

## MONITOREO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE *Spodoptera exigua* Hübner (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A PROTEÍNAS DE *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Berliner

Sotero Aguilar-Medel<sup>1</sup>✉, J. Concepción Rodríguez-Maciel<sup>2</sup>, Jaime Mejía-Carranza<sup>1</sup>, J. Luis Martínez-Carrillo<sup>3</sup>, Anayely Rosales-Juárez<sup>1</sup> y Martha Elena Mora-Herrera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México. Centro Universitario Tenancingo. Km 1.5, carretera Tenancingo-Villa Guerrero. C. P. 52400, Tenancingo, estado de México.

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco Km 36.5, Montecillo, Texcoco, estado de México. C. P. 56230.

<sup>3</sup>Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, C. P. 85000. Cd. Obregón, Sonora, México

✉ Autor de correspondencia: [sotermex@hotmail.com](mailto:sotermex@hotmail.com)

**RESUMEN.** De 2010 a 2016 se realizaron bioensayos para monitorear la susceptibilidad del gusano soldado *Spodoptera exigua* a las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis* que produce el algodonero Bollgard®II. Las poblaciones monitoreadas fueron: Aldama, Juárez y Ojinaga (Chihuahua); La Laguna (Comarca Lagunera); Valle del Yaqui (Sonora) y la colonia Susceptible. El método de bioensayo utilizado fue el de contaminación superficial de la dieta. Las concentraciones usadas fueron de 10 y 5 µg/ml para las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab, respectivamente. En los bioensayos se usaron larvas neonatas, las cuales se expusieron durante cinco días en condiciones controladas: temperatura de 27 ± 1 °C, humedad relativa del 70 % y fotoperiodo de 14:10 horas-luz. Los parámetros evaluados fueron: a) porcentaje de mortalidad, b) inhibición de desarrollo al tercer instar y c) reducción de peso de las larvas tratadas respecto al testigo. En el caso de la proteína Cry1Ac, los porcentajes de mortalidad variaron de 11.8 % a 15.4 %. El 85 % de las larvas que sobrevivieron a la dosis diagnóstica, ninguna se desarrolló al tercer instar y su peso se redujo entre 88.6 y 91.5 %. Para Cry2Ab, los porcentajes de mortalidad variaron del 27.9 % al 35.0 %; del 70 % de las larvas que sobrevivieron a la dosis diagnóstica, ninguna se desarrolló al tercer instar y su peso se redujo alrededor de 96.5 %. Con base en estos resultados se concluye que las poblaciones monitoreadas de gusano soldado son susceptibles a las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab de *B. thuringiensis*.

**Palabras clave:** Gusano soldado, bioensayo, dosis diagnóstica.

### Monitoring susceptibility of *Spodoptera exigua* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) to proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

**ABSTRACT.** From 2007 to 2016 bioassays were conducted to monitor the susceptibility of the beet armyworm *Spodoptera exigua* to Cry1Ac and Cry2Ab proteins of *Bacillus thuringiensis* produced in the Bollgard®II cotton. Monitored populations were: Aldama, Juárez and Ojinaga (Chihuahua); La Laguna (Comarca Lagunera); Valle del Yaqui (Sonora) and the Susceptible colony. The bioassay method used was that of surface contamination of the diet. The protein concentrations used were 5 and 10 µg/ml of Cry1Ac and Cry2Ab respectively. In the bioassays neonate larvae were used and exposed for five days under controlled conditions: temperature of 27 ± 1 °C, relative humidity of 70% and 14/10 day/ night photoperiod. The parameters evaluated were: a) percentage of mortality, b) inhibition of development the third instar and c) weight reduction of larvae treated with respect to the control. In the case of the Cry1Ac protein, the percentages of mortality varied from 11.8% to 15.4%; 85% of the larvae that survived at the diagnostic dose, none developed the third instar and its weight was reduced between 88.6 and 91.5%. For Cry2Ab, the percentages of mortality varied from the 27.9% 35.0%; 70% of the larvae that survived at the diagnostic dose, none developed the third instar and its weight was reduced around 96.5%. Based on these results it is concluded that monitored beet armyworm populations are susceptible to Cry1Ac and Cry2Ab protein of *B. thuringiensis*.

**Key words:** Beet armyworm, bioassay, diagnostic dose.

## INTRODUCCIÓN

El algodónero biotecnológico Bollgard<sup>®</sup>, produce la proteína Cry1Ac de *B. thuringiensis* para el control de algunas plagas (Perlak *et al.*, 2001), tales como *Heliothis virescens*, *Pectinophora gossypiella* Saunders y *Helicoverpa zea* Boddie. El uso de diversas variedades de algodónero que producen la proteína Cry1Ac han reemplazado el uso de insecticidas convencionales contra estas plagas (Perlak *et al.*, 2001), pero los insectos tienen la capacidad de desarrollar resistencia a las proteínas de *B. thuringiensis* (*Bt*) tanto en condiciones de laboratorio como en condiciones de campo, y al usar las plantas que producen estas proteínas (cultivos *Bt*), la presión de selección es alta, por lo que los insectos pueden desarrollar resistencia.

Mc Gaughey (1985), reportó por primera vez la resistencia de *Plodia interpunctella* a formulaciones de *Bt*; posteriormente, muchos otros insectos desarrollaron resistencia a las proteínas de *Bt* en condiciones de laboratorio (Ferré y Van Rie, 2002). Los primeros informes de la resistencia a *Bt* en condiciones de campo se reportaron en *Plutella xylostella* (Tabashnik *et al.*, 1990) y en condiciones de invernadero en *Trichoplusia ni* (Janmaat y Myers, 2003). En los últimos años se han reportado casos de resistencia en campo de algunas plagas a cultivos *Bt*, por ejemplo, *H. zea* a la proteína Cry1Ac que produce el algodónero Bollgard<sup>®</sup> en el sureste de los Estados Unidos (Luttrell, 2004), *S. frugiperda* a la proteína Cry1F que produce el maíz *Bt* en Puerto Rico (Matten *et al.*, 2008), *Busseola fusca* a la proteína Cry1Ab que también es producida por el maíz *Bt* en Sudáfrica (Van Rensburg, 2007), *H. armigera* a la proteína Cry1Ac producida por el algodón *Bt* en China (Liu *et al.*, 2010) y *Pectinophora gossypiella* a la misma proteína y cultivo en India (Sanyasi y Guajar, 2011). Con la finalidad de incrementar la eficacia, ampliar el rango de plagas y retrasar el desarrollo de la resistencia a las proteínas de *Bt*, se desarrollaron variedades de algodónero que producen más de una proteína, por ejemplo, el algodónero Bollgard<sup>®</sup> II que está disponible para su uso comercialmente desde el 2003 (EPA, 2006) y produce las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab (Greenplate *et al.*, 2003). La eficacia del algodónero Bollgard<sup>®</sup> II es mejor que la de Bollgard<sup>®</sup> contra la mayoría de las plagas lepidópteros. Al producirse simultáneamente las dos proteínas en la misma planta, se incrementó el control del complejo bellotero y se aumentó el espectro de acción contra *Spodoptera exigua* y *S. frugiperda* (Stewart *et al.*, 2001), aunque aún con las dos proteínas, Bollgard<sup>®</sup> II es todavía susceptible a altas poblaciones de *Spodoptera* spp. y *H. zea*, especialmente después de la etapa de floración, por lo que se recomienda hacer aplicaciones de algunos insecticidas piretroides (Jackson *et al.*, 2004).

En el presente documento se presentan los resultados del monitoreo de la susceptibilidad en el periodo 2010-2016 de poblaciones mexicanas de *S. exigua* a las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab que produce el algodónero Bollgard<sup>®</sup> II.

## MATERIALES Y MÉTODO

Las poblaciones de *S. exigua* monitoreadas son las siguientes: Comarca Lagunera (Durango-Coahuila; Laguna, 2010-2016), Juárez, Chih. (Juárez, 2013-2014), Ojinaga, Chih. (2010-2012, 2016), Aldama, Chih. (2016) y Valle del Yaqui, Son. (Valle del Yaqui, 2010-2014). De cada población se colectaron al menos 300 larvas de diferentes instares y se mantuvieron en condiciones de laboratorio hasta obtener pupas y adultos. Como población Susceptible de referencia se utilizó una colonia de *S. exigua* que ha sido criado en condiciones de laboratorio por más de siete años en el laboratorio de entomología del Centro Universitario UAEM Tenancingo, en Tenancingo, Estado de México. Las larvas colectadas en campo se colocaron individualmente en vasitos con diez ml de dieta artificial (*Spodoptera exigua*: Southland Products Inc.). Dichos insectos se mantuvieron en una cámara de cría en condiciones controladas: temperatura de  $27 \pm 1$  °C, humedad relativa del

70 ± 5 % y un fotoperiodo de 14 horas luz. Las larvas se mantuvieron en dieta hasta obtener pupas, las cuales se colocaron en jaulas entomológicas (25 x 25 x 35 cm) para la emergencia y apareamiento de los adultos, mismos que se alimentaron con una solución azucarada al 10 % (agua destilada y miel de abeja). Posteriormente, las hembras fueron colocadas en bolsas de papel donde ovipositaron, y se cambiaron de bolsa cada 24 horas durante el periodo de oviposición. Los huevecillos fueron extraídos de las bolsas.

Las proteínas que se usaron en los bioensayos fueron la Cry1Ac y Cry2Ab. Para la primera se utilizó el insecticida MVP II (Mycogen, Corp. San Diego, CA), formulación sólida que contiene dicha proteína a la concentración de 19.1 % (Gilroy y Wilcox, 1992) y como fuente de la proteína Cry2Ab, se utilizó tejido liofilizado de la planta de maíz (*Zea mays* L.), modificada genéticamente y que expresa la proteína a la concentración de 0.6%. Las dosis diagnósticas que se usaron fueron de 5 y 10 µg/ml de las proteínas Cry2Ab y Cry1Ac, respectivamente. Estas dosis se determinaron previamente mediante bioensayos de líneas base en la población Susceptible. El principal criterio usado para detectar cambios en la susceptibilidad de las larvas a las proteínas *Bt* es que, usando estas dosis, se espera que ninguna larva se desarrolle al tercer instar en cinco días de exposición a las proteínas, en las condiciones ambientales anteriormente indicadas, cuando la población es susceptible, en caso de haber larvas del tercer instar existe la posibilidad que se esté desarrollando la resistencia.

Se utilizó el bioensayo descrito por Sims *et al.* (1996), el cual consistió en colocar un mililitro de dieta artificial en cada cavidad de una charola para bioensayo (Bio-Assay Tray Bio-Ba-128; C-D Internacional, Inc.). Una hora después se depositaron superficialmente sobre la dieta de cada cavidad, 200 µl de la dosis diagnóstica de las respectivas proteínas. Se usó como solvente una solución de agua-agar al 0.2 % (Bacto Nutrient Agar Dehydrated; Difco Laboratories) en agua destilada. Al testigo solamente se le aplicaron 200 µl de la solución de agua-agar. Después de 24 h de haber aplicado la proteína, se colocó una larva neonata. Las larvas quedaron confinadas con un plástico transparente auto adherible (Pull N' Peel Tab Bio-CV-16; C-D Internacional, Inc). Las charolas de bioensayos infestadas se colocaron en la cámara de cría con las condiciones ambientales mencionadas. Cinco días después se evaluaron las siguientes variables: a) porcentaje de mortalidad, b) porcentaje de larvas que alcanzaron el tercer instar, y c) porcentaje de reducción del peso de larvas expuestas respecto al testigo. Se realizaron cinco repeticiones independientes en diferentes días. Cada repetición consistió de 96 larvas tratadas con la dosis diagnóstica y un testigo de 32 larvas. Para los análisis estadísticos, los porcentajes de mortalidad y de reducción de peso se transformaron a la función arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de respuesta/100. Posteriormente se sometieron a un análisis de varianza para determinar las diferencias estadísticas entre los años de evaluación dentro de cada población (ANOVA  $\alpha = 0.05$ ) mediante el procedimiento PROC ANOVA de SAS (SAS Institute, 2000). Los datos se sometieron a una prueba de comparación de medias (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) en caso de haber diferencias estadísticas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Monitoreo de la susceptibilidad de *S. exigua* a la proteína Cry1Ac.** Los porcentajes de mortalidad con la proteína Cry1Ac variaron de 11.8 (Ojinaga, 2010; Laguna, 2015) a 15.4 % (Ojinaga, 2016). No se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los años de monitoreo en cada una de las poblaciones (Cuadro 1). No hubo diferencias entre los porcentajes de mortalidad registrados en 2016. La mortalidad de larvas en las poblaciones de campo fue igual a las de la colonia Susceptible (Cuadro 3).

Por otra parte, el 85 % de las larvas que sobrevivieron a la dosis diagnóstica, ninguna se desarrolló al tercer instar, éstas se mantuvieron entre el primer y segundo instar; mientras que en los respectivos testigos más del 65 % se desarrollaron al tercer instar. Esto último, es la razón por la cual se registra el desarrollo de las larvas al tercer instar (Cuadro 1).

Cuadro 1. Monitoreo de la susceptibilidad de *Spodoptera exigua* a la proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* mediante bioensayos de la dosis diagnóstica (DD = 5 µg/ml) en el periodo 2010-2016.

Poblaciones y Variables Evaluadas	Periodo de Evaluación						
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<b>ALDAMA</b>							
Mortalidad (%)							14.2±2.3
Tercer instar en DD (%)							0.00
Tercer instar en testigo (%)							80.6±2.3
Reducción del peso (%)							91.5±0.7
<b>LAGUNA</b>							
Mortalidad (%)	13.6±1.1a	12.8±5.3a	13.7±3.3a	13.3±2.6a	13.8±1.4a	11.8±1.0a	13.9±2.5a
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tercer instar en testigo (%)	66.3±4.6	65.6±6.3	66.9±5.8	70.0±3.2	75.0±4.4	73.8±5.8	81.9±3.6
Reducción del peso (%)	89.1±0.9b	89.4±0.9ab	88.6±0.9b	89.0±1.4b	90.1±1.1ab	90.1±1.1ab	91.2±8.6a
<b>JUÁREZ</b>							
Mortalidad (%)				13.4±1.8a	12.6±3.3a		
Tercer instar en DD (%)				0.00	0.00		
Tercer instar en testigo (%)				75.0±2.0	74.4±5.4		
Reducción del peso (%)				90.2±1.0a	90.1±1.0a		
<b>OJINAGA</b>							
Mortalidad (%)	11.8±3.2a	13.9±4.2a	13.1±1.5a				15.4±2.7a
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00				0.00
Tercer instar en testigo (%)	69.4±5.4	67.5±5.8	65.6±5.2				83.1±2.5
Reducción del peso (%)	89.4±0.7a	89.9±1.1a	90.0±1.1a				90.8±1.6a
<b>VALLE DEL YAQUI</b>							
Mortalidad (%)	14.3±2.6a	12.3±2.9a	13.7±4.9a	12.2±2.4a	13.0±1.8a		
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
Tercer instar en testigo (%)	66.9±5.1	68.1±4.6	66.3±6.1	73.8±4.2	74.4±3.6		
Reducción del peso (%)	89.3±1.6a	89.9±0.6a	89.3±1.0a	90.8±0.9a	90.8±0.5a		
<b>SUSCEPTIBLE</b>							
Mortalidad (%)	13.0±3.1a	13.6±4.4a	12.8±3.8a	12.7±2.7a	13.4±1.5a	13.8±4.2a	14.8±1.0a
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tercer instar en testigo (%)	68.1±6.1	71.3±5.4	66.3±7.2	71.9±5.2	75.0±5.2	75.0±4.4	81.9±2.3
Reducción del peso (%)	89.8±1.3a	90.3±1.7a	89.9±0.9a	91.0±0.8a	90.1±1.0a	90.2±1.3a	91.1±0.6a

Valores en cada hilera que tengan la misma letra no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ).

También se registró la reducción de peso de las larvas tratadas respecto a los testigos. En general, la reducción del peso fue elevada, el valor más alto fue de 91.5 % (Aldama, 2016) y el más bajo de 88.6 % (Laguna, 2012). Solamente en la población de la Laguna se registraron diferencias estadísticamente significativas, el mayor porcentaje fue del 91.2 % (2016) y el porcentaje más bajo del 88.6 % (2012), la diferencia es de 2.6 % y en este rango se presentaron las diferencias estadísticas (Cuadro 1). De manera adicional, también se hizo un análisis de varianza entre los porcentajes de reducción de peso registrado exclusivamente en 2016. Los resultados de este análisis indican que las poblaciones de campo son iguales estadísticamente a la colonia Susceptible (Cuadro 3). La colonia Susceptible sirve de referencia para estimar cambios en la susceptibilidad de las poblaciones de campo. Las larvas sobrevivientes fueron dañadas severamente tanto física como biológicamente, y ya no tienen la capacidad de alcanzar el estado de pupa y mucho menos el estado adulto, son larvas que morirán más adelante, por lo que la mortalidad pasará del 15 % al 100 %.

**Monitoreo de la susceptibilidad de *S. exigua* a la proteína Cry2Ab.** En general, en el periodo 2010-2016, los porcentajes de mortalidad registrados fueron de 27.9 % (Laguna, 2011) a 35.0 %

(Laguna, 2016). En ninguna población se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los años de monitoreo (Cuadro 2), y tampoco hubo diferencias entre los porcentajes de mortalidad registrados exclusivamente en 2016 (Cuadro 3).

Cuadro 2. Monitoreo de la susceptibilidad de *Spodoptera exigua* a la proteína Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis* mediante bioensayos de la dosis diagnóstica (DD = 5 µg/ml) en el periodo 2010-2016.

Poblaciones y Variables Evaluadas	Periodo de Evaluación						
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<b>ALDAMA</b>							
Mortalidad (%)							34.8±2.6
Tercer instar en DD (%)							0.00
Tercer instar en testigo (%)							84.4±4.4
Reducción del peso (%)							97.0±0.4
<b>LAGUNA</b>							
Mortalidad (%)	30.0±3.6a	27.9±3.6a	30.7±3.9a	29.9±1.7a	31.3±4.5a	30.8±3.5a	35.0±2.7a
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tercer instar en testigo (%)	67.5±3.2	72.5±3.2	65.6±5.2	74.4±6.7	73.8±5.4	77.5±5.2	86.9±3.6
Reducción del peso (%)	97.5±0.4a	96.7±0.6b	96.9±0.4ab	96.9±0.3ab	97.1±0.2a	97.1±0.3a	97.0±0.4a
					b	b	b
<b>JUÁREZ</b>							
Mortalidad (%)				29.5±6.6a	31.8±4.1a		
Tercer instar en DD (%)				0.00	0.00		
Tercer instar en testigo (%)				73.8±4.7	74.4±4.1		
Reducción del peso (%)				96.4±0.5a	96.2±0.6a		
<b>OJINAGA</b>							
Mortalidad (%)	28.3±4.4a	28.6±3.4a	31.0±2.6a				33.1±3.7a
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00				0.00
Tercer instar en testigo (%)	66.3±3.6	69.4±4.6	69.4±4.6				85.6±3.2
Reducción del peso (%)	97.4±0.5a	97.3±0.5a	96.1±0.3a				97.2±0.5a
<b>VALLE DEL YAQUI</b>							
Mortalidad (%)	30.0±2.1a	29.6±6.6a	31.0±2.4a	29.5±3.7a	32.6±4.1a		
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
Tercer instar en testigo (%)	69.4±3.6	68.1±4.6	66.9±6.1	70.6±4.7	72.5±4.6		
Reducción del peso (%)	97.6±0.4a	97.3±0.5a	97.2±0.2ab	96.7±0.3b	96.6±0.4b		
		b					
<b>SUSCEPTIBLE</b>							
Mortalidad (%)	31.1±4.0a	28.5±5.7a	31.8±4.3a	31.0±4.1a	30.9±4.1a	29.1±3.5a	34.2±2.7a
Tercer instar en DD (%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tercer instar en testigo (%)	68.1±6.4	65.0±6.7	65.0±5.0	67.5±3.2	72.5±4.6	75.6±4.6	81.9±3.6
Reducción del peso (%)	97.2±0.7a	96.9±0.8a	97.0±0.6a	96.3±0.3a	96.7±0.4a	96.9±0.2a	97.3±0.4a

Valores en cada hilera que tengan la misma letra no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ).

Por otra parte, ninguna de las larvas que sobrevivieron a la dosis diagnóstica (5 µg/ml) se desarrollaron al tercer instar, el aspecto de estas larvas es similar a la de una larva de primero o segundo instar, mientras que en los testigos, más del 65 % alcanzaron este estado de desarrollo.

El porcentaje de reducción de peso fue elevado, alrededor del 96.5 %, con algunas diferencias estadísticamente significativas en algunas poblaciones, tales como la Laguna y Valle del Yaqui. En la población de la Laguna, el porcentaje más alto fue de 97.5 % (2010) y el más bajo de 96.7 % (2011). La diferencia entre el más alto y el más bajo es de 0.8 %. Para la población del Valle del Yaqui, el porcentaje más alto fue de 97.6 % registrado en el 2010, le siguieron 2011 y 2012 con 97.3 % y 97.2 %, respectivamente, y los valores más bajos se registraron en 2013 y 2014 con 96.7 % y 96.6 %, respectivamente (Cuadro 2). La diferencia entre el valor más alto y el más bajo es del 1 %. En la práctica, las diferencias registradas en ambas poblaciones no son importantes biológicamente. Por otra parte, también se hizo un análisis de varianza y comparación de medias (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) entre los porcentajes de reducción de peso de las poblaciones que se evaluaron exclusivamente en 2016. Los resultados derivados de este análisis señalan que no existen

diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de campo y la colonia de laboratorio (Cuadro 3), lo que indica que los insectos que provienen de campo son susceptibles a la proteína Cry2Ab.

Cuadro 3. Análisis de varianza sobre los porcentajes de mortalidad y reducción de peso de larvas de *Spodoptera exigua* por efecto de las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis* en el 2016.

Población	Mortalidad (%) $\pm$ EE <sup>a</sup>		Reducción del peso (%) $\pm$ EE <sup>a</sup>	
	Cry1Ac (10 $\mu$ g/ml)	Cry2Ab (5 $\mu$ g/ml)	Cry1Ac (10 $\mu$ g/ml)	Cry2Ab (5 $\mu$ g/ml)
Aldama	14.2 $\pm$ 2.3a	34.8 $\pm$ 2.6a	91.5 $\pm$ 0.7a	97.0 $\pm$ 0.4a
Laguna	13.9 $\pm$ 2.5a	35.0 $\pm$ 2.7a	91.2 $\pm$ 8.6a	97.0 $\pm$ 0.4a
Ojinaga	15.4 $\pm$ 2.7a	33.1 $\pm$ 3.7a	90.8 $\pm$ 1.6a	97.2 $\pm$ 0.5a
Susceptible	14.8 $\pm$ 1.0a	34.2 $\pm$ 2.7a	91.1 $\pm$ 0.6a	97.3 $\pm$ 0.4a

Valores dentro de cada columna que tengan la misma letra no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ). <sup>a</sup>Error estándar de la media.

## CONCLUSIÓN

Con la dosis diagnóstica de las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab, los porcentajes de mortalidad de larvas fueron bajos, pero las que sobrevivieron su peso se redujo sustancialmente. Con estas variables no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los años de monitoreo en ninguna de las poblaciones, además, tampoco se desarrollaron larvas del tercer instar, mientras que en los respectivos testigos, la mayoría alcanzaron este estado de desarrollo. Con los datos de mortalidad y reducción de peso de 2016, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de campo y la colonia Susceptible. Con base en estos resultados se concluye que las proteínas son efectivas para controlar al gusano soldado y que las poblaciones monitoreadas de *S. exigua* siguen siendo susceptibles a las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab de *B. thuringiensis*.

## Literatura Citada

- Ferré, J. and J. Van Rie. 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, 47: 501–533.
- Gilroy, T. E., and E. R. Wilcox. 1992. Hybrid *Bacillus thuringiensis* gene, plasmid, and transformed *Pseudomonas fluorescens*. U. S. Patent 5, 128,130.
- Greenplate, J. T., Mullins, J. W., Penn, S. R., Daham, A., Reich, B. J., Osborn, J. A., Rahn, P. R., Ruschke, L. and Z. W. Shappley. 2003. Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative contribution, toxin interaction, and resistance management. *Journal of Applied Entomology*, 127: 340–347.
- Jackson, R. E., Bradley, Jr. J. R., van Duyn, J.W. and F. Gould. 2004. Comparative production of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton expressing either one or two *Bacillus thuringiensis* proteins with and without insecticide oversprays. *Journal of Economic Entomology*, 97: 1719–1725.
- Janmaat, A. F. and J. Myers. 2003. Rapid evolution and the cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in greenhouse populations of cabbage looper *Trichoplusia ni*. *Proceedings of the Royal Society London Ser B Biological Sciences*, 270: 2263–2270.
- Liu, F. Xu, Z., Zhu, Y. C., Huang, F., Wang, Y., Li, H., Li, H., Gao, C., Zhou, W. and J. Shen. 2010. Evidence of field-evolved resistance to Cry1Ac-expressing Bt cotton in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northern China. *Pest Management Science*, 66: 155–161.
- Luttrell, R. G. 2004. Resistance to Bt in Arkansas populations of cotton bollworm. Pp. 1373–1383. In: D. A. Richter. (Ed.). *Proceedings of Beltwide Cotton Conferences*. National Council of America, Memphis, TN.

- Matten, S. R., Head, G. P. and H. D. Quemada. 2008. How governmental regulation can help or hinder the integration of Bt crops into IPM programs. Pp. 27–30. In: J. Romeis, A. M. Shelton and G.C. Kennedy. (Eds.) *Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops within IPM Programs*. Springer, New York, NY.
- McGaughey, W. H. 1985. Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, 229: 193–194.
- Perlak, F. J., Oppenhuizen, M., Gustafson, K., Voth, R., Sivasupramaniam, S., Heering, D., Carey, B., Ihrig, R. A. and J. K. Roberts. 2001. Development and commercial use of Bollgard cotton in the USA-early promises versus today's reality. *The Plant Journal*, 27: 489–501.
- Sanyasi, D. and G. Govind. 2011. Field-evolved resistance to Bt toxin Cry1Ac in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), from India. *Pest Management Science*, 67: 898–903.
- SAS Institute. 2000. SAS/STAT guide for personal computers, version 8.1. SAS Institute, Cary, NC.
- Sims, S. B., Greenplate, J. T., Stone, T. B., Caprio, M. A. and F. L. Gould. 1996. Monitoring strategies for early detection of Lepidoptera resistance to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. Pp. 229–242. In T. M. Brown. (Ed.). *Molecular Genetics and Evolution of Pesticide Resistance*. ACS Symposium Series No. 645. American Chemical Society, Washington, DC.
- Stewart, S. D., Adamczyk Jr. J. J., Knighten, K. S. and F. M. Davis. 2001. Impact of *Bt* cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 94: 752–760.
- Tabashnik, B. E., Cushing, N. L., Finson, N. and M. W. Johnson. 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1671–1676.
- Van Rensburg, J. B. J. 2007. First report of field resistance by stem borer, *Busseola fusca* (Fuller), to Bt-transgenic maize. *South African Journal of Plant and Soil*, 24: 147–151.