



Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* de diferentes áreas costeras

Ninfa M. Rosas-García | Maribel Mireles-Martínez | Gildardo Rivera-Sánchez
| J. Manuel Villegas-Mendoza | Francisco A. Paredes-Sánchez | Verónica Herrera-Mayorga
Centro de Biotecnología Genómica | INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

correo-e: veronica_qfb@hotmail.com

Resumen

Spodoptera frugiperda es una plaga polífaga y constante de la cual se han identificado especies morfológicamente iguales pero genéticamente diferentes, llamadas biotipos. En el presente trabajo se planteó la identificación de variaciones genéticas entre los individuos de *S. frugiperda* de distintas áreas costeras, a fin de conocer los biotipos existentes y analizar qué factores interfieren. Se obtuvieron muestras de dos poblaciones: Mante, Tampaulipas, Guasave, Sinaloa, a partir de plantas de maíz y una población control de Chiefland, Florida, de plantas de pasto Bermuda. Se realizó la identificación molecular de biotipos en 50 individuos mediante la técnica PCR-RFLP. Se utilizó la enzima *MspI* obteniendo productos de amplificación de 569 pb y productos de digestión de 497 y 72 pb, característicos del biotipo maíz en individuos de Mante y Guasave y 569 pb, sin productos de digestión para el biotipo arroz en los individuos de Chiefland, Florida. El estudio demuestra la presencia del biotipo maíz en dos poblaciones de México, con una posible relación hacia la planta hospedera y no hacia el aislamiento geográfico.

Palabras clave: biotipos, *Spodoptera frugiperda*, PCR-RFLP.

Introducción

El estudio se plantea en un insecto plaga cuyo nombre científico es *Spodoptera frugiperda*, un insecto lepidóptero perteneciente a la familia de los noctuidos. Se conoce con el nombre común de «gusano cogollero», una plaga que causa el daño durante el estadio larval al alimentarse de diferentes cultivos.

Su característica polífaga ha facilitado el desarrollo de un proceso de adaptación fisiológica a los cambios en su medio ambiente (Pogue, 2002). Por lo tanto causa graves repercusiones económicas para los agricultores; además, ocasiona serios problemas ambientales al tener que incrementar las dosis y el número de aplicaciones de insecticidas químicos.

Debido a lo anterior, durante más de cuatro décadas se han propuesto e innovado técnicas para el control de poblaciones de *S. frugiperda*. Sin embargo, se ha observado que dos de los principales problemas para su control continúan siendo la diversidad genética y el desarrollo de resistencia.

La primera problemática fue encontrada en la década de los 1980 por Pashley *et al.* En 1986 dicho estudio mostró la presencia de dos cepas que llamaron biotipo arroz y biotipo maíz. Los biotipos son especies hermanas con diferenciaciones genéticas marcadas que manifiestan bajas tasas de hibridación o cuya hibridación no ocurre (Dres y Mallet, 2002).

Se habla de especies fenotípicamente iguales pero genéticamente disímiles, y con comportamientos diferentes como: *a)* preferencia por plantas hospederas, por ejemplo el biotipo de maíz tiene preferencia por plantas hospederas de maíz, sorgo y algodón y el biotipo de arroz por arroz y pastos (Pashley, 1986; Pashley, 1998; Nagoshi y Meagher, 2003a, 2004; Pashley, *et al.*, 2004); *b)* aislamiento reproductivo; *c)* resistencia a distintas estrategias de control.

La implementación de múltiples técnicas moleculares ha facilitado la identificación de los biotipos. Algunos autores han realizado la identificación y han atribuido ese proceso de co-evolución al aislamiento geográfico; algunos otros, a la preferencia por el hos-

pedero, pero la resistencia a las distintas estrategias de control continúa (Pashley, 2004; Nagoshi y Meagher, 2007).

Metodología

Se obtuvieron 20 muestras de larvas de *S. frugiperda* de cultivos de maíz localizados en Mante, Tamaulipas y 10 de Guasave, Sinaloa. Se emplearon 20 muestras como control positivo, previamente caracterizadas como biotipo arroz de Chiefland, Florida.

Las muestras de cada individuo se colocaron a -70°C , para la extracción del ADN se utilizó el protocolo del estuche comercial PROMEGA, la genotipificación de individuos se llevó a cabo mediante una PCR-RFLP de la región COI del ADN mitocondrial, se usaron los cebadores indicados por Nagoshi y Meagher en 2003.

El ADN genómico se amplificó mediante PCR en 25 μl de mezcla de reacción, que contuvo 5 μl de buffer de *Taq* polimerasa (5X), 0.5 μl de dNTPs (2.5 mM), 1.0 μl de cebador forward JM76 (5' GAGCTGAATTAGG(G/A)ACTCCAG 3'), 1.0 μl de cebador reverse JM77 (5' ATCACCTCC(A/T)CCTGCAGGATC 3'), 0.2 μl (5 U/ μl) de *Taq* ADN polimerasa, 16.3 μl de agua y 1.0 μl de ADN (50 ng).

La PCR se realizó con un ciclo inicial de 94°C por 1 minuto, seguido de 30 ciclos a 92°C por 45 segundos, 56°C por 45 segundos y 72°C por 1 minuto, y un ciclo de extensión final de 72°C por 3 minutos. Posteriormente se efectuó una digestión con la enzima de restricción *MspI*; se utilizó 40 μl del producto de PCR y 2.5 unidades de la enzima *MspI*; se incubaron a 37°C por 2 h. y se analizaron en un gel de agarosa al 2.5% con sybr 0.4%.

Resultados y discusión

Se examinó un total de 50 muestras, 20 de un estado del área costera del golfo de México, 10 pertenecientes a un estado de la zona costera del pacífico, las cuales mostraron un fragmento de 569 pb como

producto de amplificación y digestiones con la enzima *MspI* de 497 y 72 pares de bases característicos del biotipo maíz. Se caracterizaron 20 individuos de una cepa previamente caracterizada como biotipo arroz para verificar una correcta amplificación, presentó el producto de amplificación de 569 pares de bases y no tuvo digestión enzimática (figura 1).

Los resultados de esta investigación indican que posiblemente el aislamiento geográfico no está interviniendo en el proceso de co-evolución de este insecto, ya que no hubo variaciones entre las poblaciones de áreas costeras diferentes. Ello difiere con los resultados de López-Edwards *et al.* en 1999, donde evaluaron rasgos de comportamiento y resistencia en cinco poblaciones de gusano cogollero.

Sus resultados advierten que existen dos cepas o biotipos entre las poblaciones de gusano cogollero del maíz, lo cual atribuyeron quizá al aislamiento reproductivo debido al aislamiento geográfico. Mencionan una cepa formada por las poblaciones de Yucatán, Nuevo León y Aguascalientes, localizadas en la Costa del Golfo de México, y la segunda por Colima y Sinaloa, situadas en la Costa del Océano Pacífico, ya que no produjeron progenie entre ellas.

Por su parte, en el presente trabajo no se encontró una variación en cuanto a la presencia del biotipo maíz. Ese mismo comportamiento de poblaciones coincide con el estudio publicado por Clark y cols. en 2007, donde mediante AFLP evaluaron la variabilidad genética de *S. frugiperda* de veinte poblaciones recolectadas a partir de maíz, una población del árbol princesa, una población del árbol de limón, y una población a partir de pasto bermuda, lo que dio un total de 23 poblaciones de diferentes áreas geográficas.

Sus resultados indican que la presencia de biotipo maíz y biotipo arroz se da por el carácter preferencial hacia la planta hospedera, ya que hay una ausencia de estructura genética asociada geográficamente; ello se debe a que la variabilidad entre las poblaciones es nula y que el aislamiento geográfico no interfiere.

Tales resultados también coinciden con el trabajo de Busato *et al.* en 2004 mediante AFLP de larvas colectadas de plantas de maíz y arroz en varias poblaciones de Brasil, donde concluyeron la existencia de dos biotipos distintos específicos para cada planta hospedera.

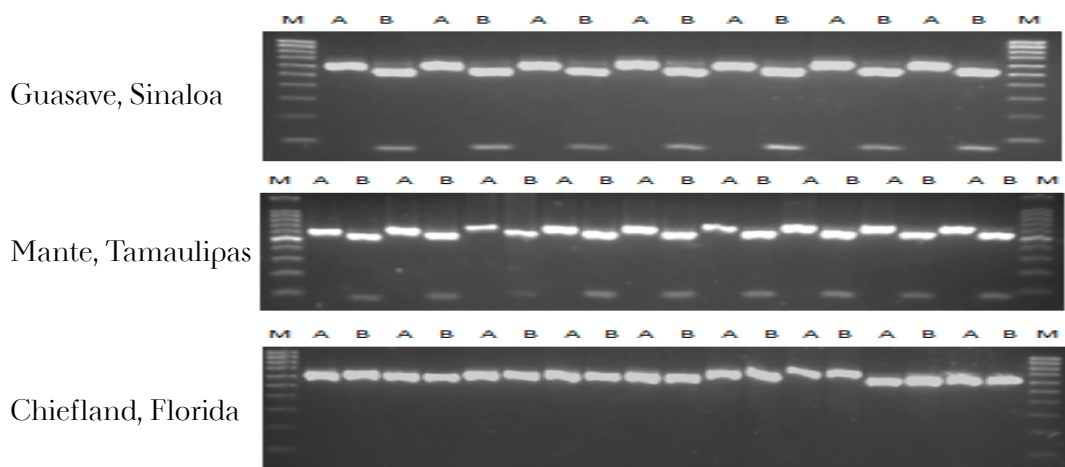


Figura 1. Amplificación y digestión del gen mitocondrial de la región COI de *S. frugiperda* Gel de agarosa al 2.5%. a) Fragmento de amplificación esperado de 569 pb. b) Productos esperados con la enzima de restricción *MspI* con tamaños aproximadamente de 497 y 72 pb característicos para el biotipo maíz en la población Reynosa y productos sin digerir característicos de biotipo arroz para las muestras control.

En nuestro trabajo no hallamos disimilitudes entre las poblaciones analizadas de México, sólo en la población control de Chiefland, que presentó el biotipo de arroz; esto se obtuvo de planta hospedera de past. Otros autores como Pashley *et al.* en 1986 analizaron cuatro poblaciones de México y una de Puerto Rico. Sólo se encontró la presencia del biotipo arroz en una población de Puerto Rico, tomada a partir de la planta hospedera de arroz.

Eso apoya que la presencia de biotipos no está dada por el aislamiento geográfico, se debe a la planta hospedera como lo había indicado Clark *et al.* y como se ha reiterado en este trabajo. No obstante, es necesario analizar individuos de otras plantas para apreciar mejor el comportamiento y distribución de ese insecto en México y descartar la presencia del biotipo arroz.

Conclusiones

En la diferenciación de biotipos de *S. frugiperda* con la técnica de PCR-RFLP, los resultados del marcador del gen COI indican que dos poblaciones mexicanas de distintas áreas costeras procedentes de la planta maíz presentaron el biotipo de maíz contrastante con una población control del biotipo arroz, obtenida a partir de planta hospedera de pasto bermuda.

Agradecimientos

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) unidad Sinaloa y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos-Servicio de Investigación Agrícola (USDA-ARS).

Referencias

- Busato, G.R., Gruztmacher, A.D., De Oliveira, A.C., Vieira, E.A., Zimmer, P.A., Kopp, M.M., De Bandeira, J., Magalães, T. (2004). Análise da estrutura e diversidade molecular de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) asociadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. *Neotropical Entomology*, 33(6):709-716.
- Caballero, P., Murillo, R., Muñoz, D., Williams, T. (2009). El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) como bioplaguicida: análisis de avances recientes en España. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(2):405-415.
- Clark, L., Molina-Ochoa, P., Martinelli, J., Skoda, S., Isenhour D., S., Lee, J., Krumm, J.T. y Foster J., E. (2007). Population variation of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in the Western Hemisphere. *Journal of Insect Science*, 7(5):1-10
- Dres, M., Mallet, J. (2002). Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric speciation. *Philosophical Transactions B*, 357(1420):471-492.
- López Edwards, M., Hernández, M., Pescador, R.A., Molina, O.J., Lezama, G.R., Hamm, J.J., y Wiseman, B.R. (1999). Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico. *Florida Entomologist*, 82(2):254-262.
- Nagoshi, R.D., Meagher, R.L. (2003). Fall armyworm FR sequences map to sex chromosomes and their distribution in the world indicate limitations in interstrain mating. *Insect Molecular Biology*, 12(5): 453-456.
- Nagoshi, R., Silvie, N., Meagher Jr, R.L., Lopez, J., Machado, V. (2007). Identification and comparison of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil, Texas and Florida. *Annals of the Entomological Society of America*, 100(3):394-402.
- Pashley, D.P. (1986). Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Asibling species complex. *Annals of the Entomological Society of America*, 79(6):898-904.
- Pashley, D.P., McMichael, M., Silvain, J.F. (2004). Multilocus genetic analysis of host use, introgression, and speciation in host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 97(5):1034-1044.