



Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Parasitología Agrícola
Tema estratégico (ANA/PEP):	Producción				
Línea de investigación:	Entomología				
Título del proyecto:	Cuantificación de enzimas detoxificativas asociadas a la resistencia de insecticidas en pulgón amarillo del sorgo (<i>Melanaphis sacchari</i>) en el estado de Guanajuato				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	\$ 75,000	El proyecto es:	Nuevo	<input checked="" type="checkbox"/>	Continuación
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	<input checked="" type="checkbox"/>	Tecnológica	e-mail del responsable: jlanflo@hotmail.com
Vinculación:	Si	No	<input checked="" type="checkbox"/>	Fondos concurrentes:	
Cooperante(s):					
Entidad (es):	Saltillo, Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo, Coahuila				
A realizar durante el(los) año(s):	2018				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Jerónimo Landeros Flores	3611	1058		
Colaborador:	Ernesto Cerna Chávez	3611	3563		
Colaborador:	Luis Alberto Aguirre Uribe	3611	899		
Colaborador:	Luis Patricio Guevara Acevedo	Externo	ITRoque		
Colaborador:	Francisco Cervantes Ortiz	Externo	ITRoque		
Colaborador:					
		Grado por obtener	Matrícula	Firma	
Tesista:	Enrique García Burgos	Maestría	61171501		
Programa Docente:	Posgrado en Parasitología Agrícola				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
Vo. Bo.			Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Ernesto Cerna Chávez Jefe de Departamento		Dr. Armando Robledo Olivo Subdirector de Programación y Evaluación		

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

Protocolo para Proyecto de Investigación 2018

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Cuantificación de enzimas detoxificativas asociadas a la resistencia de insecticidas en pulgón amarillo del sorgo (*Melanaphis sacchari*) en el estado de Guanajuato.

\$ 75,000

2.- Introducción

De acuerdo al CESAVEG el estado de Guanajuato reporto una incidencia de pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari*) en el ciclo de primavera-verano 2015, en base a un muestreo que consistió de 2440 ha. muestreadas, reportando una incidencia para el mes de junio de 9.02 % equivalente a 220.08 ha. para el mes de Junio. Posteriormente para el mes de Julio se estaba reportando el 39.73 % que equivalen a 969.41 ha con presencia de pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari*) y ya para el mes de Agosto se tenían reportes del 42.09 % de presencia, equivalentes a 1027 ha del total de muestreo realizado (CESAVEG, 2015).

La presencia de pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari*) origino una serie de problemas debido a que si no existe control puede ocasionar daños en el cultivo que van de un 70 % en cuanto a la reducción de la producción, incluso pueden existir daños reflejados en el 100 % de la producción (Rensburg y Hamburgo, 2015). El pulgón ataca al cultivo del sorgo, tan pronto como este emerge, encontrándolo en cualquier etapa fisiológica de la planta y en todas las etapas de crecimiento. La invasión inicia en el envés de las hojas inferiores y puede colonizar plantas completas (Maya *et al.*, 2014). Generalmente el daño inicia al infestar el envés de las hojas, las cuales se tornan rojizas debido al estilete ocasionado al succionar la savia (SENASICA, 2014). Como daños indirectos, encontramos a la mielecillas las cuales son sustancias azucaradas excretadas por los pulgones, lo cual puede propiciar el crecimiento de la fumagina, este hongo necrosa la planta afectando los procesos fotosintéticos. Se tienen reportes en los cuales se ha encontrado que el pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari*) puede transmitir virus en los que encontramos a el Virus del mosaico de la caña de azúcar (VMCA) y el Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (VHACA) y otras enfermedades (Schenk y Lehrer, 2000; White *et al.* 2001 y CAB International 2014).

Existen diversas alternativas de manejo, sin embargo debido a su alta capacidad de reproducción puede elevar su población en corto tiempo causando daños directos o indirectos, por lo que la aplicación de productos químicos es una de las estrategias más empleadas en el Manejo Integrado de Plagas (MIP) (López-Ávila *et al.*, 2001), y debido a la poca información en cuanto al uso inteligente y racional de productos químicos, lo cual permite 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 permiten a *Melanaphis sacchari* ciertos niveles de toxicidad de productos en el estado de Guanajuato.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar los mecanismos de resistencia de *Melanaphis sacchari* en las principales zonas productoras del bajo.

Hipótesis

- Se espera que el pulgón amarillo del sorgo (*Melanaphis sacchari*) presente al menos una enzima asociada a la tolerancia a insecticidas en el estado de Guanajuato.

El cultivo del 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 (Ragae 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 flava-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 3360 845.78 toneladas (SIAP, 2014), sin embargo, la presencia de áfidos reduce los rendimientos, están reportadas como una 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 E astop, 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 axyris*, *Hyppodamia convergens*, *Coleomegilla maculata*, *Olla v-nigrum*, *Cycloneda sanguinea* y *Scymnus sp.* (INIFAP-CIRNE, 2015), pero debido a la reproducción acelerada de estos áfidos, se recomienda la aplicación de insecticidas sintéticos convencionales como medida de control sobre todo en predios donde el umbral rebase 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, Sulfoxaflor, Spirotetramat, Thiametoxan 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 y cuantificar sus niveles enzimáticos detoxificativos que inducen tolerancia a insecticidas sintéticos en el estado de Guanajuato.

4.- Procedimiento Experimental

1. La investigación se realizara en los principales municipios productores de sorgo en el estado de Guanajuato.
2. Para la obtención del material biológico se realizaran cinco muestreos por municipio en el cultivo del sorgo. Los pulgones se colocaran en tubos eppendorf y posteriormente se meterán en un hielera para evitar que se deshidraten las muestras.
3. Posteriormente se colocaran a un refrigerador para mantener la temperatura óptima que será de 2° C.
4. Una vez muestreados los municipios se transportaran las muestras a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, específicamente al Laboratorio de Toxicología de Insectos.
5. Teniendo todas las muestras, se cuantificara el nivel de proteína, empleando la metodología descrita por Brogdon (1984), utilizando albumina sérica bovina como proteína de referencia para determinar la cantidad de individuos o la cantidad de tejido que se ocupara para la cuantificación de enzimas.

6. Una vez calculada la cantidad de insectos a utilizar, se procederá a determinar los niveles de α -Esterasas y β -Esterasas por la metodología propuesta por Brogdon y Dickinson (1883).
7. Para determinar las oxidasas se obtendrán por la metodología propuesta por Brogdon *et al.*, (1997).
8. En el caso de las Glutathion S-Transferasa (GST) se obtendrán por los métodos propuestos por Brogdon y Barber (1990).
9. Y para determinar las Acetil Colinesterasas (ACE) se realizarán por la metodología propuesta por Brogdon, (1988).
10. Con los datos arrojados en cada una de las enzimas, que este caso serán las lecturas de absorbancias, se realizará una clasificación de resistencia, a través de una ANOVA, Tukey (P=0.05)

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Elaboración del anteproyecto	x	x	x									
Colecta de material biológico				x	x	x	x	x				
Estandarización de la curva estandar de proteína					x							
Cuantificación de proteína por cada población						x						
Cuantificación de enzimas Oxidasas						x	x	x	x			
Cuantificación de enzimas Esterasas						x	x	x	x			
Cuantificación de enzimas GST						x	x	x	x			
Cuantificación de enzimas Acetil Colinasterasa						x	x	x	x			
Análisis de resultados									x	x		
Congresos										x	x	
Escritura de artículo científico										x	x	
Envío de artículos científicos											x	
Revisión de literatura	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Examen de grado												x

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	
Colecta de material biológico				30 %									
Cuantificación de enzimas Oxidasas				50 %									
Cuantificación de enzimas Esterasas				50 %									
Cuantificación de enzimas GST				50 %									
Cuantificación de enzimas Acetil Colinasterasa				50 %									
Congresos										10 %			
Artículo científico												10 %	

Duración total del proyecto

Año de Inicio	Enero del 2018	Año estimado de conclusión	Diciembre del 2018
---------------	----------------	----------------------------	--------------------

5.-Productos Esperados

- Artículo científico enviado en alguna revista internacional

1. 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.
2. Blackman, R. y Eastop, F. 2000. *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*, Wiley, second edition. 476 p.
3. Brogdon, W. G. and Barber, A. M. 1990. Fenitrothion-deltametrina cross resistance conferred by Esterasas in Guatemala *Anopheles albimans*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 37: 130-139.
4. 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. *Analit. Biochem.* 131: 499-503.
5. Brogdon, W. G., 1984, Mosquito protein microassay-1, protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology* 79: 457-459.
6. Brogdon, W. G.; McAllister and Vulule J. 1997. Heme peroxidase activity measured in singlemosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 13: 223-237.
7. CABI. 2014. *Crops Protection Compendium. Data Sheet for: Melanaphis sacchari (Zehntner)*. Consultado en línea en noviembre de 2014 en: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/26757>.
8. CESAVER. 2015. Reporte de actividades de la campaña. Contra pulgón amarillo del sorgo. Agosto, 2015. p. 9.
9. FAOSTAT. (2014). Food and agriculture organization of the united nations. Statistics division. Production of top 5 producers in 2013.
10. INIFAP. (2015). Control químico del pulgón Amarillo del sorgo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Programa de Investigación: Sanidad Forestal y Agrícolas. Informe de proyecto. Proyecto No. 1025432562. 2 p.
11. 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 Noroeste. Boletín electrónico, 1(16). 3p.
12. 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.
13. López-Ávila, A.; Cardona, M. C.; García, G. J.; Rendón, F.; Hernandez, P. 2001. Reconocimiento e Identificación de Enemigos Naturales de las Moscas Blancas (Homóptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología (Colombiana)* v. 27 no.3-4 p. 137-141
14. Maya, V. y Rodriguez, L. (2014). Pulgón Amarillo: una nueva plaga del sorgo en Tamaulipas. Centro de Investigación Regional Noroeste, campo experimental Río Bravo. Despegable para productores. INIFAP/CIRNE: A-532.
15. Ragaei, 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.
16. SAGARPA-CESV. (2016). Presencia de 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.
17. Schenck, S., 2000. Factors affecting the transmission and spread of sugarcane yellow leaf virus. *Plant Dis.* 84, 1085-1088.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. White, W.H., Reagan, T.E., Hall, D.G., 2001. *Melanaphis sacchari* (Homoptera: Aphididae), a sugarcane pest new to Louisiana. *FlaEntomol.* 84, 435-436.