

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Determinación de Enzimas de Resistencia en Poblaciones de *Spodoptera frugiperda* S. (Lepidoptera: Noctuidae) Procedentes del Estado de Guanajuato

Por:

EDWIN GERMÁN LÓPEZ MOLINA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Determinación de Enzimas de Resistencia en Poblaciones de *Spodoptera frugiperda* S. (Lepidoptera: Noctuidae) Procedentes del Estado de Guanajuato

Por:

EDWIN GERMÁN LÓPEZ MOLINA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría



Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor Principal



Ing. José Francisco Rodríguez Rodríguez

Coasesor



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de División Agronomía

División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2017

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar a Dios todo poderoso por darme la oportunidad de culminar mis estudios profesionales, por acompañarme en este tiempo que estuve lejos de mi familia así como colmarme de bendiciones y sobre todo por darme la paciencia y la fortaleza para lograr este objetivo en mi vida, por todo eso y muchas otras cosas más GRACIAS DIOS MÍO.

A mis padres

Por haberme dado la vida, y por brindarme todo su apoyo para lograr este objetivo que me trace en la vida, por todos sus consejos y por darme la confianza para poder lograrlo. Muchas gracias papá y mamá.

A la gloriosa ALMA TERRA MATER

Por haber sido mi segundo hogar y haberme albergado durante este tiempo que me llevó mi formación profesional, así como darme la dicha de ser uno más de sus egresados.

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez

Por brindarme su confianza y la oportunidad para la realización de este proyecto de investigación.

A la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes

Por formar parte del comité de evaluación y revisión de este proyecto de investigación.

Al Ing. José Francisco Rodríguez Rodríguez

Por brindarme su apoyo y su tiempo para la realización de este proyecto de investigación.

A los profesores del departamento de parasitología

Por haberme compartido de sus conocimientos durante el tiempo que llevo mi formación profesional.

A mis compañeros de la generación CXXII

Por pasar buenos y gratos momentos los cuales llevaré presentes a donde quiera que valla.

DEDICATORIAS.

A mis padres

FELIPE LÓPEZ VILLASEÑOR y BALDINUSI MOLINA VALDOVINOS, a través de este logro quiero devolverles un poco de lo mucho que me han dado, y demostrarles mi cariño y sobre todo lo mucho que los quiero.

A mi hermana

BRISEIDA LÓPEZ MOLINA, por ser una de mis motivaciones para alcanzar este gran objetivo.

A mis tíos y tías

Que me apoyaron económicamente así como moralmente para poder realizar este proyecto en mi vida.

A mis compañeros

Mario, Max, Molina, Alonso, Royer, Roy Huerta, al M.C. Alejandro, y a todos mis paisanos michoacanos en la Narro por brindarme su amistad durante este tiempo la cual me sirvió de mucho para no renunciar a mis estudios profesionales.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIAS.....	vii
INDICE GENERAL.....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	xi
INDICE DE TABLAS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo general.....	3
Objetivo específico.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Origen del maíz.....	4
Importancia del maíz.....	4
Producción mundial.....	5
Producción nacional.....	5
Producción en Guanajuato.....	6
Taxonomía del maíz.....	7
Descripción botánica.....	7
Raíz.....	7
Tallo.....	7
Hojas.....	7
Flores.....	8
Fruto.....	8
Principales plagas en el maíz.....	8
Gusano cogollero (<i>Spodoptera frugiperda</i>) en maíz.....	8
Clasificación taxonómica.....	9

Ciclo Biológico.	9
Huevos.	10
Larvas.....	10
Pupa	10
Adulto	11
Hospederos.	11
Daños en el Maíz.....	11
Métodos de control.	12
Control cultural.	12
Control biológico.....	12
Control químico.	12
Resistencia.....	13
Resistencia de comportamiento.....	14
Resistencia cruzada.....	14
Resistencia de penetración.....	14
Resistencia al sitio de acción.....	14
Resistencia metabólica.....	14
Esterasas.....	15
Oxidasas.....	15
Glutación-S-Transferasas.....	15
Acetilcolinesterasa.....	16
Determinación de resistencia.	16
Bioensayos.	16
Electroforesis.	17
Pruebas bioquímicas.	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Ubicación del experimento.....	18

Colecta del material biológico.....	18
Determinación de proteína.....	19
Preparación de homogenatos.....	19
Pruebas Bioquímicas.....	19
Determinación de α y β -esterasas.....	19
Determinación de Glutathion-S-transferasa.....	20
Determinación de acetilcolinesterasa.....	21
Determinación de oxidasas.....	22
Análisis de resultados.....	23
RESULTADOS Y DISCUSION.....	24
CONCLUSIONES.....	36
LITERATURA CITADA.....	37

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura.1. Producción mundial del maíz.....	5
Figura.2. Producción nacional del maíz.....	6
Figura.3. Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	10
Figura.4. Incubación de microplaca con Fast-blue para determinar α y β - esterasas.....	20
Figura.5. Lectura de absorbancias en el lector de placas.....	21
Figura.6. Microplaca para determinar acetilcolinesterasa.....	22
Figura.7. Incubación de microplaca con H ₂ O ₂ para determinar oxidases.....	22
Figura.8. Absorbancias de proteína en homogenatos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	24
Figura 9. Mapa de la distribución de β -Esterasas.....	33
Figura 10. Mapa de la distribución de α -Esterasas.....	33
Figura 11. Mapa de la distribución de Glutación s- transferasa.....	34
Figura 12. Mapa de la distribución de Acetilcolinesterasa.....	34
Figura 13. Mapa de la distribución de Oxidasas.....	35

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> y su producción de Maíz del estado de Guanajuato.....	18
Tabla 2. Porcentajes de resistencia de cada enzima en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	26
Tabla 3. Medias de proporción de resistencia de cada enzima para las poblaciones en estudio.....	27
Tabla 4. Análisis de varianza del contenido de β -Esterasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	27
Tabla 5. Comparación de medias del contenido de β -Esterasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	28
Tabla 6. Análisis de varianza del contenido de Alfa-Esterasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	28
Tabla 7. Comparación de medias del contenido de alfa-Esterasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera. frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	29
Tabla 8. Análisis de varianza del contenido de glutatión s- transferasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	29
Tabla 9. Comparación de medias del contenido de glutatión s-transferasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	30
Tabla 10. Análisis de varianza del contenido de acetilcolinesterasa en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	30
Tabla 11. Comparación de medias del contenido de acetilcolinesterasa en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	31

Tabla 12.	Análisis de varianza del contenido de oxidasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	31
Tabla 13.	Comparación de medias del contenido de oxidasas en 5 poblaciones de <i>Spodoptera frugiperda</i> del estado de Guanajuato.....	32

RESUMEN

El maíz es uno de los cultivos de mayor producción a nivel mundial y nacional, ya que es uno de los cereales más importantes para la base de la alimentación humana y de animales domésticos, sin embargo se ve afectado por organismos plaga que reducen su producción. El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* es una de las principales plagas que afectan al cultivo del maíz, donde los principales daños que ocasiona al cultivo son: una reducción en el rendimiento del 13 al 60%, debido a la pérdida del área foliar y un retraso o inhibición en la emisión de inflorescencias por lo que se ha incrementado el uso de insecticidas para el control de esta especie lo que traen consigo problemas de resistencia a los principales ingredientes activos empleados para su manejo, por lo que el objetivo de esta investigación fue Determinar la actividad enzimática de resistencia de *Spodoptera frugiperda* en diferentes poblaciones en la zona Laja-Bajío en el estado de Guanajuato. Se realizaron pruebas bioquímicas de α y β esterasas, Glutathion s-transferasa, Acetilcolinesterasa y Oxidasas para determinar y cuantificar niveles enzimáticos de resistencia en cinco poblaciones gusano cogollero del estado de Guanajuato y una línea susceptible proporcionada por el Inifap campus Celaya. Los resultados mostraron presencia de todas las enzimas, las β esterasas y Glutathion s transferasa fueron las que reportaron mayor presencia, por su parte acetilcolinesterasa presento el menor contenido para las poblaciones en estudio. Estos resultados sugieren que las β esterasas y Glutathion s transferasa son el principal mecanismo de resistencia para *Spodoptera frugiperda* en el estado de Guanajuato.

Palabras clave: *Spodoptera frugiperda*, α y β esterasas, Glutathion s-transferasa, Acetilcolinesterasa, Oxidasas, Resistencia.

Correo electrónico: Edwin Germán López Molina: edwingermany_2009@hotmail.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del maíz (*Zea mays*L.), es considerado una de las principales gramíneas en el ámbito nacional y mundial, por la importancia que representa en la dieta alimenticia para las personas y animales así como la gran cantidad de empleos directos e indirectos que genera en toda su cadena de producción (Costa, 2002).

La producción de maíz entre los ciclos comerciales 2004/05 y 2014/15, en el mundo presentó un crecimiento promedio anual de 3.5 %, para ubicarse en este último en 1,008.7 millones de toneladas, lo que representa el nivel de producción más alto de la historia. La producción mundial para el año 2015/2016 sufrió una reducción de 3.6 % en relación a 2014/15, lo que se traduce en 972.6 millones de ton. (FIRA, 2015a).

De acuerdo con el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), (2017). La producción de maíz a nivel mundial en el año 2016 fue de 960.73 millones de toneladas donde los principales productores son: Estados Unidos con el 40 % seguido de China con el 22%, Brasil con 9 %, Unión Europea con el 3.7%, Ucrania con 2.9%, México con el 2.7% y la India con 2.5%, donde México ocupa el sexto lugar nivel mundial. Según la SIAP (2017a) para el cierre de producción agrícola del año 2015 en México se reportó una producción de 109,509.65 ton siendo los principales estados productores de maíz son: Sinaloa con el 21% de la producción nacional, Jalisco con el 13%, Estado de México con el 8%, Michoacán con el 7%, Chihuahua y Guanajuato con el 5 % .El estado de Guanajuato ocupa el quinto lugar nacional en producción de maíz con una superficie de siembra de 7,251.00 ha de las cuales se obtuvo una producción 29,844.10 ton con un rendimiento de 4.12 ton/ha, lo cual significa un ingreso per cápita para el estado de \$ 365,255.10 (SIAP, 2017b).

Una de las principales plagas que afectan al maíz es el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Rojas *et al.*, 2004; Murúa *et al.*, 2006; Farias *et al.*, 2008). La presencia de esta plaga se considera endémica, es decir siempre existen poblaciones que causan daño en mayor o menor proporción al cultivo (Zenner de Polanía y Borrero, 1994; Zenner de Polanía *et al.*, 2006). El daño económico de esta especie generalmente es importante, una infestación no controlada de *S. frugiperda* puede ocasionar una reducción en el rendimiento del 13 al 60%. El cogollero hace raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas translúcidas; una vez que la larva alcanza cierto desarrollo, empieza a comer follaje perfectamente en el cogollo que al desplegarse las hojas muestran una hilera regular de perforaciones a través de la lámina o bien áreas alargadas (Ortiz, 2010), existiendo pérdida del área foliar y aun retraso o inhibición en la emisión de inflorescencias (García, 2008). Las pérdidas de rendimiento de grano de maíz por defoliación no solo dependen de la cantidad de área destruida, si no de la etapa de desarrollo del cultivo en que esta ocurra (Lauer, 2009). Esta plaga puede atacar al maíz desde su germinación hasta la madurez del cultivo, los ataques tempranos afectan estados vegetativos de desarrollo, mientras que los ataques tardíos pueden dañar las espigas (Aragón, 2002).

Actualmente, las estrategias para su manejo incluyen el uso de insecticidas químicos y la utilización de maíces transgénicos que expresan toxinas derivadas de la bacteria (*Bacillus thuringiensis*) (Mentaberry & Ghio, 2002). Su control se lleva a cabo principalmente con plaguicidas relativamente novedosos con diferente modo de acción a los convencionales, con acción por ingestión y con menor efecto nocivo sobre enemigos naturales con resultados sobresalientes, como son: Benzoato de Emamectina promotor de parálisis intestinal, Spinetoram interrumpe la transmisión de impulsos de entre las células nerviosas, Novalurón, regulador de crecimiento que inhibe la síntesis de la quitina, entre otros insecticidas con diferente modo de acción como reguladores de crecimiento: Methoxyfenozide y el Tebufenocide (Reyes, 2014).

En las últimas tres décadas, el uso intensivo de plaguicidas de amplio espectro para el control de este insecto ha ocasionado el desarrollo de resistencia a la mayoría de los productos registrados para su control, además de resurgencia de

plagas secundarias y contaminación ambiental (Morillo y Notz, 2003). Está demostrado que la resistencia de los insectos a los insecticidas es frecuentemente el resultado de un incremento de la actividad metabólica (niveles enzimáticos) de la plaga. Estos mecanismos de resistencia metabólica no están ligados a ningún punto de acción específico y por tanto, pueden conferir resistencia a insecticidas de más de un grupo de diferente modo de acción (IRAC, 2015). Las principales enzimas que se encuentran realizando estos mecanismos son: esterasas, mono-oxigenasas, citocromo P450, y glutatión s-transferasas. Los insectos resistentes pueden tener elevados niveles de una enzima en particular o formas alteradas de la enzima que metaboliza al plaguicida a un nivel más rápido que la forma no alterada (FAO, 2012). En la agricultura se ha recurrido al estudio de estas biomoléculas para encontrar soluciones a dos grandes retos: la pérdida de cultivos por ataque de plagas y la utilización de compuestos sintéticos tóxicos para su control (Morillo y Notz, 2003).

Objetivo general

Cuantificación de enzimas detoxificativas en diferentes poblaciones de *Spodoptera frugiperda* de la zona Laja-Bajío en el estado de Guanajuato.

Objetivo específico

Conocer la proporción de resistencia conferida por enzimas detoxificantes (β -Esterasas, Oxidasas, Glutacion S-Tranferasas y Acetilcolinesterasas), en cada una de las poblaciones.

Hipótesis

La distribución del contenido de enzimas será diferente entre las poblaciones estudiadas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del maíz

El maíz (*Zea mays* L.) surgió en México hace 7,000 años (5,000 A.C.). En aquella época no existía México como país, por eso se dice que nació en Mesoamérica, territorio que comprende el Centro y Sur de nuestro país y una parte de los países centroamericanos. Los mesoamericanos utilizaban el maíz no solo para alimentarse, sino también como parte importante de sus ceremonias religiosas (SIAP, 2010).

El teosinte es el ancestro silvestre del maíz, dicho de otra manera, el maíz es un pariente lejano del teosinte (*Z. mays* ssp. *parviglumis*) que apareció hace unos 8000 años. Las variedades actuales de maíz proceden del teosinte, mejoradas genéticamente después de miles de años de selección. El teosinte y el maíz siguen siendo de la misma especie (CSCV, 2014).

Importancia del maíz

El maíz es el cultivo más importante de México, desde el punto de vista alimentario, económico, político y social. Este cereal es altamente cultivado por su aportación nutricional, consumiéndose principalmente por su grano seco procesado, otra forma de consumo es en el estado fresco o elote. (Hernández *et al.*, 2001). Este grano se produce en dos ciclos agrícolas: primavera–verano y otoño–invierno, bajo diversas condiciones agroclimáticas de humedad: temporal, y de riego (SIAP, 2007). Desde el punto de vista económico, el maíz se siembra en más de 8 millones de hectáreas, que representa 39 % de la superficie agrícola nacional y 63 % de la superficie sembrada con granos y oleaginosas; contribuye con 8 % del producto interno de la agricultura y es el cultivo que más fuerza de trabajo ocupa. No obstante, se importaron 8 millones de toneladas de grano de maíz en 2006 y 10 millones de toneladas en 2010, lo que pone a este alimento a

la cabeza de las importaciones de productos agrícolas de México (González *et al.*, 2008).

Producción mundial

La superficie mundial dedicada al maíz, se ha reducido en 3 millones de ha, llegando a 175 millones de hectáreas en 2014/15 (Maluenda, 2015). Según estimaciones de Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), la producción mundial de maíz a enero de 2015 fue de 988.1 millones de toneladas. Los países líderes en producción de maíz son: Estados Unidos con 36.5%, China con 21.7%, Brasil con el 7.5%, Ucrania con 2.7% y México con el 2.3% (FIRA, 2015b). Figura 1.

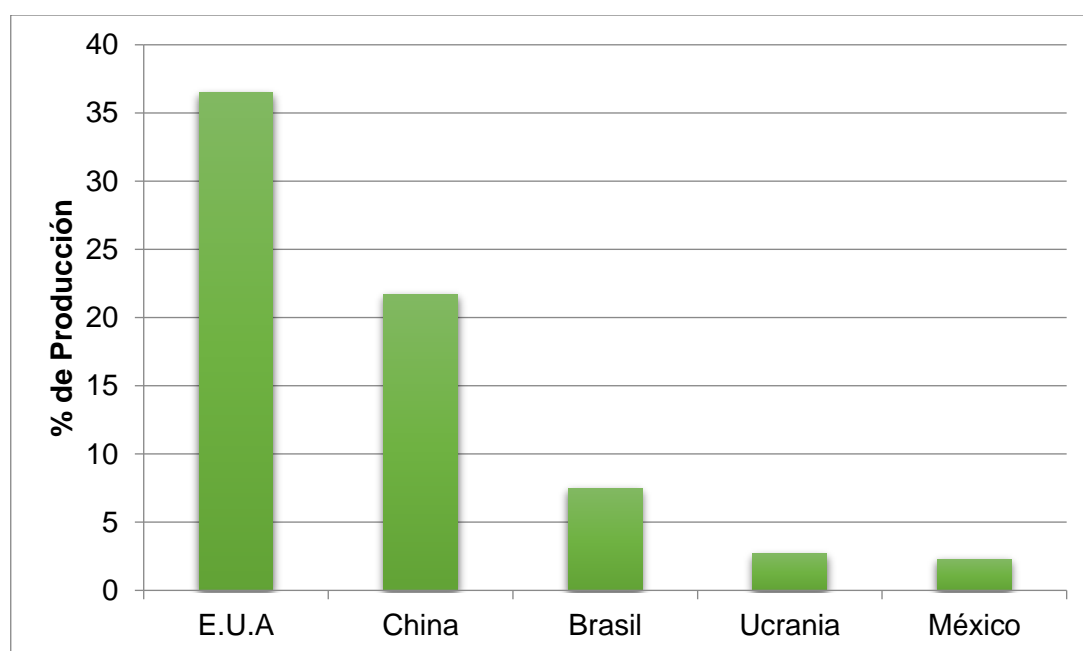


Figura 1. Principales países productores de maíz (*Z. mays*).

Producción nacional

De acuerdo con un informe de SAGARPA (2016), durante el año comercial octubre 2015 – septiembre 2016 (que incluye los ciclos productivos Primavera-Verano y Otoño-Invierno), la producción total de maíz fue de 25.7 millones de toneladas. En el ciclo Primavera-Verano 2015 se produjeron 17.3 millones de

toneladas de maíz y en el ciclo Otoño - Invierno 2015/16, la producción fue de 8.4 millones de toneladas. Durante el ciclo Primavera-Verano, los principales estados productores de maíz fueron Jalisco, Estado de México y Michoacán, que abarcan el 40 por ciento de la producción y le siguen en importancia, Guanajuato, Chihuahua, Puebla, Chiapas, Guerrero y Veracruz. Para el ciclo Otoño–Invierno, los estados que aportaron el mayor volumen fueron Sinaloa y Tamaulipas, con cerca del 84 por ciento del total para este periodo, destacan también Veracruz, Chiapas, Oaxaca y Guerrero.

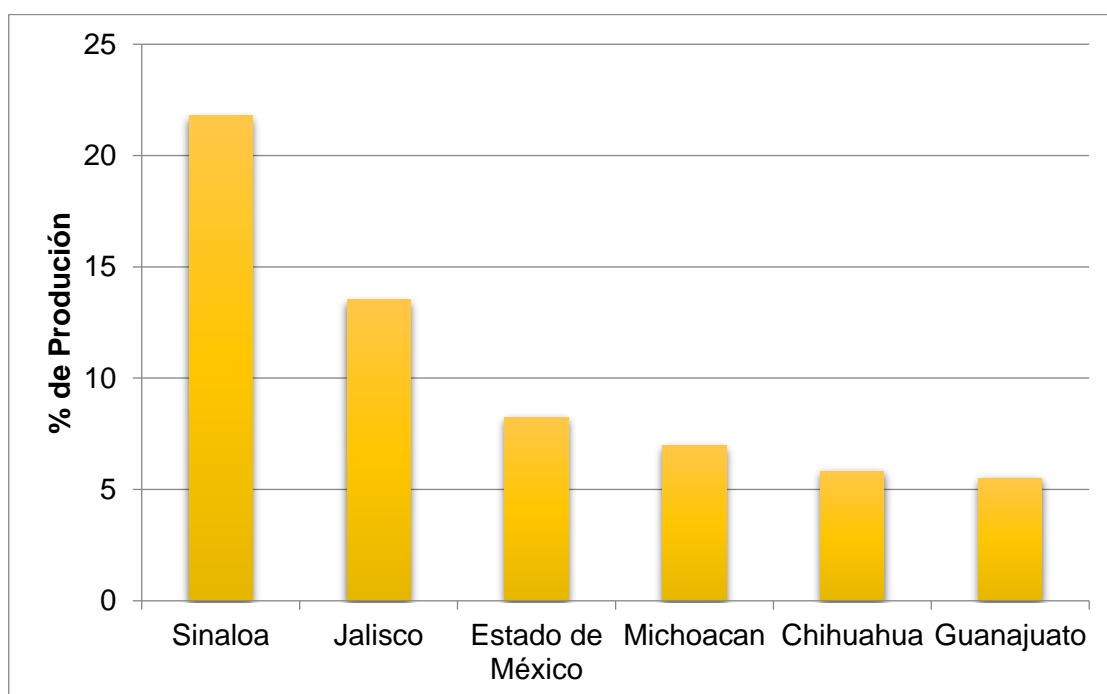


Figura 2. Principales estados productores de maíz (*Z. mays*) en México.

Producción en Guanajuato

Para el año 2015 en el estado de Guanajuato se sembraron 356,833.88 ha tanto de temporal como de riego de las cuales se obtuvo una producción total de 1,361,922.09 ton, con un rendimiento promedio de 4.12 ton/ha, lo cual significó un valor de producción de \$ 4,655,614.62 (SIAP, 2017b). Donde los principales destinos de exportación son: Venezuela, con 83.7 % del volumen enviado, lo que representa 0.33 millones de toneladas; le sigue Estados Unidos, con 9.2%, y finalmente Nicaragua, con 7.0 % del total exportado (FIRA, 2015). Sin embargo el

SIAP, 2010, mencionó que la producción de maíz está orientada a satisfacer las necesidades de la población.

Taxonomía del maíz

La clasificación taxonómica del maíz según Rosa (2009) se conoce como sigue:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays* L.

Descripción botánica

La planta del maíz es una monocotiledónea anual de elevado porte que puede alcanzar de 2 a 6 metros de altura, frondosa, con un sistema radicular fibroso y un sistema caulinar con pocos macollos (ECOCROP, 2007).

Raíz

El sistema radicular presenta una parte de raíces adventicias seminales que constituye cerca del 52 % de la planta además de ser el principal sistema de fijación y absorción de la planta, mientras que el sistema nodular es el 48% de la masa total de raíces de la planta, la función de las raíces de anclaje para mantener la planta erecta para así evitar su caída (Kato *et al.*, 2009).

Tallo

El tallo es simple, erecto, pudiendo alcanzar entre 2 y 6 metros de altura, con numerosos nudos y entrenudos (Kato *et al.*, 2009).

Hojas

Se desarrollan a partir de las yemas foliares. Al principio el crecimiento es mayormente apical; posteriormente se van diferenciando los tejidos mediante crecimiento en todos los sentidos hasta adquirir la forma característica de la hoja

del maíz, o sea, larga, angosta, con venación paralelinervia y constituida por la vaina, la lígula y el limbo (Cruz *et al.*, 2012a)

Flores

La inflorescencia masculina es la terminación del tallo principal y está formada por una espiga central y varias ramas laterales, organizada en una panícula laxa. Aquí se asientan las flores masculinas agrupadas en espiguillas pareadas, una de las cuales es pedicelada y la otra es sésil. Cada espiguilla posee dos florecillas funcionales y cada una de estas posee tres anteras productoras de polen. La polinización se efectúa mediante la caída libre del polen sobre los estigmas (Bejarano, 2000).

La mazorca o inflorescencia femenina marca un menor contenido en granos de polen, alrededor de los 800 o 1000 granos y se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices que se disponen de forma lateral, las hojas son largas, de gran tamaño, lanceoladas, alternas, paralelinervias se encuentran abrazadas al tallo y por el haz presentan vellosidades (Cruz *et al.*, 2012a).

Fruto

Es clasificado como cariósipide, fruto seco que no se cae de su soporte. Este proviene de un ovario compuesto. La cubierta del grano está fuertemente adquirida al pericarpio (Cruz *et al.*, 2012a)

Principales plagas en el maíz

El cultivo de maíz tiene varias plagas que son de importancia para el cultivo entre las cuales destacan; el grupo de las palomillas, gusano cogollero, gusano elotero, barrenadores, las palomillas de almacén, los coleópteros, (gusano de alambre gusanos de raíz y, gallinas ciegas, gorgojos y barrenadores del grano), trips y arañita roja son algunos de los insectos más importantes y que más daños causan al maíz (García *et al.*, 2007).

Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en maíz

Este insecto, es considerada en muchos aspectos la principal plaga potencial del maíz provocando pérdidas promedio de 30 a 40 % en México (Rodríguez y De León, 2008). El gusano cogollero o simplemente *Spodoptera*, como también se le denomina comúnmente, actúa como gusano tierrero, trozador o gusano ejército y

como cogollero que es su hábito más característico en el maíz (Negrete y Morales 2003). Las mayores poblaciones de las larvas de *S. frugiperda* se colectan entre los meses de abril a septiembre, influido entre otras causas fundamentales, por la temperatura, encontrándose el óptimo para esta especie entre 25 y 27 °C. De forma similar ocurre con la actividad de vuelo de esta plaga (Meneses *et al.*, 2008). Cabe resaltar que las plantas de maíz son susceptibles de ser dañadas por el gusano cogollero durante su desarrollo vegetativo, de la emergencia y hasta 55-60 días después de dicha fase por lo tanto, es en esta etapa cuando debe muestrearse la plaga y en su caso aplicar las medidas de control (CESAVEG, 2008).

Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del gusano cogollero taxonómica según Borror *et al.*, (1989).

Clase: Insecta

Orden: Lepidóptera

Familia: Noctuidae

Subfamilia: Amphipyriinae

Género: *Spodoptera*

Especie: *frugiperda* (Smith)

Ciclo Biológico

El gusano cogollero presenta una metamorfosis completa lo que quiere decir que pasa por los siguientes estadios: huevo, larva, pupa y adulto (USDA, 2014).

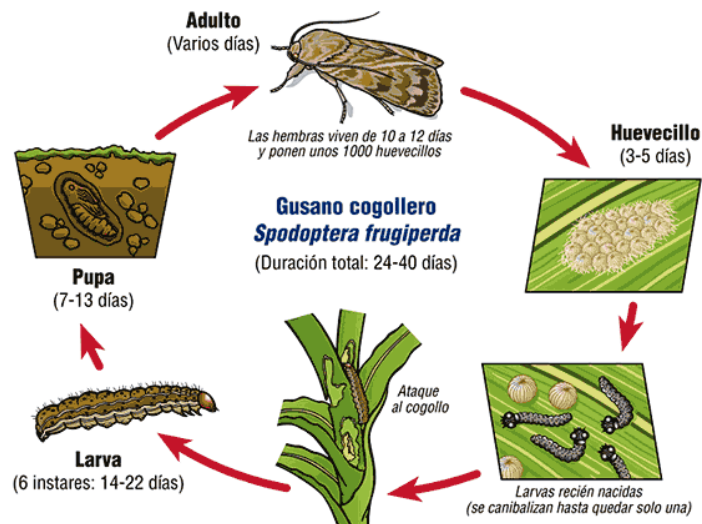


Figura 3. Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda*

Huevos

Son colocados en masas de aproximadamente 100 huevos, en el envés de las hojas y están parcialmente protegidas por una telilla que la hembra excreta al momento de la ovoposición; se ha observado que los huevos pueden ser colocados en malezas del cultivo (Corona, 2008).

Larvas

En estudios realizados para caracterización de estadios larvales Villa y Catalán (2004), reportan que las larvas de *S. frugiperda* presentan cinco a siete estadios larvales caracterizados por diferentes rangos del ancho la región cefálica. Las larvas en los últimos estadios presentan en la cabeza, áreas adfrontales de color blanco-amarillo, en forma de “Y” invertida (Bautista, 2006).

Pupa

La pupa se desarrolla en el suelo, es de color café rojizo y mide entre 14 y 18 mm de longitud (Negrete y Morales 2003).

Adulto

El adulto es una palomilla de color café grisáceo que mide alrededor de 3 cm con las alas extendidas. Las alas del macho son de un color café más claro que el de las hembras y tienen una mancha transversal de color blanco cremoso (Nava y Ramírez 2002).

Hospederos

Nagoshi y Meagher (2008), mencionan, que *S. frugiperda* muestra una serie muy amplia de hospederos, con más de 80 plantas registradas, pero es evidente que prefiere gramíneas (Maíz, Sorgo, y Zacate Bermuda), sin embargo, también se les ha encontrado en otros cultivos como alfalfa, algodón y soya. El gusano cogollero se encuentra en muchas zonas de África, Asia, Europa, Australia y las islas de la Región del Pacífico Occidental. También se ha reportado en Brasil y puede estar presente en otros países de Sudamérica y Centroamérica (USDA, 2014).

Daños en el Maíz

El cogollero hace raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas translúcidas (Ortiz, 2010). Los pequeños agujeros ocasionados por la alimentación en las hojas nuevas se asemejan al daño originado por el gusano barrenador europeo del maíz, y aunque los síntomas iniciales son similares, los umbrales y medidas de control son diferentes en el gusano cogollero. Por lo tanto, es importante encontrar larvas vivas y determinar cuál insecto está causando el daño (Bessin, 2007). Los gusanos se localizan en el cogollo de las plantas, en donde se alimentan de las hojas en formación, las cuales al desarrollarse quedan perforadas y rasgadas, el ataque temprano causa la muerte de la planta o el retraso en su desarrollo (Rodríguez y De León, 2008). La mayor reducción del rendimiento sucede cuando la defoliación se presenta en etapas vegetativas avanzadas y en las etapas reproductivas (Thomison y Nafziger, 2003).

Métodos de control

Control cultural

De acuerdo a Cortez y Rodríguez (2012), las principales actividades culturales para el control del gusano cogollero en maíz son: Una buena selección y preparación del terreno, selección del híbrido a sembrar, la fecha de siembra; Sembrar fuera del periodo recomendado trae como consecuencia riesgos mayores en la producción, la densidad de siembra y llevar un buen control en la fertilización y riegos del cultivo.

Control biológico

Entre los organismos usados como agentes de control biológico se incluyen: parasitoides, depredadores y patógenos para mantener la densidad de otros organismos (huésped o presa) bajo niveles más bajos del que ocurriría en su ausencia (Rodríguez y Arredondo, 2007).

Los principales agentes de control biológico que se utilizan para el control de *S. frugiperda* son: La avispa *Chelonus spp.* que causa una gran mortalidad de larvas, logrando porcentajes de 60% de parasitismo. (Piñango *et al.*, 2001). Otra alternativa de control biológico es el uso de la bacteria *Bacillus thuringiensis* o el hongo *Nomuraea rileyi*. Estos agentes de control pueden ser utilizados como un componente del MIP debido a que son selectivos a insectos benéficos. (Nava *et al.*, 2004). Cruz *et al.*, (2002b) evaluaron la eficacia del baculovirus con una formulación en polvo humectable a diferentes dosis en larvas de *S. frugiperda* recién eclosionadas. Es importante considerar que el efecto letal del virus se presenta entre los 6 a 8 días después de aplicado, por lo cual la mortalidad en campo debe evaluarse a ese tiempo.

Control químico

Durante muchos años, para reducir los efectos nocivos del cogollero, se ha dependido del uso de insecticidas químicos, en muchas ocasiones las efectividades han sido bajas, debido a que estas se han realizado después que ha pasado el estado ideal para controlar la plaga y la edad más apropiada del cultivo

(Negrete y Morales 2003). Debido a la importancia en este cultivo, los grupos químicos frecuentemente utilizados para su control son organofosforados y piretroides (León-García *et al.*, 2012). De acuerdo a el CESAPEG (2008), en la campaña, “manejo fitosanitario del maíz”, autorizó el uso de Cipermetrina, Clorpirifos etil, Diazinon y Endosulfan para el control de esta plaga en el estado de Guanajuato. Aunque este método contribuye a mantener las poblaciones de la plaga a niveles tolerables, su uso indiscriminado ha ocasionado varios problemas, entre ellos: la contaminación del suelo y mantos freáticos, efectos tóxicos en animales y al hombre, así mismo la muerte de los enemigos naturales de la misma plagas y de otros organismos que ante la ausencia de sus reguladores se convierten en plagas secundarias y así como generación de resistencia a los productos químicos. (Franco *et al.*, 2006).

Resistencia

La resistencia a insecticidas se define como un cambio heredable en la sensibilidad de una población de una plaga que se refleja en repetidos fallos de un producto para alcanzar los niveles de control esperados al ser usado de acuerdo con las recomendaciones de la etiqueta para esa plaga (IRAC, 2015). La resistencia ocurre cuando de forma naturalmente se presenta mutaciones genéticas que permiten a una proporción pequeña de la población resistir y sobrevivir a los efectos del plaguicida. Si esta ventaja se mantiene, al usar continuamente el mismo plaguicida, los organismos resistentes se reproducirán y los cambios genéticos que puedan causar la resistencia serán transferidos de los progenitores a las futuras generaciones (FAO, 2012). Actualmente se han descrito casos de resistencia frente a los principales grupos de insecticidas: ciclodienos; carbamatos; DDT y análogos; organofosforados y piretroides; y más recientemente frente a los nuevos insecticidas neonicotinoides y espinosinas (Whalon *et al.*, 2012). Según la FAO (2012), las plagas agrícolas utilizan una gama de mecanismos para sobrevivir la exposición a los tóxicos. La resistencia puede desarrollarse más fácilmente cuando dos o más de estos mecanismos son utilizados al mismo tiempo.

Resistencia de comportamiento

La resistencia de comportamiento se limita a los insectos, ácaros y roedores. Ésta se refiere a cualquier modificación en el comportamiento del organismo que ayuda a evitar el efecto letal de los plaguicidas. Este mecanismo de resistencia ha sido informado para varias clases de insecticidas, incluyendo organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (FAO, 2012).

Resistencia cruzada

Una determinada población presenta resistencia cruzada cuando la resistencia que posee frente a un determinado insecticida favorece la resistencia frente a otros insecticidas, aunque la población no haya sido expuesta jamás a dichos insecticidas (IRAC, 2012).

Resistencia de penetración

Es el cambio o alteración en la cutícula que reduce o dilata la penetración de un pesticida. La penetración retrasada a través de la cutícula o integumento reduce la concentración del insecticida en el sitio objetivo y previene que el sistema de detoxificación del insecto sea sobre cargado (Cloyd y Cowles, 2010).

Resistencia al sitio de acción

Corresponde al segundo mecanismo más común de resistencia y está referida al cambio en la estructura del sitio o al número de sitios donde el plaguicida causa toxicidad sobre el insecto. El sitio de acción puede ser modificado por poblaciones resistentes impidiendo la acción del insecticida. Como resultado, el insecto no será controlado (Vargas *et al.*, 2008).

Resistencia metabólica

Resistencia inferida por un proceso metabólico, en insectos que son capaces de desintoxicar o descomponer la toxina más rápidamente que los insectos susceptibles, o que rápidamente eliminan las moléculas tóxicas de sus cuerpos.

Los insectos usan sus sistemas enzimáticos para descomponer los insecticidas y las poblaciones resistentes pueden poseer niveles más altos de estas enzimas o de enzimas que son más eficientes durante la desintoxicación (FAO, 2012). Las enzimas responsables para la detoxificación en los organismos son transcritas por Esterasas, Oxidasas y Glutación S-Transferasas (GST) (Flores *et al.*, 2001).

Esterasas

Las carboxilesterasas o esterasas constituyen una gran familia de enzimas que son responsables del metabolismo lipídico y de la detoxificación de xenobióticos, entre otras funciones (Oakeshott *et al.*, 2005). Las esterasas están implicadas en resistencia a organofosforados, carbamatos y piretroides debido a mutaciones puntuales, duplicaciones genéticas, a regulación de la expresión, o a una combinación de los tres mecanismos (Li *et al.*, 2007). Estas enzimas hidrolizan ésteres de esteroides y juegan un papel importante en la absorción y metabolismo de los compuestos lipídicos en organismos vivos (Schmitt *et al.*, 2002).

Oxidasas

Las oxidasas de función múltiple del retículo endoplasmático liso se encuentran en la fracción microsomal de las células y están implicadas como el factor principal en muchos casos de resistencia metabólica a carbamatos y también detoxifican insecticidas organofosforados, piretroides y DDT entre otros (Bisset, 2002). Las oxidaciones catalizadas por el P-450 son reacciones de monooxigenación dependientes de NADPH y para las que utiliza oxígeno molecular. Como consecuencia de estas reacciones el P-450 acelera la eliminación del organismo de gran número de compuestos tóxicos, pero también es el responsable de la activación de toxinas (Donato, 2014).

Glutación-S-Transferasas

Las glutación s-transferasas (GST) conforman una familia de enzimas implicadas en la detoxificación de multitud de xenobióticos. Estas enzimas catalizan la unión

de una molécula de glutatión al insecticida, dando lugar a un compuesto hidrosoluble que se excreta más fácilmente. Además, las GSTs pueden utilizar el glutatión como cofactor para catalizar la deshidrocloración de algunos insecticidas (Enayati *et al.*, 2005). Hasta el momento se han descrito siete genes implicados en resistencia que codifican para GSTs, cinco de ellos se sobreexpresan en líneas resistentes y dos de ellos han sufrido una duplicación genética (Li *et al.*, 2007).

Acetilcolinesterasa

La acetilcolinesterasa es la principal enzima del sistema nervioso y su función es regular los niveles de acetilcolina durante la transmisión del impulso nervioso (Fournier, 2005). La acetilcolinesterasa hidroliza la acetilcolina en acetato y colina durante la transducción del impulso nervioso en la sinapsis colinérgica (Kozaki *et al.*, 2002). Al estar inhibida la acetilcolinesterasa, se acumula acetilcolina en el espacio sináptico alterando el funcionamiento normal del impulso nervioso (Pérez y Noriega, 2010).

Determinación de resistencia

La resistencia se ha mostrado mediante la utilización de pruebas de susceptibilidad a insecticidas, conocidas también como bioensayos, basados principalmente en pruebas de dosis-mortalidad, estos métodos permiten cuantificar el nivel de resistencia a insecticidas, pero no detectan los mecanismos responsables de ésta (Cruz y Rodríguez, 2014). La FAO, 2012 menciona que independientemente del plaguicida en cuestión, sea fungicida, herbicida o insecticida, hay varios métodos y requisitos para confirmar la resistencia en un organismo en particular, que incluye:

Bioensayos

El bioensayo es considerado como cualquier método por medio del cual alguna propiedad de alguna sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce, los objetivos de mayor importancia al realizar un

bioensayo, son: la determinación de varios tóxicos contra una población de insectos, la determinación de la susceptibilidad de diferentes especies de artrópodos a un tóxico, así como la cantidad de un tóxico en un sustrato (Cruz y Rodríguez, 2014).

Electroforesis

La electroforesis es una herramienta que se utiliza para la separación, identificación y purificación de proteínas. En un principio se utilizaron geles de almidón, pero posteriormente se reemplazaron por geles de poliacrilamida, impartiendo a las proteínas una carga negativa, misma que ocasiona que migren al ánodo de un circuito eléctrico (Pérez *et al.*, 2015).

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 MÉTODOS

Ubicación del experimento

La presente investigación se realizó en el laboratorio de toxicología del departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista Saltillo, Coahuila, México.

Colecta del material biológico

La colecta del material biológico en campo se realizó de forma manual en lotes comerciales de las siguientes poblaciones de la región Laja-Bajío y cercanas a ella del estado de Guanajuato como son: Apaseo el Grande, Tarimoro, Dolores Hidalgo, Comonfort y Apaseo el Alto. (Tabla 1). Se colectaron larvas de cuarto estadio de *S. frugiperda*, las cuales se colocaron en contenedores de plástico y se metieron en hieleras para su traslado a laboratorio para ser refrigerarlas a -2°C hasta su posterior estudio. Como población susceptible se utilizaron individuos proporcionados, por el INIFAP campus Celaya reproducidos desde 1996 sin presión de selección a insecticidas.

Tabla 1. Poblaciones de *Spodoptera frugiperda* y su producción de Maíz del estado de Guanajuato.

Población	Producción (ton)
Apaseo el Grande	18,572.30
Tarimoro	17,176.50
Dolores Hidalgo	23,245.50
Comonfort	18,973.50
Apaseo el Alto	28,401.75

Determinación de proteína

La determinación y cuantificación de proteína contenida en tejidos es la base para la realización de las pruebas bioquímicas por lo que se determinó la cantidad de larvas por muestra usando el método de Bradford (1984), con el kit-11 de Bio-Rad y ASB (albumina sérica bovina) como proteína de referencia, se utilizaron larvas de cuarto estadio, colocando 4 muestras en tubos eppendorf con 0.05, 0.15, 0.25, 0.5 larva de *S. frugiperda* con 4 repeticiones, se agregaron 500 μL de solución Buffer (KPO₄) a 0.05 y un pH de 7.2, se trituraron con ayuda de un macerador de tejidos y se aforaron a 1 mL para emplearlo como fuente de enzima.

En una microplaca de 96 pozos se agregó en cada cavidad 20 μL de homogenato posteriormente se adicionaron 80 μL de solución (Buffer KPO₄) más 200 μL de colorante diluido, esto se realizó por triplicado para cada repetición. Se tomaron lecturas de absorbancia en un lector de microplacas (BioTek El x 800) utilizando el filtro de 630 nm y se calcularon los valores de $\mu\text{L mL}^{-1}$ de proteína comprendidos en el rango de 80 a 120 μL .

Preparación de homogenatos

Una vez determinada la cantidad de muestra en relación a la proteína (0.25 larvas = 100 μL de proteína se homogenizó en 500 mL de solución Buffer (KPO₄) y posteriormente se aforo a 1 mL (Brogdon, 1984).

Pruebas Bioquímicas

Determinación de α y β -esterasas

Preparación de reactivos: Se disolvieron 10 mL de α ó β -naphthyl acetate en 5.6 mL de acetona y se agregó 8 mL de solución Buffer (KPO₄). Como colorante se utilizó Fast-blue, pesando 10 mg del mismo y se diluyeron en 10 mL de H₂O destilada.

Lectura de absorbancias: En cada pozo de la microplaca, se colocaron 100 μ L del homogenato se agregó 100 μ L de acetato de α ó β -naftil, se dejó incubar por 10 minutos (Figura 4), pasado el tiempo, se agregaron 100 μ L de Fast- blue, estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las seis poblaciones, se dejaron incubar durante 2 minutos y se corrió en el lector de placas usando un filtro de 540 nm.

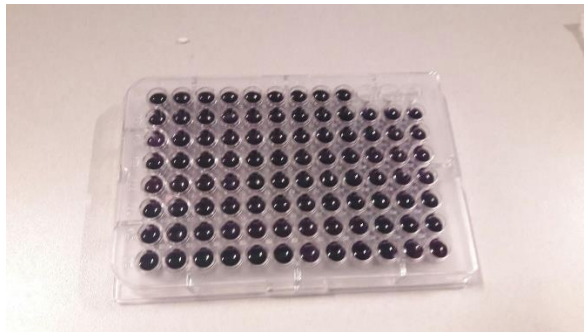


Figura.4. Incubación de microplaca con Fast-blue para determinar α y β -esterasas.

Determinación de Glutation-S-transferasa

Preparación de reactivos: Se disolvieron 0.0122 g de reduce glutatión en 20 mL de Buffer (KPO₄). Para CDNB (1 – cloro- 2,4 dinitrobenceno) se disolvieron 4 mg de CDNB en 2 mL de acetona + 18 mL Buffer KPO₄.

Lectura de absorbancias: Se colocaron 100 μ L del homogenato, se agregaron 100 μ L de Reduced glutation, y 100 μ L de CDNB, estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las seis poblaciones, se corrió inmediatamente (T0) en el lector de placas usando un filtro de 340 nm, se volvió a correr transcurridos 5 minutos (T5) (Figura 5). Para el análisis estadístico las lecturas de absorbancia se les saco la diferencia entre ambos tiempos (T10-T0) y los números negativos se consideraron como 0.



Figura. 5. Lectura de absorbancias en el lector de placas

Determinación de acetilcolinesterasa

Preparación de reactivos: Se disolvieron 70 mg de acetilcolina – yodisada en 10 mL de acetona y se aforo con 90 mL de solución Buffer (KPO4). Para el DTNB (Acido- Ditio-Bis-Nitrobenozoico) se prepararon 13 mg de DTNB y se le agregaron 10 mL de solución Buffer (KPO4).

Lectura de absorbancias: Se colocaron 100 μ L del homogenato, se agregaron 100 μ L de acetilcolina-yodisada y 100 μ L de DNTB (Figura 6), estos pasos se realizan por triplicado para cada repetición de las seis poblaciones, se corrieron inmediatamente (T0) en el lector de placas usando un filtro de 414 nm, se volvió a correr transcurridos 10 minutos (T10). Para el análisis estadístico las lecturas de absorbancia se les saco la diferencia entre ambos tiempos (T10-T0) y los números negativos se consideraron como 0.

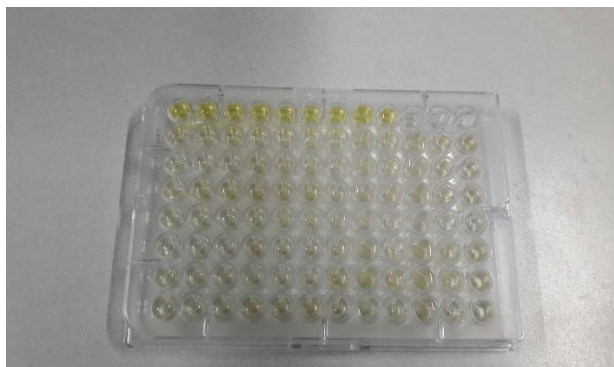


Figura. 6. Microplaca para determinar acetilcolinesterasa.

Determinación de oxidasas

Preparación de reactivos: Buffer de Acetato de Na (0.25 M): se disolvió 3.32g 3M de sodio acetato en 37.35 mL de H₂O destilada, después se aforó a 40 mL, ajustando el pH 5. Para el TMBZ (Tetramethyl-Benzidina Dihydrochloride), se disolvieron 20 mg de TMBZ en 10 mL de alcohol, y se le agregó 30 mL de solución Buffer acetato de sodio 25 M.

Lectura de absorbancias: Se colocaron 100 μ L del homogenato, se agregaron 200 μ L de TMBZ, agregado una gota (25 μ L) de agua oxigenada (H₂O₂) estos pasos se realizaron por triplicado para cada repetición de las 6 poblaciones, se dejó incubar por 5 minutos (Figura 7), pasado el tiempo se corrió en el lector de placas usando un filtro de 620 nm.

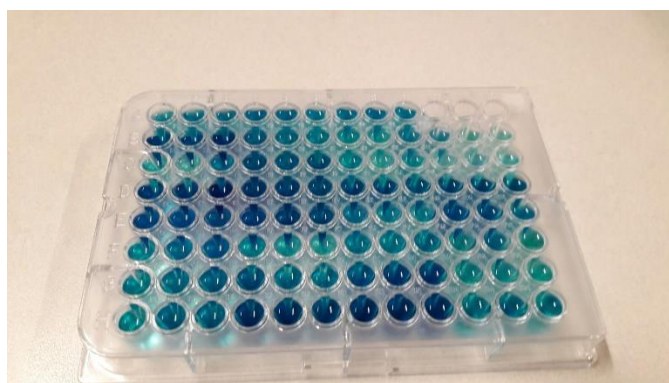


Figura. 7. Incubación de microplaca con H₂O₂ para determinar oxidasas.

Análisis de resultados

Con las absorbancias de cada enzima se realizó una distribución de frecuencias y se estableció un umbral de resistencia. La proporción de resistencia se estimó mediante el número de medias que excedía dicho umbral y se clasificaron según Montella *et al.*, (2007) con pequeñas modificaciones como: “inalterado” de 0-5%, “incipientemente alterado” 6-30%, “moderadamente alterado” de 31-50%, “alterado” de 51-75% y “muy alterado” por arriba de 76%. Por último, se realizó un ANVA y una prueba de Tukey ($P= 0,05$), para la separación de las medias, utilizando el programa estadístico computacional R-studio versión 3.3.1.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para la determinación de niveles enzimáticos primeramente se calculó la cantidad de proteína contenida en larvas de *S. frugiperda* y así obtener el número de insectos por muestra, se utilizaron concentraciones de 0.001, 0.01, 0.05, 0.15 0.25, 0.5 larva en donde todas están fuera del intervalo permitido (80 a 120 µg) excepto 0.05 que está dentro del rango establecido. Se seleccionó la muestra de 0.05 larva como número de insecto para la fuente de enzima. Respecto a la fuente de enzima Bradford (1976) menciona que los valores fuera del rango no son confiables para la cuantificación de proteína en tejidos. En tanto que Dary *et al.*, (1990) reporta que existe estrecha relación entre tamaño de muestra y cantidad de proteína, por lo que se pueden representar diferencias en los resultados obtenidos.

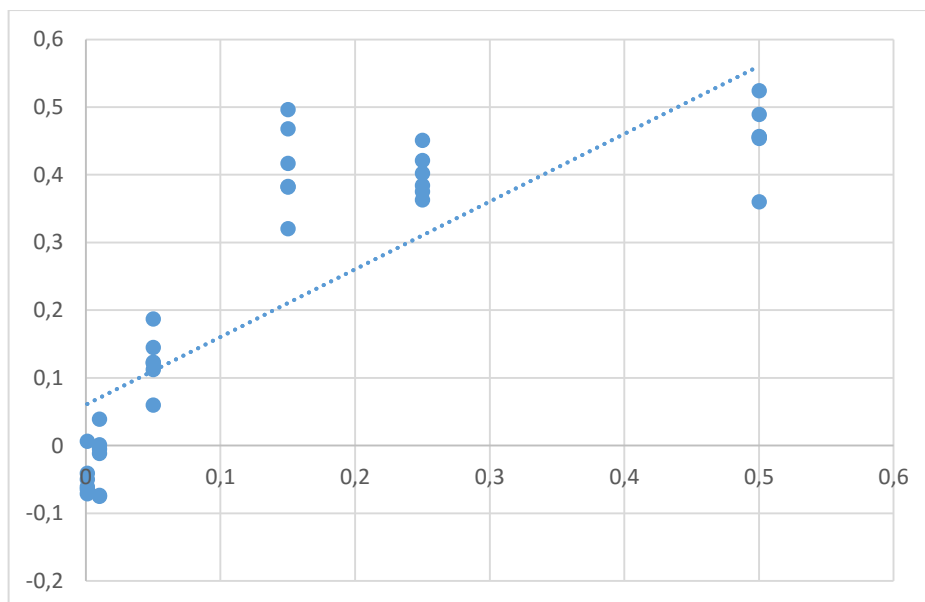


Figura. 8. Absorbancias de proteína en homogenatos de *Spodoptera frugiperda*

Se estableció un umbral de resistencia en base a la línea susceptible y se determinaron los porcentajes de proporción de la resistencia en cada población y se clasificaron según Montella *et al.*, (2007).

En la tabla 2 se puede observar que en la misma población varía la proporción de resistencia según la enzima estudiada y todas las enzimas presentaron variación en su cuantificación, ya que se presentaron de manera heterogénea excepto acetilcolinesterasa que reportó un comportamiento homogéneo.

Para β -esterasas existe una variabilidad entre las poblaciones en estudio, donde Tarimoro reportó el porcentaje mayor con 100% y una clasificación "Muy alterado"; las poblaciones con menor proporción de resistencia fueron Dolores Hidalgo y Apaseo el Alto con 25%, clasificándose como "Incipientemente alterado". Por su parte Apaseo el Alto presentó mayor resistencia con 33%, y su clasificación fue "Moderadamente alterado", a causa de α -esterasas, en tanto que la población con menor porcentaje fue Comonfort con 0 %, clasificándose como "Inalterada". Este estudio difiere con lo mencionado por Flores *et al.*, (2006) en donde determinaron frecuencias de resistencia de 100% en mosquitos *Aedes aegypti* (Linnaeus) relacionadas a enzimas (α y β -EST). Por su parte Díaz *et al.*, (2007) reportaron en un estudio en *Blattella germanica* (L.) valores elevados de esterasas. Mientras que Riley *et al.*, (2000) reportaron que las esterasas son el principal mecanismo de resistencia en poblaciones de insectos expuestos a piretroides, carbamatos y organofosforados.

En cuanto se refiere a glutatión-S-transferasa, Apaseo el Grande reportó la resistencia más alta con 91.66%, clasificándose como "Muy alterado" mientras que Apaseo el Alto expresó la menor proporción de resistencia con 58% y una clasificación "Alterado". Estos resultados difieren a lo mencionado por Díaz *et al.*, (2004) y Landeros *et al.*, (2010), en donde reportaron una baja presencia de GST en mosquitos y *Tetranychus urticae* (KOCH), respectivamente. Por su parte Wu *et al.*, (2004) menciona que GST juega un papel importante como mecanismo de resistencia en Lepidópteros ya que el alto contenido de esta enzima ayuda a la desintoxicación de organofosforados, piretroides y dimidas así como indoxacarb (Hu *et al.*, 2014).

En el caso de acetilcolinesterasa hubo una homogeneidad entre las poblaciones ya que todas presentaron un porcentaje de resistencia de 8.3% y clasificándose como “Inciientemente alterado” excepto Dolores Hidalgo que reportó una resistencia nula y su clasificación fue “Inalterado”. Wang et al., (2004) menciona que el principal mecanismo de resistencia en muchos insectos es la alteración de acetilcolinesterasa ya que se observa como una insensibilidad y múltiples formas mutantes de la misma enzima debido a esto el insecticida no puede acoplarse y no ejerce su acción dado el cambio en su conformación (Bisset, 2002).

Para las oxidasas la población que corresponde a Dolores Hidalgo reporto el porcentaje más alto con 100 % clasificándose como “Muy alterado”, por su parte Apaseo el Alto fue la que expreso la resistencia más baja con 0% y una clasificación “Inalterada”. Por su parte Pimentel *et al.*, (2008) mencionan que las oxidasas juegan un papel fundamental en la detoxificación de diversos compuestos de plaguicidas, participando directamente en la inhabilitación del producto u oxidándolo para que entren otros sistemas enzimáticos y puedan ser detoxificados. Por otro lado Wondji *et al.*, (2009) señalan que las oxidasas son el mecanismo detoxificativo más significativo en la resistencia a piretroides.

Tabla. 2. Porcentajes de resistencia de cada enzima en 5 poblaciones de *Spodotera frugiperda* del estado de Guanajuato.

Población	Beta	Alfa	Gst	Acth	Oxi
Apaseo el Grande	66.6 ^d	8.33 ^b	91.66 ^e	8.3 ^b	0 ^a
Tarimoro	100 ^e	8.33 ^b	83.3 ^e	8.3 ^b	25 ^b
Dolores Hidalgo	25 ^b	25 ^b	75 ^d	0 ^a	100 ^e
Comonfort	50 ^c	0 ^a	75 ^d	8.3 ^b	33.3 ^c
Apaseo Alto	25 ^b	33 ^c	58 ^d	8.3 ^b	33.3 ^c

Clasificación según Montella *et al.*, (2007). ^a “Inalterado”, ^b “Inciientemente alterado”, ^c “Moderadamente alterado”, ^d “Alterado”, ^e “Muy alterado”.

En la tabla 3 se muestran los porcentajes medios de resistencia de cada una de las enzimas en estudio, se observa que la enzima glutati6n s- transferasa presento el valor más alto con 76.59% y clasificándose como “Muy alterado”, por

lo que se le considera como el principal mecanismo de resistencia para *S. spodoptera* en la región Laja-Bajío. Por su parte acetilcolinestera reporto el porcentaje más bajo con 6.64% clasificándose como “Inciientemente alterado”. Por lo cual se considerada como un mecanismo detoxificativo bajo en la zona de estudio

Tabla 3. Medias de proporción de resistencia de cada enzima en las poblaciones en estudio.

Enzima	Proporción de resistencia
β - esterasas	53.32 d
α - esterasas	14.92 b
Glutation s- transferasas	76.59 e
Acetilcolinesterasa	6.64 b
Oxidasas	18.32 b

Clasificación según Montella *et al.*, (2007). ^a “Inalterado”, ^b “Inciientemente alterado”, ^c “Moderadamente alterado”, ^d “Alterado”, ^e “Muy alterado”.

El análisis de varianza para β -Esterasas arrojo un coeficiente de variación de 40.7 % para las poblaciones en estudio, lo cual indica que se comportan de forma heterogénea, debido a que hay una variabilidad entre ellas (Tabla 4).

Tabla. 4. Análisis de varianza del contenido de β -Esterasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Población	5	19.06	3.812	5.629	0.000222
Error	66	0.822	0.677		
Total	71	19.882	4.489		
C.V	40.87				

La comparación de medias del contenido de β esterasas, se puede observar en la Tabla 5, en donde se presentó diferencias significativas entre las poblaciones en estudio; la población de Tarimoro fue la que expreso el valor medio más alto con

3.008, por su parte la Línea Susceptible y Apaseo el Alto se observaron los contenidos más bajos con medias de 1.537 y 1.459 respectivamente. Estos resultados son similares a lo reportado por Cerna *et al.*, (2013) en un estudio sobre *Bactericera cockerelli* donde su absorbancia media más alta para β -Esterasas, fue de 3.5061.

Tabla. 5. Comparación de medias del contenido de β -Esterasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

Población	N	β -Est Media \pm SD
Línea susceptible	12	1.537 \pm 0.180 b
Apaseo el Grande	12	2.211 \pm 0.762 ab
Tarimoro	12	3.008 \pm 0.445 a
Dolores Hidalgo	12	1.855 \pm 0.944 b
Comonfort	12	2.006 \pm 0.914 b
Apaseo el alto	12	1.459 \pm 1.233 b

En la tabla 6 se observa el análisis de varianza para la enzima α -esterasas, donde reporta un coeficiente de variación de 24.014% para las poblaciones en estudio, lo que indica un comportamiento más homogéneo en comparación a β esterazas.

Tabla. 6. Análisis de varianza del contenido de α -Esterasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Población	5	3.081	0.6163	1.311	0.27
Error	66	0.685	0.4701		
Total	71	3.766	1.0864		
C. V	24.014				

Las medias de absorbancias para α -esterasas se pueden observar en la tabla 7, muestra que no existe diferencia significativa entre las poblaciones de estudio. La población de Dolores Hidalgo fue la que expresó el valor medio más alto con 3.137, en tanto que la Línea Susceptible mostro el contenido más bajo con 2.505.

Por su parte Landeros *et al.*, (2010), presento una media de 0.623 para α -esterasas en un estudio sobre *Tetranychus urticae*.

Las α y β - esterazas son las responsables de resistencia, atreves de la detoxificación de organofosforados y carbamatos (Lee *et al.*, 1990; Georghiou, 1994; Pasteur y Raymound, 1996). Así mismo, otros autores mencionan que su actividad enzimática también está asociada con resistencia a piretroides (Brogdon y Barber, 1990; Flores *et al.*, 2005, 2006).

Tabla. 7. Comparación de medias del contenido de α -Esterasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

Población	N	alfa-Est Media \pm SD
Línea susceptible	12	2.505 \pm 0.813 a
Apaseo el Grande	12	2.754 \pm 0.631 a
Tarimoro	12	2.807 \pm 0.751 a
Dolores Hidalgo	12	3.137 \pm 0.632 a
Comonfort	12	2.864 \pm 0.588 a
Apaseo el alto	12	3.061 \pm 0.670 a

Para glutatión-s-transferasas se reportó un coeficiente de variación de 57.451% indicando que en las poblaciones en estudio la producción de esta enzima es heterogénea, debido a la variabilidad que existe en las ellas. (Tabla 8).

Tabla. 8. Análisis de varianza del contenido de glutatión s- transferasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Población	5	0.0216	0.0043	4.943	0.000665
Error	66	0.0295	0.000875		
Total	71	0.0511	0.005175		
C.V	57.451				

En la tabla 9, se observa las absorbancias medias de glutatión-s-transferasa, presentándose diferencia significativa entre las poblaciones en estudio; Dolores Hidalgo fue la que presento el contenido medio más alto con 0.074 mientras que Apaseo el Alto y Tarimoro mostraron los niveles más bajos con 0.034 y 0.053 respectivamente. Estos resultados son superiores a los reportados por Hernández *et al.*, (2016), donde reportan niveles enzimáticos bajos para glutatión s- transferasa con una media de 0.003 en *Melanaphis sacchari*. La sobre expresión de glutatión-s-transferasas es responsable de la resistencia a organofosforados, piretroides, diaminas e indoxacab (Furlong *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2014a).

Tabla. 9. Comparación de medias del contenido de glutatión s-transferasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

Población	N	Gts Media \pm SD
Línea susceptible	12	0.023 + 0.005 c
Apaseo el Grande	12	0.063 + 0.020 ab
Tarimoro	12	0.053 + 0.021 abc
Dolores Hidalgo	12	0.074 + 0.050 a
Comonfort	12	0.058 + 0.033 abc
Apaseo el alto	12	0.034 + 0.026 bc

El coeficiente de variación para acetilcolinesterasa fue de 146.300%, lo cual nos indica que existe un comportamiento muy heterogéneo debido a la gran variabilidad que existe entre las poblaciones en estudio (Tabla 10).

Tabla. 10. Análisis de varianza del contenido de acetilcolinesterasa en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Población	5	0.00037	7.405e-05	1.346	0.256
Error	66	0.00741	5.501e-05		
Total	71	0.00778			
C.V	146.300				

La comparación de medias para acetilcolinesterasa (tabla 11) muestra que no existe diferencia significativa entre las poblaciones en estudio donde Comonfort presentó el contenido medio más alto con 0.009, en tanto que los valores medios más bajos fueron reportados para las poblaciones de Línea Susceptible, Dolores Hidalgo y Apaseo el alto con 0.003. Estos resultados son inferiores a los reportados por Pérez (2012) donde presento una absorbancia media de 0.043 en *Tribolium castaneum*. Por su parte Bisset (2002), menciona que este mecanismo produce un amplio espectro de resistencia a los organofosforados y en mayor medida a los carbamatos

Tabla.11. Comparación de medias del contenido de acetilcolinesterasa en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

Población	N	Acth Media \pmSD
Línea susceptible	12	0.003 + 0.006 a
Apaseo el Grande	12	0.004 + 0.008 a
Tarimoro	12	0.005 + 0.007 a
Dolores Hidalgo	12	0.003 + 0.005 a
Comonfort	12	0.009 + 0.010 a
Apaseo el alto	12	0.003 + 0.006 a

La tabla 12 se muestra el análisis de varianza para oxidasas donde se reporta un coeficiente de variación de 48.972%, lo cual indica un comportamiento de forma heterogénea debido a la variabilidad que existe en las poblaciones en estudio.

Tabla. 12. Análisis de varianza del contenido de oxidasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Población	5	29.03	5.806	34.55	<2e-16
Error	66	0.4099	0.168		
Total	71	29.4399			
C.V	48.972				

Las absorbancias medias para las oxidasas se muestran en la tabla 13, observando diferencias significativas entre las poblaciones en estudio; Dolores Hidalgo fue la que presento el contenido medio más alto con 2.197, mientras que la población correspondiente a Apaseo el Grande mostro un valor más bajo con 0.263. El aumento de oxidasas contribuye a la resistencia a carbamatos, piretroides, análogos de la nereistoxina y diamidas (Bautista *et al.*, 2009; Furlong *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2014b). Por su parte Siqueira *et al.*, (2000), indica que las oxidasas son el principal grupo de enzimas involucradas en la resistencia presentada en poblaciones de campo de *Tuta absoluta* al insecticida cartap. Estas enzimas son las que están más comúnmente asociadas con la resistencia cruzada entre DDT/ piretroides (Scott y Wen 2001: Fonseca *et al.*, 2009).

Tabla.13. Comparación de medias del contenido de oxidasas en 5 poblaciones de *Spodoptera frugiperda* del estado de Guanajuato.

Población	N	Oxidasas Media \pmSD
Línea susceptible	12	0.416 + 0.229 bc
Apaseo el Grande	12	0.263 + 0.056 c
Tarimoro	12	0.816 + 0.488 b
Dolores Hidalgo	12	2.197 + 0.712 a
Comonfort	12	0.626 + 0.249 bc
Apaseo el alto	12	0.702 + 0.378 bc

Por último, conjuntando toda la información formamos grupos de resistencia, ilustrándolos en mapas para cada enzima, en donde a cada población se comparó según la clasificación de la actividad enzimática propuesta por Montella respecto a la proporción de resistencia y su agrupación en la comparación de medias, quedando de la siguiente manera:

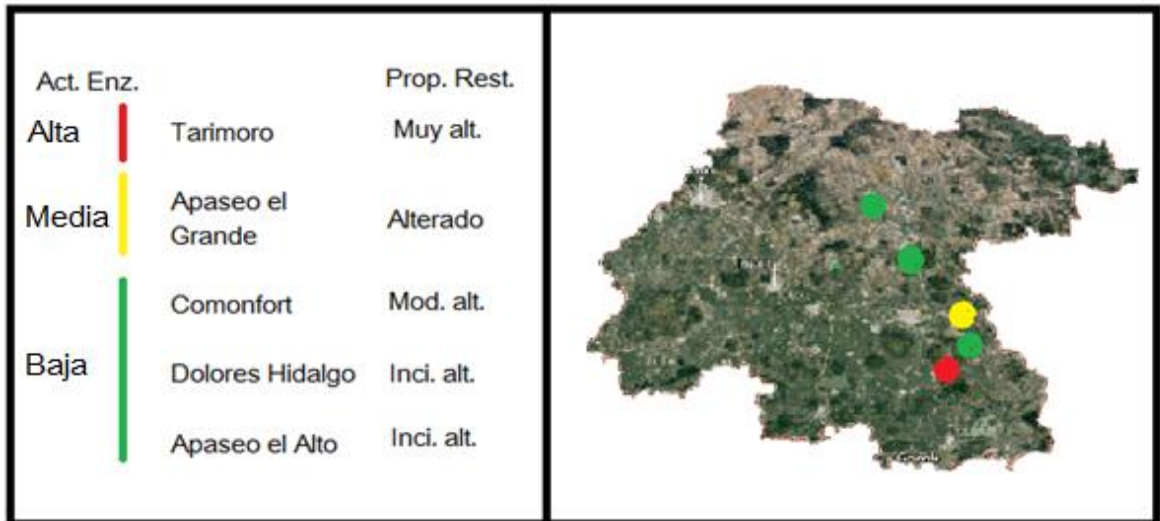


Figura. 9. Mapa de la distribución de β -Esterasas.

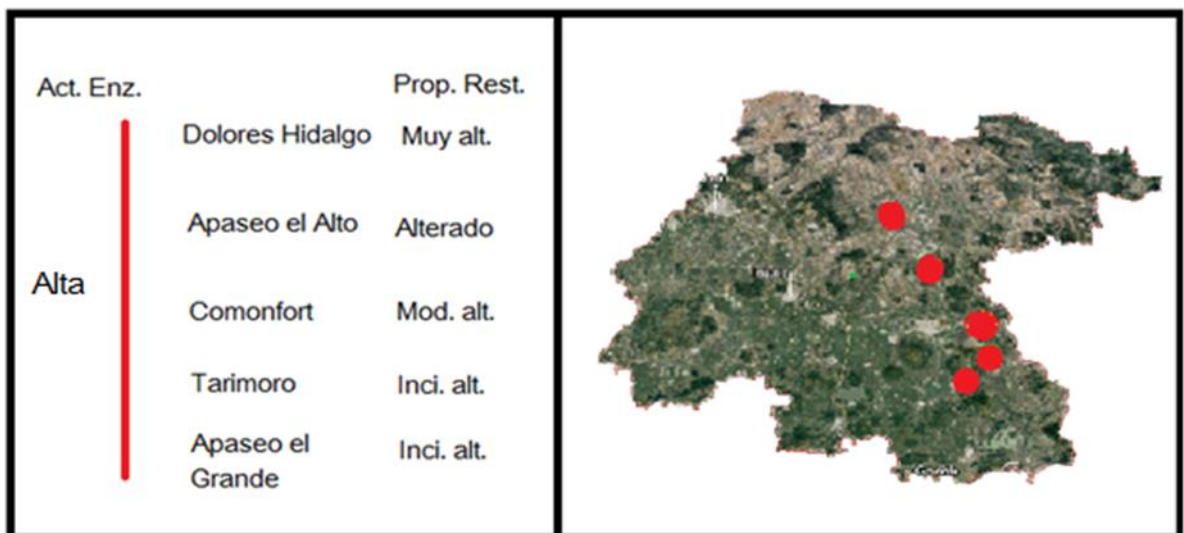


Figura. 10. Mapa de la distribución de α – Esterasas

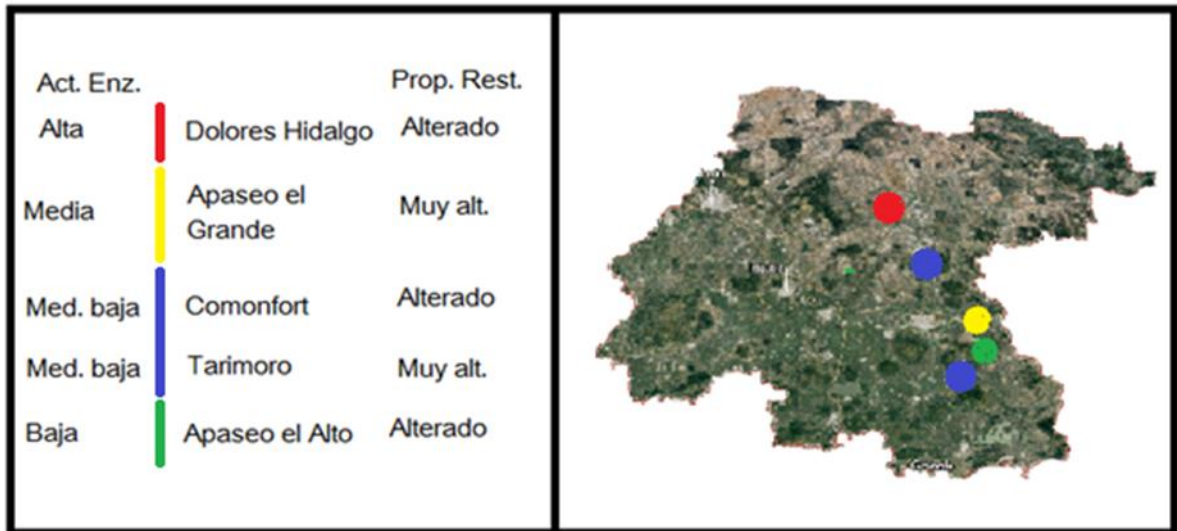


Figura 11. Mapa de la distribución de Glutathión s- transferasa.

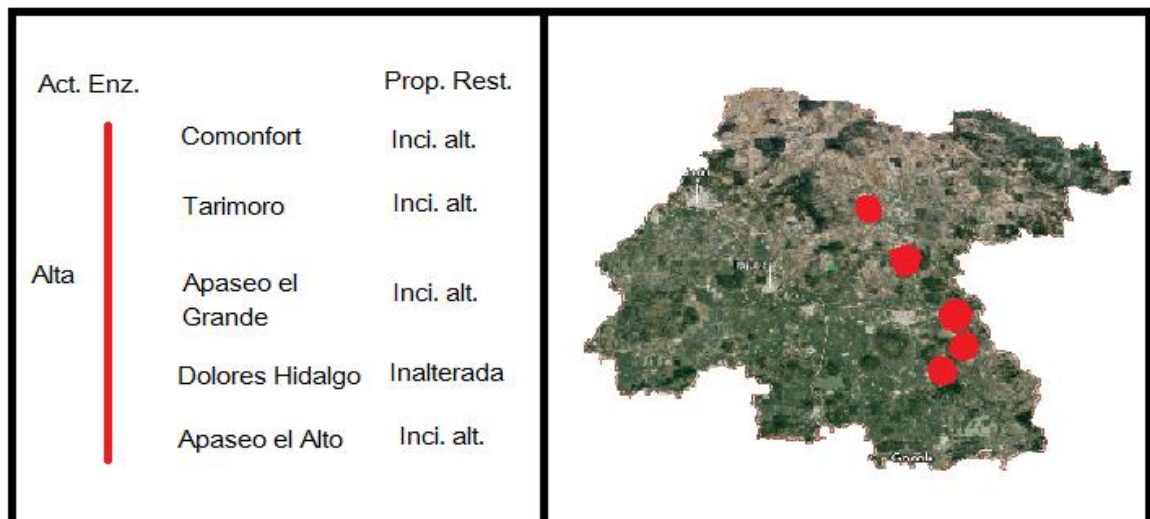


Figura 12. Mapa de la distribución de acetilcolinesterasa.

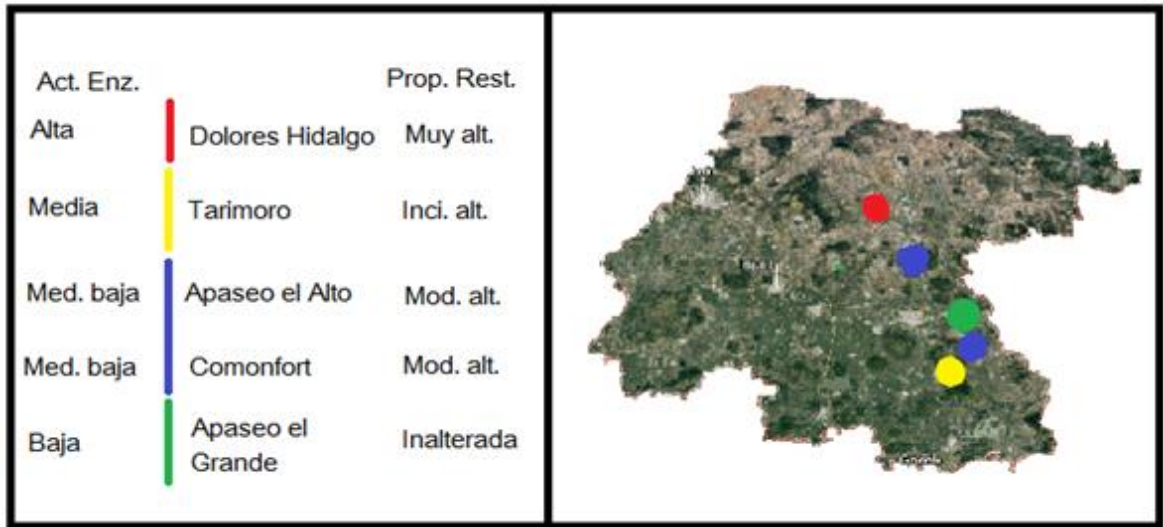


Figura 13. Mapa de la distribución de oxidasas.

CONCLUSIONES

Para la determinación de proteína en los tejidos de *Spodoptera frugiperda* la concentración de 0.05 larva fue la que se presentó dentro del rango permitido ($80-120\mu\text{g mL}^{-1}$) con un contenido $100\mu\text{g mL}^{-1}$.

Las enzimas que presentaron mayor porcentaje de resistencia en este estudio fueron Glutation s-transferasas y β -esterasas con 76.59 y 53.32 % respectivamente. Por lo cual se les considera como principal mecanismo de resistencia para *Spodoptera frugiperda* en el estado de Guanajuato. Acetilcolinestera fue la enzima que presento menor porcentaje de resistencia siendo un mecanismo detoxificativo poco relevante para esta plaga.

LITERATURA CITADA

- Abbas, A.,; R.G.Luttrell; H.N Pitre and F.M. Davis. 1989. Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton. Environ. Entomol.18 (5):881- 885.
- Aragón, J.R. 2002. Guía de reconocimiento y manejo de plagas tempranas relacionadas a la siembra directa. EEA INTA Marcos Juárez. Agroediciones. 60p.
- Bautista, M. N. 2006. Insectos plaga. Una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados. 1^{era} ed. Texcoco, Estado de México, México. Pp.3.
- Bautista, M. A. M. T. Miyataa, K. Miuraa, T. Tanaka, (2009). RNA interference-mediated knockdown of cytochrome P450, CYP6BG1, from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, reduces larval resistance to permethrin, Insect Biochem. Mol. Biol. 39 38-46.
- Bejarano, A. 2000. Características botánicas y fisiológicas de la planta: Características botánicas del maíz. El Maíz en Venezuela. Compilado por Fontana, H y González C. Fundación Polar Venezuela.
- Bisset A. J., 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. REV CUBANA MED TROP 2002;54(3):202-219
- Borror, D.J., D.M. de Long and C.A Triplehorn. 1989. An introduction to the study of insects. 6th. ed. Holt Rinehart and Winston. New York. USDA. Pp. 345-378.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein- dye binding. Anal. Biochem. 72 : 248 – 254.

- 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 eluate fractions. *Analyt. Biochem.* 131: 499-503.
- Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990. Microplate assay of Glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito triturates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96: 339-342.
- 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.
- Centro de Sanidad y Certificación Vegetal, 2014. El Teosintle. Informaciones Técnicas, Departamento de Agricultura y Medio Ambiente.
- Cerna Chávez, E.; Hernández Bautista, O.; Landeros Flores, J.; Ochoa Fuentes, Y.M., Cuantificación de enzimas asociadas a la resistencia de insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc) de la zona papera de Coahuila y Nuevo León, México. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.* 59, 5-12, 2013.
- CESAVEG, 2008. Campaña “Manejo Fitosanitario del Maíz”. En línea: http://www.cesaveg.org.mx/html/folleto/folleto_08/folleto_maiz_08.pdf Fecha de consulta: Marzo, 2017.
- Cloyd A. R. y Cowles S. R, 2010. Manejo de resistencia: Principios de Resistencia, Modo de Acción y Rotación de Insecticidas. The Agricultural Experiment Station.
- Corona, C. S. 2008. Propuesta de una clave taxonómica con uso del spinneret para identificar larvas de lepidópteros de importancia agrícola. Tesis de licenciatura UAAAN Saltillo Coahuila. México. Pp 37-38.

- Costa, J. 2002. Rendimiento da soja: 3º Simposio sobre rotaçãõ soja/milho no plantio directo mostra a importância da adubaçã para o aumento da matéria orgânica do solo. Informações agrônômicas. Nº99, Setembro. [Documento en línea], disponible en www.potafos.org. Fecha de consulta: Marzo, 2017.
- Cortez M. E., y Rodríguez C. F., 2012. Manejo Integrado de Gusano Cogollero Basado en el Aprovechamiento de Enemigos Naturales en Maíz, en Sinaloa, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Centro de Investigación Regional del Noroeste. Folleto Técnico No. 36.
- Cruz. G. C. y Rodríguez. P. C. Ocañaz. F J. 2014. Susceptibilidad y resistencia a insecticida en mosquito transmisor del dengue salud en tabasco. Secretaría de salud del estado de Tabasco. p 54-59
- Cruz, M. S., Gomez, M. M., Ortiz, E. M., Entzana, A. M., Suarez, C. Y., Santillan, V., 2012a. Situación Actual y Perspectivas del Maíz en México 1996--2012.
- Cruz, I.; E. Pereira G. y M.L. Correa F. 2002. Effect of a nuclear polyhedrosis virus on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae, its damage and yield of maize crop. Rev. Brasileira de Milho e Sorgo (2):20-27.
- Dary O. Georghiu GP, Parsons E, Pasteur N (1990). Microplate adaptation of Gomori's assay of quantitative determination of general esterase activity in single insects. J. Econ. Entomol. 83 : 2187 – 2192.
- 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.
- Díaz C.; Rodríguez, M. M.; Fresneda, M.; Bisset, J. A., 2004. Determinación de la actividad glutatión-s-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. Revista Cubana de Medicina Tropical, 56(2): 111-116.

- Día, C. Álvarez, Y. De Armas, Y. Y Bisset, J. (2007). Determinación de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en cepas de *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) Revista Cubana de Medicina Tropical;59 (2) : 159-65.
- Donato M. T., 2014. ¿Qué es el citocromo P-450 y cómo funciona? .
- ECOCROP (2007). Zea mays. En línea <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=2175>. Fecha de consulta: marzo, 2017.
- Enayati, A. A., Ranson, H. & Hemingway, J. (2005). Insect glutathione transferases and insecticide resistance. Insect Mol. Biol . 14: 3-8.
- FAO,2012. Directrices sobre la Prevención y Manejo de la Resistencia de los Plaguicidas.
- Farias, P. R. S., J. C. Barbosa, A. C. Busoli, W. L. Overal, V. S. Miranda, and S. Ribeiro. 2008. Spatial analysis of the distribution of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and losses in maize crop productivity using geostatistics. Neotrop. Entomol. 37: 321-327.
- Fimia D., R., 2012. RESISTENCIA EN VECTORES. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 13, núm. 5, 2012 Veterinaria Organización Málaga, España.
- FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura), 2015a. Panorama Agropecuario, el Maíz.
- FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura), 2015b. Producción de Maíz en el Mundo. En línea: <http://hablemosdelcampo.com/campo/produccion-maiz/> Fecha de consulta: Marzo ,2017.
- 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 Nutrición. Vol. 2 No.4.
- Flores E. A.; Albeldaño, W. V.; Fernandez, I. S.; Badii, M. H.; Loaiza, M. H. B.; Ponce, G. G.; Lozano, S. F.; Brogdon, W. G.; Black IV, W. C. and Beaty, B.

2005. Elevated α esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, Mexico. *Pestic. Biochem. Physiol.* 82: 66-78.
- Flores E. A.; Grajales, J. S.; Fernandez, I. S.; Ponce, G. G.; Loaiza, M. H. B.; Lozano, S.; Brogdon, W. G.; Black IV, W. C. and Beaty, B. 2006. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Southern Mexico. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 22: 672-677.
- Fonseca- Gonzales, I., Quiñones, M. L., McAllister, J., Brogdon, W, G. (2009). Mixed function oxidases and esterases associated with cross-resistance between DDT and lambda- cyhalothrin in *Anopheles Darling* Root 1926 populations from Colombia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(1), 18- 26.
- Fournier, D. (2005). Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in insect populations, *Chem. Biol. Interact.* 157: 257-261.
- Franco A. S.; Jiménez P. A.; Luna L. C.; Figueroa B. R; 2006. Efecto tóxico de semillas de cuatro variedades de carica papaya (caricaceae) en *spodoptera frugiperda* (lepidoptera: noctuidae) *Folia Entomológica Mexicana*, vol. 45, núm. 2, 2006, pp. 171-177 Sociedad Mexicana de Entomología, A.C. Xalapa, México.
- Furlong, M.J. Wright, L. M.(2013).Doddall, Diamondback moth ecology and management: problems , progress, and prospects , *Annu. Revu. Entomol.* 58:517- 541.
- García-Lara S., Espinosa Carrillo C. y Bergvinson D.J. 2007. Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. México, D.F.: CIMMYT.
- García, C.R 2008. Control del gusano cogollero en maíz bajo el extracto de tabaco. Disponible en: www.oaxaca.gob.mx/seder Fecha de consulta: Marzo, 2017.

- Georghiou, G. P. 1994. Principles of insecticide resistance management. *Phytoprotection* 75 Suppl.51-59.
- Lee, J. G.; Pasteur, N. and Georghiou, G. P. 1990. Preliminary results of an Elisa test for detections of organophosphate-resistance in *Culex* populations due to increased detoxification by Esterasas. 58th Annual Conference of the California Mosquito and Vector Control association. 111-115
- González A, J Islas, A Espinosa, J A Vázquez, S Wood (2008). Impacto Económico del Mejoramiento Genético del Maíz en México. Publicación Especial No. 25. INIFAP. México. 88 p.
- Hernández-Bautista, Omegar, Arredondo-Pérez, Marco Antonio, Cerna-Chávez, Ernesto, Ochoa-Fuentes, Yisa María y Navarro-Campos Fernando Elías. Cuantificación de enzimas detoxificativas en pulgón amarillo del sorgo *Melanaphis sacchari* en Saltillo, México. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*. 2016, 37: 5-12.
- Hernández, A.J.A., Ramiro, C.A., Maya, H.V., Chaverria, C.J., Martínez, G.M. 2001. El cultivo del maíz para elote en la zona media de San Luis Potosí. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), CIR-Centro de Investigación Regional del Noroeste, Campo Experimental las Palmas. Folleto Num. 26, pp 5-13.
- Hu, Z.D.S. Lin, H. Y. Chen, Z. Y. Li, F. Yin, P. Liang, X. W. Gao, (2014a). Biochemical mechanism of chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* Linnaeus, *J. Integr. Agr.* 13 2452-2459.
- Hu, Z. D. S.Q . Lin, H. Y. Chen, Z. Y. Li, F. Yin, X. (2014b). Feng, identification of a novel cytochrome P450 gene, CYP321E1 from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and RNA interference to evaluate its role in chlorantraniliprole resistance, *Bull. Entomol. Res.* 104, 716- 723.
- IRAC, 2015. Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas. Versión actualizada, octubre 2015.

- IRAC 2012. The Insecticide Resistance Action Committee. En línea: <http://www.iraconline.org/>. Fecha de consulta: Marzo, 2017.
- Kato, T. A.; Mapes, C.; Mera, L. M.; Serratos, J. A. y Bye, R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Kozaki, T., Shono, T., Tomita, T., Taylor, D. & Kono, Y. (2002). Linkage analysis of an acetylcholinesterase gene in the house fly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 95: 129-133.
- Landeros, J.; ALL, C.; Cerna, E.; Ochoa, Y.; Guevara, L. y Aguirre, L. 2010. Susceptibilidad y mecanismos de resistencia de *Tetranychus urticae* (Acariformes: Tetranychidae) en rosal de invernadero. *Revista Colombiana de Entomología* 36 (1): 5-9.
- Lauer, J. 2009. Late-season hail effects on corn. *Agronomy Advice*, University of Wisconsin, En línea: <http://corn.agronomy.wisc.edu/AA/pdfs/A069.pdf> Fecha de consulta: Marzo, 2017.
- León-García, I., Rodríguez-Leyva, E., Ortega-Arenas, L. D. y J. F. Solís-Aguilar. 2012. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México. *Agrociencia*, 46(3): 279–287.
- Li, X., Shuler, M. A. & Berenbaum, M. R. (2007). Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics.
- Maluenda G. J., 2015. Máximos Históricos en Producción y Consumo de Maíz. Boletín Informativo.
- Meneses C. R., Calvert L., Gutiérrez Y. A., Gómez S. J., Hernández C. J. 2008. Manejo Integrado de los Principales insectos y ácaros del Arroz. Ed. Meneses Pp. 116.
- MENTABERRY, A. y S. GHIO. 2002. Avances biotecnológicos en maíz. En: Vaquero, P. (ed.), Guía Dekalb del cultivo de maíz, Monsanto Argentina S.A., Buenos Aires, pp. 35-41.

- Montella, I. R.; Martins, A. J.; Fernández, V.; Pereira, L. B.; Braga, I. A.; Valle, D. (2007). Insecticide resistance mechanism of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001- 2004. *The American Journal of Tropical Medical and Hygiene*, 77: 467- 477.
- Morillo F. y A. Notz. 2003. Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. *Entomotropica* 16:79-87.
- Murúa, G., J. Molina-Ochoa, and C. Coviella. 2006. Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in northwestern Argentina. *Fla. Entomol.* 89: 175-182.
- Nagoshi. R. N., y Meagher R. L. 2008. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. *Florida entomologist*. 41: 546-554.
- Nava C., U.; E. Morales O. y M.L. Escobedo A. 2004. Efectividad de insecticidas microbiales y convencionales para el control de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* y su impacto en las poblaciones de insectos depredadores en maíz forrajero en la comarca lagunera. En: *Memorias XXVII Congreso Nacional de Control Biológico. Soc. Mex. Control Biológico*. P.344-347
- Nava C., U. y M. Ramírez D. 2002. Descripción y combate de plagas de maíz y sorgo forrajero. En: *Producción y utilización del maíz forrajero en la región lagunera. México. CELAYA INIFAP*.
- Negrete, B.F. y J.G. Morales A. 2003. El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Corpoica*. 26 p. primera edición.
- Oakeshott, J. G., C. Claudianos, P. M. Campbell, R. D. Newcomb, & R. J. Russell. (2005). Biochemical genetics and genomics of insect esterases, pp. 309-381. In L. I. Gilbert, K. Iatro, and S. Gill (eds.), *Comprehensive molecular insect science*. Elsevier, Oxford, United Kingdom.
- Ortiz, F. 2010. *Diccionario de especialidades agroquímicas*. Thomson PLM del Ecuador S.A. Quito, Ecuador. p. 310.

- Pasteur, N. and Raymonds, M. 1996. Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration and selection in field populations. *J. Heredity* 87: 444-449
- Pérez C. M., Soriano S. J., Ponce A. E., Diaz T. M. 2015. Electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS como herramienta en el estudio de las proteínas miofibrilares. Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. NACAMEH Vol. 9, No. 2, pp. 77-96.
- Pérez M., J., y Noriega B., J. M., 2010. Fisiología General. Universidad de Cantabria.
- Pérez O. S. 2012. Determinación de Enzimas de Resistencia en *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Tesis Presentada como Requisito Parcial Para Obtener el Grado de: Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola. UAAAN.
- Pimentel MAG, Antonino FLR, Duarte BM, Humberto S (2008). Resistance of storedproduct insects to phosphine. *Pesq. Agropec. Bras.* 43: 1671-1676.
- Piñango, L.; E. Arnal y B. Rodríguez. 2001. Fluctuación poblacional de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) bajo tres sistemas de labranza. *Entomotropica* 16(3):173–179.
- Reyes R. Carlos, 2014. Recomendaciones para el manejo integrado de plagas en maíz, con énfasis en gusano cogollero. Panorama agropecuario.
- Rodríguez, M. R. y C. de León. 2008. El cultivo del maíz. Temas selectos. 1^{era} Ed. Editorial de postgraduados, mundi- prensa México, Pp. 29 – 45.
- Rodríguez, Del B. L. A. y H. C. Arredondo, B. 2007. Teoría y aplicación del control biológico. 1era ed. Editorial. Sociedad mexicana de control biológico, A. C. pp. 12, 62, 128, 146, 151.
- Rojas, J. C., A. Virgen, and E. A. Malo. 2004. Seasonal and nocturnal flight activity of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) monitored by pheromone traps in the coast of Chiapas, Mexico. *Fla. Entomol.* 87: 496-503.

- Rosa A. 2009. El cultivo de Maíz, su origen y clasificación. El Maíz en Cuba. Cultivos tropicales vol. 30, Num. 2. pp- 113- 120.
- SAGARPA, 2016. Aumenta producción de maíz 12.7 por ciento en cuatro años. Ciudad de México. Boletín informativo.
- Scott JG, Wen Z (2001). Cytochromes P450 of insects : the tip of the iceberg. Pest Manag Sci 57: 958 – 967.
- Schmitt J, Brocca S, Schmid RD, Pleiss J (2002). Blocking the tunnel: engineering of *Candida rugosa* lipase mutants with short chain length specificity. Protein Eng 15:595-601
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2007) Situación Actual y Perspectivas del Maíz en México 1996–2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México, D.F. 208
- SIAP. Sistema de Información Agropecuaria y Pesquera), 2010. En: <http://www.siap.gob.mx>: Consultado: Marzo, 2017.
- SIAP, (SISTEMA DE INFORMACION AGROALIMENTARIA Y PESQUERA), 2015. Panorama agroalimentario, maíz. En línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2015.pdf. Fecha de consulta: Marzo, 2017.
- Siqueira, H.; Guedes, N.; Picanco, M. 2000. Cartap resistance and synergism in population of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of Applied Entomology 124 (5-6): 233-238
- Thomison, P. R. and Nafziger, E. D. 2003. Defoliation affects grain yield, protein, and oil of TopCross high-oil corn. Online. Crop Management doi:10.1094/CM-2003-1027-01-RS.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2014. Alerta de plagas. APHIS 81-35-025. Emitida en diciembre de 2014.

- USDA (United States Department of Agriculture) ,2017. Maíz producción Mundial.
En línea: <https://www.produccionmundialmaiz.com/> Fecha de consulta:
Marzo,2017.
- Vargas R. Olivares N. Ubillo A. 2008. Manejo Integrado de Resistencia (MIR) y
Selectividad de Plaguicidas. Cp. 5.
- Villa, C. M. M. y E. A. Catalán. V. 2004. Determinación de estadios larvales de
Spodoptera frugiperda (J. E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) para la
construcción de un modelo de predicción. Folia entomológica mexicana. 43:
307-312.
- Wang, J.J., Cheng, W. X., Ding, W. and Zhao, Z.M. (2004). The effect of the
insecticide Dichlorvos on Esterase Activity Extracted from the Psocids.
Liposcelis bostrychophila and *L. entomophila*, Journal of insect Science, 4,
105.
- Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R. M. & Duynslager, L. (2012).
<http://www.pesticideresistance.org/> . Fecha de consulta: Marzo, 2017.
- Wu, G., Jiang, S., Miyata., (2004). Seasonal changes of methamidophos
susceptibility and biochemical properties in *Plutella xillostella*
(Lepidoptera:Yponomeutidae) and its parasitoid, *Cotesia plutellae*
(Himenoptera : Braconidae). J. Econ. Entomol. 97 1689-1698.
- Zenner de Polanía, I.; A. Álvarez y S. Barreto. 2006. Influence of parasitism by
Chelonus insularis Cresson (Hymenoptera: Braconidae) on the
susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:
Noctuidae) to insecticides. Neotrop. Entomol.