

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Cuantificación de Enzimas Detoxificativas en Pulgón Amarillo del Sorgo
Melanaphis sacchari (Zehntner) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

Por:

MARCO ANTONIO ARREDONDO PÉREZ

TESIS

Presentado como requisito para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre del 2016.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Cuantificación de Enzimas Detoxificativas en Pulgón Amarillo del Sorgo
Melanaphis sacchari (Zehntner) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

Por:

MARCO ANTONIO ARREDONDO PÉREZ

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor Principal



M.C. Omegar Hernández Bautista
Coasesor



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía
Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre del 2016.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por darme la oportunidad de llegar a este mundo y darme una hermosa familia, así como iluminar mi camino en todo momento para poder tomar las mejores decisiones y así poder lograr uno de mis más grandes deseos, a pesar de que tuve muchos días oscuros y de las pruebas difíciles de la vida, me dio su mano para fortalecerme aún más y salir adelante, por cuidar de mis padres y de mis hermanos en mi ausencia, principalmente por permitirme tenerlos en este momento tan importante de mi vida, gracias por permitirme crecer como persona y profesionalmente, y por último gracias dios mío por cuidarme y guiarme, te pido me guíes e ilumines en mi camino para poder cumplir con mi proyecto de vida.

A mi **Alma Mater**, por haberme abierto sus puertas, gracias por adoptarme, cobijarme y permitirme pertenecer a esta gran institución y darme las herramientas necesarias para lograr ser un profesionista y ejercer la profesión más noble y antigua “la Agricultura”, espero honrar con honor y humildad a mi “**ALMA TERRA MATER**”. Ahora podre decir orgullosamente soy Buitre de la Narro.

Al **Departamento de Parasitología**, agradecido por haber pertenecido a este gran departamento y haberme fomentado durante toda mi carrera. A mis maestros pertenecientes a este departamento por sus consejos y sus enseñanzas que de alguna u otra forma aportaron sus conocimientos para mi formación académica para que pueda ser un profesionista de éxito.

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez**, por su amistad, su paciencia y más que nada por haberme dado la oportunidad y la confianza para llevar a cabo este proyecto, gracias Dr. Ernesto por confiar en mí, lo admiro y lo respeto.

Al **MC. Omegar Hernández Bautista**, por su gran apoyo en asesorarme para la realización de este trabajo del que sin su ayuda no hubiera realizado, gracias por todo MC. Omegar.

A la Dra. **Yisa María Ochoa Fuentes**, por formar parte del jurado como sinodal, apoyo técnico y por su disponibilidad para la revisión de esta tesis.

A **BAYER DE MÉXICO**, por haberme apoyado y permitirme realizar mi estancia de prácticas profesional, en especial al Ing. Juan Carlos Terrazas Portillo por su amistad, sus consejos y por compartirme sus conocimientos pero sobre todo por creer en mí y darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Por darme esta maravillosa vida, por brindarme tanto amor, cariño, y hacer de mí una persona de bien, por el apoyo incondicional que me han brindado durante toda mi vida, por soportar mi ausencia durante mi carrera, aunque sus bendiciones siempre me acompañaron en todo momento, por ser ejemplo de perseverancia y honestidad, por motivarme a seguir adelante, guiándome dándome los mejores consejos, por todo el esfuerzo y sacrificio que realizaron para poder sacarme adelante en mis estudios y en la vida. Solo me resta decirles que los amo y me siento orgulloso de tener unos padres como ustedes y les estaré eternamente agradecido por formarme y educarme de la forma en que lo han hecho, por haberme forjado el carácter y la personalidad que tengo, por su confianza pero sobre todo por creer en mí espero y se sientan orgullosos de mí los amo, que Dios los bendiga siempre.

A mi padre el *Sr. J. Carmen Arredondo Montesinos* por ser un gran hombre y amigo, por aconsejarme siempre para salir adelante en la vida, te admiro papá porque siempre has luchado para sacar adelante a tus hijos y darles lo mejor, ése es mi padre.

A mi madre la *Sra. Cándida Pérez Portugal* por ser una gran mujer, por darles amor, cariño y comprensión a sus hijos, te admiro mamá porque siempre estas pendiente de tus hijos para que nunca les falte nada, ésa es mi madre.

A MIS HERMANOS

Evelio Arredondo Leana, mi hermano mayor al cual quiero, respeto y admiro mucho, eres el ejemplo que he seguido, gracias por tus consejos, tu apoyo y por

esos angelitos que tengo como sobrinos los cuales quiero mucho, espero y te sientas orgulloso de mi, que Dios te bendiga siempre.

Modesto Arredondo Leana, te quiero mucho hermano a pesar de que fue y es poco el tiempo que convivimos te admiro y te respeto por ser un hombre que lucha por lo que quiere y nunca se da por vencido, espero y te sientas orgulloso de mi, que Dios te bendiga siempre.

Isamar Nayeli Arredondo Pérez, mi hermana mayor gracias por siempre darme ánimos, por tus buenas vibras, los consejos, el amor, y el cariño que me has brindado, gracias por ese angelito que tengo como sobrina a la cual quiero mucho, te quiero mucho, te admiro y te respeto, eres un ejemplo de perseverancia, espero y te sientas orgullosa de mi, que Dios te bendiga siempre.

Ivett Arredondo Pérez, te quiero mucho hermanita gracias por la confianza, el amor, y el cariño que me has brindado, por estar con migo siempre apoyándome dándome ánimos y por tus consejos, eres una persona admirable por tu dedicación, valentía y perseverancia, me siento orgullosos de ti y espero y tú también te sientas orgullosa de mi, Dios te bendiga siempre.

Ángel Arredondo Pérez, te quiero mucho mi hermanito pequeño, mi motorcito el que me ha dado ánimos de siempre seguir adelante, el que nos trajo la alegría a casa, con el que he compartido momentos hermosos e inolvidables, gracias por tus consejos, el amor y el cariño que me has brindado, que a pesar de ser el más pequeño te admiro y te respeto porque me has enseñado muchas cosas y a ver la vida diferente te amo hermanito, espero y te sientas orgulloso de mi, que Dios te bendiga siempre.

Sara Arredondo Pérez (+), te quiero mucho hermanita a pesar de que ya no estas con nosotros te llevo en mi corazón y te agradezco infinitamente por todo el

tiempo y la atención que me diste, sé que desde el cielo cuidas de cada uno de nosotros, fuiste una excelente hermana, siempre te llevare en mi corazón.

A MIS SOBRINOS

Jade, Leonardo, Valentina y Akane, los quiero mucho mis angelitos, ustedes son mi fuente de inspiración que a pesar de que es poco el tiempo que paso junto a ustedes lo disfruto al máximo, gracias por todos los momentos de alegría que he pasado a su lado, Dios los bendiga siempre y les deseo lo mejor en la vida pequeños.

A MIS TÍOS

A ustedes por darme ánimos y porque confiaron en mí, por su cariño y admiración, por siempre estar ahí apoyándome en todo momento, por sus buenos consejos y sus buenos deseos los quiero mucho, que Dios los bendiga siempre.

A MIS PRIMOS

A ustedes por darme ánimos y porque confiaron en mí, por su cariño y admiración échenle muchas ganas y espero en un futuro ustedes también tengan una profesión la cual algunos ya la tienen, que Dios los bendiga siempre.

A MIS ABUELOS

A la *Sra. Alfonsa Portugal Reyeros* y Al *Sr. José Socorro Pérez Medina*, gracias por la mamá tan maravillosa, gracias por estar siempre a mi lado durante toda esta etapa de mi carrera, por su confianza y su cariño, porque desde niño me cuidaron como un hijo y me brindaron todo su amor, que a pesar de que es poco el tiempo que pasamos juntos los veo como a mis segundos padres, les agradezco todo lo que han hecho por mí, por siempre estar ahí apoyándome, por sus consejos,

por sus oraciones que hacen por mí y por ser un ejemplo a seguir, los amo abuelitos espero y se sientan orgullosos de mí, que Dios los colme de salud y los bendiga siempre.

A la *Sra. Petra Montesinos López* y Al *Sr. Fernando Arredondo Torres*, gracias por el papá tan maravilloso, gracias por estar siempre a mi lado durante toda esta etapa de mi carrera, por su confianza y su cariño, porque desde niño me cuidaron como un hijo y me brindaron todo su amor, que a pesar de todo los veo como a mis segundos padres les agradezco todo lo que han hecho por mí, por siempre estar ahí apoyándome, por sus consejos, por sus oraciones que a diario hacen por mí y por ser un ejemplo a seguir, los amo abuelitos espero y se sientan orgullosos de mí, que Dios los colme de salud y los bendiga siempre, los amo abuelitos.

A MIS AMIGOS

Agradezco a todos mis amigos; *Arízpe, Choco, Curculionido, Dinosaurio, Dínamita, David, Frutos, Gary, Jorge, Juancho, Jhoní, Michoacán, Molina, Níco* y mis amigas; *Aby, Claudia, Rubí, Isabel y Candy*, que me estuvieron apoyando en todo momento, en los momentos buenos y malos solo les puedo decir; muchas gracias a todos ustedes los voy a extrañar mucho, espero y nuestra amistad siga creciendo y nunca olviden que siempre que necesiten de un amigo ahí estaré, gracias por compartir su tiempo y sus locuras conmigo, por todas esas anécdotas que se quedaran para el recuerdo, gracias por formar parte de mi vida, para mí fue un honor el haberlos conocido Dios los bendiga siempre, gracias por su amistad.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIAS	III
ÍNDICE	VII
INDICE DE CUADROS	XII
INDICE DE FIGURAS	XIII
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVO.....	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Cultivo de Sorgo.....	4
Origen y Distribución	4
Generalidades	4
Características botánicas	5
Clasificación Taxonómica.....	6

Importancia.....	6
<i>Melanaphis sacchari</i> (Zehntner)	7
Origen y Distribución Geográfica.....	7
Distribución Geográfica Nacional Actual	8
Situación de la Plaga en México	9
Clasificación Taxonómica.....	10
ASPECTOS BIOLÓGICOS	10
Ciclo biológico	10
Descripción Morfológica	11
Ninfa.....	11
Adulto.....	12
Hospedantes	13
Daño directo.....	16
Daño indirecto.....	16
Virus del mosaica de la caña de azúcar (SCMV)	16
Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (ScYLV).....	17
Importancia Económica de la Plaga	17
Impacto Económico de la Plaga	18
ALTERNATIVAS DE CONTROL.....	18
Control cultural	18
Control biológico.....	18

Control químico	19
DESCRIPCIÓN DE LOS INSECTICIDAS USADOS	20
Deltametrina	20
Características	20
Modo de acción	20
Imidacloprid.....	20
Características	20
Modo de acción	21
Endosulfan	21
Características	21
Modo de acción	21
RESISTENCIA	22
Generalidades	22
Resistencia de Insectos a Insecticidas.....	22
Clasificación de Resistencia.....	23
Resistencia por comportamiento.....	23
Resistencia cruzada.....	23
Resistencia metabólica	23
Resistencia morfológica	24
Resistencia fisiológica.....	24
Factores por los que se desarrolla la resistencia	25

Manejo de la resistencia.....	25
Determinación de resistencia	25
Bioensayos.....	26
Evaluación del Toxico	26
Métodos Bioquímicos	27
Técnicas sensitivas.....	27
Electroforesis	27
Pruebas moleculares	28
Pruebas bioquímicas.....	28
MATERIALES Y METODOS	29
Ubicación.....	29
Colecta del material biológico.....	29
Productos utilizados	30
Método de bioensayo	30
Determinación de Enzimas.....	31
Preparación de homogenatos	31
Cuantificación de proteína.....	32
Interpretación de resultados	33
Pruebas Bioquímicas	33
Prueba de esterasas elevadas no específicas (β -Esterasas).....	33
Lectura de absorbancias.....	34
Prueba de Reacciones de Oxidasa	34

Preparación de reactivos	34
Lectura de absorbancias.....	34
Prueba Glutathion S-transferasa.....	35
Preparación de reactivos	35
Lectura de absorbancias.....	35
Prueba de Acetilcolinesterasa.....	36
Preparación de reactivos	36
Lectura de absorbancias.....	36
Análisis estadístico.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	38
CONCLUSIONES.....	46
LITERATURA CITADA.....	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales hospedantes del pulgón amarillo <i>Melanaphis sacchari</i> (CABI, 2014).....	14
Cuadro 2. Coordenadas del sitio de recolección de <i>Melanaphis sacchari</i>	30
Cuadro 3. concentraciones letales medias de intervalos de confianza de los insecticidas evaluados.....	38
Cuadro 4. Niveles enzimáticos de <i>Melanaphis sacchari</i>	41

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial del pulgón amarillo <i>Melanaphis sacchari</i> (SENASICA, 2014).....	8
Figura 2. Distribución geográfica del pulgón amarillo en México (DGSV, 2015.....	9
Figura 3. Ninfa de <i>Melanaphis sacchari</i>	12
Figura 4. Adulto áptero de <i>Melanaphis sacchari</i>	13
Figura 5. Adulto alado de <i>Melanaphis sacchari</i>	13
Figura 6. Presencia de fumagina sobre la melaza excretada por <i>Melanaphis sacchari</i>	15
Figura 7. <i>Melanaphis sacchari</i> en el envés de la hoja, Manchas rojas ocasionadas por el daño de este insecto.....	15
Figura 8. Mapa de la localización del sitio de recolección de <i>Melanaphis sacchari</i> ..	30
Figura 9. Distribución de los niveles enzimáticos de <i>Melanaphis sacchari</i>	41
Figura 10. Comparación de medias mediante tukey ($\alpha=0.05$).....	42
Figura 11. Grafica de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Imidacloprid.....	43
Figura 12. Grafica de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Endosulfan.....	44
Figura 13. Grafica de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Deltametrina.....	45

INTRODUCCIÓN

El cultivo de sorgo (*Sorghum* sp.) es uno de los cereales más importantes en el planeta, del cual se alimentan grandes regiones de África, Asia y en los trópicos semiáridos de todo el mundo (Ragaei *et al.*, 2006), México ocupa el cuarto lugar como mayor país productor de sorgo con 8,394,056.77 ton (FAOSTAT, 2014), donde ha sido un factor importante en el desarrollo de la avicultura y porcicultura, ya que es un componente fundamental de los alimentos balanceados de uso pecuario, utilizado ampliamente para la alimentación de aves, cerdos, bovinos y equinos, (SIAP, 2003), su bajo consumo en humanos es debido a que se ha creado un paradigma de que el sorgo contiene un pobre valor nutricional, siendo un alimento altamente valorado que promueve potencialmente la salud, las dietas con base de granos de sorgo ayudan en la prevención de enfermedades crónicas como la diabetes, la obesidad, y enfermedades del corazón (Stefoska *et al.*, 2015), por su alto contenido de antioxidantes, Kang *et al.* (2016) reportan que es una fuente rica de diversos compuestos fenólicos como flavonoides (lavanonas, flavonoles y flavanonol, y derivados de flavan-3-ol.), por lo que es una alternativa para la producción de etanol (Barcelos *et al.*, 2016).

El rendimiento promedio en México es de 4.17 ton/ha, cuyo principal estado productor es Tamaulipas con 3 360 845.78 toneladas (SIAP, 2014), sin embargo, la presencia de áfidos reduce los rendimientos, están reportadas como unas de las plagas más representativas en numerosos cultivos, ya que causan daño directo por la alimentación y daño indirecto como transmisores de virus permitiendo la propagación de enfermedades. (Blackman y Eastop, 2000).

A finales de 2013 se detectó la presencia de *M. sacchari*, en Tamaulipas, México., provocando daños severos cuyas pérdidas se estimaron entre el 30 y 100 % (Maya y Rodríguez, 2014), si bien se han reportado la presencia de enemigos naturales como: *Harmonia axyridis*, *Hyppodamia convergens*, *Coleomegilla*

maculata, *Olla v-nigrum*, *Cycloneda sanguínea* y *Scymnus* sp. (INIFAP-CIRNE, 2015), pero debido a la reproducción acelerada de estos afidos, se recomienda la aplicación de insecticidas sintéticos convencionales como medida de control sobre todo en predios donde el umbral rebasa los 50 pulgones por planta, con la finalidad de reducir al máximo las poblaciones del Pulgón Amarillo del Sorgo y frenar su diseminación a otros predios (SAGARPA-CESV, 2016).

INIFAP (2015), determinó cinco insecticidas con una efectividad superior al 90 % para el control de *M. sacchari*, los cuales fueron: Imidacloprid, Sulfoxalor, Spirotetramat, Thiametoxam y Metamidofos, los cuales reducen un 90 % el daño provocado por el pulgón amarillo, estos insecticidas aplicados de manera inteligente son una alternativa para el manejo, debido a que las recomendaciones incluyen realizar una nueva aplicación cada 20 días, es innegable creer que se desarrollen mecanismos de resistencia hacia los productos químicos, por lo que esta investigación tiene como objetivo determinar las concentraciones letales medias, determinar y cuantificar sus niveles enzimáticos detoxificativos que inducen tolerancia a insecticidas sintéticos.

JUSTIFICACIÓN

El pulgón amarillo es una plaga de recién ingreso a nuestro país, existen diversas alternativas de manejo, sin embargo debido a su alta capacidad de reproducción puede elevar su población en corto tiempo causando daños directos e indirectos, por lo que la aplicación de productos químicos es una de las estrategias más empleadas en el manejo integrado de plagas (M.I.P.), la poca información en cuanto al uso inteligente y racional de estos productos permiten el desarrollo acelerado de la resistencia. En México se tiene poca información de los insecticidas con alta efectividad biológica contra el pulgón amarillo y a su vez se desconocen los mecanismos enzimáticos que permite a *Melanaphis sacchari* tolerar ciertos niveles de productos tóxicos.

OBJETIVO

La presente investigación tiene como objetivo determinar los niveles de enzimas detoxificativas asociadas con la tolerancia a insecticidas y evaluar la efectividad de insecticidas de diferente grupo toxicológico.

HIPÓTESIS

Se determinará al menos un insecticida con una CL_{50} baja respecto a los demás insecticidas a evaluar, se espera cuantificar un alto nivel de al menos una enzima asociada a la tolerancia de dichos insecticidas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo de Sorgo

La importancia del sorgo (*Sorghum bicolor*), L. Moench, radica en ser el grano forrajero por excelencia, pues es componente fundamental de los alimentos balanceados de uso pecuario, principalmente para la alimentación de aves, cerdos y bovinos, en menor medida se usa en la industria para la producción de almidón, alcohol y glucosa; además de harinas para alimentación humana y etanol como biocombustible, aspectos que están en proceso de desarrollo en el país (Galarza *et al.*, 2004; SIAP-SIACON, 2011).

México ocupa el cuarto lugar como mayor país productor de sorgo con 8,394,056.77 ton (FAOSTAT, 2014).

Origen y Distribución

El sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) es una gramínea originaria del África y posiblemente también de la India (Cargil, 2012). El cultivo fue introducido a México a mediados del siglo XX y actualmente ocupa el segundo lugar en producción de granos básicos y el tercero en cuanto a superficie cultivada, superado solo por maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Galarza *et al.*, 2004; SIAP-SIACON, 2011).

Generalidades

Este cultivo posee un sistema radicular profuso que le brinda una estructura de soporte muy desarrollada, lo que le permite que acumule gran cantidad de reservas, además le confiere una mayor capacidad de penetración y mejor persistencia en climas secos donde la escasez de agua es ostensible por periodos

prolongados (Amador 2000); a esto se suma la propiedad de quitinización de las hojas durante los periodos secos, lo que retarda el proceso de desecación (Duke 1983; González 1961).

Características botánicas

El sorgo tiene hábito y fisiología vegetal (metabolismo de las plantas C4) similares a los del maíz (*Zea mays*), el género *Sorghum* presenta un sistema radical profuso que le brinda una estructura de soporte muy desarrollada, lo que permite acumular gran cantidad de reservas; además le confiere una mayor capacidad de penetración y mejor persistencia en climas secos, donde la escasez de agua se mantiene por períodos prolongados; su tallo es grueso, con espinas que nacen por pares, y la altura puede oscilar de 1 a 3 m, los nudos presentan abundantes pilosidades, las hojas son alternas, aserradas, lanceoladas, anchas y ásperas en su margen; estas tienen la propiedad de quitinización durante los períodos secos, lo que retarda el proceso de desecación (González, 1961; Duke, 1983).

Tiene inflorescencias en panojas; cada panícula puede contener de 400 a 8000 granos, el color del grano varía desde un blanco translúcido hasta un pardo rojizo muy oscuro, con gradaciones de rosado, rojo, amarillo, pardo y colores intermedios; sus semillas son esféricas y oblongas, de aproximadamente 3 mm de tamaño, las flores tienen estambres y pistilos, pero se han encontrado en Sudán sorgos dioicos, su semilla es gruesa, comprimida, oval y desnuda, y presenta varios colores como café, azulado, negro, blanco, rojizo y amarillo, entre otros (Ruiz y Cruz, 2005).

Clasificación Taxonómica

Según Pérez, *et.al.* (2010), la clasificación taxonómica es:

Reino:Plantae

División:Magnoliophyta

Clase:Liliopsida

Orden:Poales

Familia:Poaceae

Subfamilia:Ponicoideae

Tribu:Andropogonae

Género:*Sorghum*

Especie:*bicolor*

Importancia

México ocupa el cuarto lugar como mayor país productor de sorgo con 8, 394,056.77 ton (FAOSTAT, 2014). La producción nacional del sorgo en el 2014 fue, de 8, 394,056.77 ton con una superficie sembrada de 2, 078, 496.98 ha, con un rendimiento promedio de 4.17 ton/ha y un valor de producción de \$19,983, 869.73, cuyo principal estado productor es Tamaulipas con 3 360 845.78 toneladas (SIAP, 2014).

En el estado de Coahuila actualmente se siembra una superficie aproximada de 5,000 hectáreas de sorgo, con rendimientos de 3.5 ton por hectárea, en México el sorgo se cultiva tanto en riego (46 %) como en temporal (54 %) en los ciclos agrícolas primavera-verano (56 %) y otoño-invierno (44 %), con un

rendimiento promedio anual por hectárea de 3.4 toneladas (6.1 para riego y 2.6 para temporal) (Financiera Rural, 2011).

Dichos rendimientos se ven afectados por problemas fitosanitarios originados por: insectos, hongos, virus, viroides, bacterias que afectan al follaje y la panoja debilitando la planta, provocando pérdidas en el rendimiento y la muerte prematura de la planta. En los últimos años el pulgón amarillo del sorgo (*M. sacchari*) se ha convertido en una de las plagas más importantes y limitantes para la producción de sorgo a nivel nacional.

***Melanaphis sacchari* (Zehntner)**

Origen y Distribución Geográfica

M. sacchari es originario de África y medio Oriente, se distribuye en varios países de Asia, Australia, el Caribe, Centro y Sudamérica. Blackman y Eastop, (2015), mencionan que su origen se asume que es asiático o de África.

Villanueva *et al.* (2014), Lo reportaron para una extensa zona del centro y sur de Estados Unidos y de Río Bravo, Tamaulipas; SENASICA (2014) lo registró en diversos municipios de Tamaulipas y Nuevo León, en México se registró por primera vez en 2013 en el norte de Tamaulipas, atacando al cultivo de sorgo en el ciclo P-V y causo pérdidas cuantiosas de rendimiento, incluso de hasta el 100%.

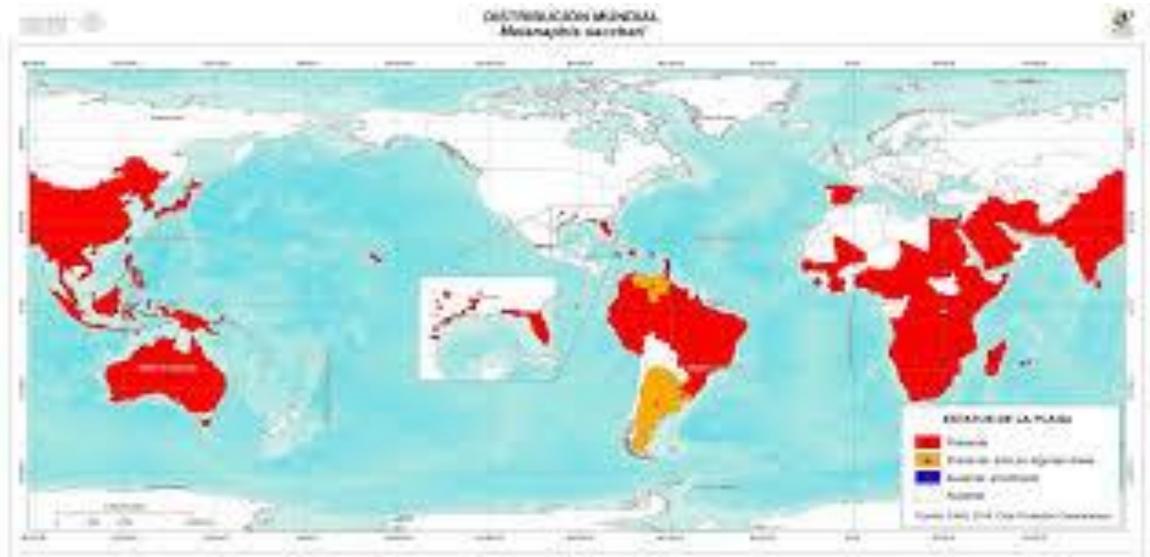


Figura 1. Distribución mundial del pulgón amarillo *Melanaphis sacchari* (SENASICA, 2014).

Distribución Geográfica Nacional Actual

El pulgón amarillo ha presentado una rápida dispersión, como se observa en la siguiente figura, se ha detectado presencia de la plaga en los estados de Sonora, Durango, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Coahuila, Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Colima y Veracruz (INTAGRI, 2014).



Figura 2. Distribución geográfica del pulgón amarillo en México (DGSV, 2015).

Situación de la Plaga en México

Con base en la NIMF no 8, y a las actividades que realiza el Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria, el pulgón amarillo (*M. sacchari*) está presente solo en algunas áreas sembradas con cultivos hospederos (CIPF, 2006).

Clasificación Taxonómica

Ubicación taxonómica según SENASICA (2014).

Clase:Insecta

Orden:Hemiptera

Familia:Aphididae

Género:*Melanaphis*

Especie:*Melanaphis sacchari*

Aspectos Biológicos

Ciclo biológico

La reproducción de *M. sacchari* es predominantemente asexual, con hembras adultas ápteras y aladas que dan origen a ninfas (Voegtlin, *et al*, 2003). David (1977).

La duración del ciclo de este insecto en promedio va de dos semanas hasta 28 días, con aproximadamente 96 ninfas por hembra (Hamid, 1987a; Teetes *et al.*, 1995; López and Fernández, 1999), el pulgón amarillo presenta 4 estadios ninfales, los cuales se desarrollan en aproximadamente 5.4 días a 25 °C, los adultos ápteros tienen una longevidad de 11.7 días promedio y pueden dar origen a 46 ninfas/hembra, la forma alada tiene una longevidad promedio de 7.5 días y da origen a 10.6 ninfas/hembra (Gómez-Souza y Díaz, 1999); debido al potencial de reproducción de *M. sacchari*, una sola planta puede ser atacada hasta por 30,000 áfidos. (Rensburg, 1937).

Este insecto pasa el invierno en socas de sorgo y en hospedantes silvestres alternos, tales como *Sorghum verticilliflorum*, *S. halepense*, *Panicum máximum* y *Setaria* spp. La dispersión de los individuos alados a través del año, asegura que las plantas de sorgo sean infestadas en etapas tempranas como la germinación (SENASICA, 2014).

Descripción Morfológica

Son pequeños, de coloración variable, lo que depende de la planta hospedante y de las condiciones ambientales (de color amarillo pálido, amarillo-marrón, marrón oscuro, púrpura o incluso rosado), pueden ser alados y ápteros, tienen marcas dorsales escleróticas oscuras, alcanzan un tamaño generalmente de 1,1-2,0 mm (Blackman y Eastop, 1984).

Ninfa

Su coloración es variable y depende de la planta de la que se alimente y las condiciones ambientales desde un amarillo pálido hasta tonalidades verde-grisáceas en las formas más desarrolladas, pasa por cuatro instares, los últimos presentan parches marrones distribuidos aleatoriamente sobre el tergo abdominal; a veces las líneas intersegmentadas marrones (figura 3) (SENASICA, 2014).



Figura 3. Ninfa de *Melanaphis sacchari*.

Adulto

El adulto es áptero y alado (figura 4 y 5), es de color amarillo grisáceo, algunas veces de color marrón, tienen una longitud de 1.4 mm, las antenas generalmente con 6 segmentos con una longitud un poco mayor a la mitad del cuerpo, el unguis o proceso terminal de la antena es 4 veces la base del VI segmento antenal, la cauda es oscura notoriamente constreñida y ligeramente más larga que los cornículos con 4 setas a los lados, el pico alcanza el segundo par de coxas, los cornículos son oscuros cónicos adelgazados hacia el ápice, con reborde notorio, son cortos y miden aproximadamente $\frac{1}{2}$ de longitud del cuerpo, el margen frontal es liso (Bustillo y Sánchez, 1981); las formas ápteras tienen 1.6 mm de largo, y un ancho de 0.6 mm mientras que los alados son un poco más grandes (Denmark, 1988).



Figura 4. Adulto aptero de *Melanaphis sacchari*.



Figura 5. Adulto alado de *Melanaphis sacchari*.

Hospedantes

El complejo *M. sacchari/sorghum* se ha reportado a nivel mundial en dos familias botánicas: Araceae con dos géneros y dos especies y Poaceae con 23 géneros, 18 de los cuales están presentes en México ya que *Arum*, *Oryzopsis*, *Piptatherum*, *Sinarundinaria* y *Thysanolaena* están ausentes (Dávila *et al.*, 2009); para México se encuentran 8 cultivos importantes, pero sólo se han reportado daños severos en sorgo (SENASICA, 2014; Villanueva *et al.*, 2014). Por otro lado, entre las especies silvestres y/o malezas, sólo se ha verificado la presencia de *M. sacchari/sorghum* en *Sorghum halepense*.

Los hospedantes principales del pulgón amarillo son sorgo, avena, caña de azúcar, trigo y cebada, y como secundarios, arroz, maíz y algunos pastos (Cuadro 1), de acuerdo al (SIAP, 2014).

La distribución de los principales hospedantes del pulgón amarillo que son de importancia económica en México se presenta en el (Cuadro 1), las zonas con mayor superficie se encuentran en los estados de Sinaloa, Tamaulipas, Chihuahua, Sonora, Guanajuato, Durango y Zacatecas (SENASICA, 2014).

Tabla 1. Principales hospedantes del pulgón amarillo *Melanaphis sacchari* (CABI, 2014).

Familia	N. científico	N. común
Hospedantes primarios		
	<i>Avena sativa, Saccharum officinarum, Sorghum bicolor,</i>	Avena, caña de azúcar,
Poaceae	<i>Triticum Spp, Hordeum vulgare</i>	sorgo, trigo, cebada
Hospederos secundarios		
Poaceae	<i>Oriza, Zea mays</i>	Arroz, Maíz
Hospederos silvestres		
	<i>Setaria, Penisetum, Echinochloa y</i>	
Poaceae	<i>Miscanthus</i>	Algunos pastos

Daños

El daño ocasionado en sorgo por *M. sacchari* depende de un gran número de factores, entre los que se incluyen las densidades de población y la duración de la infestación, el sorgo puede ser infestado por esta plaga, tan pronto como emerge la plántula, pero las infestaciones significativas se presentan durante las últimas etapas de crecimiento y en períodos secos, *M. sacchari* infesta el envés de las

hojas, que muestra manchas rojas y manchas o rayas, posteriormente se tornan rojas o marrón rojizo, el insecto segrega sustancias azucaradas sobre la superficie de la hoja lo que lleva a moho o fumagina (Figura 6 y 7), el resultado final de la invasión es reducción de la calidad del producto y pérdida de rendimiento a la cosecha (SENASICA, 2014).



Figura 6. Presencia de fumagina sobre la melaza excretada por *Melanaphis sacchari*.



Figura 7. *Melanaphis sacchari* en el envés de la hoja, manchas rojas en la hoja ocasionadas por el daño de este insecto.

Daño directo

El daño directo es la succión de la savia en hojas, ocasionando deformación y lesiones de color marrón, las plantas atacadas presentan un retraso en su crecimiento y un menor rendimiento, cuando existen condiciones propicias de humedad y temperatura las poblaciones presentan un crecimiento exponencial, logrando invadir tallos y panojas, que en un máximo de 15 días producen el secado y acame de la planta, producto de su alimentación, las ninfas y adultos secretan sustancias azucaradas en la superficie de las hojas, dando origen al desarrollo de fumagina, por cada hoja con fumagina se pierde alrededor de un 10 % de rendimiento (SENASICA, 2014).

Daño indirecto

Como daño indirecto, sobre la melaza que es producida por el pulgón puede crecer Fumagina afectando la capacidad fotosintética de la planta, se tienen reportes de que *M. sacchari* puede transmitir virus como Sugarcane mosaic virus (SCMV), Sugarcane yellow leaf virus (ScYLV) y otras enfermedades (CABI International, 2014; Schenk y Lehrer, 2000; White *et al.*, 2001).

Virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV)

Este virus fue descrito a partir de caña de azúcar por Brandes (1919); las cepas que infectan de forma natural algunos otros cultivos que también se conocen como mosaico de abacá potyvirus (Eloja y Tinsley, 1963); son partículas en forma de filamentos flexuosas de aproximadamente 750 x 13 nm (Teakle *et al.*, 1989); SCMV está presente en la mayoría de los principales países productores de caña de azúcar del mundo, las excepciones son Mozambique y Guyana (Koike y Gillaspie, 1989), Mauricio (Ricaud, 1980) y, posiblemente, de Madeira (ISSCT, 1989).

Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (ScYLV)

El síndrome de la hoja amarilla de la caña de azúcar (SCYLS) fue informado por primera vez en Hawaii en 1989, y en Brasil en 1990; desde entonces se ha informado a numerosos países productores de caña de azúcar de todos los continentes (Garcés *et al.*, 2005). En la Reunión Internacional de Germoplasma de Caña de Azúcar e Intercambio, celebrada en Brisbane en junio de 1995, se concluyó que el SCYLV es uno de los peligros potenciales más serios que enfrenta el cultivo de la caña de azúcar en el ámbito internacional (Bailey *et al.*, 1996).

Importancia Económica de la Plaga

M. sacchari es una plaga común de sorgo en África tropical, Asia y del extremo oriente de América. Zhang y Zhang, (1983) mencionan la ocurrencia de infecciones severas de *M. sacchari* en el norte de China, el noroeste de Mongolia y la provincia de Shandong y Hebei, causando reducciones en el rendimiento y calidad del sorgo, en Japón se han registrado daños por el áfido, ocasionando reducciones en rendimiento (Setokuchi, 1979). En Sudáfrica, las poblaciones de áfidos donde no se realiza control ocasionaron pérdidas de hasta el 77% en rendimiento de grano (Rensburg y Hamburgo, 1975).

M. sacchari puede atacar en todas las etapas del cultivo, pero el daño económico usualmente ocurre durante las etapas posteriores al desarrollo vegetativo, el daño que causa es debido a que succiona la savia de las hojas, ocasionado que tomen una coloración marrón, presentando un retraso en su crecimiento y afectando el rendimiento del cultivo, como daño indirecto, sobre la melaza que es producida por el pulgón puede crecer fumagina afectando la capacidad fotosintética de la planta, se tienen reportes de que *M. sacchari* puede transmitir virus como Sugarcane mosaic virus (SCMV), Sugarcane yellow leaf virus (ScYLV) y otras enfermedades (CABI International, 2014; Schenk y Lehrer, 2000; White *et al.*, 2001).

Impacto Económico de la Plaga

La introducción y diseminación de esta plaga en México si no se llevan a cabo medidas de control podría afectar la producción de sorgo, caña de azúcar, granos y cereales, que de acuerdo al SIAP (2014), asciende a 13 036 822.80 ha de superficie sembrada, con un valor de la producción de 153 727 530.26 miles de pesos.

Alternativas de Control

Control cultural

Se recomiendan mejorar el suelo, el riego, la plantación cerrada, aplicación del fertilizante y el manejo de la parcela y sus alrededores dando un corte de la maleza en otoño, cuando las plagas migren de sorgo a la maleza para pasar el invierno (CABI, 2014).

La siembra temprana es una medida de control cultural que puede ocasionar que el cultivo escape al ataque de la plaga, el corte de sorgo forrajero antes de la primera semana de abundancia de áfidos previene no solo el daño, sino que también regula subsecuentes incrementos en la población de la plaga en las socas de sorgo, dado que los áfidos hibernan en las socas de sorgo y malezas se recomienda su destrucción antes de que el cultivo de sorgo sea plantado reduciendo las poblaciones de la plaga, así mismo, se pueden utilizar trampas amarillas con agua para capturar áfidos migrantes en campos de sorgo para predecir su patrón migratorio y dinámica poblacional (Singh *et al.*, 2004).

Control biológico

Se han documentado más de 47 especies de enemigos naturales atacando a *M. sacchari* en todo el mundo, éstos juegan un papel muy importante, ya que

frecuentemente mantienen las poblaciones de áfidos por debajo de los umbrales económicos en el cultivo de sorgo, algunos agentes identificados como eficientes en el control de pulgón amarillo son: *Aphelinus maidis*, *Enrischia*, *Exochonus concavus*, *Leucopus* spp., *Lioadalia flavomaculata*, *Lysiphlebus testaceipes*. *L. dehliensis* (Singh *et al.*, 2004).

Se ha dado énfasis al uso de depredadores, como catarinas (Coleóptera: Coccinellidae), crisopas (Neuroptera: Chrysomelidae y Hemerobiidae) y sírfidos (Díptera: Syrphidae) como agentes que causan mayor mortalidad en las poblaciones de pulgón amarillo. Es importante mencionar que las hormigas interfieren con las actividades benéficas de los depredadores o parasitoides, ya que en muchos casos existe simbiosis entre las hormigas y pulgones. Asimismo, se ha encontrado que el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* es un importante agente de control biológico en Estados Unidos.

Control químico

Se recomienda hacer aplicaciones dirigidas al estrato de la planta con mayores poblaciones y localizado en las áreas críticas para un combate eficiente, algunos productos recomendados para el control de áfidos son Pirimicarb (en cultivos de maíz y trigo), Malathion (en arroz, avena, cebada, maíz, pastizales, pastos, sorgo y trigo), Imidacloprid (en caña de azúcar, cebada, cártamo, maíz, sorgo y trigo), y Thiametoxam (en maíz, y trigo) (Gómez y Lastra, 1995; Coto y Saunders, 2004; DGIAAP-SENASICA, 2013).

Descripción de los insecticidas usados

Deltametrina

Características

Piretroide sintético con actividad insecticida muy superior al de las piretrinas naturales, es utilizado en cultivos y plantaciones de ajo, alcachofa, alfalfa, algodón, controla una diversidad de plagas entre las cuales se encuentran los áfidos, mosquitas blancas y otros más, pertenece al grupo químico de los piretroides sintéticos. Ingrediente activo: Deltametrina: (S)-alfa-ciano-3-fenoxibencil (1R, 3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato, es un polvo cristalino prácticamente blanco, su solubilidad a 20°C: agua < 0.003 mg/l. Su fórmula empírica es C₂₂ H₁₉ Br₂ NO₃, no es fitotóxico (DEAQ, 2004).

Modo de acción

Afecta al sistema nervioso, despolarizando la membrana de la neurona con el consiguiente bloqueo de la transmisión de los impulsos nerviosos (Liñan, 1997).

Imidacloprid

Características

Insecticida sistémico residual con actividad por contacto e ingestión, es absorbido por la vía radical y foliar, las plagas que controla mediante aplicación foliar son: *Brevicoryne brassicae*, *Bemisia tabaci* y otras, en aplicaciones al suelo controla *Agrotis*, *Aphis gossypii* entre otras, se utiliza también tratamientos de semilla de maíz, papa y remolacha, pertenece al grupo químico cloronicotinilos, el ingrediente activo es: Imidacloprid: 1-(6-cloro-3-piridin-3-ilmetil)-N-nitroimidazolidin-

Zilidenamina, es un sólido cristalino, de color incoloro amarillento, su fórmula empírica es: C₉ H₁₀ Cl N₅ O₂ (DEAQ, 2004).

Modo de acción

Actúa como agonístico sobre el receptor acetilcolina nicotínico (nAChR) del sistema central, primero estimulando las membranas postsinápticas y después paralizando la conducción nerviosa (Liñan, 1997).

Endosulfan

Características

Insecticida neurotóxico que pertenece al grupo de los organoclorados, es un insecticida con propiedades acaricidas, actúa de contacto e ingestión y a temperaturas mayores a 22°C a través de su fase gaseosa, debido a la fase de gas del endosulfan, que se desarrolla a temperaturas mayores a 22 °C (DEAQ, 2004).

Modo de acción

Bloquean la transmisión del impulso nervioso a nivel neuromuscular, es decir, bloquean el flujo clorinado dependiente del ácido gamaaminibúrico (GABA) hacia el complejo acarreador de iones del receptor clorinado de GABA, este ácido es el encargado de realizar la transmisión nerviosa entre la célula nerviosa activadora y los músculos receptores de la orden de contracción (Soderlund *et al.*, 1989).

Resistencia

Generalidades

La resistencia es definida como el desarrollo de la habilidad para tolerar dosis altas de tóxicos, los cuales resultarían letales a la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie; es el cambio genético en respuesta a la selección (por plaguicidas), la OMS la define como el desarrollo de la habilidad en una raza de insectos para tolerar dosis de tóxicos que han probado ser letales a la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie (Badii, 2007).

Es una respuesta disminuida de la población de una especie de animales o plantas a un plaguicida o agente de control como resultado de su aplicación; la FAO enmarca la resistencia como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos, al no ser afectada por la aplicación de insecticidas; la resistencia se puede considerar como un proceso inevitable, debido a la presión de selección continua que se sigue ejerciendo con las aplicaciones de insecticidas (Badii, 2007).

Resistencia de Insectos a Insecticidas

De acuerdo con Lagunes y Villanueva (1994), la resistencia se ha incrementado considerablemente en los últimos años debido a la continua aplicación de los insecticidas de manera irracional para el control de plagas, el mal uso de los insecticidas ha traído como consecuencia la selección de resistencia en diversas plagas, tanto agrícola como urbana.

Clasificación de Resistencia

Resistencia por comportamiento

Se presenta en especies muy hiperactivas, un indicador es la preferencia para descansar en áreas no tratadas, o bien la tendencia de detectar el insecticida y tratar de evitarlo (Carrillo, 1984).

Resistencia cruzada

En el desarrollo de resistencia ocurre con frecuencia el fenómeno de “resistencia cruzada”, es decir que la presión de selección de un insecticida incrementa también la resistencia de la población a otro producto que no fue usado en la selección, generalmente hay cierto grado de resistencia cruzada entre productos de la misma clase (Herrera, 1963). Por ejemplo, el caso típico corresponde al DDT y los piretroides (debido al gene kdr) que a pesar de pertenecer a diferentes grupos químicos comparten el mismo modo de acción, pues ambos actúan sobre la velocidad de los carbamatos y los organofosforados por selección a la poca sensibilidad de la colinesterasa (Hamma, 1983).

Por otro lado, se consideraba que la tolerancia cruzada entre compuestos clorados era relativamente alta, en cambio entre clorados o fosforados es relativamente baja, en algunos compuestos se ha encontrado resistencia cruzada de carbamatos a clorados y a fosforados (Moorefield, 1959).

Resistencia metabólica

La vía metabólica del insecto llega a ser modificada detoxificándose el insecticida o negando el metabolismo del compuesto aplicado en su forma tóxica, la forma más importante de resistencia metabólica incluye la multifunción oxidasa, las glutathion transferasas y las esterasas (Miller, 1988).

Resistencia morfológica

Mecanismo físico dado por la formación de estructuras cuticulares, no permiten que el toxico penetre la cutícula del insecto, la velocidad de penetración dependerá de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del integumento del insecto, la cual varía considerablemente entre los estadios de vida (Barbera, 1989).

Resistencia fisiológica

Esta puede ser de dos formas: No metabólico, por la insensibilidad en el sitio de acción, resistencia al derribo, Acetilcolinesterasa Insensible, penetración reducida, mayor almacenamiento y excreción (Vais *et al.*, 1997). Resistencia metabólica, por la adición de sistemas enzimáticos, donde los insecticidas son metabolizados y transformados en productos menos tóxicos (Lagunes y Villanueva, 1994).

Las enzimas responsables para la detoxificación en los organismos son transcritas por Esterasas, Oxidasas y Glutathion S-Transferasas (GST) (Flores *et al.*, 2001), el mecanismo de resistencia más común en insectos es provocado por la actividad de esterasas detoxificativas que metabolizan (hidrolizan enlaces ester) un amplio rango de insecticidas comprendidas en familias proteicas pertenecientes a las α y β hidrolasas (Cygler *et al.*, 1993; Oakeshott, 1993).

En insectos resistentes se muestra un sobre-expresión de los niveles de oxidasas (Carino *et al.*, 1994). Los mecanismos de sobreproducción de oxidasas parecen ser resultado de factores cis- y trans- (Cohen *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 1997).

La mayoría de los organismos posee múltiples Glutathion S-Transferasas (Hayes, *et al.*, 1995). Las GST implicadas en la resistencia al DDT están presentes como grupos de genes que han sido mezclados a través del genoma por recombinación (Zhou *et al.*, 1997).

Factores por los que se desarrolla la resistencia

Lagunes y Villanueva (1994) reportaron que se han identificado una serie de factores que son los agentes causales del desarrollo de la resistencia.

- Por el abundante uso de insecticidas, lo cual ocasiona una gran presión de selección que elimina a los individuos susceptibles.
- Los insecticidas modernos son moléculas orgánicas en las cuales, si ocurre un pequeño cambio en su estructura una vez que se encuentra dentro del insecto, pierden su poder tóxico.
- Los insecticidas sintéticos solo tienen un sitio de acción, mientras que los viejos insecticidas inorgánicos pueden actuar en varios sitios en el insecto.
- La demanda de productos agrícolas con apariencia perfecta ocasiona que los agricultores apliquen mayor cantidad de insecticidas para evitar daños que puedan demeritar la calidad de sus productos.

Manejo de la resistencia

El manejo integrado de plagas es el camino más viable para retardar o prevenir la resistencia, incluyendo estrategias para minimizar el uso de plaguicidas y por ende, el desarrollo evolutivo de dicha resistencia, estas medidas se conocen bajo tres categorías principales, citadas por Georghiou (1983) que son: manejo por moderación, por ataque múltiple y por saturación.

Determinación de resistencia

Como consecuencia, la resistencia profiere cambios genéticos alterando procesos bioquímicos a nivel individual, se hace notable en una población cuando la proporción de resistencia sea tal, que se refleje en una falla en el control (Devonshire, 1990), convencionalmente se puede detectar la resistencia mediante:

Bioensayos

Conocidos también como pruebas de susceptibilidad, son técnicas de laboratorio basado en la dosis-mortalidad (Lagunes y Villanueva, 1994). Donde se pretende por medio de un proceso experimental conocer la efectividad biológica del pesticida, determinando la magnitud del estímulo mediante la respuesta del insecto (Hubert, 1980). Generalmente involucran comparaciones de la DL₅₀, DL₉₀ o de la concentración letal (Twine y Reynolds, 1980).

En los bioensayos, la cantidad del tóxico que se aplica no siempre es la misma que la que llega al sitio de acción, en este caso tienen que ver los factores que se mencionan a continuación:

- Parte del insecticida aplicado no entra en contacto con el insecto, debido a que se volatiliza.
- Hay descomposición por intemperización.
- En el integumento de algunos insectos que presentan factores que promueven la penetración reducida del tóxico.
- Almacenamiento de tejido inerte, generalmente tejido graso.
- Mayor excreción del organismo
- Tasa o proporción de activación por medio de la formación de productos más tóxicos al interior del insecto.
- Tasa de degradación.
- Insensibilidad en el sitio de acción (Bacopulos, 2003).

Evaluación del Toxico

La toxicidad de los insecticidas a un organismo se expresa usualmente en términos de CL₅₀ (dosis letal cincuenta); ésta representa la cantidad de toxico por unidad de peso que mata el cincuenta por ciento de los animales empleados en la

prueba, en los casos en los que solo se sabe cuál es la cantidad de insecticida que rodea al organismo y no la cantidad de insectos se usa el término CL₅₀ (concentración letal media), ésta determina la concentración del compuesto que mata el 50 por ciento de los animales expuestos en un periodo específico, generalmente de 24 horas, el método comúnmente empleado para insectos de granos almacenados es el de la exposición residual aplicada al recipiente que contenga a los insectos o al grano del que se alimenta el organismo en prueba; Para expresar la susceptibilidad de cualquier población de insectos a venenos, se graficara en hojas de logarítmicas de Probit (Bacopulos, 2003).

Métodos Bioquímicos

Técnicas sensitivas

Técnicas sensitivas y precisas que proporcionan información de los mecanismos involucrados, pudiendo ser adaptados para detectar y monitorear la resistencia de muchas especies (Brown y Brogdon, 1987); generalmente correlacionan niveles de una enzima o una reacción enzimática específica, pueden ser cualitativos o cuantitativos, generalista o altamente específicos (Lagunes y Villanueva, 1994).

Electroforesis

Electroforesis separa moléculas en dependencia fundamental de su carga, desplazando proteínas bajo influencia de un campo eléctrico (Bisset, 2001), se emplean geles de acrilamida que se polimeriza y forma redes que permiten el paso de proteínas de diferentes pesos moleculares (Ibel *et al.*, 1990).

Pruebas moleculares

Pruebas moleculares Incrementa la precisión y reduce la variabilidad asociada a los bioensayos (Devonshire, 1990), se obtienen patrones de banda de ADN que son utilizado como marcadores genéticos para una especie (Ffrench *et al.*, 1994).

Pruebas bioquímicas

Son ensayos múltiples que permiten analizar a una población de insectos cuantifican los niveles de una reacción enzimática (Brown y Brodon, 1987). Desarrollados para cuantificar niveles de Esterasas (Brogdon y Dickinson, 1983), Acetilcolinesterasa (Devonshire y Moores, 1984), Glutation S-Transferasas (Brogdon y Barber, 1990) y oxidasas (Brogdon *et al.*, 1997).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Toxicología de insectos ubicado en el Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada en la calzada Antonio Narro 1923, a un costado de la carretera Saltillo – Zacatecas en Buenavista Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. Teniendo las coordenadas, 25° 22´ latitud Norte y 101° longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 1743 msnm.

Colecta del material biológico

Para la obtención de la población, se realizaron muestreos en campo a partir de septiembre del 2015 en una parcela ubicada en el bajo de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), zona destinada a proyectos de investigación de la propia Universidad, posterior se realizó la colecta del material biológico la cual estaba presente en el cultivo de sorgo previamente sembrado, posteriormente se tomaron muestras y fueron trasladados al laboratorio de Toxicología de Insectos del Departamento de Parasitología. Una vez en el laboratorio, se realizó la identificación de *M. sacchari* según las características señaladas en la revisión de literatura.

Se obtuvo la ubicación geográfica del sitio de recolecta mediante la ayuda de un GPS, arrojándonos las coordenadas vía satélite, donde;

Tabla 2. Coordenadas del sitio de recolección de *Melanaphis sacchari*.

Localidad	N	O	Altitud	Hospedero
Bajío	25° 21' 26.45''	101° 02' 25.50''	1736	Sorgo



Figura 8. Mapa de la localización del sitio de recolección de *Melanaphis sacchari*.

Productos utilizados

Para llevar a cabo el bioensayo se utilizaron tres productos químicos, con el objetivo de evaluar la efectividad de cada uno sobre el pulgón amarillo del sorgo *M. sacchari*, cuyos ingredientes activos fueron, Imidacloprid: Neonicotinoide, Deltametrina: Piretroide y Endosulfan: Ciclodieno.

Los insecticidas utilizados fueron: Deltametrina (deltametrina 10.70% C.E. 107 gr de i.a. /L, Piretroide), Imidacloprid (picador 70 PH, 350 gr i.a. /L, neonicotinoide), Endosulfan (vendosulfan 35 C.E. 350 gr de i.a. L-1, clorado).

Método de bioensayo

Una vez teniendo la cantidad suficiente de insectos se realizaron bioensayos mediante la técnica de inmersión de hoja para el psílido del peral (*Psylla*

spp) con ligeras modificaciones (IRAC, 2005), para ello se prepararon diferentes concentraciones, se utilizó agua destilada y el producto bionex® como dispersante, en una proporción 1mL: 1L de agua. El intervalo de concentraciones utilizadas fue de 10 a 2500 ppm y un testigo sin tratar para cada insecticida; se recortaron 5 cuadrados de 1 cm² cada uno, con diferente número de pulgones entre el tercer y cuarto instar, cada cuadrado considerado como una unidad experimental. Las hojas tratadas se dejaron secar en papel absorbente, y posteriormente se colocaron cajas Petri de vidrio con papel húmedo. Los insecticidas empleados fueron: Imidacloprid, Endosulfan y Deltmetrina. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 h con ayuda de un microscopio estereoscopio y un pincel. Se consideró pulgón muerto aquel que presentaba los apéndices pegados al cuerpo, deshidratado y cero reacción al estímulo del pincel. El porcentaje de mortalidad se calculó contabilizando la cantidad de individuos muertos/la cantidad total de individuos. El máximo nivel de mortalidad aceptable para el testigo absoluto fue 10% y se corrigió mediante la fórmula de Abbott (1925) cuando el testigo presentaba mortalidad. Por último, a los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis Probit, empleando el método de máxima verosimilitud (Finney, 1971), utilizando el programa estadístico R 3.1. Para la determinación de sus valores de CL₅₀ y sus límites fiduciales al 95 %.

Determinación de Enzimas

Manejo de material biológico en laboratorio para la determinación de enzimas. Una vez en el laboratorio, se mantuvieron en refrigeración en tubos eppendorf, se etiquetaron y se conservaron en refrigeración.

Preparación de homogenatos

En tubos eppendorf de 2.0 ml se colocaron 4 muestras con 15 insectos en cada tubo, cada muestra con 10 repeticiones. Se agregó 500 ml de diluyente buffer

KPO₄ (fosfato de potasio), se trituraron con un homogenizador de tejidos, se aforo a 1 ml adicionándole 900 ml de diluyente.

Cuantificación de proteína

Se empleó la metodología descrita por Brogdon (1984), utilizando albúmina sérica bovina como proteína de referencia, se colocaron tres insectos de cada especie en tubos eppendorf, se agregaron 100 µL de buffer KPO₄ (BFP) a 0.05 M y 7.2 pH, se trituraron y se aforó a 1 mL, posteriormente se realizaron diferentes diluciones (1, 5, 10, 15, 20 y 30 pulgones de cuarto instar) para su evaluación, en cada cavidad de la microplaca de 96 pozos se colocaron 20 µL de homogenato (HM), y se agregaron 80 µL de BFP y 200 µL de colorante diluido, esto se realizado por triplicado para cada repetición, las lecturas de absorbancia se tomaron utilizando un filtro de 630 nm y se calcularon los valores de µg mL⁻¹ de proteína comprendidos en el rango de 80 a 140 µg/mL de proteína. Una vez calculada la cantidad de insectos a emplear, se determinaron los niveles de α-esterasas (αEST), β-esterasas (βEST), oxidasas (Ox), Acetilcolinesterasas (ACE) y Glutación S-transferasas (GST) utilizando las metodologías descritas por Brogdon, (1988), Brogdon y Barber (1990) y Brogdon *et al.* (1997) empleando los siguientes reactivos: α-naftil acetato (αNAF), β-naftil acetato (β-NAF), O-Dinanisidina (OD), 3,3', 5,5'- Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride (TMBZ), H₂O₂ al 3% (PO), glutati3n reducido (GR), 1-cloro-2,4'-dinitrobenzoceno (cDNB), yoduro de acetilcolina (YAC), 3,5-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB). Para la determinaron los niveles de α y β-esterasas, se agregaron 100 µL del HM y 100 µL de α y β-NAF en cada pozo de la microplaca, se dejó incubar por 10 min, se adicionó 100 µL de OD, se dejaron incubar durante 2 min y se leyeron con un filtro de 540 nm; Para Ox, se colocaron 100 µL del HM, 200 µL de TMBZ, y 25 µL de PO, se dejó incubar por 5 min y se leyó usando un filtro de 620 nm; Para GST, se colocó 100 µL del HM, adicionando 100 µL de GR y 100 µL de cDNB, se leyó a tiempo cero (T₀), se volvió a leer a los 5 min (T₅) utilizando el filtro de 340 nm, se tomaron las diferencias de ambos tiempos para el análisis de resultados; Por último, para ACE, se colocaron 100 µL de HM, y 100 µL de YAC al

3.0 mM se agregó 100 μ L de DTNB, se tomó la primera lectura (T_0), se volvió a correr después de 10 min (T_{10}), utilizando el filtro de 414 nm.

Interpretación de resultados

Una vez consignados los valores de absorbancias de cada enzima, se procedió a realizar un análisis de varianza y se compararon las medias mediante Tukey ($\alpha=0.05$) para comparar el contenido de cada enzima.

A los datos arrojados por el lector de placas, se les obtuvo la media de cada repetición (tres pozos), mediante la ecuación de la curva estándar de referencia del método de Brogdon (1984) dada por la interpolación de Tg/mL de proteína y la absorbancia, se obtuvieron analíticamente los valores comprendidos en un rango establecido por el autor. La ecuación de la recta fue: $y = - 0.5033 + 0.7249 (x)$; donde se sustituyen los valores de las medias de las absorbancias, obteniendo los valores de Tg/mL de proteína, fueron tabuladas y se obtuvo la media del contenido de proteína, comparándolas para decidir la cantidad de insectos a emplear para la determinación de enzimas.

Pruebas Bioquímicas

Prueba de esterasas elevadas no específicas (β -Esterasas)

Mide los niveles de β -Esterasas no específicas presentes.

Preparación de reactivos

Acetato de β -naftil

Se disolvieron 5.6 mg de β -naphthyl acetate en 2 mL de acetona y se agregó 8 mL de buffer (KPO_4). Para preparar O-Dianisidina (fast-blue), se disolvieron 5 mg de O-Dianisidine (fast-blue) en 5 mL De H_2O esterilizada. Este último reactivo se

preparó inmediatamente antes de usarlo, ya que se degrada fácilmente, un indicador es su coloración, cuando adquiere una tonalidad ámbar se descarta y se prepara uno nuevo.

Lectura de absorbancias

En cada pozo de la microplaca, se colocaron 100 ml del homogenato de insectos, se agregó 100 ml de acetato de β -naftil, se dejó incubar por 10 minutos, pasado el tiempo, agregando 100 ml de Dianisidina, estos pasos se realizan por duplicado para las 10 repeticiones, se dejaron incubar durante 2 minutos y se corre en el lector de placas usando un filtro de 540 nM. Una vez arrojadas las lecturas de absorbancias, se promedian para el análisis de resultados.

Prueba de Reacciones de Oxidasa

Mide los niveles de peroxidasas.

Preparación de reactivos

Buffer de Acetato de Na (0.25 M): se disolvió 16.6 mL de 3M Sodium Acetate en 180 mL de H₂O esterilizada, después se aforo a 200 mL, ajustando el pH 5.0 adicionándole ácido acético glacial. Para el TMBZ, se disolvió 50 mg de 3, 3', 5, 5'-Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride, en 25 mL de Metanol, agregando 75 mL de 0.25 M Na Acetate buffer, se dejó disolver durante varios minutos. Por ultimo para el Cytochrome-C: se pesaron 10 mg de Cytochrome-C (de corazon de bovino) y fueron disueltos en 100 mL de Buffer de Acetato de Na (0.25 M) pH 5.

Lectura de absorbancias

Se colocaron 100 ml del homogenato de insectos, se agregan 200 ml de TMBZ, agregado una gota (25 ml) de peróxido de hidrogeno (H₂O₂) al 3%, estos

pasos se realizaron por duplicado para cada una de las 10 repeticiones, se dejó incubar por 5 minutos, pasado el tiempo se corrió en el lector de placas usando un filtro de 620 nM. Una vez arrojadas las lecturas de absorbancias, se promediaron según su muestra y repetición para el análisis de resultados.

Prueba Glutathion S-transferasa

Mide los niveles de Glutathion S-transferasa presentes.

Preparación de reactivos

Reduced glutathione: se disolvieron 61 mg de reduced glutathione en 100 mL de buffer (KPO4). Para cDNB, fueron disueltos 20 mg de 1-chloro-2,4 dinitrobenzene en 10 mL de Acetona y se agregaron 90 mL de buffer (KPO4); este reactivo es viable de 3 a 4 días a 4 °C.

Lectura de absorbancias

Se colocaron 100 ml del homogenato de insectos, se agregaron 100 ml de Reduced glutathione, y 100 ml de cDNB, estos pasos se realizaron por duplicado para cada una de las 10 repeticiones, se corrió inmediatamente (T0) en el lector de placas usando un filtro de 340 nM, se volvió a correr transcurridos 5 minutos (T5). Las lecturas de absorbancias, se promediaron en donde se tomaron en cuenta las diferencias de ambos tiempos (T5 - T0) para el análisis de resultados.

Prueba de Acetilcolinesterasa

Mide la cantidad de acetilcolinesterasa presente

Preparación de reactivos

ATCh: se disolvió 70 mg de Acetylthiocholine iodide (ATCh) en 10 mL de acetona y se agregó 90 mL de buffer (KPO_4); para el DTNB, se prepararon 13 mg de Dithio-bis-nitrobenzoic acid (DTNB) y fueron agregados 100 mL de buffer (KPO_4), este reactivo puede durar de 3 a 4 días a 4 °C.

Lectura de absorbancias

Se colocaron 100 ml del homogenato de insectos, se agregaron 100 ml de ATCh y 100 ml de DNTB, estos pasos se realizan por duplicado para cada una de las 10 repeticiones, se corrieron inmediatamente (T_0) en el lector de placas usando un filtro de 414 nM, se volvió a correr transcurridos 10 minutos (T_{10}). Las lecturas de absorbancias se promediaron en donde se tomaron en cuenta las diferencias entre ambos tiempos ($T_{10} - T_0$) para el análisis de resultados.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron para obtener las proporciones de resistencia mediante el método gráfico, para poder referenciar las poblaciones respecto a su contenido de enzimas cuantificadas en absorbancias, las cuales fueron arrojadas por un espectrofotómetro, leídos con diferentes filtros según la enzima a analizar; posteriormente se obtuvieron los porcentajes de la proporción de resistencia para cada enzima en cada repetición.

Con la finalidad de conocer el contenido de enzimas de los individuos de la población, los resultados se analizaron estadísticamente mediante el Software SAS

System for Windows 9.0, para obtener análisis de varianza con un 0.05 % grado de significancia y comparaciones de medias mediante “diferencia mínima significativa” (dms), cuando las agrupaciones similares se traslaparon formando numerosos grupos estadísticos se compararon mediante el método de “tukey” para reducir agrupaciones y hacer más marcada la diferencia.

Los análisis estadísticos ayudaron a determinar el contenido de enzimas de la población, tanto las diferencias entre ella.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

A continuación se presentan los resultados obtenidos en los bioensayos realizados. Presentados en el siguiente orden CL₅₀, CL₀₅, CL₉₅ y proporción de resistencia. Como podemos observar la deltametrina y el endosulfan fueron los que presentaron valores más bajos de CL₅₀ (Cuadro 3).

Tabla 3. Concentraciones letales medias de intervalos de confianza de los insecticidas evaluados.

Producto	CL ₅₀	LFI	LFS	CL ₀₅	CL ₉₅	Intercepto	Pendiente	p-valor
Imidacloprid	939.07	602.869	1716.06	41.585	21205.8	-3.6119	1.2115	<0.001
Endosulfan	79.128	1.631	281.759	2.292	2731.87	2.030051	1.069	0.025
Deltametrina	59.929	13.643	135.150	0.005	606169.3	-0.730	0.41	0.004

CL₅₀: concentración letal media en ppm, LFI: límite fiducial inferior en ppm, LFS: límite fiducial superior en ppm. Intercepto y pendiente son parámetros de regresión probit y p-valor es la significancia de la determinación de la pendiente.

El sorgo presenta un contenido de almidón alrededor de un 67.5 %, arriba de un 12% de proteína, 1.87 % de minerales y un 3.32 % de grasa totales (Ragae *et al.*, 2006), insecticidas sintéticos son una herramienta eficiente para el manejo de plagas, sin embargo, la resistencia a insecticidas es uno de los mayores obstáculos para el control de plagas en la agricultura (Criniti *et al.*, 2008).

La enzima encontrada con mayor sobreproducción como mecanismo detoxificativo fueron las β -Esterasas seguida de las α -Esterasas, por lo que no se recomienda el uso de insecticidas organofosforados, Criniti *et al.*, (2008) reportan diferentes poblaciones de *M. persicae* con una elevada producción de Esterasas las cuales secuestran y detoxifican insecticidas con grupos estéricos. Diferentes estudios reportan la expresión del gen asociado a la sobreproducción de

carboxilesterasas asociadas a la resistencia de organofosforados en *Aphis gossypii* (Cao *et al.*, 2008), Trabajos similares como el realizado por Hernández (2011), reporta que las β -Esterasas registran los valores más altos en *Bactericera cockerelli*, para el caso de α -Esterasas al igual que β -Esterasas muestra un comportamiento heterogéneo y muestra un punto por arriba del rango en que se encuentra, el cual quiere decir que el contenido de α -Esterasas de la población tiende a crecer en un futuro, los piretroides como deltametrina, son una herramienta eficiente en el manejo de *Melanaphis sacchari* al presentar la concentración letal media más baja.

Criniti *et al.*, (2008) reportan diferentes poblaciones de *M. persicae* con una elevada producción de Esterasas las cuales secuestran y detoxifican insecticidas con grupos estéricos. Tanto α -Esterasas y β -Esterasas fueron la enzimas de mayor producción, diferentes estudios reportan la expresión del gen asociado a la sobreproducción de carboxilesterasas asociadas a la resistencia de organofosforados en *Aphis gossypii* (Cao *et al.*, 2008), por lo que es necesario monitorear la resistencia en cada ciclo de cultivo, ya que puede incrementarse o bien disminuir dado a que los genes de resistencia a insecticidas en áfidos, tiene efectos pleiotrópicos negativos, los individuos resistentes presentan una mala adaptación en la selección por un nivel trófico superior, mientras que los individuos de tipo silvestre presentan menor vulnerabilidad al ataque de un parasitoide (Foster *et al.*, 2007), este grupo toxicológico no fue evaluado pero limitamos el uso de insecticidas ya que los perfiles enzimáticos fueron muy elevados respecto a las demás enzimas. Por otra parte las GST, fueron las enzimas de menor contenido en *M. sacchari*, este mecanismo no es significativo en áfidos, ya que se han reportado cambios en la actividad de enzimas detoxificativas, asociadas en el metabolismo de glutatión en el áfido de la avena *Rhopalosiphum padi*, los migrantes alados de hospederos alternos, cuando comenzaron alimentarse de los cereales la actividad de GST aumentó, mientras que Glutation Reductasa disminuyó (Laskowska *et al.*, 1999).

Por su parte Wondji *et al.*, (2009) señalan que es el mecanismo detoxificativo más significativo en la resistencia a piretroides dado por el citocromo

P450, asociadas a las oxidasas de función múltiple, a su vez en insectos también se han reportado a Glutación S-Transferasas responsables de la resistencia a deltametrina (Lumjuan *et al.*, 2011), sin embargo, en este estudio estas enzimas presentaron niveles enzimáticos bajos, siendo las GST las de menor producción respecto al resto de las enzimas, con una media de 0.302 y 0.003 para Ox y GST respectivamente, por lo que los insecticidas piretroides pueden ser una alternativa eficiente para infestaciones altas del pulgón amarillo *M. sacchari* en donde no se tenga problemas con tolerancia hacia este grupo de insecticidas.

En estudios similares Anjum y Wright (2016) en *Myzus persicae* reporta que los piretroides son significativamente más tóxicos que los insecticidas carbámicos y que los pertenecientes al grupo de las espinosinas, además los piretroides, lambda-cialotrina específicamente, puede incrementar significativamente la mortalidad a las 96 horas de evaluación, además la deltametrina registró una deficiente producción de Oxidasas Wondji *et al.*, (2009) señalan que es el mecanismo detoxificativo más significativo en la resistencia a piretroides dado por el citocromo P450, asociadas a las oxidasas de función múltiple, para las oxidasas son más homogéneas, es decir, que el contenido de oxidasas de la población está en el mismo rango.

Para la Acetilcolinesterasa el contenido de enzimas de la población son totalmente homogéneas, ciertos especímenes pudieran tener genes de AChE asociadas a la resistencia a diversos grupos toxicológicos en el pulgón del algodón *Aphis gossypii* (Li y Han, 2004), ya que los mecanismos de resistencia mediados por el gen *Kdr* y acetilcolinesterasa modificada, resultan en un desequilibrio en el ensamble, afectando la respuesta en los canales de sodio a piretroides (Criniti *et al.*, 2008), y para el caso de las Glutación S-Transferasas, la población no muestra contenido de enzimas, este mecanismo no es significativo en áfidos, ya que se han reportado cambios en la actividad de enzimas detoxificativas, asociadas en el metabolismo de glutación en el áfido de la avena *Rhopalosiphum padi*, los migrantes alados de hospederos alternos, cuando comenzaron alimentarse de los cereales la actividad de GST aumentó, mientras que Glutación Reductasa disminuyó

(Laskowska *et al.*, 1999), esta familia de enzimas también están reportadas como las responsables de la resistencia a deltametrina (Lumjuan *et al.*, 2011)

Respecto a los niveles enzimáticos (Cuadro 4), las β -Esterasas son el mecanismo detoxificativo con mayor producción dentro de nuestra población de *Melanaphis sacchari*.

Tabla 4. Niveles enzimáticos de *Melanaphis sacchari*.

Enzima	n	Absorbancia \pm SD*
α -Esterasas	20	0.892 \pm 0.105 ^B
β -Esterasas	20	1.403 \pm 0.201 ^A
Acetilcolinesterasas	20	0.137 \pm 0.035 ^D
Glutathion S-Transferasas	20	0.003 \pm 0.003 ^E
Oxidasas	20	0.302 \pm 0.051 ^C

n: número de repeticiones, SD: desviación estándar. *: Absorbancias con la misma letra no son estadísticamente significativas.

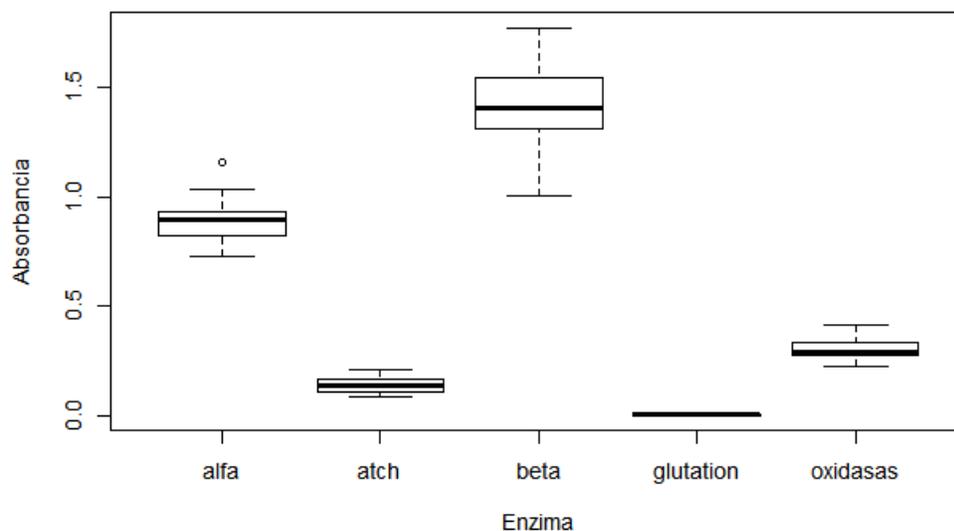


Figura 9. Distribución de los niveles enzimáticos de *Melanaphis sacchari*.

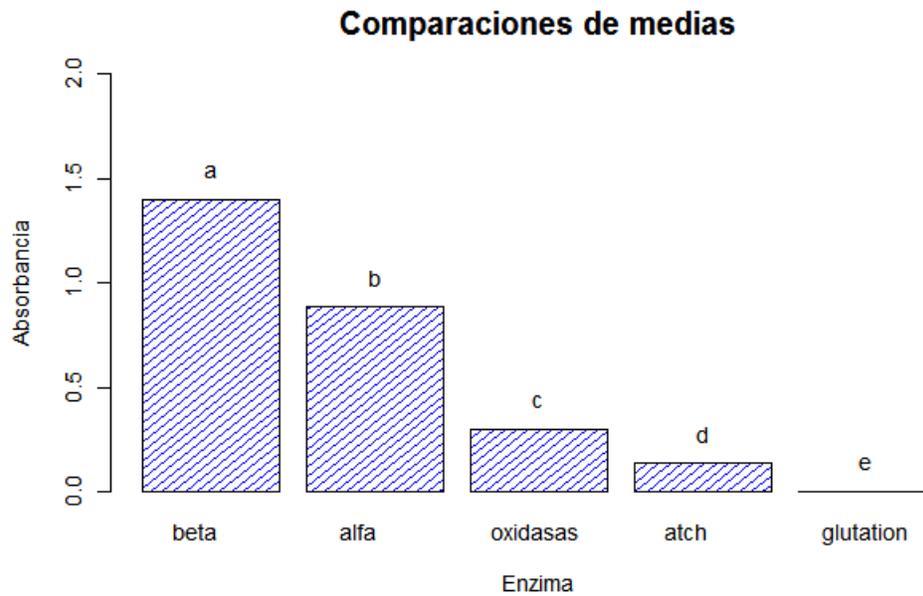


Figura 10. Comparación de medias mediante tukey ($\alpha=0.05$).

En la (Figura 10). Se muestra el contenido de enzimas de la población, en la cual la enzima β -Esterasa muestra un alto contenido, seguido de las enzimas α -Esterasa, Oxidasas, Acetilcolinesterasa y el Glutation S- Transferasas.

Líneas de respuesta Dosis/Mortalidad

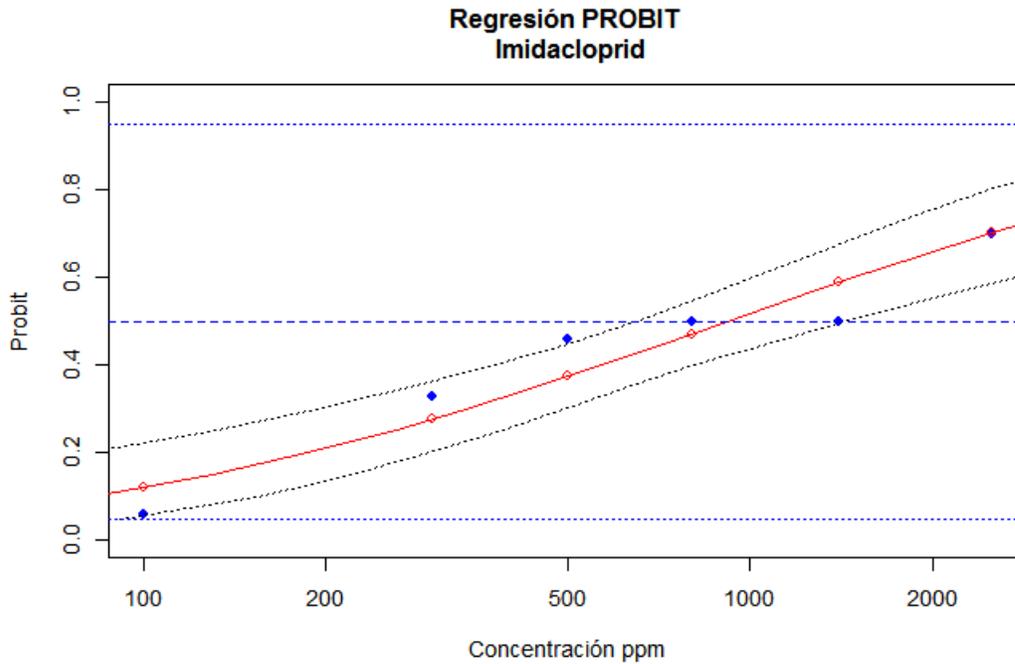


Figura 11. Grafica de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Imidacloprid.

En la gráfica se muestra las líneas de respuesta de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Imidacloprid.

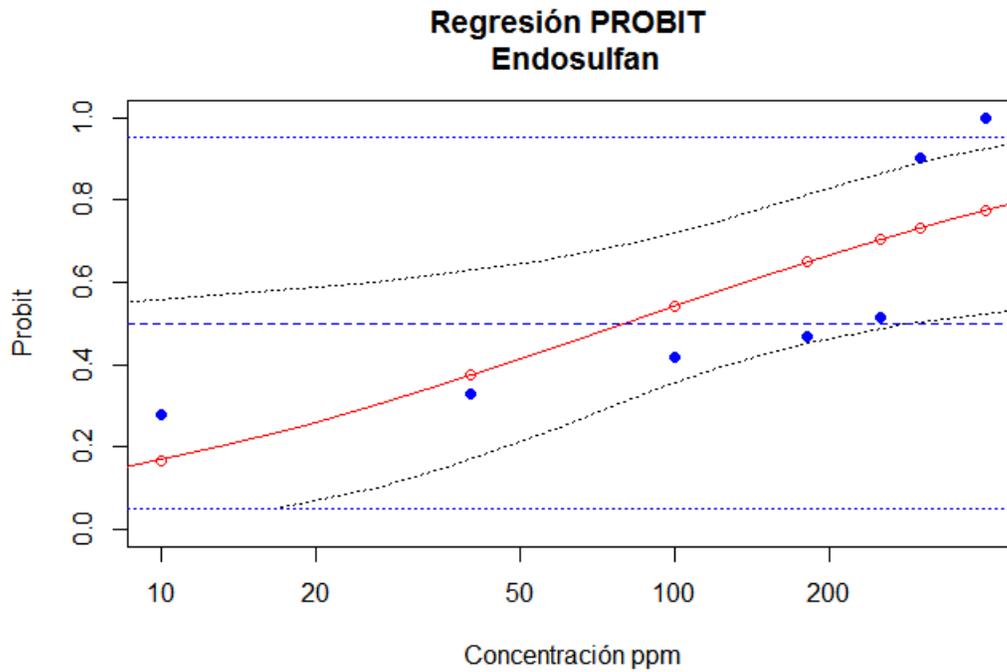


Figura 12. Grafica de la relacion concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Endosulfan.

En la gráfica se muestra las líneas de respuesta de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Endosulfan.

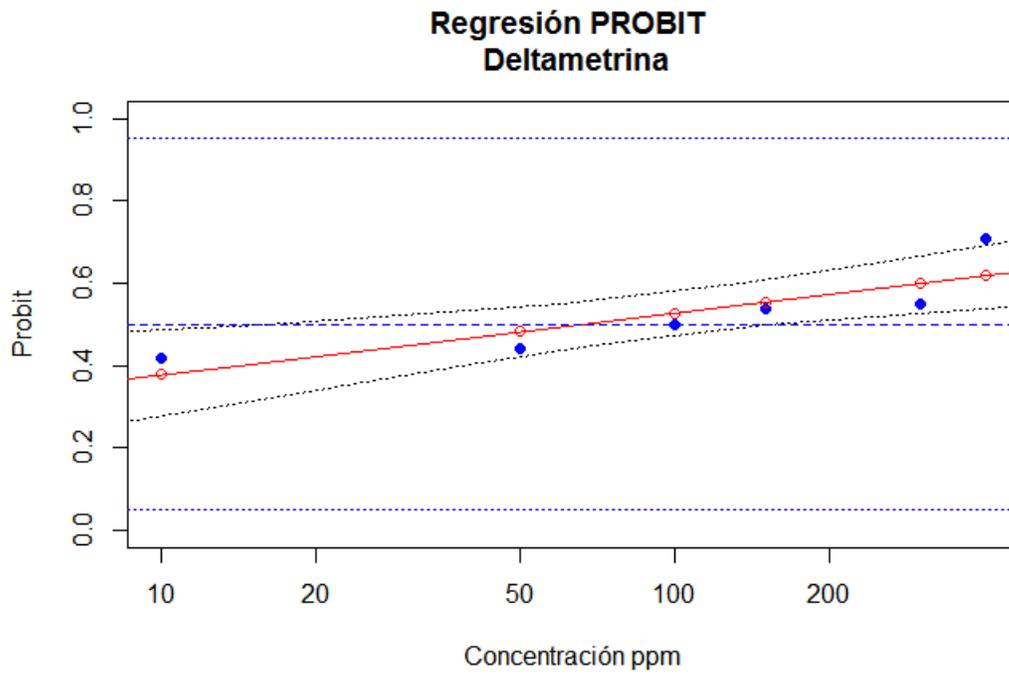


Figura 13. Grafica de la relacion concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Deltametrina.

En la gráfica se muestra las líneas de respuesta de la relación concentración-mortalidad mediante Regresión Probit de Deltametrina.

CONCLUSIONES

En general, podemos mencionar que en la zona muestreada en el Estado de Coahuila, la resistencia mediante sistemas enzimáticos de detoxificación se da por la presencia de β - Esterasas, ya que fue la agrupación con mayor cantidad respecto a las demás enzimas, presentándose de forma homogénea entre las poblaciones, seguido de la α -Esterasas, Oxidasas y Acetilcolinesterasa.

Podemos concluir que para la (CL₅₀), deltametrina es más eficiente para el control de *M. saccharis*, seguido del endosulfan y por último imidacloprid que fue el que presentó menor eficacia. En relación a la (CL₀₅) el comportamiento fue similar, para la (CL₉₅), endosulfan fue más eficiente seguido de imidacloprid y finalmente deltametrina que fue quien presentó menor eficacia.

LITERATURA CITADA

- AMADOR, L. 2000. Calidad nutricional de la planta de sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) para alimentación animal. *Agronomía Mesoamericana* 11(2): 79-94.
- Anjum, F. y Wright, D. (2016). Relative toxicity of insecticides to the crucifer pests *Plutella xylostella* and *Myzus persicae* and their natural enemies. *Crop Protection* 88:131-136
- Bacopulus, M.E.2003.Control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en almacén con aplicación de Clorpirifos metil, Deltrametrina y su efecto en la calidad de la semilla de Maíz. Tesis Maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México p 8.
- Badii. H. M. y Victoriano. G. A. 2007. Resistencia en Insectos, Plantas y Microorganismos. CULCyT//Impacto Ecologico. No.18. p.10.
- Bailey, R.; G. Bechet; P. Cronjé: «Notes on the Occurrence of Yellow Leaf Syndrome of Sugarcane in Southern Africa», *Proceedings South African Sugar Technologists Association* 70: 3-6, 1996.
- Barbera C. 1989. Pesticidas agrícolas. Cuarta edición. Ediciones Omega S.A. Pp 506-507.
- Barcelos, C., Maeda, R., Santa Anna, L. Y Pereira, N. (2016). Sweet sorghum as a whole-crop feedstock for ethanol production. *Biomass and Bioenergy* 94: 46-56
- Bisset, J. A.; Rodríguez, M. M.; Molina, D.; Díaz, C.; y Soca, L. A. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *REV CUBANA MED TROP* 53(1): 37-43.
- Blackman RL and Eastop VF, 1984. *Aphids on the world's Crops. An Identification and Information Guide*. Chichester, UK: John Wiley.

- Blackman, R. L. and V. F. Eastop. 2015. Aphids on the World's Plants. An Online Identification and Information Guide. <http://www.aphidsonworldsplants.info> (30 de Marzo de 2015).
- Blackman, R. y Eastop, F. 2000. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide, Wiley, second edition. 476 p.
- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990b. Fenitrothion-deltametrina cross resistance conferred by Esterasas in Guatemala *Anopheles albimaus*. Pestic. Biochem. Physiol. 37: 130-139.
- Brogdon, W. G. and Dickinson, C. M. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography aluate fractions. *Analyt. Biochem.* 131: 499-503.
- Brogdon, W. G.; McAllister and Vulule J. 1997. Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 13: 223-237.
- Brown, T. M. and Brogdon, W. G. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 145-162.
- CABI. 2014. Crops Protection Compendium. Data Sheet for: *Melanaphis sacchari* (Zehntner). Consultado en línea en junio de 2014 en: <http://www.cabi.org/isc/dataset/26757>.
- Cao, C.W., Zhang, J, Gao, X.W., Liang, P. y Guo, H.L. (2008). Overexpression of carboxylesterase gene associated with organophosphorous insecticide resistance in cotton aphids, *Aphis gossypii* (Glover). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 90:175–180
- Cargil, 2012. Manual Técnico y de Producto de Sorgo Granífero. Pergamino. Pp. 39.
- Carino, F. A.; Koener, J. F.; Plapp, F. W. and Feyereisen, R. 1994. Constitutive overexpression of the cytochrome P450 gene Cyp6A1 in a house fly strain with metabolic resistance to insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24: 411-8.

- Carrillo, R. H. 1984. Analisis de accion conjunta de insecticidas en larvas del gusano cogollero del maiz (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Tesis de maestria en ciencias. Centro de entomologia y acarologia. Colegio de Posgraduados. Chapingo, Mexico, 82 pp.
- CIPF. 2006. NIMF NO. 8. Determinación de la situación de una plaga en un área. FAO, Roma. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.
- Cohen, M. B.; Koener, J. F. and Feyereisen, R. 1994. Structure and chromosomal localization of Cyp6A1, a cytochrome P450-encoding gene from the house fly. *Gene*. 146: 267-272.
- Coto, D.; Saunders, J.L. 2004. Insectos plagas de los cultivos perennes con énfasis en frutales en América Central. Turrialba. Serie Técnica. Manual técnico/CATIE; n°52. 420p.
- Cremllyn, R.1995. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Ed. LIMUSA. México. pág. 355.
- Criniti, A., Mazzoni, E., Cassanelli, S., Cravedi, P., Tondelli, A., Bizzaro, D. y Manicardi, G. 2008. Biochemical and molecular diagnosis of insecticide resistance conferred by esterase, MACE, kdr and super-kdr based mechanisms in Italian strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 90: 168–174
- Cygler, M.; Schrag, J. D.; Sussman, J. L.; Harel, M.; Silman, I. and Gentry, M. K. 1993. Relationship between sequence conservation and three-dimensional structure in a large family of esterases, lipases and related proteins. *Protein Sci*. 2: 366-382.
- David SK, 1977. Host-selection and speciation in some South Indian aphids. In: Ananthakrishnan TN, ed. *Insects and Host-specificity*. Delhi, India:Macmillan.
- Dávila-A, P., T. Mejía, M. Gómez, J. Valdés-R., J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón y A. Ocampo. 2009. Poáceas (Monocotiledóneas), en S. Ocegueda y J. Llorente-B.(coords.), *Catálogo taxonómico de especies de México*, en *Capital natural de México*, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO. México, CD1.

- De Vries, D. H. and Georghiou, G.P. 1979. Influence of temperature on the toxicity of insecticides to susceptible and resistant house flies. *J. Econ. Entomol.* 72: págs. 48 – 54.
- Denmark H.A. 1988. Sargacane aphids in Florida. Dept. Agric y consumer Serv., Dir. Plant Industry. 2 pp. *Entomol. Circ No.* 302.
- Devonshire, A. L. 1990. Biochemical and molecular genetic analysis of insects populations resistant to insecticides. Brighton crop protection conference. Pest and Diseases. Pp 889-896
- Devonshire, A. L. and Moores G. D. 1984. Characterization insecticide-insensitive acetylcholinesterasa: microcomputer based analysis of enzyme inhibition in homogenates to individual house fly (*Musca domestica*) heads. *Pestic. Biochem. Physiol.* 21: 341-348.
- DGIAAP-SENASICA. 2013. Lista de Plaguicidas de uso agrícola autorizados. Consultado en línea, junio 2014. Linck de consulta: <http://www.senasica.gob.mx/?id=4099>
- Diccionario de Especialidades Agroquímicas (DEAQ). 2004. PALMSA. 1295 pp.
- Diccionario de especialidades agroquímicas (DEAQ). 2006. PALMSA. 1840 pp.
- Duke, J. 1983. Sorghum X alnum Parodi. Handbook of energy crops. [En línea]: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke-energy/Sorghum-X_almum.html. [Consulta: 8/8/05].
- DUKE, J. 1983. Sorghum X Alnum Parodi. Handbook of Energy Crops. (En línea) Consultado 8 ago. 2005. Disponible en: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Sorghum_Xalmum.html.
- Eloja AL, Tinsley TW, 1963. Abaca virus del mosaico y su relación con mosaico de la caña de azúcar. *Anales de Biología Aplicada*, 51: 253-258.
- FAO 1957. Technical report, No. 125
- FAOSTAT. (2014). food and agriculture organization of the united nations. statistics división. Production of top 5 producers in 2013. Consultado en línea el 08 de octubre de 2016. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
- FAOSTAT. 2011. Food and Agricultural Commodities Production. Faostat, FAO, Dirección de Estadística.

- Ffrench, C. R. H.; steinchen J. C. and Brun, L. O. 1994. A molecular diagnostic for endosulfan insecticide resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*(Coleoptera: Scolytidae) Bull. Entomol. Res.84:11-16.
- Financiera Rural. 2011. Monografía del Sorgo Grano.
- Finney, D. J. (1971). Probit Analysis. Cambridge at the Univ. Press. 3rd Ed. 120 p.
- Flores E. A.; Badii, M. H. y Ponce, G. G. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutricion. Vol. 2 No.4 Octubre-Diciembre. 8 pp.
- Flores-Olivas. A.; Gallegos M. G.; and Garcia M. O. 2004. Memorias del simposio punta morada de la papa. Universidad Autonoma Agraria Antonia Narro, Saltillo, Coahuila, Mexico. 103 p.
- Galarza, M.J.M., Miramontes, P.J., Castillo, M. y Rebolledo, M.A. 2004. Situación Actual y Perspectivas de la Producción de Sorgo en México 1992-2003. SIAP, SAGARPA. México. Pp.93.
- Gallardo N.Y. (2007). Sorgo, una alternativa productiva. Instituto Politécnico Nacional (IPN). www.teorema.com.mx/articulos.php?id_sec=46&id_art=216&id_ejemplar=80.
- Garcés, F. F.; C. Balladares; G. Quiridumbay; C. Muñoz: «Diagnosis of Leaf Fleck, Leaf Scald, Mosaic, Ratoon Stunting Disease in Commercial Fields and Quarantine in Ecuador», Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol. 25: 695-700, EE. UU., 2005.
- Georghiou G. P. 1983. Management of resistance in arthropods. In Georghiou G.P. and T. Saito (eds.). Pest Resistance to Pesticides. Plenum Press. New York, USA. 76: 131 – 140.
- Golenda, C. F. and Forgash, A. J. 1989. The distribution and metabolism of fenvalerate in pyrethroid resistant and susceptible house flies. Pestic. Biochem. Physiol. 33 (1): 37 – 48.
- Gómez L., L.A.; Lastra B., L.A. 1995. Insectos asociados con la Caña de Azúcar en Colombia. En: CENGICAÑA El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia, Cali, CENICAÑA, 1995. P237-263.

- Gómez –Souza, J; Díaz, J. 1999. Aspectos biológicos de *Melanaphis sacchari* (Zehnt.) (Homoptera, Aphididae). Centro Agrícola, Año 26, No. 3.
- González, A.T. 1961. Experimentación sobre el cultivo de sorgo en Costa Rica. Tesis Ing. Agr. Facultad de Agronomía. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 160 p.
- Hamid S, 1987. Fecundity potential of graminaceous aphids in Pakistan *Jornal of Zoology*, 17(1): 49-58.
- Hayes, J. D. and Pulford. D. J. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30: 445-600.
- Hubert, J. J. 1980. Bioassay. Kendall/Hunt Pub. Co. USA. 164 p.
- Ibel, K.; May, R. P.; Kirscheer, K.; Szadkowski, H.; Mascher, E. and Lundahl, P. 1990. Protein-decored micelle structure of sodium-dodecyl-sulfatoproyein complexes as determinadesd by neutrón scattering. *Eur. J. Biochem.* 190: 311-318.
- INIFAP. (2015). Control químico del pulgón amarillo del sorgo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Programa de Investigación: Sanidad Forestal y Agrícola. Informe de proyecto. Proyecto No. 1025432562. 2 p.
- INIFAP-CIRNE. (2015). El pulgón amarillo, una nueva plaga del sorgo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias- Centro de Investigación Regional del Noreste. Boletín electrónico, 1(16). 3 p.
- INTAGRI. (2014). Situación Actual del Pulgón Amarillo del Sorgo en México. Consulta en línea el 11 de noviembre del 2016. Disponible en; <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/la-situacion-actual-del-pulgon-amarillo-del-sorgo-en-mexico#sthash.OzILe0XA.dpbs>
- IRAC. (2005). Susceptibility Test Methods Series: Method 2. *Psylla* spp. (Insecticide Resistance Action Committee) In: www.iraonline.org/documents/method2.pdf

- ISSCT, 1989. Las enfermedades de la caña de azúcar y su distribución mundial. En: Ricaud C, Egan BT, Gillaspie AG Jr, Hughes CG, eds. Enfermedades de la caña de azúcar. Nueva York, EE.UU.: Elsevier, 341-376.
- Kang, J., Price, W., Ashton, J., Tapsell, L., y Johnson, S. (2016). Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of sorghum wholegrains by LC-ESI-MSn. *Food Chemistry* 211:215–226.
- Koike H, Gillaspie AG Jr, 1989. Mosaico. En: Ricaud C, Egan BT, Gillaspie AG Jr, Hughes CG, eds. Enfermedades de la caña de azúcar. Nueva York, EE.UU.: Elsevier, 301-322.
- Lagunes, T. A. Y J. Villanueva, J. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillos, Edo. De Mexico. 264 pp.
- Li, F. y Han, Z. 2004. Mutations in acetylcholinesterase associated with insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34:397–405
- Liñan, C: 1997. Farmacología vegetal. Ed. Agrotécnicas, S. L. España. 1194 pp.
- Liu, N. and Scott, J. G. 1997. Phenobarbital induction of Cyp6D1 is due to a *trans* acting factor on autosome 2 in house flies, *Musca domestica*. *Insect. Mol. Biol.* 6: 77-81.
- López M. and Fernández M, 1999. Biology of *Melanaphis sacchari* (Z) in sugar cane II-life cycle, survival curve and populations parameters (biología de *Melanaphis sacchari* (Z) en caña de azúcar II-ciclo de vida, curva de supervivencia y parámetros poblacionales). *Revista de Protección Vegetal*, 14(3):155-159.
- Lund, A. E. and Narahashi, T. 1983. Kinetics of sodium channel modification as the basis for the variation in the nerve membrane effects of pyrethroids and DDT analogs. *Pestic. Biochem. Physiol.* 20: págs. 203 -216
- Maya, V. y Rodríguez, L. (2014). Pulgón amarillo: una nueva plaga del sorgo en Tamaulipas. Centro de Investigación Regional Noreste, campo experimental Río Bravo. Desplegable para productores. INIFAP/CIRNE: A-532.
- Metcalf, R. L. 1989. Insect Resistance to Insecticides. *Pestic. Sci.* 26:333-358.

- Millar, T. A. and Adams, M.E. 1982. Mode of action of pyrethroids. In: Coats, J.R. Insecticide mode of action. Ed. Academic Press. New York, USA. págs. 3 – 27.
- Nakatsugawa, T. and Morelli, M. A. 1976. Microsomal oxidation and insecticide metabolism. En: Wilkinson, C.F. (ed.). Insecticide Biochemistry and Physiology. Plenum Press. New York, USA. págs. 61 – 113.
- Narahashi, T. 1971. Effects of insecticides on nervous conduction and synaptic transmission. In: Wilkinson, C. F. (ed.) New York, USA. págs. 327 – 352.
- Oakeshott J.G., E.A. van Papenrecht, T.M. Boyce, M.J. Healy and R. J. Russell. 1993. Evolutionary genetics of *Drosophila* esterases. *Genetica*. 90: 239-268
- Omegar Hernández Bautista, 2013. Determinación de Enzimas de Resistencia en Poblaciones de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (HEMIPTERA: TRIOZIDAE) Procedentes de la Zona Papera de Coahuila y Nuevo León. Pag 56.
- Pérez, A.; Saucedo, O.; Iglesias, J.; Wencomo, HB.; Reyes, F.; Oquendo, G.; Milián, I. 2010. Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), ISSN 0864-0394 Pastos y Forrajes 33: (1)
- Ragae, S., Abdel-Aal, E.-S. M., Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98 (1) (2006), pp. 32–38
- Rensburg NJV, 1973. Notes on the occurrence and biology of the sorghum aphid in South Africa. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa*, 36(92):293-298.
- Ricaud C, 1980. Los síntomas de la enfermedad de la raya de caña de azúcar - similitudes con mosaico. *Boletín de caña de azúcar Patólogos* ', N ° 25: 18-21
- Ruiz, V.J. & Cruz, C.R.J. 2005. Selección de cultivares forrajeros de sorgo (*Sorghum bicolor*) y mijo (*Pennisetum americanum*) por índices de eficiencia de producción y calidad. *Agronomía Mesoamericana*. 16 (2):159
- SAGARPA-CESV. (2016). Presencia del Pulgón Amarillo en el cultivo del Sorgo en el Valle de Mexicali: SAGARPA-CESV. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Baja California, Boletín de prensa. Boletín 189-2016. 2 p.

- SENASICA, 2014. Pulgón amarillo *Melanaphis sacchari* (Zehntner). Ficha técnica No. 43. SAGARPA. www.senasica.gob.mx/?doc=27915
- SENASICA. 2014. Pulgón amarillo *Melanaphis sacchari* (Zehntner). Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D.F. Ficha Técnica, no 43, 15 p.
- Setokuchi O, 1979. Damage to forage sorghum by *Longiunguis sacchari* (Zenntner) (Aphididae). Proceeding of the Association of Plant Protection of Kyushu, 22:139-141.
- SIAP. (2003). Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera. Situación actual y perspectivas de la producción de sorgo en México 1992-2004. Boletín informativo. 93 p. Consultada en línea el 08 de octubre de 2016. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/97935/sorgo92-04.pdf>
- SIAP. (2014). Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Consultada en línea el 08 de octubre de 2016. http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp
- SIAP. 2014. Anuarios de producción agrícola 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consultada en línea en Junio 2014: <http://siap.sagarpa.gob.mx>
- SIAP-SIACON. 2011. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. México.
- Singh, B.U; Padmaj, P.G.; Seetharama, N. 2004. Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae). In sorghum: a review . *Crop Protection*, 23: 739-755.
- Soderlund, D. M., Bloomquist, J. R., Wong, F., Payne, L. L. and Knipple, D.C. 1989. Molecular neurobiology: Implications for insecticide action and resistance. *Pestic. Sci.* 26:págs. 359 – 374.
- Stefoska-Needham, A., Beck, E.J., Johnson, S.K., y Tapsell, L. (2015). Sorghum: an underutilized cereal whole grain with the potential to assist in the prevention of chronic disease. *Food Reviews International*, 31 (4) (2015), pp. 401–437

- Teakle DS, Shukla DD, Ford RE, virus del mosaico de la caña de azúcar 1989.. Las descripciones AAB de virus de plantas N° 342. Wellesbourne, Reino Unido: Asociación de Biología Aplicada, 5.
- Teetes GL, Manthe CS, Peterson GC, Leuschner K. Pendleton BB, 1995. Sorghum resistant to the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Homoptera: Aphididae), in Bostwana and Zimbabwe. *Insect Science and its Applications*, 16(1):63-71.
- Twine, P. H. and Reynolds H. T. 1980. Relative susceptibility and resistance of the tobacco budworm to methyl parathion and synthetic pyrethroids in southern California. *J. Econ. Entomol.* 73: 339- 242.
- Vais, H., Williamson, M. S.; Hick, C. A.; Eldursi, N.; Devonshire, A. L. and Usherwood, P. N. 1997. Functional analysis of a rat sodium channel carrying a mutation for insect knock-down resistance (kdr) to pyrethroids. *FEBS Lett.* 413: 427-332.
- Villanueva, S. R.T., S. Armstrong, D. Sekula-Ortíz, G. Esparza-Díaz and V. Maya. 2014. Status of the sugarcane aphid *Melanaphis sacchari* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) in México and the U.S. 2013-2014. *Memorias XXXVII Congreso Nacional de Control Biológico*. Mérida, Yucatán, México, 6-7 Noviembre de 2014.
- Voegtlin, D.; Villalobos, W.; Sánchez, M.; Saborió, G. y rivera, C. 2003. Áfidos alados de Costa Rica. *Revista de Biología Trópic*, Vol. 51. Supl 2. Mayo, 2003. UCR, San José, Costa Rica. 225 pag.
- Wondji, C.S., Irving, H., Morgan, J., Lobo, N.F., Collins, F.H. 2009. Two duplicated P450 genes are associated with pyrethroid resistance in *Anopheles funestus*, a major malaria vector. *Genome Res.* 19:452-459.
- Zhang XJ, Zhang TS, 1983. 11 Callaphididae. *The book of economic insects in China*. Volumen 25. Homoptera. Aphides (Edited by Academia Sinical, Editorial Board of Chinese Fauna) China; Science Publishers, 156-183.
- Zhou, Z. H. and Syvanen, M. A. 1997. A complex glutathione transferase gene family in the housefly *Musca domestica*. *Mol. Gen. Genet.* 256: 187-194.