

VIAS DE DETOXIFICACIÓN DE *Cyclocephala comata* Bates (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE) A DIFERENTES INSECTICIDAS UTILIZADOS PARA SU CONTROL

Benito Monroy-Reyes¹✉, Jonathan Manuel López-Plascencia², Iris Viviana Zepeda-Rivera², Omar Alejandro Posos-Parra¹, Enrique Pimenta-Barrios¹, José Gustavo Enciso-Cabral y Pedro Posos-Ponce¹

¹Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. KM. 15.6 Carr. Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Municipio de Zapopan, Jalisco. C.P 41100-

²Estudiante de la Carrera de Ingeniero Agrónomo en la Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. KM. 15.6 Carr. Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Municipio de Zapopan, Jalisco. C.P 41100

✉ Autor de correspondencia: bmonroy17@gmail.com

RESUMEN. La forma de manejo de *Cyclocephala comata* es a base de control químico. El uso indiscriminado de insecticidas ha ocasionado un alto grado de resistencia de *C. comata* a estos productos, por lo que es crucial identificar las vías de detoxificación involucradas, siendo el objetivo de esta investigación, determinar mediante el uso de sinergistas las vías de detoxificación usadas por *C. comata* a diferentes insecticidas utilizados en su control. Para conocer las vías de detoxificación se determinó la DL₅₀ de la mezcla de los insecticidas con los sinergistas. Tales como: DEF (Merphos), DEM (Diethyl maleato) y PBO (Butóxido de Piperonilo) mezclados en proporción de 1:10, con los siguientes insecticidas: Lindano, Clorpirifos, Diazinón, Carbofurán, Bifentrina y Teflutrina. Para la determinación de las DL₅₀ se empleó la técnica de aplicación tópica y se evaluaron 6-9 rangos de dosis de cada insecticida sobre 20 larvas. Cuando se presentó mortalidad en los testigos sin aplicar esta se corrigió mediante la fórmula de Abbott, los datos se analizaron mediante análisis Probit. Posteriormente se determinó la proporción de sinergismo para las vías de detoxificación en estudio siendo la principal vía de detoxificación por Oxidasas, seguidas de Esterasas y en menor proporción Glutacion-S-Transferasas. Anotar proporciones de resistencia, datos, números que ayuden a dar mayor claridad de resultados en esta parte del manuscrito.

Palabras clave: Cyclocephala, sinergistas, resistencia, detoxificación, enzimas.

Insecticides detoxification pathways in masked chafer (*Cyclocephala comata*) Bates (Coleoptera: Scarabaeidae)

ABSTRACT. Insecticide resistance in masked chafer (*C. comata*) is due to the current indiscriminate usage of insecticides. For this reason, it is crucial to identify the detoxification routes involved in the insecticide resistance through the synergic pathways. LD₅₀ of DEF (Morphos), DEM (Diethyl maleate) and PBO (Piperonyl butoxide) in 1:10 rates with Lindano, Chlorpyrifos, Diazinón, Carbofuran, Bifentrin and Teflutrin insecticides was determined by topic method, using 20 larvae with 6 or 9 insecticide doses. Mortality results were corrected by Abbott's method and Probit analysis were used to obtain regression equation. Synergic proportion was determined by any detoxification routes (Oxidases, Esterase or Glutacion-S-Transferanse).

Key words: *Cyclocephala comata*, synergist, resistance, detoxification, enzymes.

INTRODUCCIÓN

A nivel nacional las plagas rizófagas representan uno de los principales problemas de carácter fitosanitario (SARH, 1992 y Morón, 2001). El Estado de Jalisco es uno de los más representativos de este problema con una superficie infestada de aproximadamente 200 mil hectáreas; afectando principalmente las zonas de temporal (Deloya, 1988; Félix, 1990, Morón, 2001 y Díaz-Madero et al., 2006).

Dentro de los géneros de “gallinas ciegas” las larvas de *C. comata* representan uno de los principales problemas de carácter fitosanitario en la entidad en los diferentes cultivos que se siembran, llegando a

afectar alrededor de 29 familias de plantas y aproximadamente 100 diferentes cultivos (Morón, 1990 y García et al., 2009). Estas pueden atacar a cualquier cultivo en sus diferentes etapas de desarrollo; sin embargo, la etapa más crítica se presenta en los primeros 60 días de su desarrollo fisiológico, (Pérez, 1987), en donde las larvas de gallina ciega ocasionan un fuerte daño por ser tan voraces, ya que requieren consumir de 45 a 65 veces el peso de su cuerpo para completar su ciclo biológico, poniendo en riesgo el sistema radicular de la planta, al ser este su principal hospedero Morón (2001). Además, como consecuencia de las heridas causadas al sistema radicular de las plantas, se ve aumentada la incidencia de enfermedades provocadas por patógenos del suelo como *Fusarium* (Alvarez, 1988 y de la Paz et al., 2007).

Actualmente las principales herramientas que los agricultores tienen para combatir esta plaga son: el control cultural y el control químico, siendo este último el más generalizado, debido a que en un inicio se utilizaron los insecticidas clorados los cuales fueron retirados del mercado hace algunos años, y los ingredientes activos de uso común están representados principalmente por Fosforados, Carbamatos y Piretroides (PLM, 1999 y PLM, 2002). Estos productos tienen en el mercado más de 15 años; sin embargo, año con año se han usado indiscriminadamente, sustentando la aparición de niveles de resistencia a partir de 1993 (Posos et al., 1995).

Investigaciones realizadas con otras plagas, han demostrado que después de un cierto tiempo del uso de diferentes insecticidas del mismo grupo toxicológico, estos se vuelven resistentes y los insectos desarrollan vías metabólicas que les permiten desdoblarse las moléculas químicas haciendo que se vuelvan inocuas para los insectos (Bisset et al., 2000).

Por otra parte, Brogdon et al., (1998) y Panini et al., (2016) señala que las principales vías metabólicas que usan los insectos para metabolizar los insecticidas son a través de la vía enzimática como: Esterasas, Oxidasas Microsómicas de Función Mixta (FOM) y Glutathion-S-transferasas, además, los piretroides muestran un mecanismo adicional llamado resistencia al derribo, al igual que los organofosforados, a la insensibilidad de la acetilcolinesterasa.

Debido a que se desconocen los mecanismos de resistencia desarrollados por *C. Comata* para detoxificar los insecticidas utilizados en su control, los objetivos principales de este trabajo consistieron en determinar mediante el uso de sinergistas, las vías de detoxificación que ha desarrollado *C. comata* para los insecticidas de los diferentes grupos toxicológicos utilizados para su control, esto con el fin de proponer un manejo rotacional de insecticidas eficiente para el manejo de dicha plaga.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente trabajo de investigación se realizó con población de *C. comata* procedente de San Martín Hidalgo, Jalisco, ubicado a los 20°16' de latitud norte y a los 103°56' de longitud oeste. Se ubica a una altura de 1,300 msnm. El clima se clasifica como: (A)C(wo)a(e), perteneciendo al grupo de los semicálidos, subhúmedos, con verano cálido. La temperatura media anual en el mes más cálido es de 22°C; teniendo precipitación pluvial de 887 mm. anuales con suelos de origen volcánico, constituidos por arcillas volcánicas de clima subhúmedo, siendo clasificados como suelos vertisoles, pélicos de textura fina y de color gris oscuro (INEGI, 2000).

El material biológico de la población de *C. comata* se obtuvo de parcelas comerciales de cultivos sembrados en la región durante los ciclos P/V 2014 y 2015. En los meses de julio y agosto, se llevaron a cabo las colectas de larvas de *C. comata*, las cuales se colocaron en bolsas negras de polietileno, a las que previamente se les adicionó una proporción de tierra en mezcla con materia orgánica y/o germinado de maíz, con el fin de proveerles alimento a las larvas y a su vez las condiciones similares a su medio natural para así ser trasladadas al laboratorio y llevar a cabo los bioensayos.

Una vez colectadas las larvas de campo se trasladaron a los laboratorios del Centro de Investigación y Graduados agropecuarios CIGA-ITTJ ubicados en el municipio de Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco.

El material biológico colectado en campo y establecido en laboratorio fue colocado en cajas de plástico con tierra y materia orgánica como alimento, se seleccionaron las larvas de tercer estadio de acuerdo con el tamaño para así contar con una población lo más homogénea posible. Enseguida se

pesaron y estas se separaron en grupos de 20 larvas, las cuales nuevamente se colocaron en cajas de polipropileno con una mezcla de tierra y materia orgánica como alimento.

Para la realización de los bioensayos, y así determinar la DL_{50} de *C. comata*, se empleó la Técnica de Aplicación Tópica, la cual consiste en aplicar un microlitro [μ L] de la solución del insecticida con acetona en la parte dorsal de la larva, mediante el uso de una micropipeta. La mortalidad se evaluó a las 24 hr. después de haberse aplicado los tratamientos. Los insectos se colocaron en cajas de polipropileno provistas de alimento fresco (Lagunes y Vázquez, 1994).

Para determinar el criterio de mortalidad en las larvas se corrió un bioensayo con 10 larvas y cuatro unidades de observación a las que se les aplicó una dosis de 2,000 ppm del piretroide Bifentrina (FMC Co.); este grupo de larvas se observó durante 48 horas para establecer los síntomas de intoxicación en el tiempo establecido.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: Lindano (en este caso se utilizó el producto aunque ya no se vende comercialmente con fines de tener un grupo de clorados), Clorpirifos y Diazinon, Carbofurán, Bifentrina y Teflutrina. A su vez cada uno de los tratamientos evaluados fueron mezclados con los sinergistas Butóxido de Piperonilo (PBO) (FMC), Diethyl Maleato (DEM) (Sigma) y Merphos (DEF) (Bayer) en una proporción de 1:10 gramo de ingrediente activo del insecticida por diez gramos de ingrediente activo del sinergista. Para cada tratamiento se utilizaron los ingredientes activos de cada uno de estos en su a su grado técnico utilizando ocho rangos de dosis preparando 10 mL para cada tratamiento. Los principios activos fueron diluidos en acetona al 95% de pureza a su grado reactivo. Para la realización de este trabajo se corrieron dos tipos de bioensayos preliminares como se describen a continuación: primero, se llevaron a cabo bioensayos empleando solo acetona., y posteriormente se corrieron bioensayos con los sinergistas; estos dos bioensayos tuvieron la finalidad de asegurar que estos no causaran mortalidad a las larvas. Estos bioensayos se corrieron con 10 larvas en cuatro unidades de observación con acetona al 95% de pureza, a cada larva se le aplicó un microlitro [μ L] y se tomó la mortalidad a las 3, 6, 24 y 48 horas posteriores de tratadas, mientras que para los sinergistas se corrieron en una proporción de 1:10 en mezcla con acetona.

Para poder identificar las vías de detoxificación involucradas se corrieron bioensayos en dos sentidos: los primeros para determinar la dosis letal media (DL_{50}) de los insecticidas aplicados diluidos con acetona; en este caso para cada uno de los tratamientos insecticidas involucrados se corrieron seis rangos de dosis y se utilizaron 20 larvas para cada rango de dosis. Los segundos para determinar la DL_{50} de la mezcla de los insecticidas con los tres diferentes sinergistas partiendo de la DL_{50} establecida para los insecticidas; se corrieron bioensayos con la mezcla de insecticida y cada uno de los sinergistas, (DEF, DEM y PBO) en una proporción de 1:10 (1.0 g i.a. del insecticida por 10 g i.a. del sinergista) teniendo de 6 a 10 rangos de dosis menores a partir de la DL_{50} determinada para cada uno de los insecticidas en cuestión.

Para cada uno de los bioensayos realizados, se corrieron seis dosis discriminatorias y un testigo sin aplicar. Para determinar cada una de las dosis en cuestión se utilizaron 20 larvas por dosis, cuando se presentó mortalidad en el testigo sin aplicar se procedió a calcular el % de mortalidad mediante la fórmula de Abbott (1925) que es la siguiente:

$$\% \text{ Mortalidad} = [(LVt - LVT)/(LVt)] \times (100)$$

donde:

LVt= Larvas vivas en el testigo

LVT= Larvas vivas en el tratamiento

Una vez realizados los bioensayos, y calculados los datos de mortalidad, estos se analizaron mediante el método de análisis Probit de máxima verosimilitud propuesto por Finney, (1971) (Lagunes y Vázquez 1994). Estos análisis se realizaron utilizando el programa estadístico SPSS Versión 10.0, (2001) con el cual se obtuvieron los siguientes parámetros:

- a) Ecuaciones de predicción.

- b) Dosis de 1 al 99% de mortalidad y sus límites fiduciales al 95% de confiabilidad. Para cada uno de los insecticidas en cuestión y para cada una de las mezclas de los sinergistas.
- c) Pruebas de Chi Cuadradas (X^2).
- d) Coeficientes de Determinación.
- e) Proporción de sinergismo (PS) con la siguiente fórmula:

$$PS = (DL_{50} \text{ del insecticida} / DL_{50} \text{ de la mezcla})$$

Una vez analizada la información estadísticamente y calculada la proporción de sinergismo se determinó cuáles vías de detoxificación están involucradas en la resistencia a dichos insecticidas. Con los datos obtenidos se procedió a representar gráficamente en escala logarítmica y valores probits, las líneas de respuesta dosis-mortalidad correspondientes a cada uno de los tratamientos en cuestión, cuya pendiente y posición nos permitió inferir sobre el estado de susceptibilidad de la población y las vías de detoxificación involucradas en la metabolización de los diferentes insecticidas. Así mismo, al conocer las vías de detoxificación involucradas, éstas nos permitieron diseñar un modelo rotacional de insecticidas que permita retornar a la susceptibilidad a la población de *C. comata* y así tener control de dicha plaga.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La sintomatología que presentaron las larvas de *C. comata* mediante la cual se estableció el criterio de muerte 24 horas después de aplicados los insecticidas se observaron los siguientes síntomas:

- a) Pérdida de la movilidad de la larva a las tres horas de aplicado el tóxico.
- b) Después de seis horas de aplicado el insecticida la larva, ésta perdió su forma de “C” y tomó una coloración amarilla hialino.
- c) A las 12 horas la larva perdió turgencia y movimiento, tomando un color amarillo más intenso.
- d) A las 24 horas el movimiento de la larva fue casi nulo, se tornó flácida y de color café claro.
- e) A las 48 horas la larva alcanzó la muerte y se tornó de color oscuro necrosado, tendiendo a negro y se desintegraba con facilidad en el medio en el que se encontraba.

En los bioensayos preliminares con acetona y los sinergistas exclusivamente no se observó mortalidad.

En el Cuadro 1 se observa que la principal vía de detoxificación del Lindano es mediante Oxidasa Microsómicas de Función Mixta (FOM) lo que a su vez coincide con Lagunés y Villanueva, (1994) y Brogdon *et al.*, (1998), este es el mecanismo más comúnmente desarrollado por los insectos para degradar insecticidas clorados. El alto grado de sinergismo (15X) observado se considera normal debido que se empleó durante más de 20 años indiscriminadamente, por lo que actualmente muestran las larvas de *C. comata* un alto grado de resistencia. Cabe señalar que para el caso de las Esteras y La Glutation-S-Transferasas, la degradación es muy limitada y solo llega a 2.9X y 5X respectivamente.

Cuadro 1. Dosis letales media (DL_{50}), proporción de sinergismo y coeficientes de determinación (R^2) y pruebas de chi cuadrada (X^2) del insecticida clorado, utilizado para el control de *C. comata*.

Tratamientos	DL_{50} mg/g	Proporción de Sinergismo	R^2	X^2	Vía de detoxificación
Lindano	2.35217	N/A	0.85	0.0743	N/A
Lindano+ PBO	0.15559	15.11X	0.74	0.1196	Oxidasas
Lindano + DEF	0.80532	2.92X	0.80	0.0102	Esteras
Lindano + DEM	0.46982	5.00X	0.83	0.0810	Glutation-S Transferasas

Respecto a los insecticidas organofosforados (Clorpirifos y Diazinon) como se observa en el Cuadro 2, para el caso de Clorpirifos, la principal vía de detoxificación es a través de FOM con una 17X, seguido de

Esterasas con 9X; en este caso las Glutation-S-Transferasas no están involucradas fuertemente en el mecanismo de resistencia para Clorpirifos, ya que la proporción de sinergismo fue de solo 4X.

Cabe señalar que este comportamiento del insecto para desdoblar el Clorpirifos coincide con los trabajos realizados por Georghiou *et al.*, (1980), Bisset *et al.*, (1990 y 2000), quienes demostraron que es fácilmente metabolizado a través de FOM y Esterasas.

En el caso del Diazinon, se observa que la principal vía de detoxificación es a través del Glutation-S-Transferasa con una proporción de 7X, lo que coincide con la información que reportan Lagunes y Villanueva (1994), y a su vez Rodríguez *et al.*, (1998) quienes encontraron que en la Glutation-S-Transferasa existe una frecuencia alta para este mecanismo de resistencia como ocurre en el caso de Diazinon.

Cuadro 2. Dosis letales media (DL₅₀), proporción de sinergismo y coeficientes de determinación (R²) y pruebas de chi cuadrada (X²) de los insecticidas fosforados, utilizados para el control de *C. comata*.

Tratamiento	DL ₅₀ mg/g	Proporción de Sinergismo	R ²	X ²	Vía de detoxificación
Clorpirifos	0.9902	N/A	0.88	0.0077	N/A
Clorpirifos + PBO	0.0570	17.39X	0.88	0.1184	Oxidasas
Clorpirifos + DEF	0.8053	9.21X	0.96	0.1207	Esterasas
Clorpirifos + DEM	0.4698	4.77X	0.77	0.0643	Glutation-S Transferasas
Diazinon	1.9591	N/A	0.88	0.0388	N/A
Diazinon + PBO	0.9793	2.00X	0.99	0.1890	Oxidasas
Diazinon + DEF	1.4579	1.34X	0.90	0.0368	Esterasas
Diazinon + DEM	0.2678	7.31X	0.96	0.1320	Glutation-S Transferasas

En el caso del tratamiento a base de Carbofurán podemos observar en el Cuadro 3 que la principal vía enzimática que usa la larva de *Cyclocephala comata* es a través de Esterasas ya que esta vía de detoxificación fue la que más proporción de sinergismo mostró con 10X, lo que coincide con la información que reporta Bisset *et al.*, (1990) donde demostró en larvas de mosquito *Culex* que las Esterasas son la principal vía de detoxificación de insecticidas fosforados y Carbamatos. A su vez Lagunes y Villanueva (1994) y Brogdon *et al.*, (1998) reportan que la principal vía de detoxificación de Carbofurán es a través de Esterasas.

El grupo FOM y GSH participan en menor proporción en la degradación de Carbofurán, como se observa en el Cuadro 3. Hay que señalar que los otros mecanismos enzimáticos están participando en una proporción baja con un sinergismo de 3X y 4X, respectivamente.

Cuadro 3. Dosis letales media (DL₅₀), proporción de sinergismo y coeficientes de determinación (R²) y pruebas de chi cuadrada (X²) del insecticida Carbamato, utilizado para el control de *C. comata*.

Tratamiento	DL ₅₀ mg/g	Proporción de Sinergismo	R ²	X ²	Vía de detoxificación
Carbofurán	1.4878	N/A	0.87	0.0409	N/A
Carbofurán + PBO	0.3252	4.57X	0.96	0.1459	Oxidasas
Carbofurán + DEF	0.1418	10.48X	0.93	0.1417	Esterasas
Carbofurán + DEM	0.3907	3.80X	0.80	0.0857	Glutation-S Transferasas

En el caso del Cuadro 4 que corresponde a las vías de detoxificación usadas por *C. comata* para metabolizar los insecticidas piretroides, se observa que la principal vía usada por el insecto es a través de FOM con una proporción de sinergismo de 10X para Bifentrina y 23X para Teflutrina, seguido de la vía metabólica de Esterasas con una proporción de 10X en Bifentrina y 14X en Teflutrina. Hay que señalar que para este caso la Bifentrina solo tiene poco tiempo en el mercado a comparación de los otros grupos químicos y hoy en día ya muestra características de resistencia cruzada con clorados. A su vez la Teflutrina, un insecticida que ya está casi por salir al mercado, muestra ya un alto grado de resistencia. Lo

anterior coincide con Bisset y Rodríguez (2000), ya que ellos demostraron que las principales vías de detoxificación de piretroides son a través de FOM y Esterasas; así mismo lo corrobora McCaffery (2001) en trabajos realizados con varias especies de *Heliothis*, otra plaga de relevancia económica.

Cuadro 4. Dosis letal media (DL50), Proporción de Sinergismo, Coeficientes de Determinación (R^2) y Pruebas de chi Cuadrada (X^2) de los insecticidas piretroides, utilizados para el control de *C. comata*.

Tratamiento	DL50 mg/g	Proporción de Sinergismo	R2	X2	Vía de detoxificación
Bifentrina	0.5892	N/A	0.84	0.0126	N/A
Bifentrina + PBO	0.0559	10.53X	0.70	0.2027	Oxidasas
Bifentrina + DEF	0.0570	10.32X	0.87	0.0850	Esterasas
Bifentrina + DEM	0.1874	3.14X	0.70	0.0453	Glutation-S- Transferasas
Teflutrina	0.8035	N/A	0.78	0.0340	N/A
Teflutrina + PBO	0.0347	23.10X	0.75	0.0710	Oxidasas
Teflutrina + DEF	0.1782	14.97X	0.82	0.2093	Esterasas
Teflutrina + DEM	0.0536	4.50X	0.73	0.1099	Glutation-S- Transferasas

CONCLUSIONES

El sistema oxidativo es la mayor causa de resistencia fisiológica en: Fosforados, Piretroides, Clorados y en menor grado a Carbamatos. Las Esterasas son causa de resistencia a todos los grupos a excepción de los clorados. En menor escala el Glutation-S-Transferasa participa en todos los grupos evaluados

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomology. 18: 265-267.
- Alavez, J.F. 1988. Aplicación de insecticidas al suelo contra plagas rizófagas en el estado de Jalisco. In: Memorias de la 3ª. Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Sociedad Mexicana de Entomología. Morelia, Michoacán, México. Pp.238-240.
- Bisset, A.J., Rodríguez M.M, Díaz C. y Ortiz C, 1990. The mechanism of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae) from Cuba. Bull. Entomological Res (80) 245-250
- Bisset, A.J., Rodríguez M., Díaz C. y Soca A. 2000. Evolución de la resistencia a insecticidas en *Culex quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae) en un área de la Habana, Revista cubana de Medicina tropical, 52 (3) 180-185.
- Brogdon, W. G y J. C. McAllister. 1998. Insecticide resistance and vector control. Center for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia, USA. 4, (4): 605.
- Deloya, L. 1988. Las especies de *Melolonthidae* en la región de Jojutla, Morelos. En: Memorias de la Tercera Mesa Redonda sobre Plagas del Suelo. Sociedad Mexicana de Entomología. Morelia, Michoacán, México. Pp. 28-31.
- De la Paz Gutiérrez, S.; Sánchez, G. J. de J. y Ruiz, C. J. A. Pérdidas por plagas rizófagas en el maíz y su estratificación en el estado de Jalisco. *Scientia-CUCBA*, vol. 9, no. 1, 2007, pp. 9-22, ISSN 1665-8493.
- Díaz-Madero, P., Nájera-Rincón, M., Ledezma-Gutiérrez, R., Rebolledo-Domínguez, O., López-Flores, H. and Martínez-Sifuentes, J. (2006). Especies de gallina ciega (coleoptera: Melolonthidae) y su asociación con factores agroclimáticos y de manejo del maíz en los altos de Jalisco, México. *Fitosanidad*, 10(3), pp.209-215.
- Félix, E. 1990. Plagas rizófagas de cultivos básicos de Jalisco. Dirección General de Sanidad Vegetal. SARH. Delegación Jalisco. Boletín Técnico. Pp. 2-3.

- García, G., Ortega-Arenas, L., Hernández, H., García, A., Nápoles, J. and Cortés, R. (2009). Descripción de las larvas de tercer instar de Melolonthidae (Coleoptera) asociadas al cultivo de Agave tequilana var. Azul y su fluctuación poblacional en Jalisco, México. *Neotropical Entomology*, 38(6), pp.769-780.
- Georghiou, G.P, Pasteur N. Hawley M.K.1980. Linkage relationships between organophosphate resistance and a highly active esterase B in *Culex quinquefasciatus* say from California. *Journal Economic Entomology* (73) 301-305.
- INEGI, 2000. Cartas topográficas y climatológicas e hidrológicas de San Martín Hidalgo No. F-D74 escala 1:50 000. Comisión de Estudios del Territorio Nacional SPP, México.
- Lagunes, T.A. y Vázquez N. 1994. El bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas. Colegio de Postgraduados. 159 pp.
- Lagunes, T.A. y Villanueva J.A. (1994) Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas Editorial. Colegio de Postgraduados 262 pp.
- McCaffery, A.R, 2001. Resistance to insecticides in heliothine, Lepidoptera: A global view. In. Insecticide Resistance: From Mechanisms to management.Ed. Denholm, J.A. Pickett and A.L. Devonshire p.59-74.
- Morón, M.A. 1990. Los escarabajos y las plantas cultivadas. En: Conacyt Revista de Información Científica y Tecnológica. 164 (12): 48-53 p.
- Morón, M.A. 2001. Larvas de escarabajos del suelo en México (Coleoptera:Melolonthidae)en Acta Zoológica Mexicana. Nueva Serie (85) 45-67.
- Panini, M., Manicardi, G., Moores, G. and Mazzoni, E. (2016). An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects. *Invertebrate Survival Journal*, 13(1), pp.326-335.
- Pérez, J.F. 1987. Manejo de malezas como huéspedes alternantes de plagas de la raíz en maíz en la zona centro de Jalisco. Memorias XXII Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología. Monterrey, Nuevo León. 57-60 p.
- PLM, 1999. Diccionario de especialidades agroquímicas. Novena edición, México D.F. 1050 p.
- PLM, 2002. Diccionario de especialidades agroquímicas. Doceava edición 1150 p.
- Posos, P.P., Corrales R.J. y G. E. Rodríguez. 1995. Laboratory Bioassay in corn In: Arthropods Management Tests. Published by Entomological Society of America. (20)329-330.
- Rodríguez, M.M., Bisset J.A., Mila. L. Darjaniva M.F., Lauzan L and Raymont M. 1998. Detection of resistance mechanisms in *Aedes Aegypti* from Cuba and Venezuela: Standardizations of the methods. *J Am Mosq Control Assoc.* (14) 227-235.
- SARH, 1992. Guía Fitosanitaria para el cultivo del maíz. Ed. Colegio de Ingenieros Agrónomos. 285 p.
- SPSS, 2001. Paquete estadístico para Análisis Probit. Versión 10.0