

74



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“CARACTERIZACION DEL RITMO CIRCADIANO DE ACTIVIDAD LOCOMOTORA EN LA LARVA Y ADULTO DE Spodoptera frugiperda Y SUS VARIACIONES POR EL DESARROLLO CON UNA DIETA A BASE DE UNA VARIEDAD DE MAIZ RESISTENTE A SU ATAQUE”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

GARCIA RIVERA BEATRIZ EUGENIA



DIRECTOR DE TESIS: DR. MANUEL MIRANDA ANAYA



FACULTAD DE CIENCIAS SECCION PROFESORAR

MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA

Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
"Caracterización del Ritmo Circadiano de Actividad Locomotora en la larva y adulto
de Spodoptera frugiperda y sus variaciones por el desarrollo con una
dieta a base de una línea de maíz resistente a su ataque"
realizado por Beatriz Eugenia García Rivera

con número de cuenta 9130402 - 9 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario

Dr. Manuel Miranda Anaya

Propietario

Dra. Patricia Guevara Fefer

Propietario

Dr. Oscar Castañón Cervantes

Suplente

Dra. Elsa Guadalupe Escamilla Chimal

Suplente

Dra. Nora Elizabeth Galindo Miranda

FACULTAD DE CIENCIAS

U.N.A.M.

Consejo Departamental de

Biología

Dra. Patricia Ramos Morales

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO DE
NEUROFISIOLOGÍA COMPARADA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS,
UNAM, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. MANUEL MIRANDA ANAYA.

LOS ANIMALES UTILIZADOS FUERON CRIADOS EN EL CENTRO
INTERNACIONAL DE MEJORAMIENTO DEL MAIZ Y TRIGO
(CYMMyT).

Saúl:
comparto contigo este trabajo,
pues cada esfuerzo y cada logro
de tus hermanos es tuyo.

Gracias, porque tu presencia es
constante entre nosotros y por
permitirnos compartir el amor de
tus herencias.

Mochis:

Con todo mi amor y mi eterno agradecimiento, porque eres el motor de la familia, porque tu sacrificio y apoyo incondicional me han permitido llegar hasta aquí. Gracias, por ser mi amiga y porque eres el mejor ejemplo de fortaleza y valor que tengo.

Doro:

Gracias por tu amor y por confiar en mí, por darme siempre tu apoyo y por esforzarte junto conmigo, sin ti no sería posible este momento.

Caro:

Eres la hermana más regañona que conozco, pero también la más bondadosa y honesta de todas. Gracias por ser mi compañera en todos los momentos de la vida, sin ti nada sería igual.

Raúl:

Porque me has demostrado que siempre es posible alcanzar una meta, que siempre hay motivos para seguir, gracias.

Hugo:

Gracias por ser tú, por tu confianza y por siempre estar dispuesto a ayudarme, porque la distancia nos enseña que lo más importante que tenemos es nuestra unión, y sí, sí te quiero.

Daniel y Dolly:

Porque no hay nadie con más valor y madurez que ustedes, porque son mis pequeño sabios, son la energía y la vida, gracias por su hermosa sonrisa y por darme tanta felicidad.

Ness:

Gracias por enseñarme siempre la realidad.

Tere:

Gracias por tu solidaridad, por tu cariño durante toda mi vida.

Roge:

Gracias por tu cariño y tu apoyo.

Rosario:

Aunque no siempre estemos juntas, me has demostrado que se puede confiar incondicionalmente en alguien, gracias por todos los momentos felices que hemos compartido, y porque los tristes los has hecho mucho más ligeros, mi cariño por siempre para ti.

Natalia, Martha y Tía Silvia:

Porque ustedes me permitieron concluir esta etapa, pues todo fue más sencillo al tener amigas como ustedes.

Señora Cari:

Gracias por enseñarme que al enfrentar la vida siempre con una sonrisa y con alegría, es posible superar los obstáculos, pues la batalla es diaria y nunca hay que rendirse. Con todo mi cariño y admiración.

A las familias Hernández y Valentín
(junto con todas las derivaciones):

Por darme un espacio y por compartir conmigo sus momentos,
gracias por siempre.

Gracias!!

UNAM:

Por darme un espacio en tus aulas, y permitirme alcanzar mis objetivos.

Manuel:

Fuiste la clave para que pudiera concluir esto, gracias por tu paciencia, confianza y apoyo, es un placer trabajar contigo. Mi agradecimiento por siempre.

Paty Guevara:

Porque tu colaboración fue esencial para realizar este trabajo.

Laboratorio de Neurofisiología Comparada:

Dra. María Luisa Fanjul:

Por permitirme estar con ustedes, por siempre estar dispuesta a apoyarme, y por todo el ánimo que siempre me brindó.

Elsa, Óscar, Julio, Mary, Abud e Inés:

Porque son unos compañeros excepcionales, ya que el trabajo con ustedes es más placentero. Por darme su amistad.

A mis sinodales

Dr. Manuel Miranda Anaya

Dra. Patricia Guevara Fefer

Dr. Óscar Castañón Cervantes

Dra. Elsa Escamilla Chimal

Dra. Nora Galindo Miranda:

Por sus consejos y por su tiempo en la revisión de este trabajo.

Y a cada una de las personas que han compartido conmigo algún momento, gracias.

ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1 Generalidades sobre los ritmos biológicos	4
2.2 Características generales de los ritmos circadianos	6
2.3 Ritmos circadianos de actividad locomotora	8
2.4 Ritmos en insectos	9
2.5 <i>Spodoptera frugiperda</i> como sujeto de interés en el estudio de los ritmos circadianos	11
2.5.1 Aspectos generales de su biología	11
2.5.2 Ciclo de vida en el campo de <i>Spodoptera frugiperda</i>	12
2.5.3 Estudio del ritmo circadiano en <i>Spodoptera frugiperda</i>	14
3. Variaciones en conducta y sobrevivencia en animales alimentados con variedades resistentes de maíz	14
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
5. HIPÓTESIS DE TRABAJO	20

6. OBJETIVOS	21
6.1 OBJETIVOS GENERALES	21
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES	22
7. MATERIAL Y MÉTODO	23
7.1 Obtención y mantenimiento de los animales utilizados	23
7.2 Diseño experimental	25
7.2.1 Sistema de registro de Actividad Locomotora	26
7.2.1.1 Larvas en registro	26
7.2.1.2 Palomillas en registro	29
7.3 Análisis de datos	32
8. RESULTADOS	37
8.1 Actividad locomotora en animales alimentados con dieta control	37
8.1.1 Larvas en Oscuridad Constante (OO)	37
8.1.2 Larvas en Luz-Oscuridad (LO)	40
8.1.3 Palomillas en Oscuridad Constante (OO)	42
8.1.4 Palomillas en Luz-Oscuridad (LO)	45
8.2 Actividad locomotora en animales alimentados con la dieta que contenía la línea de maíz CML 67	48

8.2.1	Larvas en Oscuridad Constante (OO)	48
8.2.2	Larvas en Luz-Oscuridad (LO)	51
8.2.3	Palomillas en Oscuridad Constante (OO)	54
8.2.4	Palomillas en Luz-Oscuridad (LO)	56
9.	DISCUSIÓN	62
10.	CONCLUSIONES	70
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
12.	REFERENCIAS DE INTERNET	75

1. RESUMEN

En este trabajo se realizó la caracterización del Ritmo de Actividad Locomotora (RALM) de la palomilla *Spodoptera frugiperda*, tanto en la larva como en el estado adulto. Además se compararon estas características con las encontradas en animales alimentados con una dieta a la cual se le suministró hojas molidas de una línea de maíz resistente (CML 67) al ataque de este insecto. Se trabajaron ocho grupos experimentales que comprendieron los estados de larva y adulto para cada dieta y condiciones de oscuridad constante (OO) y de luz/oscuridad (LO) 12/12. La actividad locomotora se analizó cuantitativamente y cualitativamente mediante actogramas y periodogramas de X^2 ; además del porcentaje diario de actividad. Los resultados obtenidos en animales desarrollados con dieta control señalan que *Spodoptera frugiperda* presenta un ritmo circadiano de actividad locomotora claro en estado larval y adulto. Este ritmo es sincronizado por ciclos LO en el estado adulto, mas no en la etapa larval. Con la dieta experimental sólo una larva logró sincronizar el RALM. El promedio del periodo en condiciones de OO de las larvas con dieta control es menor que el de las larvas con la dieta de maíz CML 67. No se observaron diferencias entre el promedio del periodo en OO de palomillas con la dieta control y la dieta con maíz CML 67, pero en condiciones LO el promedio del periodo del ritmo de las palomillas con la dieta control fue más corto que en el grupo experimental. Los resultados anteriores indican que algún compuesto existente en la variedad del maíz CML 67 puede tener impacto en la maduración y organización del sistema circadiano en *Spodoptera frugiperda*.

INTRODUCCIÓN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) es considerado como una de las plagas más importantes del maíz en las regiones tropicales y subtropicales de América. Los daños más severos corresponden a las zonas de temporal. En diversas entidades del país se han registrado pérdidas causadas por este insecto que van desde 13 a 60%. Debido a que su ciclo de vida se completa en 30 a 32 días en condiciones de clima tropical, a que las hembras pueden ovopositar de 40 a 300 huevecillos (Capinera, 1999) Estos organismos se presentan en las cosechas desde que las plantas comienzan su desarrollo, hasta el inicio de la etapa de floración, por lo que es de gran relevancia desarrollar métodos biológicos para combatir esta plaga.

Hasta el momento, se ha encontrado que una gran variedad de plantas poseen sustancias químicas que las protegen del ataque de estos insectos. Estudios recientes de Céspedes y colaboradores (2000) reportan que extractos de diclorometano de las plantas *Cedrela salvadorensis* y *Cedrela dugessi* han resultado nocivos para las larvas neonatas y han retardado el crecimiento de la larva y la emergencia del adulto.

En el caso particular del maíz (*Zea mays*) existen líneas de plantas resistentes al ataque de *S. frugiperda* (Minh, 1983), las cuales a pesar de ser infestadas por este animal no se ven totalmente afectadas.

Por otro lado, los estudios desarrollados sobre efectos de dietas con plantas resistentes al ataque de *S. frugiperda*, se dedican a describir tasas de crecimiento y tiempos de pupación (Hernández et al, 1999, Céspedes et al, 2000). Sin embargo, los aspectos conductuales como la ritmicidad diaria en locomoción en larvas y adultos no ha sido estudiada.

Es por ello que el presente trabajo está encaminado a presentar las características generales del Ritmo Circadiano de Actividad Locomotora (RALM) de *Spodoptera frugiperda*, y conocer si existen diferencias en estos parámetros en animales desarrollados con una dieta que contenía una hojas de una línea de maíz resistente, la CML 67. Una vez determinado esto, y si se encuentran diferencias significativas, será posible más adelante realizar más estudios sobre los componentes de la línea CML 67 y la forma en que puedan estar influyendo en el reloj biológico de *S. frugiperda*.

2.1. GENERALIDADES SOBRE LOS RITMOS BIOLÓGICOS

Los seres vivos presentan una característica muy singular, su capacidad para "medir el tiempo", de tal forma que existe un acoplamiento entre sus funciones fisiológicas y los ciclos naturales tales como los de luz/oscuridad, que presentan un periodo de 24 horas, además de ser una de las señales externas por excelencia que indican a los organismos el paso del tiempo. Se cuenta también con los cambios cíclicos de temperatura y de la longitud de la fase luminosa (dependiente del efecto de translación de la Tierra) y los cambios cíclicos de los movimientos lunares.

Esta ritmicidad en los organismos tiene un origen endógeno y es conocida como ritmos biológicos, de tal forma que en la naturaleza encontramos ritmos que tienen un periodo con un rango que va de 20 a 30 horas y son denominados ritmos circadianos, ritmos con periodos menores a 20 horas (ritmos ultradianos) y aquellos con periodos mayores a 30 horas son ritmos infradianos. Esta clasificación se realizó con base en la frecuencia con que se presentán los eventos cíclicos, que es inversa a la del periodo (Halberg, 1960).

A pesar de que están normalmente sincronizados por eventos externos, estos ritmos tienen la capacidad de persistir bajo condiciones ambientales constantes, lo que revela la existencia de un mecanismo endógeno que otorga una memoria temporal y es conocido generalmente como reloj biológico. El primero en presentar un estudio estructurado sobre esto fue Augusto Forel, a principios del siglo XX, y después vinieron diversos experimentos que coincidían en el resultado de la capacidad de los seres vivos para medir el tiempo, pues al tener a un organismo bajo condiciones ambientales periódicas, éste mostró cambios fisiológicos y conductuales con un periodo correspondiente al que se le impuso, pero si estas variaciones ambientales se suspendían y se volvían constantes, el organismo presentaba variaciones cíclicas con un periodo semejante al que se le impuso inicialmente. Este periodo representa la expresión del reloj biológico endógeno que continúa oscilando en ausencia de señales externas de tiempo.

2.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

Los ritmos circadianos muestran las siguientes propiedades principales:

- a) Persisten en condiciones ambientales de luz y temperatura constantes. Cuando un sistema circadiano es aislado de factores temporales externos, el sistema expresará un ritmo con un periodo muy cercano a 24 h que es conocido como tau (τ). Dicha capacidad, propia del organismo, le permite mostrar una oscilación espontánea en condiciones ambientales constantes y debe mantenerse durante varios ciclos.

- b) La capacidad para ser sincronizado por señales ambientales. Las más importantes son los ciclos de luz-oscuridad y de temperatura, pero pueden ser consideradas también, el sonido, la ingesta de alimento, o influencias químicas. La respuesta que presente el ritmo ante las señales ambientales, dependerá de la relación de fase que exista entre ambos.

c) La compensación de la temperatura. La independencia entre el periodo del ritmo y la temperatura es una propiedad fundamental de cualquier sistema capaz de medir el tiempo. Existe un rango dentro del cual las funciones metabólicas no son afectadas por condiciones extremas en la temperatura, siempre y cuando sean acordes con la tolerancia del organismo, lo que refleja un complejo sistema de reacciones bioquímicas compensatorias. Esta capacidad está identificada en algunos ritmos con un Q_{10} cercano a 1 (Moore-Ede, *et al.* 1982).

Estas características son comunes a todos los ritmos circadianos y son la base de los tres niveles para analizar el sustrato neurobiológico de la ritmicidad: la identificación de los marcapasos circadianos y el análisis de los mecanismos que generan la ritmicidad, la identificación de los receptores; y el estudio de los mecanismos por los cuales las señales ambientales son capaces de sincronizar los ritmos de varias funciones corporales (Aréchiga, 1993).

2.3. RITMOS CIRCADIANOS DE ACTIVIDAD LOCOMOTORA

Los cambios diarios en la actividad locomotora reflejan cambios circadianos fundamentales que se originan en el sistema nervioso central (SNC). Muchos animales presentan una actividad locomotora rítmica de acuerdo a sus diferentes respuestas adaptativas (Brady, 1981).

Debido a las condiciones de estímulos sin intensidad variable que se proveen en el laboratorio (por ejemplo, luz u oscuridad constante, temperatura) es posible suponer que cualquier actividad que se presente debe ocurrir ya sea como el resultado de cambios internos motivacionales en su umbral por un estímulo particular o como el resultado de una excitación nerviosa central o inhibición, relacionada con la llamada actividad espontánea

Una gran cantidad de estudios que se han realizado en organismos invertebrados, que van desde aspectos reproductivos, fases del ciclo de vida (eclosión) (Truman, 1971), picos de actividad diaria, etc., han llevado a considerar que los cambios en la distribución diaria de la actividad locomotora son regulados por un sistema circadiano complejo

2.4. RITMOS EN INSECTOS

Se ha encontrado que en los insectos, la duración del día o la noche regula ciclos estacionales de actividad, morfología, reproducción y desarrollo. Esta regulación es conocida como inducción fotoperiódica, la cual involucra una respuesta en el animal con respecto al número de horas de luz u oscuridad por día, que es comparada internamente por el organismo. La inducción fotoperiódica es un mecanismo que involucra dos procesos interrelacionados: la medición de la longitud del día y/o la noche y la suma e integración de ciclos fotoperiódicos sucesivos, ya sean largos o cortos, hasta un punto en el cual la inducción es completada.

Pittendrigh (1954) demostró que existe un ritmo de eclosión innato y de naturaleza endógena en las pupas de la mosca *Drosophila pseudoobscura*, este ritmo se manifiesta en ausencia de sincronizadores ambientales, con un periodo muy cercano a 24 h, y puede iniciarse con una simple señal de luz de muy corta duración. Esta actividad circadiana depende del control de estructuras marcapasos, es decir, estructuras que regulan de manera recurrente un proceso fisiológico (Saunders 1974).

En muchos casos se han localizado varios osciladores dentro del mismo individuo como en la mosca de la fruta *Drosophila*

melanogaster (Plautz *et al.* 1997), donde la organización temporal de los organismos depende de las propiedades de los osciladores individuales y de las relaciones integrativas entre ellos

En insectos han sido localizados osciladores circadianos en porciones restringidas del sistema nervioso central y generalmente están asociados a estructuras fotorreceptoras (Saunders, 1976; Page, 1978; Dominick *et al.*, 1984-1986). En el caso del gusano de seda, *Antheraea pernyi*, que es un lepidóptero con un claro comportamiento circadiano y ofrece el potencial para comprender el acoplamiento entre el marcapasos y los patrones de salida. Existen diversos factores neuroendócrinos bajo control circadiano, por ejemplo la hormona de eclosión (EH) y la hormona protoracicotrópica (PTTH) que han sido caracterizadas y clonadas en este organismo. Estudios realizados por Sauman *et al.* (1996) mostraron que *Antheraea pernyi* presenta en el cerebro un reloj circadiano que dirige los ritmos en la eclosión y el vuelo del adulto, pues a través de técnicas de inmunohistoquímica en el desarrollo larval y en el adulto, localizaron ocho células, cuatro en cada hemisferio, positivas a PER (una proteína producida por el gene *per*, el cual está relacionado con el reloj circadiano). Los axones de estas células emergen para formar un tracto axonal sencillo hacia el *corpora allata*, que es sitio donde las terminales de las células neurosecretoras liberan la PTTH para

que active a la glándula protorácica y secrete el factor inductor de la muda, la ecdisona

2.5. *Spodoptera frugiperda* COMO SUJETO DE INTERÉS EN EL ESTUDIO DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

2.5.1. Aspectos generales de su biología

La mariposa nocturna *Spodoptera frugiperda*, también conocida como *Laphygma frugiperda*, pertenece al orden Lepidoptera (mariposas y polillas), y se encuentra clasificada dentro de la familia Amphipyridae, que comprende a los insectos de cuerpo blando, alado, cubierto incluso en los apéndices por escamas pigmentadas. Las larvas son orugas que, por lo regular, se alimentan de materia vegetal; los adultos comen poco o nada (Barnes, 1968)

Su distribución es muy amplia, ocurre en todas las zonas productoras de maíz. Su presencia y daños han sido consignadas en entidades como Baja California, Sonora, Sinaloa, Michoacán, Durango, Puebla, Hidalgo, Guerrero, Chiapas, México, San Luis Potosí, Oaxaca, Quintana Roo, Yucatán, Guanajuato, Nayarit, Tamaulipas, Campeche, Chihuahua, etc (Saninet internet, 2001)

2.5.2. Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* en el campo

La hembra deposita los huevecillos en grupos de hasta 300 unidades sobre el follaje (Figura 1). El período de incubación llega a variar entre 2 y 5 días, con un porcentaje de eclosión de hasta un 90 a 91 %. Las larvas pasan por seis estadios. La duración larval es de aproximadamente 21 días. Las larvas de los dos primeros estadios se alimentan de las hojas, causando daño en la planta, pero sin romper el parénquima. Las larvas que llegan al cogollo se alimentan de él causando unos agujeros de tipo irregular que retrasan el desarrollo de la planta. Las larvas maduras cortan en el suelo los tallos de las plántulas. Algunas larvas grandes logran penetrar a la mazorca, destruyen los granos y favorecen la entrada de otros insectos o patógenos (Saninet internet, 2001)

Cuando están bien desarrollados, las larvas se entierran en el suelo más o menos unos 2.5 cm para iniciar la pupación. Ésta se realiza en un término de 1.5 días y una vez formada, se desarrolla durante 7 a 13 días. En el término de dos semanas, cuando el adulto emerge de la pupa, busca el camino hacia la superficie y un nuevo enjambre de palomillas emerge de la tierra. Este comportamiento se ha observado en el campo dos o tres horas después del crepúsculo y se mantiene hasta la medianoche. Aparentemente los adultos no se aparean la primera noche. Se han capturado hembras y machos

cuando se están alimentando poco después de que han emergido, lo que hace suponer que la primera noche de sus vidas la dedican a alimentarse. Después de esto, generalmente vuelan a gran distancia antes de poner sus huevecillos. Los adultos pueden vivir entre 6 y 17 días y tienen hábitos nocturnos (Metcalf y Flint, 1965; Sparks, 1979).

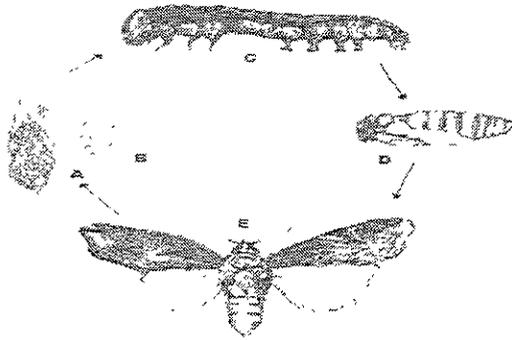


Figura 1. Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* A) Masa de huevecillos; B) Vista de un huevecillo; C) Larva, D) Pupa, E) Estado adulto (palomilla)

2.5.3. ESTUDIO DEL RITMO CIRCADIANO EN *Spodoptera frugiperda*

En un estudio preliminar (Miranda, *et al.* 1997), se observó que la palomilla de *S. frugiperda* presenta un claro ritmo circadiano de actividad locomotora en condiciones constantes de oscuridad así como en ciclos luz-oscuridad (LO), donde muestra una actividad típicamente nocturna, lo cual nos permite considerar a este ritmo como un buen indicador de la organización circadiana en este insecto.

3. VARIACIONES EN CONDUCTA Y SOBREVIVENCIA EN ANIMALES ALIMENTADOS CON VARIEDADES RESISTENTES DE MAÍZ

Estudios realizados en larvas de la especie *Helicoverpa zea* (Boddie), el "corn earworm", muestran que al ser alimentadas con dietas que contienen estigmas (vellosidades del maíz) de variedades resistentes de maíz *Zea mays*, la talla tanto del estado larval como de la pupa decrecen considerablemente a los nueve días de desarrollo, mientras que el periodo de desarrollo de la pupa incrementa significativamente. Además, cuando se aumentó la cantidad de maíz resistente a la dieta se prolongó el periodo de desarrollo de los

estadios larvales. Los animales alimentados con variedades intermedias y resistentes de maíz presentaron una reducción significativa de la anchura de la cápsula en la cabeza de la larva. (Wiseman e Isenhour, 1991, Wiseman *et al* 1992)

En otro estudio, las larvas de *Spodoptera frugiperda* criadas a 20°C y alimentadas con una dieta a base de frijol pinto que contenía diversas variedades de maíz (con diferentes grados de susceptibilidad y resistencia) mostraron diferencias significativas en el tiempo de desarrollo, peso de pupas y duración de los estados desde larva hasta emergencia de adultos. Las larvas no alcanzaron el estado de pupa en las concentraciones más altas de los estigmas en la dieta (Wiseman e Isenhour, 1991)

Por otra parte, Yang *et al.* (1993), determinaron el papel de los lípidos cuticulares y la estructura de la superficie cuticular en genotipos de maíz con variabilidad en resistencia a las larvas de *Spodoptera frugiperda*. Los autores reportaron que existe preferencia, de parte de las larvas, por las hojas altas en las que se han removido los lípidos cuticulares sobre las hojas no tratadas de los dos genotipos, además, mostraron más aceptación del follaje no tratado que del extracto cloroformico del follaje. Las larvas recorrieron distancias más grandes y se movieron más rápidamente cuando

estaban en las hojas altas de la planta que cuando estaban en las bajas y se movieron más cuando estaban en el envés que en el haz

Estos antecedentes demuestran que hay una estrecha relación entre el consumo de determinadas sustancias contenidas en la planta y el comportamiento que el insecto fitofago exhibe. Pero sobretodo hacen evidente que no se ha explorado suficientemente la expresión ni las variaciones del ritmo de actividad locomotora en los insectos que provocan grandes pérdidas económicas en los cultivos vegetales. Por consiguiente, existe la oportunidad de iniciar un campo de investigación que permita conocer los parámetros y el funcionamiento del reloj biológico en estos animales, y la forma en cómo interactúan con las plantas hospederas. Es muy importante aprovechar y sistematizar el conocimiento que se tiene de las respuestas de defensa química que las plantas han desarrollado en contra de las plagas que las atacan y la manera en que estos animales van generando patrones de comportamiento que están regidos por el sistema nervioso, y por lo tanto serán expresados por el reloj biológico.

En el caso particular de *Spodoptera frugiperda* existe la posibilidad de determinar si durante la fase de larva y adulto se presenta alguna diferencia en la expresión del ritmo circadiano de actividad locomotora cuando el organismo es alimentado con una

dieta que contiene una línea de maíz resistente a su ataque, en comparación con una dieta a base de maíz control (susceptible)

Los resultados que con esto se obtengan serán la pauta para buscar cuál es la sustancia (o sustancias) que se encuentra en el maíz resistente y la forma en cómo interfiere en el sistema nervioso de *S. frugiperda*

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En estudios realizados sobre la resistencia de diferentes variedades de maíz con larvas de *Spodoptera frugiperda* se observó que la línea de maíz CML 67 desarrollada en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) presenta menor daño al ataque de *S. frugiperda* bajo condiciones de infestación artificial con larvas neonatas (Mihn, 1983)

Por medio de perfiles cromatográficos, realizados por Guevara *et al.* (1996), se determinó una mayor concentración de flavonoides en la línea de maíz CML 67, resistente al ataque de larvas de *Spodoptera frugiperda* que en otras líneas con mayor susceptibilidad al ataque de este organismo

En un trabajo preliminar, la comparación del Ritmo Circadiano de Actividad Locomotora (RALM) en la palomilla de *S. frugiperda* mostró diferencias en sus características de periodo y relación de actividad/reposo (α/ρ) entre animales alimentados con una dieta control y otra que contenía la variedad de maíz CML 67 (Miranda-Anaya, *et al.*, 1997) Sin embargo, las diferencias del ritmo circadiano de actividad locomotora entre los animales alimentados con distintas dietas en estadios de larva no fueron considerados

El análisis de las características del RALM en *Spodoptera frugiperda* en animales alimentados durante el desarrollo con dieta control y las posibles diferencias con animales alimentados con dieta que contenga la variedad de maíz resistente a la infestación CML 67 nos puede ayudar a entender si esta línea de maíz presenta alguna sustancia o sustancias que pudieran tener un impacto directo o indirecto en el sistema circadiano de *S. frugiperda* desde estadios prepupales

5. HIPÓTESIS DE TRABAJO

- Si las características generales del RALM en *Spodoptera frugiperda*, alimentadas durante el desarrollo con una dieta control son diferentes a las observadas en animales alimentados con una dieta en la que se suministró la línea de maíz resistente (CML 67), entonces es posible considerar que en ésta última existan sustancias activas que pudieran modificar las respuestas del sistema circadiano en este insecto.

6.1. OBJETIVOS GENERALES

- Caracterización del ritmo circadiano de actividad locomotora en la larva y el adulto de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de oscuridad constante y ciclos de luz/oscuridad 12 12
- Comparar las características anteriores entre larvas y palomillas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas con una dieta control y aquellas alimentadas con una dieta a base de la línea de maíz CML 67

6.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer los periodos del ritmo circadiano de actividad locomotora en larvas y adultos de *Spodoptera frugiperda* alimentados con la dieta control y la experimental en condiciones constantes de oscuridad.
- Analizar si el RALM de larvas y adultos alimentados con la dieta control y la experimental puede sincronizarse a ciclos LO 12 12.
- Analizar los porcentajes de actividad diaria que presentaron larvas y adultos de *Spodoptera frugiperda* alimentados con la dieta control y la experimental en los registros de actividad locomotora

7. MATERIAL Y MÉTODO

7.1. OBTENCIÓN Y MANTENIMIENTO DE LOS ANIMALES UTILIZADOS

Los organismos fueron obtenidos a través del banco de crianza en masa de estos insectos del Programa de Maíz del CIMMYT

Una vez obtenidas las larvas neonatas dentro de la dieta artificial empleada por el Centro, se le suministraron las hojas secas finamente molidas de la línea CML 67, las cuales fueron colectadas dos semanas después de haber sido infestadas en campo. En las cajas que contenían la muestra problema se colocaron las larvas y se mantuvieron a 27 ° C y 65 a 70 % de humedad relativa y luz continua

La dieta control utilizada para depositar los huevecillos fecundados y el posterior desarrollo de las larvas fue una modificación de la dieta reportada por Davis en 1987 (Minh, 1983)

INGREDIENTE	CANTIDAD
■ Agua	- 8 Lts
■ Agar	- 100 g
■ Dieta (Pre-mix diet)*	- 600 g
■ <i>Maíz opaco molido</i>	- 1000 g
■ Levadura	- 400 g
■ Mezcla de vitaminas comercial	- 100 g
■ Polvo de espiga esteril	- 200 g
■ Neomycin sulfato	- 6 g
■ Metil p-hidroxibenzoato	- 17 g
■ Ácido propionico	- 57 ml
■ Formaldehido	- 25 ml
■ Ácido sórbico	- 17 g

* Bio Serv, INC. Frenchtown, NJ

Para la elaboración de la dieta con la línea de maíz CML 67 (que muestra resistencia al ataque de *Spodoptera frugiperda*) empleada en el presente trabajo, sólo se modificó el maíz opaco molido para que correspondiera a dicha línea de maíz. Ningún otro ingrediente fue modificado.

Después de 2 semanas se transportaron al Laboratorio de Neurofisiología Comparada de la Facultad de Ciencias, donde se realizaron los registros de actividad locomotora.

7.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se tuvieron dos lotes experimentales de larvas y palomillas

- 1 Alimentadas con dieta preparada de la línea de maíz control
- 2 Alimentadas con dieta preparada de la línea de maíz CML 67

En el laboratorio, antes de entrar al registro, las larvas fueron mantenidas en cajas transparentes de plástico y el alimento fue proporcionado *at libitum*. El fotoperiodo se mantuvo a 12:12 (LO) con encendido de la luz a las 7:00 h y apagado a las 19:00 h. La luz fue aplicada mediante el uso de lámparas de halógeno Philips PL*9 de 9 watts que se mantuvieron en la parte superior de cada gabinete, de tal manera que por cada dos cámaras de registro había una lámpara con una intensidad de 500 luxes al nivel donde se encontraban las larvas, en cámaras aisladas donde la temperatura se mantuvo entre 20 y 23 °C.

7.2.1. SISTEMA DE REGISTRO DE ACTIVIDAD LOCOMOTORA

7.2.1.1 LARVAS EN REGISTRO

Las larvas de *Spodoptera frugiperda*, con una edad estimada de dos semanas de vida que corresponde a los estadios de mayor actividad y apetito, fueron colocadas en cajas de vidrio individuales para registrar la actividad locomotora. Las cajas de forma rectangular (Figura 2), medían 20x7x10 cm y estaban equipadas con un acrílico separado por 1.5 cm de la base de vidrio. En la parte inferior de la cámara se encontraban cuatro sensores infrarrojos colocados a una distancia de 5 cm entre cada uno, mientras que en la cara opuesta de la caja se encontraba una serie de fotodiodos con un pico de emisión de 900 nm que emitían radiación infrarroja hacia los sensores, a su vez, el sensor correspondiente emite una señal a un circuito análogo que genera una señal de voltaje. Dicha señal fue almacenada en una computadora, que disponía de una base de captura de datos agrupados en bloques de 20 min. Asimismo, se restringió el movimiento de la oruga a una zona de 4x12 cm con una malla metálica sellada, correspondiente a la ubicación de los sensores.

A cada una de las cajas de registro, se añadió alimento humedecido en los bordes de la malla metálica sin interferir con los sensores. Para mantener la humedad relativa alta, se agregó agua

en el espacio que existía entre el acrílico y la base de la cámara de registro.

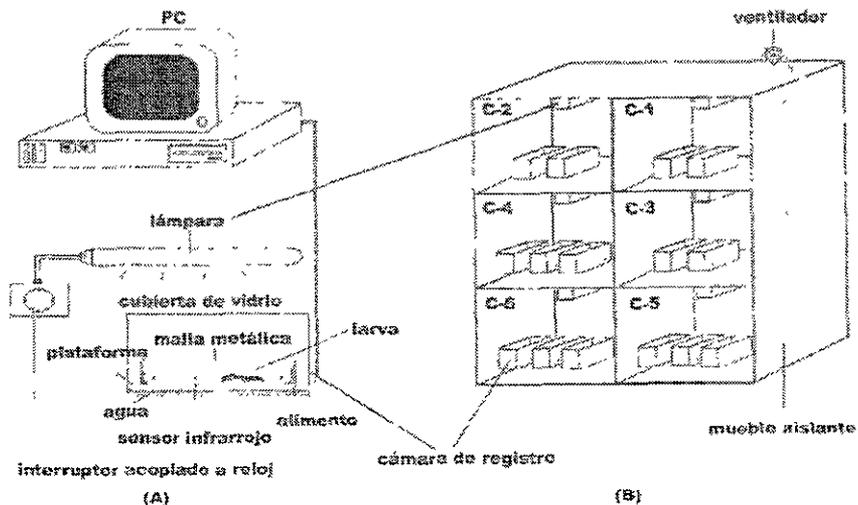


Figura 2. Dispositivo de registro de actividad locomotora para larvas de *Spodoptera frugiperda*. Se muestra el modelo de la caja de registro individual (A) y la cámara donde se registraron simultáneamente varios animales (B).

Los registros se desarrollaron bajo las siguientes condiciones. un grupo de animales estuvo sometido a condiciones constantes de oscuridad (OO), mientras que el otro se mantuvo en condiciones 12 h luz / 12 h oscuridad (LO). de acuerdo con el siguiente diseño experimental

Tabla 1. Protocolo experimental de larvas

OSCURIDAD CONSTANTE	CICLO LUZ / OSCURIDAD
* Larvas alimentadas con dieta que contenía línea de maíz control	* Larvas alimentadas con dieta que contenía línea de maíz control
* Larvas alimentadas con dieta que contenía línea de maíz CML 67	* Larvas alimentadas con dieta que contenía línea de maíz CML 67

El registro se mantuvo hasta que las larvas alcanzaron el estadio de pupa o morían, lo que representó entre tres y ocho días aproximadamente

7.2.1.2. PALOMILLAS EN REGISTRO

Para obtener los registros individuales del vuelo de las palomillas desde el momento de la emergencia, se emplearon cámaras verticales de vidrio transparente (Figura 3), y en cada una de ellas se colocó una pupa. Los diodos y sus respectivos sensores estaban dispuestos en forma de "zig-zag" con una separación de 7 cm entre ellos. Las cajas estaban cerradas con una tapa de vidrio transparente. La captura de los datos se realizó de la misma forma que en el caso de las larvas. Se dispuso una porción de alimento en una esquina de la base y se mantuvo humedecida durante todo el registro con ayuda de una pipeta.

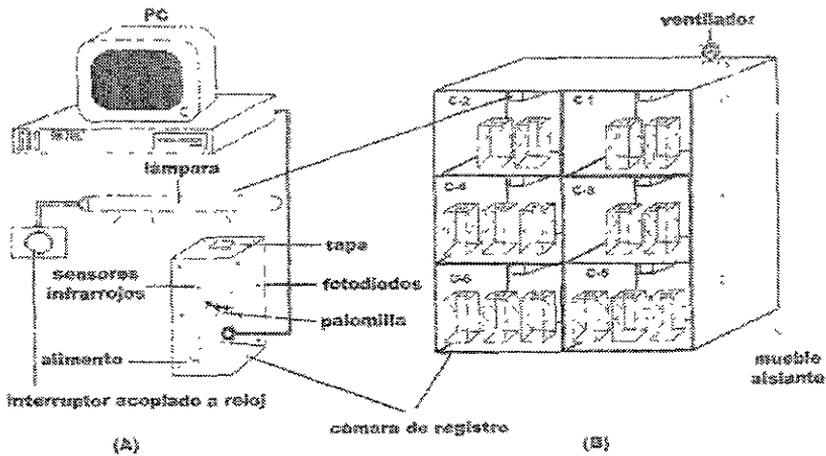


Figura 3. Dispositivo de registro de actividad locomotora de palomillas de *Spodoptera frugiperda*. Se muestra una caja para individual (A) y la forma en cómo se acomodaron dentro de los paneles de registro (B)

Los organismos adultos de *S. frugiperda* fueron sometidos al mismo protocolo usado con las larvas (tabla II). Con la diferencia que después del cuarto día de haber emergido, el ciclo LO fue adelantado por seis horas (LO 01 00 - 13 00) y en algunos casos fue posible realizar nuevamente un retraso de seis horas en el ciclo (LO 07-19)

Se registraron individualmente 15 organismos de forma simultanea en 8 gabinetes

Los grupos de registro fueron los siguientes

Tabla II. Protocolo experimental de palomillas

OSCURIDAD CONSTANTE	CICLO LUZ / OSCURIDAD
* Palomillas alimentadas con dieta que contenía la línea de maíz control	* Palomillas alimentadas con dieta que contenía la línea de maíz control
* Palomillas alimentadas con dieta que contenía la línea de maíz CML 67	* Palomillas alimentadas con dieta que contenía la línea de maíz CML 67

7.3. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos fueron analizados en forma de actogramas de doble gráfica por medio del programa TAU (Mini-Mitter Co., Inc.). El ritmo circadiano de actividad locomotora fue evaluado mediante el periodograma de Enright modificado de X^2 (Sokolove y Bushell, 1978). Fueron considerados rítmicos los periodos con $p < 0.05$, el nivel de significancia no se muestra en los periodogramas presentados en este trabajo.

El actograma es una representación gráfica del registro de actividad locomotora, y que, para observar con mayor efectividad la ritmicidad, repite al lado izquierdo la misma imagen, pero recorrida un ciclo, sobre la escala de las ordenadas. Si la ritmicidad es mayor al periodo propuesto, la definición de actividad en la imagen presentará una pendiente negativa, mientras que si es menor, exhibirá una pendiente positiva. Este método permite apreciar el periodo y la fase del ritmo de actividad (Vega, 1993).

De acuerdo con Aschoff (1981), en la sincronización, los relojes biológicos ajustan su periodo de oscilación τ al periodo del ritmo ambiental T de tal forma que el periodo del ritmo endógeno sincronizado $\tau^* = T$. Además se establece una relación o ángulo de

fase constante entre la fase (Ψ) del ritmo endógeno y el sincronizador, la cual depende de la intensidad del estímulo sincronizador y la relación de fase entre τ y T. Para determinar la relación de fase entre el inicio de actividad y el ciclo LO en las larvas y palomillas se calculó manualmente la hora del inicio de actividad y su relación con el encendido de la luz para las larvas y el apagado de la luz para las palomillas, en los actogramas correspondientes por cada día de registro, posteriormente se les asignó un valor positivo o negativo respecto a la fase del sincronizador, promediaron los resultados y se les aplicó una prueba de t de student para muestras no pareadas.

El periodograma es una técnica que permite estimar el periodo que presentan los componentes encargados de determinar la periodicidad de un fenómeno. Para Enright (1981), consiste en tomar a intervalos regulares de tiempo una cantidad razonable de mediciones (por lo menos una serie de tiempo de tres ciclos), para reconocer si existe un componente rítmico en el periodo (P) en estos ciclos, a través de la obtención de los valores de desviación estándar de dichas mediciones. La gráfica que se construye a partir de estos valores es conocida como periodograma de Enright. Una prueba estadística de X^2 (donde se emplea la serie de medias de la actividad) permite calcular un periodograma X^2 con buena resolución

y con un número de datos relativamente bajos (dos o tres ciclos) considerando la varianza (Vega, 1993)

El periodograma permite conocer los periodos de oscilación de una serie temporal considerando los puntos de medidas equivalentes en ciclos consecutivos, para lo cual resulta indispensable que haya equidistancia entre dichos datos. Cuando en una serie temporal está presente una recurrencia periódica, la suma resultante de las desviaciones estándar de cada valor de la serie será pequeña, pero si hay una gran variación entre las desviaciones estándar el resultado dará un valor muy elevado (Benedito, 1997) De este proceso sólo fueron considerados los periodos ocurrentes entre 10 y 30 h con picos significativos $p < 0.05$

En el estudio de los ritmos biológicos, la fase es considerada como el momento en el cual un evento particular ocurre dentro de un ciclo. Como puntos de fase de referencia pueden ser empleados el inicio de actividad, el pico máximo o mínimo de actividad, fin de actividad, etc. Asumiendo que el periodo del ritmo es estable, la fase de referencia tendrá una varianza mínima en los valores de los periodos ciclo a ciclo. Por ejemplo, la varianza de un ciclo sencillo que estima el periodo, está basada en el inicio de actividad locomotora como el evento de referencia y comúnmente presenta una

Se revisó además la variación en el porcentaje de actividad que los organismos presentaron a lo largo de todos los días de registro, estos valores fueron calculados por el mismo programa TAU, que ubica el día de mayor actividad que es considerado entonces, como el 100% y a partir de este valor se obtienen los porcentajes de los días restantes, esto con el fin de conocer cómo fue el comportamiento de los animales en registro. Con esta información se realizaron gráficas que comparaban el día del registro con el porcentaje de actividad del animal.

Los datos de los periodos obtenidos entre los diferentes grupos fueron comparados mediante la prueba de *t* de student para grupos no pareados, y los valores $p < 0.05$ fueron considerados para definir diferencias significativas. Además en aquellos grupos donde la varianza fue notablemente diferente se usó una prueba de F (Fisher), la cual permite conocer la probabilidad de que las varianzas de dos grupos de datos no presenten diferencias significativas. Se emplea para determinar si las varianzas de dos muestras son diferentes.

8. RESULTADOS

8.1. ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE ANIMALES ALIMENTADOS CON DIETA CONTROL

8.1.1. LARVAS EN OSCURIDAD CONSTANTE (OO)

La figura 5a es un actograma que muestra un registro típico de la actividad locomotora de uno de los organismos del grupo control que presentaron ritmicidad circadiana. Cada barra concentra la actividad detectada durante 20 minutos y su magnitud es resultado de la cantidad de actividad locomotora que presentó el animal. La actividad es notablemente mayor en el primer día, decreciendo gradualmente en los días siguientes.

En la figura (5b) se presenta el periodograma correspondiente de X^2 , el cual muestra varios picos de actividad, pero sólo hay uno que sobresale notoriamente con un valor correspondiente a 29.2 h.

De las larvas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas con una dieta a base de una línea de maíz control ($n=9$) y mantenidas en condiciones constantes de oscuridad (OO), ocho mostraron una actividad rítmica, con un periodo promedio (\pm error estándar) de 26.3 ± 0.78 horas (Tabla III). El valor promedio de ω_{1p} obtenido de este grupo fue de 7.9 ± 2.03 .

Al considerar la cantidad máxima de actividad en cada registro como el 100% y comparar proporcionalmente la magnitud de la actividad en el resto de los días de registro (Figura 6) se observó que la actividad de los organismos se mantuvo constante durante los primeros seis días previos a la pupación, pero en el séptimo disminuye para incrementarse nuevamente los dos días siguientes.

Los registros de las larvas de *S. frugiperda* por lo general no fueron de larga duración (entre tres y seis días aproximadamente), pues la mayoría iniciaba la pupación interrumpiendo el registro de actividad.

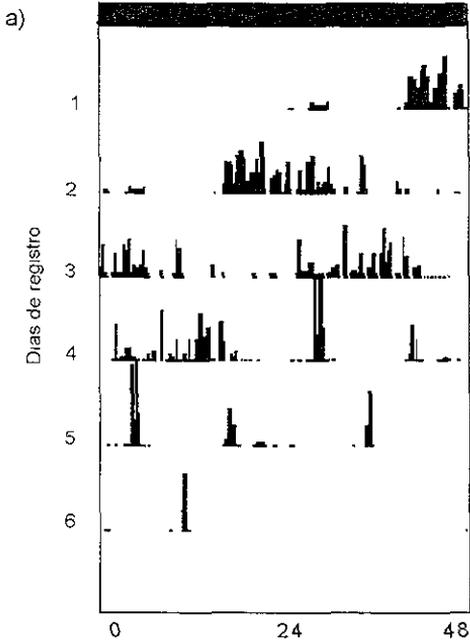


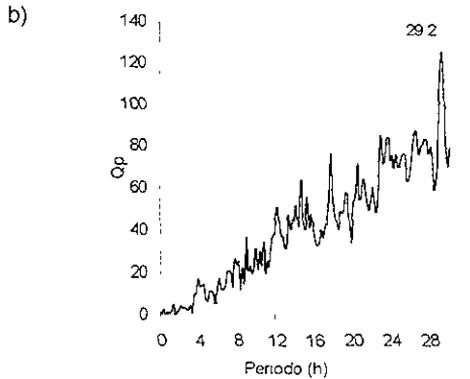
Tabla III
Larvas en OO, dieta control

N = 9

Animal	Periodo
1	25.2
2	21.6
3	26.6
4	26.2
5	27.2
6	27.8
7	26.6
8	29.2
9	13.2

Con ritmo circadiano n = 8
 $X(t) = 26.3 \pm 0.78$ h

Periodo del ritmo de actividad locomotora en larvas de *Spodoptera frugiperda*



Larvas en OO con dieta control

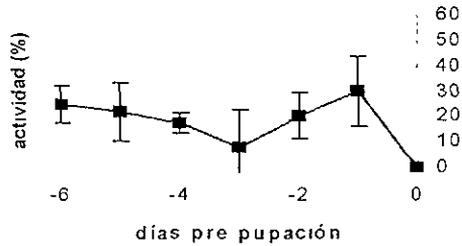


Figura 6. Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de larvas de *Spodoptera frugiperda*. Las barras corresponden al error estándar.

Figura 5

a) Actograma de la actividad locomotora de una larva de *Spodoptera frugiperda* en OO, alimentadas con dieta control. Cada barra representa la actividad por cada 20 min.

b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica el periodo significativo en 29.2 h (ver texto).

8.1.2. LARVAS EN LO

En la Figura 7a se presenta un actograma típico correspondiente a un individuo de este grupo, en donde se observa que al primer día la larva muestra actividad en la fase oscura del fotoperiodo, pero después de un ciclo, el animal ajusta su actividad a la fase luminosa.

Las larvas del grupo control mantenidas en condiciones LO (12/12) estuvieron en registro entre cuatro y cinco días aproximadamente. De 22 animales, sólo un organismo presentó una marcada actividad locomotora nocturna con un periodo exacto de 24 h (no se muestra figura), mientras que cinco animales mostraron una actividad locomotora diurna con un periodo de 23.68 ± 0.11 h. (Tabla IV). El periodograma correspondiente (Figura 7b) muestra un pico amplio que inicia a las 20 h y se mantiene hasta las 26.5 h, donde domina un pico de 23.8 h. El resto de los animales no respondió al fotoperiodo y tuvo actividad constante durante las fases luminosa y oscura. La relación α/p observada en los animales que ajustaron al ciclo LO fue de 5.15 ± 0.96 .

En la figura 8 se muestra la gráfica del porcentaje de actividad de este grupo experimental, donde es posible observar que la variabilidad en la actividad disminuye debido posiblemente a que el animal inició la etapa de pupación.

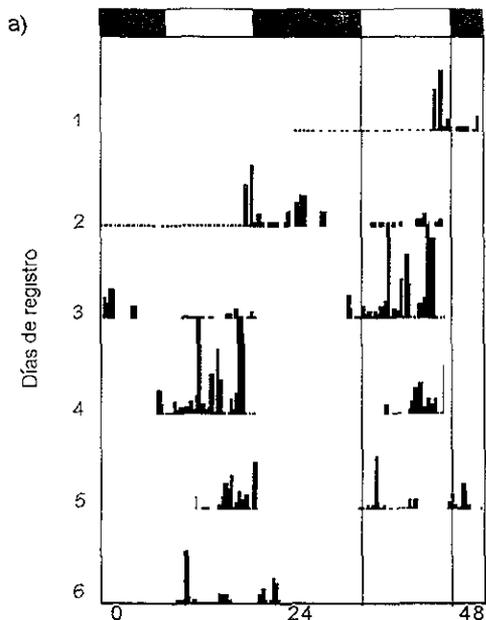


Tabla IV
Larvas en LO, dieta control

N= 22

Animal	Periodo
1	24.4 D
2	23.2 D
3	24.2 D
4	23.8 D
5	23.2 D
6	24 N

Diurnos (D)= 5
 $\bar{X}(t) = 23.6 \pm 0.11$ h
 Nocturnos (N)= 1

Periodo del ritmo de actividad locomotora en larvas de *Spodoptera frugiperda*.

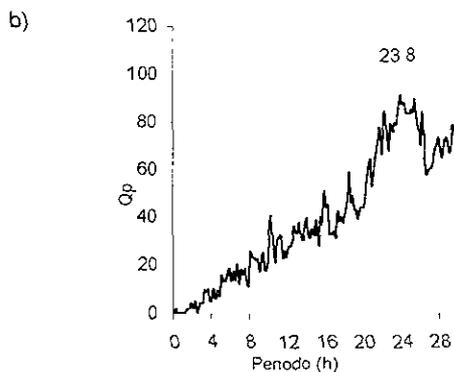


Figura 7

- a) Actograma del registro de actividad locomotora de una larva de *Spodoptera frugiperda* en ciclos LO (12 12), desarrolladas con dieta control. La barra superior indica los momentos de encendido y apagado de la luz.
- b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica el periodo significativo en 23.8 h (ver texto).

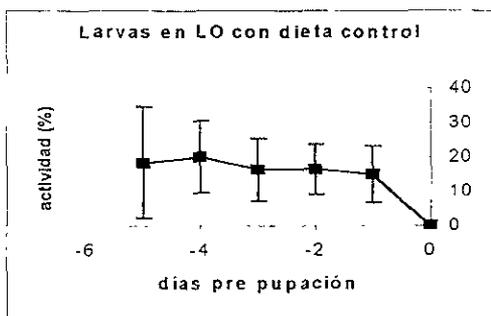


Figura 8. Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de larvas de *Spodoptera frugiperda* en ciclos LO. Las barras corresponden al error estándar.

8.1.3. PALOMILLAS EN OO

La figura 9a muestra un actograma representativo de una palomilla del grupo control en OO. El registro abarca nueve días, donde es posible observar un periodo menor a 24 h. El periodograma correspondiente (figura 9b) muestra varios picos, entre los cuales el más alto de éstos tiene un periodo de 23 h.

Todas las palomillas ($n = 12$) alimentadas con una dieta a base de una línea de maíz control exhibieron un ritmo circadiano con un periodo de 25.5 ± 0.7 h. La mayoría de estos registros se mantuvieron entre 8 y 10 días. La relación de α/p promedio en animales de este grupo fue de 0.49 ± 0.08 .

En algunos registros se observó que de manera espontánea ocurrían cambios de fase durante la oscilación en OO. En este ejemplo, se observa un retraso de la fase al quinto día de registro.

La figura 10 señala el porcentaje de actividad que mostró este grupo experimental, donde los organismos presentaron una actividad constante los primeros cinco días después de la emergencia, aumentaron levemente dicha actividad los siguientes dos días, para

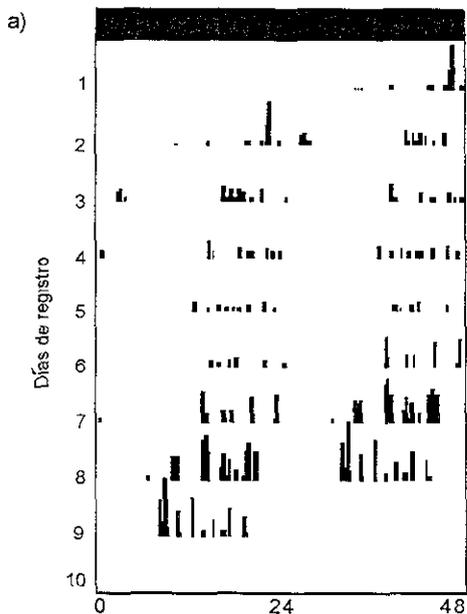


Tabla V
Palomillas en OO, dieta control

N= 12

Animal	Periodo
1	26.4
2	29.2
3	22.6
4	24.4
5	23
6	26.8
7	26.6
8	22
9	29.4
10	23.8
11	26.4
12	25.6

Con ritmo circadiano= 12
 $\bar{X}(t) = 25.5 \pm 0.7$ h

Periodo del ritmo de actividad locomotora en palomillas de *Spodoptera frugiperda*.

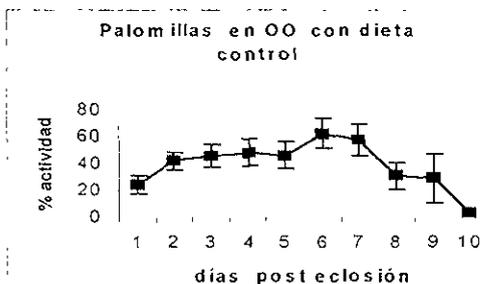
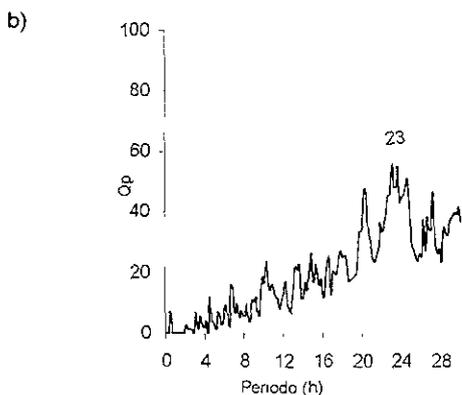


Figura 9.

a) Actograma de la actividad locomotora de una palomilla de *Spodoptera frugiperda* en OO, con dieta control

b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica el periodo significativo de 23 h (ver texto)

Figura 10 Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de palomillas de *Spodoptera frugiperda* en OO. Se muestra en barras el error estándar.

8.1.4. PALOMILLAS EN LO

La figura 11a muestra un actograma típico para una palomilla con actividad locomotora nocturna. El registro se mantuvo a lo largo de 15 días y durante los primeros tres días el animal se ajustó inmediatamente a la fase oscura del ciclo LO. Al cuarto día, cuando ocurre un avance de seis horas del fotoperiodo, el organismo no parece requerir de ciclos transitorios para reajustarse de forma rápida y precisa a la nueva fase impuesta. En un siguiente retraso de seis horas del ciclo LO al día diez, se observó que el animal requirió esta vez de dos ciclos transitorios para ajustarse a la nueva fase impuesta por el sincronizador. El periodograma correspondiente (figura 11b) entre los días siete y 12 presenta un pico predominante a las 24 h, entre otros de mayor periodo.

Del total de los registros obtenidos de palomillas alimentadas con la dieta control y mantenidos en ciclos LO ($n=12$), 9 presentaron actividad locomotora nocturna con un periodo de 23.89 ± 0.009 . En ningún caso se observó actividad locomotora diurna y los tres restantes no lograron ajustarse al fotoperiodo (Tabla VI).

El tiempo que duraron estos registros abarca hasta 18 días. No en todos fue posible hacer el segundo cambio de fase del ciclo LO,

pero en los que se logró generalmente es por medio de retrasos que el animal busca ajustar su reloj con el sincronizador, y no le toma más de tres transitorios el lograrlo. La relación α/ρ promedio en condiciones estables de sincronización fue de 1 ± 0.2

Se muestra en la figura 12 el porcentaje de actividad obtenido de estos animales a lo largo del registro y es evidente que la actividad se mantuvo constante durante los primeros diez días de registro hasta que a partir del día 11 y 12 la actividad se presentó con una notable variabilidad denotada con la amplitud del error estándar correspondiente.

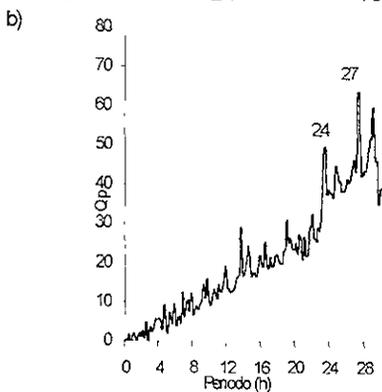
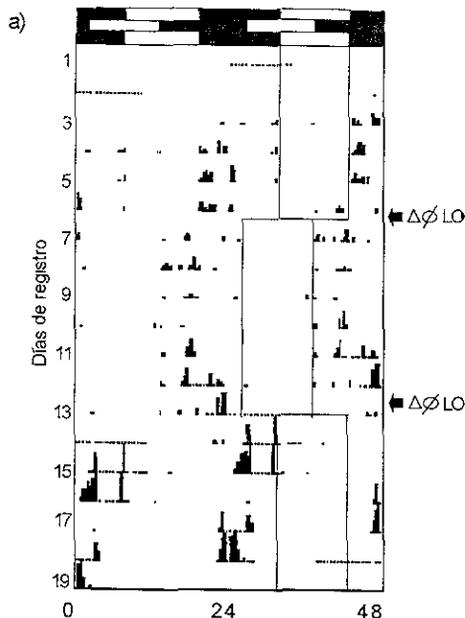


Tabla VI
Palomillas en LO, dieta control

N= 12

Animal	Periodo
1	23.6 N
2	24.6 N
3	24.0 N
4	23.4 N
5	24.2 N
6	23.8 N
7	23.8 N
8	23.8 N
9	23.8 N
10	21.6
11	27.6
12	27.6

Nocturnos (N)= 9
 $\bar{X}(t) = 23.8 \pm 0.009$ h
 No se ajustaron al fotoperiodo= 3

Periodo del ritmo de actividad locomotora en palomillas de *Spodoptera frugiperda*.

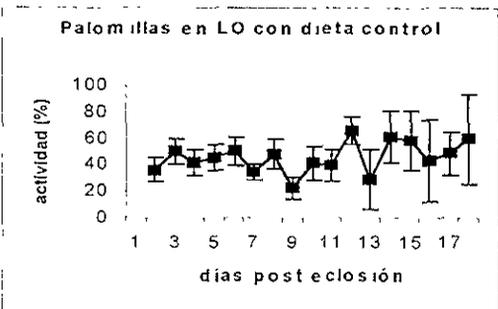


Figura 11

- a) Actograma de la actividad locomotora de una palomilla de *Spodoptera frugiperda* en ciclos LO, alimentada con dieta control. Se señalan los puntos donde se realizó cambio de fase de seis horas en el fotoperiodo.
- b) Periodograma correspondiente al actograma anterior.

Figura 12. Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de palomillas de *Spodoptera frugiperda* en LO. Se muestra en barras el error estándar.

8.2. ACTIVIDAD LOCOMOTORA DE ANIMALES ALIMENTADOS CON DIETA QUE CONTENÍA LA LÍNEA CML 67

8.2.1. LARVAS EN OO

En la figura 13a se presenta un actograma de un registro típico de este grupo de animales en OO, se nota claramente que la actividad se presenta de manera irregular, incrementando hacia los últimos dos días de registro. En la figura 13b, el periodograma correspondiente muestra un pico circadiano correspondiente a $\tau = 29.8$ h.

Los registros tuvieron una duración de aproximadamente cinco y ocho días. Todos los organismos ($n= 6$) alimentados con dieta a base de la línea de maíz CML 67 presentaron un periodo promedio de 28.6 ± 0.41 h en oscilación espontánea (Tabla VII), el cual es más largo que en el grupo control en condiciones similares. El valor del periodo obtenido es significativo, aunque visualmente no se aprecia en ningún registro un ritmo claro. La relación α/p promedio en animales de este grupo fue de 2.14 ± 0.8 .

La figura 14 corresponde a la gráfica del porcentaje de actividad de estos animales, y es posible notar que la actividad en los primeros cinco días va disminuyendo, pero a partir del sexto día

antes de que los organismos comiencen la etapa de pupación hay un incremento en la actividad, la cual alcanza un punto máximo en el séptimo día, y para el octavo vuelve a disminuir hasta llegar a cero, consecuencia posiblemente de que las larvas estaban ya en etapa de pupa.

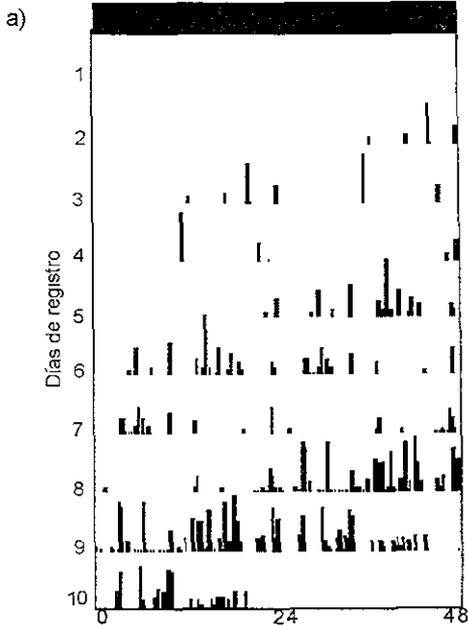


Tabla VII
Larvas en OO, dieta con línea de maíz
CML 67

N= 6

Animal	Periodo
1	27
2	28.8
3	28.6
4	28.2
5	29.6
6	29.8

Con ritmo circadiano n= 6
 $\bar{X} (t) = 28.6 \pm 0.41$ h

Periodo del ritmo de actividad locomotora
en larvas de *Spodoptera frugiperda*.

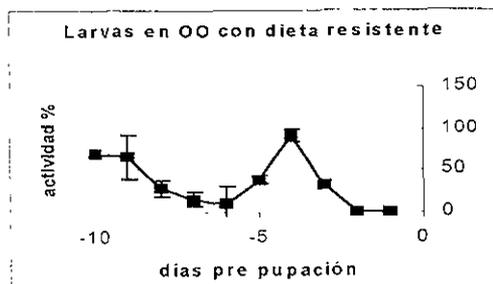
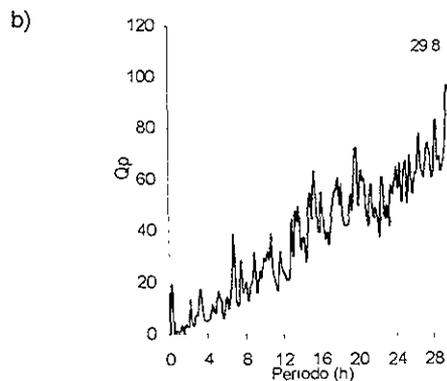


Figura 14 Gráfica que muestra el
porcentaje de actividad por día en el grupo
de larvas de *Spodoptera frugiperda* en OO.
Se muestra en barras el error estándar.

Figura 13.

a) Actograma de la actividad locomotora de una larva de *Spodoptera frugiperda* en OO, alimentada con la dieta a base de la línea de maíz CML 67

b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica el periodo significativo de 29.8 h (ver texto)

8.2.2. LARVAS EN LO

De las larvas alimentadas con una dieta a base de maíz de la línea CML 67 (n= 9), sólo tres animales lograron ajustarse a los ciclos LO de los cuales uno se muestra en la figura 15a, donde se observa que en los cuatro primeros días del registro la actividad inicia antes del encendido de la luz y durante el quinto y sexto día la actividad disminuye hasta ser casi imperceptible. El periodograma correspondiente (figura 15b) muestra picos significativos entre las 20 y 30 h, entre los cuales existe un pico de 24.1 entre otros

Los otros seis organismos de este lote experimental no fueron capaces de ajustarse al fotoperiodo y mostraron un periodo promedio de 26.1 ± 1.14 (Tabla VIII). La figura 16a corresponde a uno de estos animales, donde es posible observar la forma dispersa en que se presentó actividad tanto en la fase luminosa como en la oscura durante los siete días de registro. El respectivo periodograma (figura 16b) señala un pico significativo con un periodo de 19.2 h. La relación α/p promedio en animales de este grupo fue de 5.04 ± 2.6 .

La figura 17 indica el correspondiente porcentaje de actividad que mostraron estos animales, no se observan variaciones muy intensas los primeros cuatro días, pero se pierde casi por completo la actividad en el quinto día, y vuelve a incrementarse el sexto, mientras

que en al séptimo sólo logró llegar un organismo que incrementó su actividad.

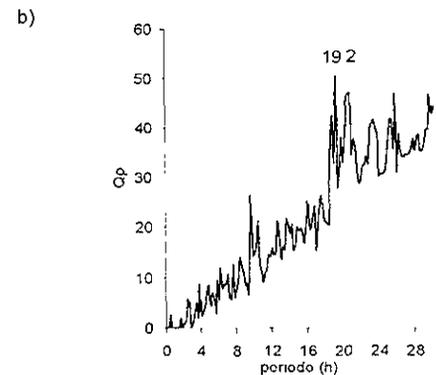
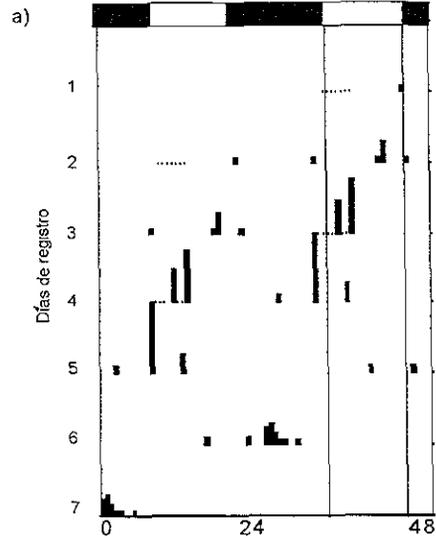
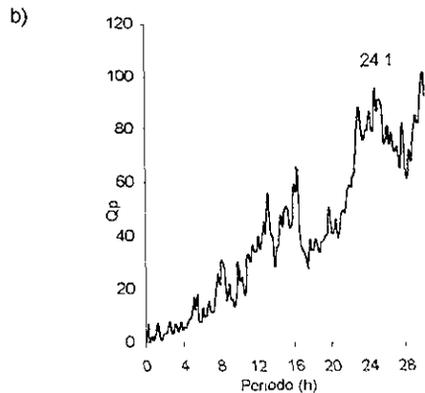
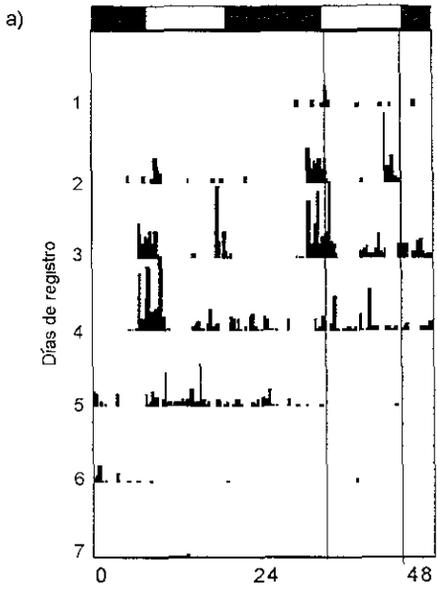


Figura 15

- a) Actograma de la actividad locomotora de una larva de *Spodoptera frugiperda* en LO, alimentada con la dieta a base de la línea de maíz CML 67
- b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica el periodo significativo en 24 1 h

Figura 16

- a) Actograma de la actividad locomotora de una larva de *Spodoptera frugiperda* en LO, alimentada con la dieta a base de la línea de maíz CML 67, donde se observa que no hay una clara respuesta al fotoperiodo
- b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica el periodo significativo de 19 2 h.

Tabla VIII
Larvas en LO, dieta con línea de
maíz CML 67

N= 9

Animal	Periodo
1	27
2	26
3	24.4
4	19.2
5	29.4
6	30
7	23.6
8	28.4
9	24.1 D

Diurnos (D)= 1

No se ajustaron

al fotoperiodo= 8

$\bar{X}(t) = 26.1 \pm 1.14$ h

Periodo del ritmo de actividad
locomotora en larvas de *Spodoptera*
frugiperda.

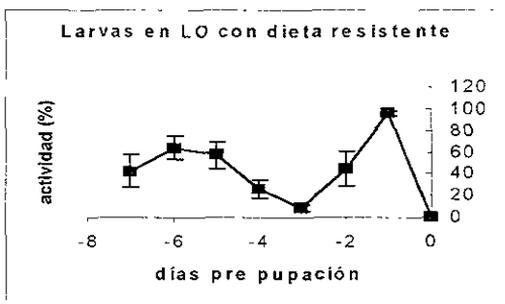


Figura 17. Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de larvas de *Spodoptera frugiperda* en LO. Se muestra en barras el error estándar.

8.2.3. PALOMILLAS EN OO

La figura 18a corresponde a un caso típico de este grupo, donde se observa un ritmo con fase estable de actividad a un periodo de 23.6 h (figura 18b).

La totalidad de las palomillas ($n= 8$) criadas durante el desarrollo con dieta a base de maíz CML 67 en fotoperiodo completo mostraron un ritmo circadiano con un periodo promedio de 25.17 ± 0.68 h (Tabla IX)

El tiempo en el que estos registros se realizaron varía entre 4 y 17 días. La figura 19 indica el porcentaje de actividad que mostraron los animales de este grupo a lo largo de los días que duró el registro y se nota que en el primer y segundo día de registro la actividad es intensa, después disminuye y sólo se incrementa el día doce, para decaer nuevamente en los siguientes días. La relación α/p promedio en animales de este grupo fue de 0.33 ± 0.8 .



Tabla IX
Palomillas en OO, dieta con línea de maíz CML 67

N= 8

Animal Periodo

1	23.2
2	25.6
3	26.8
4	24.4
5	24.6
6	23.6
7	24.4
8	29

Con ritmo circadiano= 8

$$\bar{X}(t) = 25.1 \pm 0.68 \text{ h}$$

Periodo del ritmo de actividad locomotora en palomillas de *Spodoptera frugiperda*

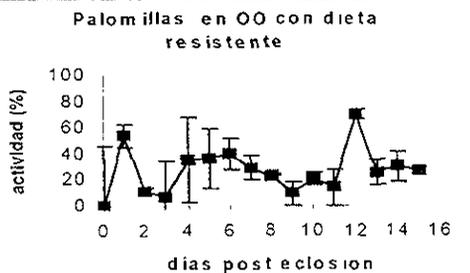
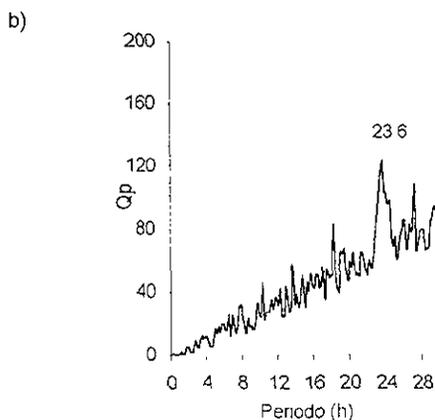


Figura 19. Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de palomillas de *Spodoptera frugiperda* en OO. Se muestra en barras el error estándar.

Figura 18

a) Actograma de la actividad locomotora de una palomilla de *Spodoptera frugiperda* en OO, alimentada con la dieta a base de la línea de maíz CML 67

b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica dos el periodo significativo en 23.6 h

8.2.4. PALOMILLAS EN LO

La figura 20a es la representación de uno de los organismos que lograron sincronizar, el actograma refleja una actividad que inicia horas después del inicio de la fase luminosa y termina justo después del encendido de la luz. Los niveles de actividad se mantienen constantes a lo largo de la noche durante los 11 días del registro. El periodograma (figura 20b) denota un pico claro 24 h.

Seis de estos registros tuvieron avance de seis horas en la fase del sincronizador y sólo fue apreciable en un caso que se requirió de un ciclo transitorio para el ajuste a la nueva fase, este animal presentó un periodograma con un periodo de 24 h (figura no mostrada) En otro registro, la palomilla de inmediato se ajustó al nuevo fotoperiodo, pero sólo por dos días y modificó su actividad locomotora de nocturna a diurna. En el resto de los registros con este cambio de fase, los animales no lograron ajustarse al nuevo fotoperiodo, pero se aprecian cambios en el inicio de actividad, como es el caso de la figura 21a, donde después de cinco días de registro se cambió la fase del ciclo LO, pero el animal mantuvo un día la fase previa impuesta por el sincronizador, para después reajustarse y tratar de acoplarse a la nueva fase. El periodograma correspondiente (Figura 21b) muestra un pico significativo de actividad con un periodo de 24 h.

De nueve animales incluidos en este grupo, siete mostraron un periodo promedio de 24.28 ± 0.14 h con una actividad locomotora nocturna, mientras que los dos restantes no lograron ajustarse al ciclo LO y tuvieron un periodo promedio de 25.6 h (Tabla X) La relación α/ρ promedio en animales de este grupo fue de 1.03 ± 0.2

El tiempo en que se mantuvieron los registros fue de 8 a 15 días. La figura 22 es la respectiva representación del porcentaje de actividad de este grupo de animales a lo largo del registro, no hay diferencias notorias en la actividad en los primeros días de registro.

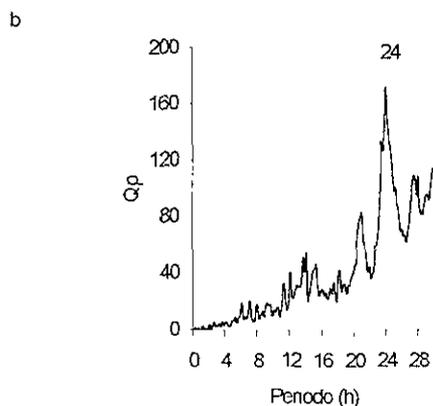
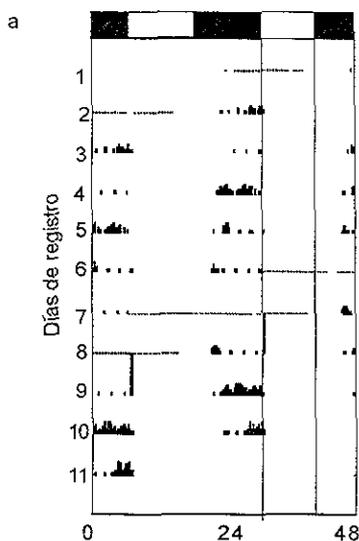


Figura 20

- a) Actograma de la actividad locomotora de una palomilla de *Spodoptera frugiperda* en LO, alimentada con la dieta a base de la línea de maíz CML 67
- b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica dos el periodo significativo en 24 h

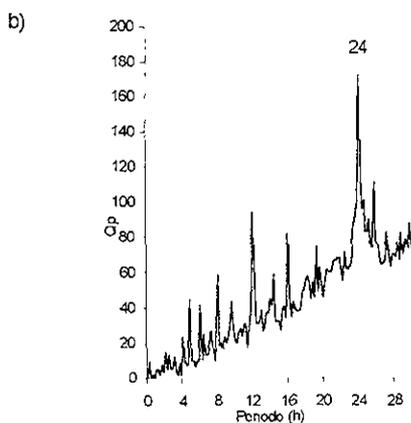
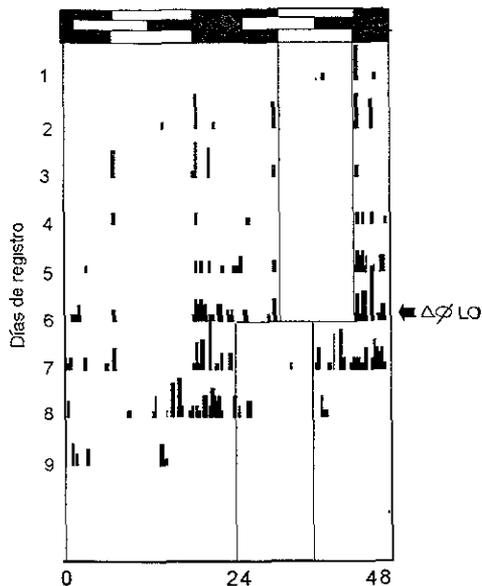


Figura 21

- a) Actograma de la actividad locomotora de una palomilla de *Spodoptera frugiperda* en LO, alimentada con la dieta a base de la línea de maíz CML 67. Se señala el punto donde se realizó cambio de fase de seis horas en el fotoperiodo.
- b) Periodograma correspondiente al actograma anterior. Se indica dos el periodo significativo en 24 h

Tabla X
 Palomillas en LO, dieta con línea de
 maíz CML 67

N= 9

Animal	Periodo	
1	24.6	N
2	24	N
3	24	N
4	24.6	N
5	24.2	N
6	25	N
7	24	N
8	24.5	
9	26.8	

Nocturnos (N)= 7
 $\bar{X} (t) = 24.2 \pm 0.14$ h
 No se ajustaron
 al fotoperiodo= 2

Periodo del ritmo de actividad locomotora en palomillas de *Spodoptera frugiperda*.

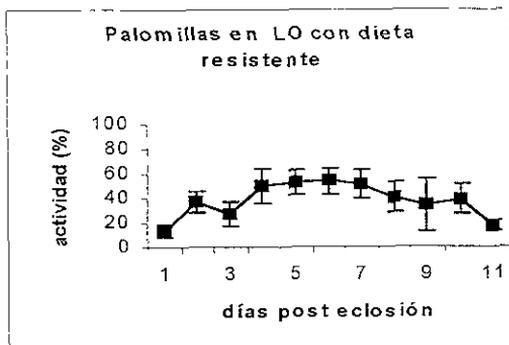


Figura 22. Gráfica que muestra el porcentaje de actividad por día en el grupo de palomillas de *Spodoptera frugiperda* en LO. Se muestra en barras el error estándar.

Tabla XI. Comparación de las características del RALM entre larvas alimentadas con distintas dietas

	CONTROL	CML 67
RITMO EN OO	CLARO EN OCHO DE NUEVE	NO ES CLARO
PERIODO EN OO *	$\tau = 26.3 \pm 0.78$ h	$\tau = 28.6 \pm 0.41$ h
AJUSTE A LO	N= 22 NOCTURNO n= 1 $\tau = 24$ h DIURNO n= 5 $\tau = 23.68 \pm 0.11$ h	N= 9 DIURNO n= 1 $\tau = 24.1$ h
ψ INICIO DE LUZ	$- 0.05 \pm 1.7$ h	2.52
α/p OO*	$X = 7.9 \pm 2.03$	$X = 2.14 \pm 0.8$
α/p LO**	$X = 5.15 \pm 0.96$	$X = 5.04 \pm 2.6$

* Diferencias significativas al 0.05 % con la prueba de t de student.

** Diferencias significativas al 0.05 % con la prueba de Fisher.

La tabla XI muestra la comparación entre las principales características del ritmo circadiano de actividad locomotora de las larvas alimentadas con dieta control y a base de la línea de maíz CML 67, se observan como principales diferencias el periodo en OO y las relaciones α/p entre las condiciones OO y LO, así como la relación de fase entre el apagado de la luz y el inicio de actividad (Ψ)

Tabla XII. Comparación de las características del RALM entre palomillas alimentadas con distintas dietas.

	CONTROL	CML 67
RITMO EN OO	12 DE 12	8 DE 8
PERIODO EN OO	$\tau = 25.5 \pm 0.7$ h	$\tau = 25.17 \pm 0.68$
AJUSTE A LO*	N= 12 NOCTURNO n= 9 $\tau = 23.89 \pm 0.009$ h	N= 9 NOCTURNO n= 7 $\tau = 24.28 \pm 0.14$ h
ψ INICIO DE LUZ*	0.70 ± 3.6	3.43 ± 0.79
α/p OO	$X = 0.49 \pm 0.08$	$X = 0.33 \pm 0.8$
α/p LO	$X = 1 \pm 0.2$	$X = 1.06 \pm 0.2$

* Diferencias significativas al 0.05 % con la prueba de t de student.

** Diferencias significativas al 0.05 % con la prueba de Fisher.

La tabla XII muestra la comparación entre las principales características del ritmo circadiano de actividad locomotora de las palomillas alimentadas con dieta control y a base de la línea de maíz CML 67. La diferencia más sobresaliente es la relación de fase entre el apagado de la luz y el inicio de actividad en condiciones de OO y LO

9. DISCUSIÓN

La actividad locomotora en oscilación espontánea observada en las larvas alimentadas con una dieta a base de maíz control presentó un ritmo circadiano en OO con un periodo promedio de 26.3 ± 0.78 h, lo que coincide con los datos obtenidos en diferentes especies de insectos (Brady, 1981)

Sin embargo, la intensidad de la actividad de las larvas entre los diferentes registros fue variable, posiblemente como resultado del comportamiento de búsqueda de refugio, que puede interpretarse a través de sus diferentes taxias, que son movimientos en respuesta a un estímulo (Eckert, *et al.* 1992). Esta conducta es presentada por muchas larvas de insectos y la exhiben como preparación para la pupación. Estos patrones especializados de comportamiento aseguran un microhábitat protector en el que la pupación puede ocurrir. En el caso del gusano cornudo del tabaco, *Manduca sexta*, la larva entra en una fase de comportamiento de búsqueda y se entierra en el suelo para construir una caverna de pupación. Este comportamiento es estereotipado y ocurre en un estado específico de desarrollo previo a la pupación. Esta conducta está regulada por la combinación de procesos internos (como el tiempo de inicio de la búsqueda su mínima duración) y externos. Los patrones de

locomoción y prolongación de la búsqueda son respuestas comunes si el animal es perturbado cuando está a punto de iniciar la pupación y que muestran un alto grado de plasticidad al responder a las variaciones en el ambiente externo, tales como los ciclos de luz/oscuridad (Dominick y Truman, 1985).

De las larvas criadas con dieta control y mantenidas en LO 12.12 durante el registro, cinco de 22 mostraron actividad locomotora diurna, mientras que sólo una se ajustó a la fase oscura del fotoperiodo. En las 16 restantes se observó que los organismos trataban de ajustarse al ciclo LO, principalmente por medio de avances en la fase del inicio de actividad, pero debido al poco tiempo que pudieron mantenerse los registros, no se logró una clara actividad locomotora que mostrara sincronización al ciclo LO con fase estable.

En los animales que sí mostraron ajuste al fotoperiodo fue clara la rápida capacidad de sincronización y no requirieron de más tres días de transición para ajustar su actividad al ciclo LO, aunque en los registros donde no se observaron transitorios pudiera tratarse de un proceso de enmascaramiento de la actividad por el ciclo de luz. Este enmascaramiento define ciertas condiciones experimentales que pueden ocultar los mecanismos reales en la expresión del ritmo, puede ser de tipo positivo en el que el animal inicia su actividad con

el encendido de la luz, o negativo cuando el animal inicia su actividad al apagarse la luz (Aschoff, 1960).

Las palomillas alimentadas con dieta control y en OO mostraron ritmos con periodos muy cercanos a 24 h, la resistencia de estos animales en el sistema de registro permitió monitorear la actividad locomotora durante más días, por lo que se llegaron a observar cambios de fase aparentemente espontáneos en cinco registros, sin relación alguna con cambios ambientales conocidos, ya que se presentaron de manera independiente en registros simultáneos.

Se encontró que las palomillas desarrolladas con dieta control y en ciclos LO (12.12) tienen una actividad locomotora nocturna, con un periodo circadiano promedio de 23.8 ± 0.009 h. Al avanzar por seis horas la fase impuesta por el ciclo luz/oscuridad, se observó que bastaron de uno a tres ciclos para reajustar por medio de avances la fase del ritmo circadiano al nuevo ciclo impuesto. Cuando se aplicó un retraso en la fase del ciclo LO, nuevamente el animal buscó ajustarse mediante retrasos, pero sólo en tres de seis casos se logró, y se observaron uno o dos transitorios. Estos resultados muestran que el animal tiene mayor capacidad de responder a los avances de los ciclos LO impuestos y lo hace de una forma casi inmediata, aunque hay que considerar la edad que tenían las palomillas en el

segundo cambio de fase, pues es probable que el tiempo de vida restante no les fuera suficiente para mostrar la nueva fase estable impuesta por el sincronizador

Con lo que respecta a las larvas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas con una dieta a base de la línea de maíz CML 67, y mantenidas en oscuridad constante, no fue posible observar un ritmo claro en oscilación espontánea, aunque la ritmicidad fue en su mayoría estadísticamente significativa, además se notó una diferencia en los periodos obtenidos de las larvas alimentadas con dieta control (n=6), pues en este grupo el periodo fue mayor, 28.6 ± 0.41 h, por lo que con la prueba de t se observó que existen diferencias significativas ($p < 0.05$)

Las larvas alimentadas con la dieta de la línea de maíz CML 67 y mantenidas en LO (12:12) mostraron poca respuesta al fotoperiodo, pues de un total de nueve animales, ocho no lograron ajustar el ritmo al fotoperiodo, excepto una larva que sí presentó actividad locomotora diurna. En este punto hay que mencionar una diferencia entre estas larvas y las alimentadas con dieta control, donde de 22 animales, seis sí presentaron una clara actividad locomotora ya fuera nocturna o diurna, por lo que hay que considerar que el porcentaje de sincronización es mayor en este último grupo, a pesar de que 16 no

lo lograron. Además, también se encontraron diferencias significativas en la relación de fase entre el sincronizador y el inicio de actividad del ritmo manifiesto, ya que sólo una larva alimentada con la dieta que contenía las hojas de la línea CML 67 comenzó su actividad mucho después del encendido de la luz. Una explicación probable de estas diferencias es que la dieta que contiene la línea de maíz CML 67 tenga entre sus componentes, alguno que esté actuando de alguna forma sobre la capacidad de sincronización del sistema circadiano, y desde luego, hay que considerar que el sistema circadiano en las larvas de los dos grupos experimentales puede no estar completamente maduro o que se modifique o altere por los procesos fisiológicos previos a la pupación. Es decir, que interfiera de cierto modo en la relación de acoplamiento que hay entre los fotorreceptores circadianos y el reloj interno, lo que trae como consecuencia dificultad para detectar o responder a los ciclos de luz/oscuridad

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre el periodo promedio de las palomillas mantenidas en oscuridad constante alimentadas con la dieta control y aquellas criadas con la dieta a base de la línea CML 67, en parámetros como son la evidencia de un ritmo circadiano claro, el periodo en OO, la actividad diaria promedio y los porcentajes de actividad a lo largo de todo el

registro, por lo que se supone que no se afecta el ritmo de actividad locomotora por la variación del maíz consumido.

Al comparar los resultados de las curvas promedio de actividad entre las larvas en LO alimentadas con dieta control y con dieta a base de la línea de maíz CML 67, se encontró que existen diferencias estadísticamente significativas por medio de la prueba de F, $p < 0.05$, pues para las larvas con dieta de maíz resistente se obtuvo un valor α/p de 5.04 ± 2.6 y para las larvas con dieta control se tuvo un valor α/p de 5.15 ± 0.96 , lo que pudiera indicar diferencias en la variabilidad de la capacidad de locomoción de estos dos grupos

Se observó que las palomillas alimentadas con dieta a base de la línea de maíz CML 67 y mantenidas en ciclos LO (12:12) tuvieron diferencias con las alimentadas a base de la dieta control en cuanto a los promedios de los periodos que presentaron, pues las primeras mantuvieron un periodo de 24.28 ± 0.14 h, y las segundas de 23.89 ± 0.009 y al aplicarles la prueba estadística de t se encontró un valor de $p = 0.025$, lo que resulta estadísticamente significativo, esto sugiere que la velocidad del oscilador que controla el RALM al ajuste del ciclo LO, es diferente entre los dos grupos de palomillas

En ambos grupos, los organismos lograron ajustarse a una actividad locomotora nocturna y no se requirieron más de tres ciclos transitorios para que se ajustaran a la fase oscura. Pero una clara diferencia entre estos grupos fue la relación de fase (Ψ), esto es, que para las palomillas alimentadas con la dieta que contenía la línea de maíz CML 67 el inicio de actividad respecto al ciclo LO fue más retrasado que en los controles ($\Psi_{\text{control}} = 0.70 \pm 3.6$, $\Psi_{\text{CML 67}} = 3.43 \pm 0.79$) resultó más difícil ajustar su ritmo al del sincronizador, lo que hace evidente que cambia no sólo la fase del marcapasos y el ciclo LO, sino también la fuerza de acoplamiento entre los elementos del sistema circadiano (Moore-Ede *et al.* 1982)

Hay varios trabajos sobre las interacciones planta-insecto que existen en la naturaleza (Dethier, Hamamura, Hanson en Atkins, 1980) que muestran las diferentes respuestas de los animales ante las defensas químicas de las plantas, como pueden ser la suspensión de la alimentación, de la locomoción, el cortejo, la copulación, la ovoposición, el crecimiento, etc. Sin embargo, no existe todavía una línea de trabajo sobre la forma en cómo trabajan los metabolitos secundarios sobre los sistemas circadianos de los insectos

El paso siguiente en este estudio sería determinar si efectivamente se trata de alguna sustancia contenida en la dieta lo

que está dando estos resultados en la expresión del ritmo de actividad locomotora o si se trata básicamente del desarrollo del sistema circadiano del animal

Lo expuesto anteriormente no es más que el antecedente general del sistema circadiano de la actividad locomotora *Spodoptera frugiperda*, y muestra los parámetros básicos que permitirán llevar a cabo el inicio del estudio del sistema circadiano de este animal y conocer de qué forma puede estar influyendo alguna o algunas sustancias producidas por las plantas suministradas en la dieta empleada, que puedan tener impacto sobre la organización del reloj biológico.

10. CONCLUSIONES

- *Spodoptera frugiperda* tiene un claro ritmo circadiano en estado larval es típicamente diurno y en el estado adulto es típicamente nocturno, en ambas condiciones experimentales
- La variabilidad encontrada en la intensidad de la actividad en los grupos de larvas puede deberse al comportamiento de búsqueda azarosa de refugio para la pupación, sin observar diferencias entre las dos condiciones estudiadas. Este comportamiento está determinado por importantes cambios fisiológicos regulados hormonalmente, lo cual puede estar interfiriendo en la respuesta del organismo a las señales ambientales externas
- En el estado adulto hay una mayor capacidad de sincronización a los ciclos LO, que en el estado larval, con ambas dietas trabajadas, debido probablemente al proceso de pupación al que las larvas realizan.
- Las palomillas mostraron una respuesta más efectiva ante los avances a los ciclos LO impuestos y se ajustan de

manera casi inmediata, en las dos condiciones experimentales.

- Al ser alimentados los animales con la dieta con suministro de la línea CML 67 hay importantes diferencias en la expresión de la actividad circadiana y en el ajuste al fotoperiodo en el estado larval.
- Estos primeros resultados nos permiten orientar esfuerzos para realizar ensayos biodirigidos encaminados a identificar la naturaleza química de los compuestos bioactivos y estudiar los mecanismos de acción de los mismos
- Con lo encontrado hasta el momento, es conveniente considerar la elaboración de otros protocolos experimentales para conocer la respuesta del reloj biológico de *S. frugiperda* a las señales ambientales, y determinar los puntos de sensibilidad de los osciladores, mediante la realización de curva de respuesta de fases

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aschoff, J. (1960) Masking of Circadian Rhythms by Zeitgebers as opposed to entrainment. *Advances in the Biosciences*, 73:149-161.
- Aschoff, J (1981) Free Running and Entrained Circadian Rhythms. En *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Vol. 4, Biological Rhythms Ed. Jürgen Aschoff. Plenum Press New York. pp. 81-96.
- Aréchiga, H. (1993) Circadian Rhythms. En *II Curso Latinoamericano de Cronobiología, 1997. Facultad de Ciencias, UNAM* pp. 35-40.
- Barnes, R (1968). *Invertebrate Zoology*. W E Saunders. Philadelphia 743 pp.
- Benedito, A (1997). Aspectos Metodológicos de Cronobiología. En *II Curso Latinoamericano de Cronobiología, 1997. Facultad de Ciencias, UNAM*. pp. 395-418.
- Brady, J (1981). Behavioral Rhythms in Invertebrates. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology* Vol. 4, Biological Rhythms. Ed Jürgen Aschoff Plenum Press. New York. pp. 125- 144.
- Céspedes, C., J. Calderón, L. Lina, E Aranda. 2000 Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of some Limonoids Isolated from *Cedrela* spp (Meliaceae) *J. Agrc. Food Chem* 48:1903-1908.
- Dethier, V. (1980) Some General Considerations of Insects' Responses to Chemicals in Food Plants. En: *Introduction to insect behavior*. Ed. Michael D Atkins MacMillan, New York. pp. 21-28.
- Dominick, O , J. Truman (1984). The Physiology of Wandering Behaviour in *Manduca sexta* I Temporal organization and the influence of the internal and external environments. *Journal Experimental Biology*, 110:35-51
- Dominick, O , J Truman (1985) The Physiology of Wandering Behaviour in *Manduca sexta* III. Organization of wandering behavior in the larval nervous system *Journal Experimental Biology*, 121.115-132.
- Dominick, O., J Truman (1986). The Physiology of Wandering Behaviour in *Manduca sexta* IV Hormonal induction of wandering behavior from isolated ner nervous system *Journal Experimental Biology*, 121 133-1151

Eckert, R., D Randal, G. Augustine 1992. Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones. Tercera edición. Interamericana-McGraw Hill

Enright, J. (1981). Data Analysis En: Handbook of Behavioral Neurobiology. Vol. 4, Biological Rhythms Ed. Jurgen Aschoff. Plenum Press. New York. pp 21-39.

Guevara, P., Pérez-Amador, C.E. Díaz, J. A Mihm. (1996) Flavonoid chromatographic profiles and phenolic acid determination in four maize lines Revista Internacional de Botánica Experimental. 59:47-50.

Halberg, F (1960). Temporal Coordination of Physiological Function Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol. 25 289-310.

Hamamura, Y (1980). The Substances that Control the Feeding Behavior and the Growth of the Silkworm *Bombyx mori* L. En: Introduction to insect behavior. Ed. Michael D. Atkins. MacMillan, New York. pp. 55-80.

Hanson, F (1980). Sensory responses of Phytophagous Lepidoptera to Chemical and Tactile Stimuli. En. Introduction to insect behavior Ed. Michael D Atkins MacMillan, New York.

Hernández, M M; Heraso C; Villareal M. L; Vargas-Arispuro I; Aranda E. (1999). Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L (Verbenaceae). Journal of Ethnopharmacology. 67:37-44.

Metcalf, C., W Flint (1965) Insectos Destructivos e Insectos Útiles. Sus Costumbres y su Control Compañía Editorial Continental. México, pp. 532-534.

Mihm, J. (1983). Técnicas Eficientes para la Crianza Masiva e Infestación de Insectos, en la Selección de las Plantas Hospederas para la Resistencia al Gusano Cogollero, *Spodoptera frugiperda*. Boletín del CIMMYT.

Miranda-Anaya, I Ricalde, P Guevara, M Fanjul (1997) Efecto de la dieta con diferentes variedades de maíz sobre el ritmo locomotor del huésped, la mariposa nocturna *Spodoptera frugiperda* En el XL Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Morelia, Michoacán

Moore-Ede, M C, F M Sulzman, Ch A Fuller (1982) The Clocks that Time Us. Physiology of the circadian timing system Harvard Univ Press 448 pp Cambridge. Massachusetts, and London, England

- Munakata, K (1980) Insect Antifeedants in Plants. En Introduction to insect behavior. Ed Michael D. Atkins. MacMillan, New York. pp. 197-187.
- Page, T (1981). Control of Circadian Rhythms in Invertebrates. En Handbook of Behavioral Neurobiology Vol. 4, Biological Rhythms. Ed. Jürgen Aschoff Plenum Press New York pp. 145-169.
- Pittendrigh, C. (1981) Circadian Systems. General Perspective. En Handbook of Behavioral Neurobiology Vol 4, Biological Rhythms. Ed. Jürgen Aschoff Plenum Press. New York pp 57-77.
- Plautz, J., M Kaneko, J. Hall, S Kay. (1997) Independent photoreceptive circadian clocks throughout *Drosophila* Science 278.1632.
- Sauman I., T. Tsai, A. Roca, S Reppert (1996). Period Protein is Necessary for Circadian Control of Egg Hatching Behavior in the Silkworm *Antheraea pernyi* Neuron. 17. 901-909.
- Saunders, D (1974). The physiology of insecta. Vol. II. Ed Morris Rockstein Academic Press pp 461-555
- Saunders, D (1976). Circadian Rhythms and Photoperiodism in Insects. En The physiology of insecta. Control of insect behavior by natural products Ed. Wodd D., R. Silverstern, M. Nakajima. Academic Press pp. 461-529
- Sokolove P., W. Bushell 1978. The Chi-square periodogram: its utility for analysis of circadian rhythms *J Theor. Biol.* 72:131-160.
- Truman, J. (1971). Hour glass behavior of the circadian clock controlling eclosion of the silkworm *Antheraea pernyi*. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 68:595-599.
- Vega, A. (1993). Análisis estadístico en cronobiología. Psiquis, 6 139-133
- Wiseman, B , D Isenhour. (1991) Development of fall armyworm on diets containing resistant and susceptible corn silks Florida Entomologist 2.214-220
- Wiseman, B , M Snook, R Wilson, D Isenhour. (1992) Allelochemical Content of Selected Popcorn Silks: Effects on Growth of Corn Earworm Larvae (Lepidoptera Noctuidae) J Econ Entomol 85(6) 2500-2504

Yang, G , K. Espelle, B Wiseman, D. Isenhour. 1993. Effect or Corn Foliar Cuticular Lipids on the Movement of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Neonate Larvae. Florida Entomologist. 76(2):302-316

13. REFERENCIAS INTERNET

Capenera J. 1999. Introduction and distribution, host plantas, life cycle and description, damage, natural enemies, management, seleted references of *Spodoptera frugiperda*. University of Florida. http://www.ifas.ufl.edu/-insect/field/fall_armyworm.htm.

<http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/maiz/guacol.htm>