.095 |
|              | Desviacion E. | 0.000  | 0.098 | 0.023 | 0.021 | 0.014 |
| Pegaso       | Media         | 10.000 | 1.029 | 1.152 | 0.178 | 0.106 |
|              | Desviacion E. | 0.000  | 0.009 | 0.022 | 0.021 | 0.013 |
| Pegaso<br>F1 | Media         | 10.000 | 0.893 | 1.123 | 0.145 | 0.086 |
|              | Desviacion E. | 0.000  | 0.096 | 0.021 | 0.020 | 0.013 |
| Melón        | Media         | 10.000 | 1.282 | 1.252 | 0.264 | 0.165 |
|              | Desviacion E. | 0.000  | 0.095 | 0.028 | 0.023 | 0.016 |

Na = No. de alelos diferentes; Ne = No. de alelos efectivos; I = Índice de Shannon ; He = heterocigosidad.

La estructura genética de las poblaciones es afectada por diferentes factores como el modo de reproducción, flujo genético, formas de dispersión y la selección natural. Sin embargo, no se descarta que durante el proceso de selección natural, nuevos ambientes proporcionan la presión necesaria para enriquecer a poblaciones introducidas con nuevas variantes originadas por transferencia horizontal (Liu et. al., 2010).

## IX. FUENTES DE CONSULTA

- Alvarado, N., & Laurentin, H. E. (2013). Evaluación de la diversidad genética de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius, 1889) sobre pimentón (*Capsicum annuum* L.) en Moroturo, estado Lara, mediante RAPD. *Entomotropica*, 28(3), 219-226.
- Anderson, P.K., Cunningham, A.A., Patel, N.G., Morales, F.J., Epstein, P.R. & Daszak, P. (2004) Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 535– 544.
- Arnal, E., Salas, J. y Mendoza, O. (1994). Manejo integrado de la mosca blanca en Venezuela. Revista en línea, Fonaiap divulga N° 45 Enero-Junio. Disponible en: <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd45/texto/manejointegrado.htm>
- Avise J C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Barat M, Tarayre M, Atlan A. 2008. Genetic divergence and ecological specialisation of seed weevils (*Exapion* spp.) on gorses (*Ulex* spp.). *Ecol. Entomol.* 33:328–36.
- Bedford ID, Briddon RW, Markham PG, Brown JK, Rosell RC. 1993. A new species of *Bemisia* or biotype of *Bemisia tabaci* (Genn.) as a future pest of European agriculture. *Plant Health Eur. Single Market BCPC Monogr.* 54:381–86.
- Boykin LM, Armstrong KF, Kubatko L, De Barro P: Species delimitation and global biosecurity. *Evol Bioinf* 2012, 8:1–37.
- Broadbent AB, Footitt RG, Murphy GD. 1989. Sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), a potential insect pest in Canada. *Can. Entomol.* 121:1027–28.

- Brown JK, Frohlich DR, Rosell RC. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annu. Rev. Entomol.* 40:511–34.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 1990. Guía para el manejo integrado de las plagas del cultivo de tomate. Turrialba, Costa Rica.
- De Barro P J, Liu S S, Boykin L M, Dinsdale A B. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56, 1-19.
- Delatte, H., Reynaud, B., Granier, M., Thornary, L., Lett, J. M., Goldbach, R. & Peterschmitt, M. (2005). A new silverleaf inducing biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera, Aleyrodidae) Ms, indigenous to the islands of the South West Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research* 95, 29–35.
- Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley Y M, de Barro P J. 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea) mitochondrial CO1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America*, **103**, 196-208.
- Downie D A. 2010. Baubles, bangles, and biotypes: A critical review of the use and abuse of the biotype concept. *Journal of Insect Science*, **10**, 176.
- Elfekih S., Etter P., W.T.Tay, Fumagalli M., Gordon K., Johnson E., DeBarro P., 2018. Genome – wide analyses of the *Bemisia tabaci* species complex reveal contrasting patterns of admixture and complex demographic histories. *Plos One*. P 1–17.
- Gawel NJ, Bartlett AC. 1993. Characterization of differences between whiteflies using RAPD-PCR. *Insect Mol. Biol.* 2:33–38.
- Gill R J, Brown J K. 2010. Systematics of *Bemisia* and *Bemisia* relatives: can molecular techniques solve the *Bemisia tabaci* complex conundrum -a taxonomist's viewpoint. In: Stansly P A, Naranjo S E, eds., *Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest*. Springer, New York, USA. pp. 5-29.

- González, J. y Gallardo, J. (1999). Desarrollo y capacidad reproductiva de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera; Aleyrodidae) en pimiento a tres temperaturas. *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas* 25:3-11.
- Guirao, P., Beitia, F., & Cenis, J. (1994). Aplicación de la técnica RAPD-PCR a la taxonomía de moscas blancas (Homóptera, Aleyrodidae). *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas*, 20, 757-764.
- Heraty J M, Woolley J B, Hopper K R, Hawks D L, Kim J W, Buffington M. 2007. Molecular phylogenetics and reproductive incompatibility in a complex of cryptic species of aphid parasitoids. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 480-493.
- Hidroponia, C. (16 de Agosto de 2016). hidroponia.mx. Obtenido de [www.hydroenv.com.mx](http://www.hydroenv.com.mx)
- Jones, D. R. (2003). Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109, 195–219.
- Jones, R.E. & Kitching, R.L. (1981) Why an ecology of pests? p. 254 in Jones, R.L.K.R.E. (Ed.) *The Ecology of Pests: Some Australian Case Histories*. Melbourne, Australia, CSIRO.
- Romero, N. y J.S. Anaya R. (Compiladores). 1998. *Plagas y enfermedades de las hortalizas en México: Antología*. SEP-SEIT-DGETA. México, D.F. 310 p.
- Lima L, Campos L, Moretzsohn M, Návia D, De Oliveira M. 2002. Genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) populations in Brazil revealed by RAPD markers. *Genetic and Molecular Biology* 25:217-223.
- Liu YQ, Qin L, li YP, Wang H, Xia RX, Gi YH, et al. (2010). Comparative Genetic Diversity and Genetic Structure of Three Chinese Silkworm Species *Bombyxmori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), *Antheraea pernyi* Guérin-Meneville and *Samiacynthiaricini* Donovan (Lepidoptera: Saturniidae). *Neotropical Entomology*. 39 (6): 967-975.
- Lugo, M. O. Y., Guzmán, R. U., García E. R. S. y León F. J. (2011). Geminivirus Transmitidos por Mosca Blanca (*Bemisia tabaci*) en Tomate, en el Valle Agrícola

- de Culiacán, Sinaloa. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Vol. 29, Núm. 2. 109-118.
- Mau, R.F.L. and S.G. Lee. 2007. *Bemisia argentifolii*. *Crop Knowledge Master*. <http://www.extento.hawaii.edu> (15 de septiembre de 2012).
  - Morales, F. J. y Anderson, P. K. (2001). The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology*, 146: 415–441.
  - Oliveira, M. R. V., Henneberry, T. J. & Anderson, P. (2001). History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20709–723.
  - Ortega A., L. D. 2008. Bioecología de las moscas blancas, In: Ortega A., L. D. (coord.), *Moscas Blancas, Temas Selectos Sobre su Manejo*. Mundi Prensa. México, D. F. pp. 1-6.
  - Perring TM, Cooper AD, Rodriguez RJ, Farrar CA, Bellows TS. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science*. 1993 Jan 1; 259(5091):74±7. PMID: 8418497.
  - Perring, T. M. (2001). The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20: 725-737.
  - Pinales Q. J.F., Arellano G. M.A. (2001). Producción de melón fertirrigado y acolchado. Folleto Número 2. SAGARPA-INIFAP-CIRNE, Campo Experimental Anáhuac, Cd. Anáhuac, N.L.
  - Posso C, González R, Cárdenas H, Tascon R. 2006. Estructura genética de *Anopheles darlingi* Root, *An. nuneztovari* Gabaldon y *An. marajoara* Galvão & Damasceno de Colombia mediante RAPD-PCR. *Revista Colombiana de Entomología* 32: 49-56.
  - Poulin E, Palma AT, Féral JP. Evolutionary versus ecological success in Antarctic benthic invertebrates. *Trends in Ecology & Evolution*. 2002 May 1; 17(5):218±22.
  - Raya, L., Landi, V., Garrido, J. J., & Reyes, J. (2014). EXTRACCIÓN DE ADN MITOCONDRIAL DE DISTINTAS ESPECIES DE LA FAMILIA Formicidae

PERTENECIENTES AL GÉNERO *Camponotus* PARA SU POSTERIOR SECUENCIACIÓN Y ESTUDIO. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, 4(unknown), 126-128.

- Rosales, M., Medina, C., Brown, J. K., Ch, G. S., & Sepúlveda, P. (2010) Control de enfermedades virales de tomate en la provincia de Arica y Parinacota: exclusión, la mejor alternativa. Informativo N°13 INIA URURI. 4p.
- Sax DF, Stachowicz JJ, Brown JH, Bruno JF, Dawson MN, Gaines SD et al. Ecological and evolutionary insights from species invasions. Trends in ecology & evolution. 2007 Sep 30; 22(9):465±71.
- Shu-sheng Liu, John Colvin, Paul J De Barro. 2012. Species Concepts as Applied to the Whitefly *Bemisia tabaci* Systematics: How Many Species Are There? Journal of Integrative Agriculture 2012, 11(2): 176-186
- Sseruwagi P, Maruthi MN, Colvin J, Rey MEC, Brown JK, Legg JP. 2006. Colonization of noncassava plant species by cassava whiteflies (*Bemisia tabaci*) in Uganda. Entomol. Exp. Appl. 119:145–53.
- Tocko-Marabena BK, Silla S, Simiand C, Zinga I, Legg J, et al. (2017) Genetic diversity of *Bemisia tabaci* species colonizing cassava in Central African Republic characterized by analysis of cytochrome c oxidase subunit I. PLOS ONE 12(8): e0182749
- Tsai, J.H. and K. Wang. 1996. Development and reproduction of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on five host plants, Environ. Entomol. 25(4):810-816.
- Viscarret, M.M. y E.N. Botto, 1996. Descripción e identificación de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera, Homóptera: Aleyrodidae). Revista Chilena de Entomología. 23:51-58.
- Worner, S.P. (2002) Predicting the invasive potential of exotic insects. pp. 119–137 in Schwalbe, G.H.C.P. (Ed.) Invasive Arthropods and Agriculture: Problems and Solutions. Enfield, NH, USA, Science Publishers, Inc.
- Xu J, De Barro PJ, Liu SS: Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex. B Entomol Res 2010, 100(3):359–366.

- Zang LS, Chen WQ, Liu SS. 2006. Comparison of performance on different host plants between the B biotype and a non-B biotype of *Bemisia tabaci* from Zhejiang, China. *Entomol. Exp. Appl.* 121:221–27.

## X. ANEXOS



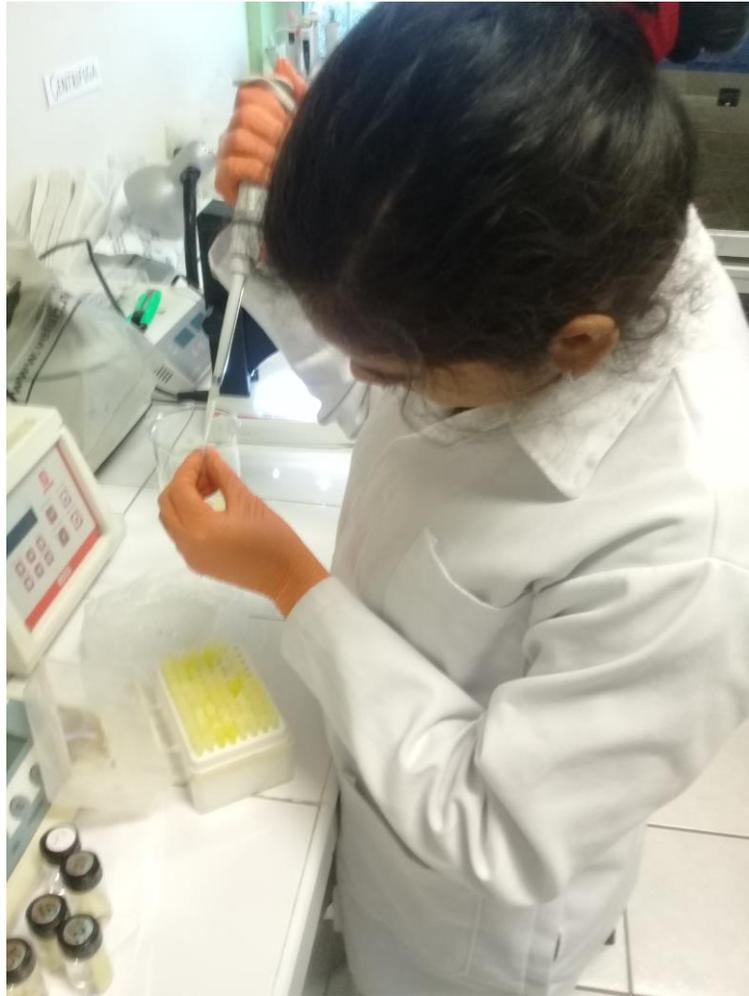
Colecta de la mosca blanca en campo



Revisión de las hojas colectadas para la separación de los adultos de la mosca blanca



Hidratación de la mosca blanca en buffer TE



Agregar proteinasa K y Chelex® para la extracción de ADN de la mosca blanca



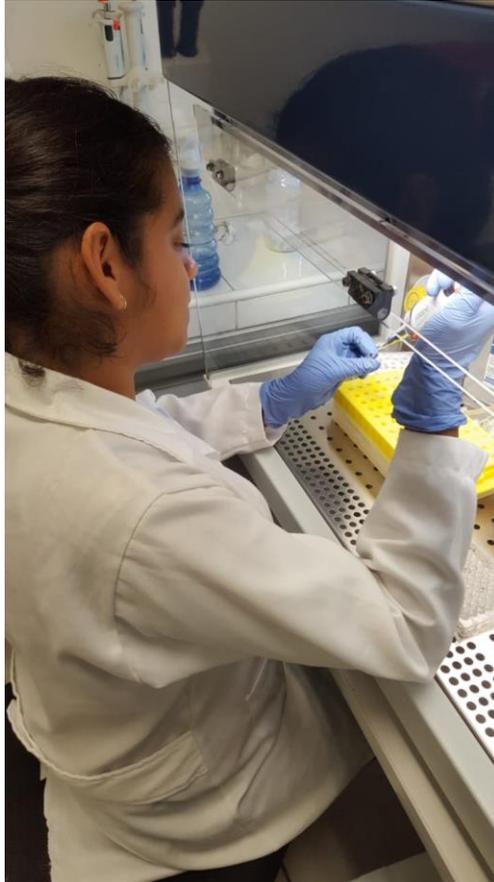
Incubacion de las muestras



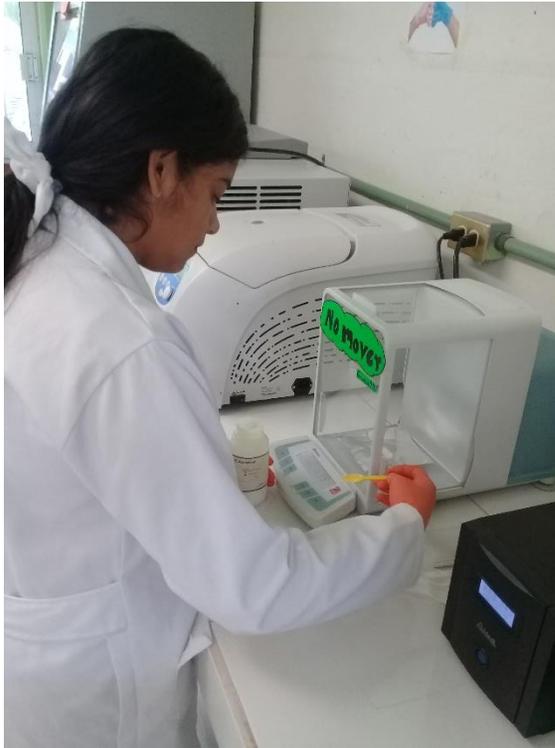
Lectura de la extracción de ADN en el nadodrop



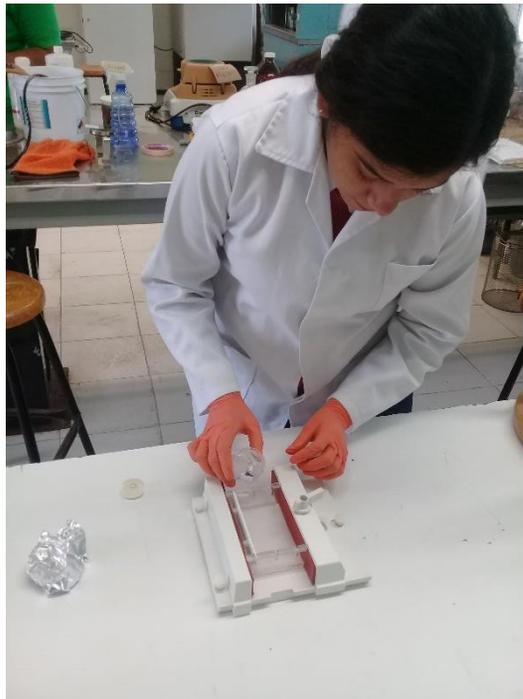
Preparacion de la mezcla de reaccion para hacer PCR



Agregar la mezcla de reaccion al ADN que se extrajo de las moscas



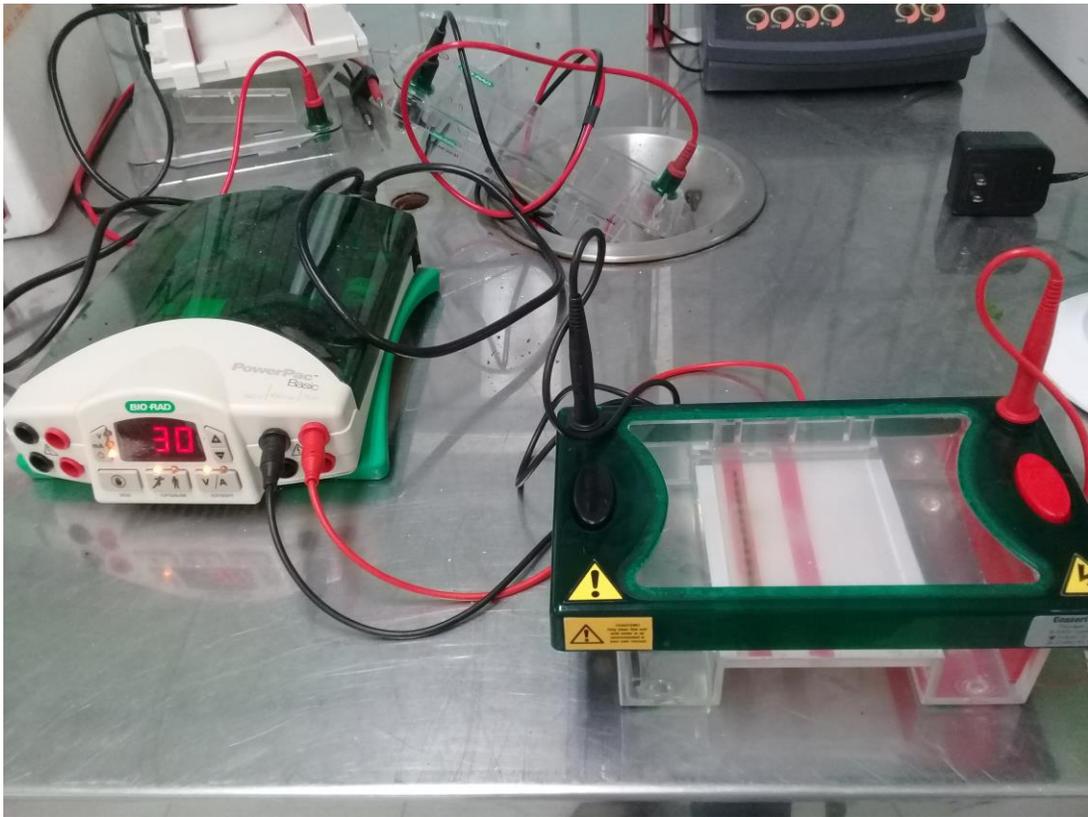
Pesado de la agarosa



Verter la agarosa en a camara para laa gelificacion del gel de agarosa



Carga de muestras en el gel de agarosa para la realizar electroforesis



Cámara de electroforesis con las muestras cargadas en el gel de agarosa



Gel en Bromuro de Etidio para teñir las bandas de ADN

Lectura del Nanodrop.

| Muestra   | Ácido Nucleico<br>(ng/uL) | A260/A280 | A260/A230 |
|-----------|---------------------------|-----------|-----------|
| Toroty 1  | 13.811                    | 0.485     | 0.098     |
| Toroty 2  | 11.827                    | 0.456     | 0.097     |
| Toroty 3  | 14.302                    | 0.485     | 0.121     |
| Toroty 4  | 5.413                     | 0.259     | 0.044     |
| Toroty 5  | 21.253                    | 0.553     | 0.136     |
| Toroty 6  | -19.778                   | 3.035     | 1.553     |
| Toroty 7  | -26.303                   | 1.311     | 0.351     |
| Toroty 8  | 31.009                    | 0.349     | 0.095     |
| Toroty 9  | -21.43                    | 1.123     | 0.424     |
| Toroty 10 | 28.293                    | 0.562     | 0.125     |
| CECOT 1   | -28.914                   | 0.713     | 0.142     |
| CECOT 2   | 90.433                    | 0.577     | 0.174     |
| CECOT 3   | -28.509                   | 0.655     | 0.138     |
| CECOT 4   | 11.306                    | 0.302     | 0.1       |
| CECOT 5   | -19.737                   | 1.349     | 0.193     |
| CECOT 6   | 65.373                    | 1.786     | 0.31      |
| CECOT 7   | 22.502                    | 0.381     | 0.117     |
| CECOT 8   | 6.256                     | 1.955     | -1.318    |
| CECOT 9   | -12.206                   | 0.247     | 0.059     |
| CECOT 10  | 15.907                    | 0.703     | 0.222     |
| Pegaso 1  | 34.242                    | 1.479     | 0.326     |
| Pegaso 2  | 16.288                    | -13.39    | -1.533    |
| Pegaso 3  | 23.681                    | 4.476     | 0.71      |
| Pegaso 4  | 15.219                    | -1.229    | -0.232    |
| Pegaso 5  | 32.251                    | 1.564     | 0.303     |
| Pegaso 6  | 32.274                    | 8.498     | 1.166     |

|              |         |        |        |
|--------------|---------|--------|--------|
| Pegaso 7     | 11.447  | -0.986 | -0.265 |
| Pegaso 8     | 27.642  | 2.257  | 0.831  |
| Pegaso 9     | 20.582  | 9.639  | -0.68  |
| Pegaso 10    | -3.5    | 0.183  | 0.049  |
| Pegaso F1 1  | 11.442  | -4.93  | -0.206 |
| Pegaso F1 2  | 1.686   | -0.08  | -0.02  |
| Pegaso F1 3  | 4.563   | -0.518 | -0.113 |
| Pegaso F1 4  | 22.373  | 2.222  | 4.238  |
| Pegaso F1 5  | -7.21   | 0.332  | 0.087  |
| Pegaso F1 6  | 15.049  | 0.687  | 0.358  |
| Pegaso F1 7  | 7.677   | -1.799 | -0.504 |
| Pegaso F1 8  | 11.969  | -2.664 | 1.454  |
| Pegaso F1 9  | 81.331  | 1.268  | 0.318  |
| Pegaso F1 10 | 6.661   | -0.398 | -0.085 |
| Melón 1      | -4.862  | 0.248  | 0.076  |
| Melón 2      | 14.709  | 1.025  | 0.802  |
| Melón 3      | 8.955   | -0.602 | -0.193 |
| Melón 4      | 8.068   | 4.072  | -0.483 |
| Melón 5      | 46.54   | -3.532 | 0.249  |
| Melón 6      | 60.719  | 3.632  | 0.433  |
| Melón 7      | 60.359  | 2.298  | 0.298  |
| Melón 8      | -11.198 | 0.793  | 0.137  |
| Melón 9      | -58.459 | 0.722  | 0.154  |
| Melón 10     | -11.143 | 0.795  | 0.135  |