

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

**CARACTERIZACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE LA MOSCA DE LA FRUTA *Anastrepha obliqua* (Macquart), AL MALATIÓN.**

**BIÓL. JULIO CESAR GARCÍA ROJAS**

Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de:  
Maestría en Ciencias en el Área de Ciencias Agrícolas.

**Xalisco Nayarit, Junio 2017.**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS**

CBAP/083/17.

Xalisco, Nayarit; 14 de junio de 2017.

**M.C. JOSE ERNESTO VILLANUEVA TREJO  
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
PRESENTE.**

Con base al oficio de fecha 07 de junio de 2017, enviado por los CC. Dra. Gabriela Rosario Peña Sandoval, Dr. Agustín Robles Bermúdez, Dr. Octavio Jhonathan Cambero Campos y Dra. María del Rocío Vega Frutis, donde se indica que el trabajo de tesis cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha finalizado con los demás requisitos que establece nuestra institución, se autoriza al C. Julio César García Rojas, continúe con los trámites necesarios para la presentación del examen de grado de Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias, en el Área de Ciencias Agrícolas.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente  
"Por lo Nuestro a la Universidad"  
Dr. Diego García Parra  
Coordinador del Posgrado  
CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

C.c.p.- Expediente

**Suerte**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE NAYARIT


Xalisco, Nayarit, 7 de junio de 2017


Dr. JUAN DIEGO GARCÍA PAREDES  
COORDINADOR DEL POSGRADO (CBAP)  
PRESENTE


Los suscritos integrantes del Comité Tutorial encargado de asesorar la tesis titulada "CARACTERIZACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE LA MOSCA DE LA FRUTA *Anastrepha obliqua* (Macquart), AL MALATIÓN", que presenta el C. Julio Cesar García Rojas, para obtener el Grado de Maestría en Ciencias con opción terminal en Ciencias Agrícolas, damos nuestra aprobación para que continúe con los trámites correspondientes para la obtención de grado.


Sin otro asunto que tratar, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

  
Dra. Gabriela Rojas Peña Sandoval  
Directora

  
Dr. Agustín Rojas Bermúdez  
Co-Director

  
Dr. Juan Jonathan Cambero Campos  
Asesor

  
Dra. María del Rocío Vega Frutos  
Asesora

UAN

## DEDICATORIAS

*A mí compañera de vida, que ha estado a mi lado incondicionalmente estos últimos seis años, tanto en los momentos de felicidad como en las dificultades. A ti que me has brindado tu apoyo y tu amor en todo momento aun conociendo todos mis defectos. Sabes muy bien que has sido ese motor que me impulso a perseguir este sueño, el cual vivimos juntos, y gracias a dios concluimos. Gracias por poner tu hombro cuando quise caer, pero sobre todo gracias por hacerme tan feliz.*

*A mis padres, de quienes estoy muy orgulloso, ya que gracias a ellos he sabido conducirme por la vida con sabiduría. Gracias a su amor, regaños y ejemplo soy quien soy. Gracias a sus sacrificios y a todo ese apoyo nunca me ha faltado nada. Mis logros personales y profesionales son para orgullo de ellos.*

*A mis hermanos, que siempre han estado conmigo, y a pesar de las peleas que nunca faltan, somos hermanos y siempre estaremos juntos.*

*A mis abuelos, por sus consejos, cariño y el apoyo incondicional que siempre me han brindado a lo largo de mi vida.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios por estar siempre conmigo y darme su bendición en todo momento.*

*Al Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nayarit.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico brindado ya que gracias a este pude realizar mis estudios de posgrado.*

*Al Laboratorio de Sanidad Vegetal y Control Biológico, del Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología, de la Universidad Autónoma de Nayarit, por haberme permitido realizar la parte experimental de mi tesis.*

*A mi directora de tesis por creer en mí, por su esfuerzo y dedicación puestos en este proyecto.*

*Al comité de tesis por sus atenciones y apoyo en la realización de este proyecto.*

*Al Comité Estatal De Sanidad Vegetal de Nayarit por su apoyo, en especial al Ing. Jorge Luis Castillo y al Ing. Erick Manuel Bañuelos.*

*A la M.C. Gladys Á. Toledo Ibarra por su apoyo técnico, y al Laboratorio Nacional de Inocuidad Alimentaria, del Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología, por facilitar su lector de microplacas.*

*A Jessica Aguilar por el apoyo brindado a lo largo de éstos dos años.*

## RESUMEN

La mosca de la fruta *Anastrepha obliqua* Macquart (Diptera: Tephritidae), es considerada la principal plaga insectil en cultivos comerciales de mango. Actualmente, está pobremente documentada la susceptibilidad de la especie hacia el malatión, insecticida que ha sido aplicado por más de dos décadas para su control. Por lo anterior, el objetivo de investigación fue: determinar la diferencia de susceptibilidad al malatión, de especímenes hembras y machos de *A. obliqua* con y sin presión de selección. Moscas susceptibles de 4-8 días de edad, fueron utilizadas para determinar las Concentraciones Letales ( $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ ), para malatión. Moscas de la misma edad con (municipios de San Blas y Compostela) y sin presión de selección, fueron utilizadas para determinar su actividad glutatión S-transferasa (GST), y acetilcolinesterasa (AChE). Se probaron diferencias de mortalidad y actividad enzimática acorde a la concentración, el sexo y el municipio. Las hembras presentaron valores de  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  menores que los machos y la mezcla hembras/machos. La  $CL_{50}$  fluctuó de 134.5 (hembras) a 535.4 (hembras/machos), y para  $CL_{90}$  de 1362.1 (hembras) a 9032.4 (machos)  $mg/L^{-1}$  de ingrediente activo (IA). Se encontraron diferencias significativas de mortalidad entre las concentraciones de malatión aplicadas y los sexos. En los ensayos enzimáticos de los organismos vivos, no se observaron diferencias significativas en las actividades GST y AChE al incrementar la concentración de malatión, ni entre sexos. Mientras que en los organismos vivos-muertos, la actividad de AChE presentó diferencias significativas entre concentraciones y entre el estado de los organismos (vivos-muertos). Los organismos con presión de selección, presentaron una actividad GST que no difirió de la colonia susceptible. Las hembras presentaron una actividad AChE menor que la de los machos, sin diferir de la colonia susceptible, y por último se encontraron diferencias significativas de actividad AChE entre municipios. Por lo tanto, al realizar bioensayos en esta especie es recomendable diferenciar sexos y conocer la proporción de hembras/machos, para disminuir el error experimental y arrojar resultados que reflejen el nivel real de susceptibilidad.

## ÍNDICE

	Página
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Objetivo general.....	3
1.1.1 Objetivos específicos.....	3
1.2 Hipótesis.....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
2.1 Importancia de la agricultura en México.....	4
2.2 Importancia del cultivo de mango en Nayarit.....	4
2.3 Plagas insectiles.....	4
2.4 Moscas de la fruta.....	4
2.4.1 Problemática por moscas de la fruta en México.....	5
2.5 <i>Anastrepha obliqua</i> .....	5
2.5.1 Comportamiento.....	5
2.5.2 Distribución.....	6
2.5.3 Posición sistemática.....	7
2.5.4 Biología y ciclo de vida.....	8
2.5.4.1 Características de los estados de desarrollo.....	8
2.5.4.1.1 Huevo.....	8
2.5.4.1.2 Larva.....	9
2.5.4.1.2.1 Sistema respiratorio: espiráculos anteriores.....	10
2.5.4.1.2.2 Lóbulos anales.....	10
2.5.4.1.3 Pupa.....	11
2.5.5 Morfología en adultos.....	11
2.5.6 Importancia económica.....	14
2.6 Plaguicidas y su uso en México.....	14
2.6.1 Efectos negativos al uso de plaguicidas.....	15
2.7 Susceptibilidad a plaguicidas.....	15
2.8 Resistencia a plaguicidas.....	15
2.8.1 Clasificación de la resistencia.....	16
2.9 Resistencia metabólica.....	16
2.9.1 Glutatión S-transferasas.....	17
2.9.2 Acetilcolinesterasas.....	18
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	19
3.1 Sitios de muestreo.....	19
3.2 Especie.....	19

3.3 Cría de especímenes de <i>A. obliqua</i> .....	19
3.3.1 Especímenes de campo.....	19
3.3.1.1 Identificación taxonómica.....	20
3.3.2 Especímenes susceptibles.....	20
3.4 Bioensayos.....	21
3.5 Determinación de proteína total.....	22
3.6 Determinación de actividad GST de especímenes de bioensayos.....	22
3.7 Determinación de actividad GST de especímenes de campo.....	23
3.8 Determinación de actividad AChE de especímenes de bioensayos.....	23
3.9 Determinación de actividad AChE de especímenes de campo.....	24
3.10 Análisis estadísticos.....	24
<b>IV. RESULTADOS</b> .....	26
4.1 Bioensayos.....	26
4.2 Actividad GST especímenes bioensayos.....	27
4.3 Actividad GST especímenes de campo.....	28
4.4 Actividad AChE especímenes bioensayos vivos.....	28
4.5 Actividad AChE especímenes bioensayos muertos-vivos.....	29
4.6 Actividad AChE especímenes de campo.....	30
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	32
5.1 Bioensayos.....	32
5.2 Actividad GST especímenes bioensayos.....	34
5.3 Actividad GST especímenes de campo.....	34
5.4 Actividad AChE especímenes bioensayos muertos-vivos.....	35
5.5 Actividad AChE especímenes de campo.....	34
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	37
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	38
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	47
8.1 Artículo: Resistencia Metabólica a Insecticidas (Artículo Aceptado en Revista Bio Ciencias ISSN: 2007-3380).....	47
8.2 Artículo: Caracterización de la Susceptibilidad de Hembras y Machos de <i>Anastrepha obliqua</i> Macquart (Diptera: Tephritidae), a Malatión (Artículo enviado a Revista Southwestern Entomologist USPS: 324050).....	48
8.3 Participación como ponente en LI Congreso Nacional de entomología Santiago de Querétaro, México.....	49
8.4 Apoyo logístico en curso-taller enfermedades del aguacatero.....	50
8.5 Capacitación en q-PCR en Rotor Gene Q.....	51
8.6 Capacitación en bases de datos para la investigación.....	52
8.7 Capacitación en hongos Fito-patógenos de importancia agrícola.....	53
8.8 Capacitación en técnicas de genotipificación en plantas.....	54



## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Susceptibilidad de hembras y machos de <i>A. obliqua</i> a malatión.....	26
Cuadro 2. Actividad específica glutatión S-transferasa de <i>A. obliqua</i> proveniente de bioensayos.....	27
Cuadro 3. Actividad específica glutatión S-transferasa de especímenes de campo.....	28
Cuadro 4. Actividad acetilcolinesterasa de especímenes vivos bioensayos...	28
Cuadro 5. Actividad acetilcolinesterasa de especímenes de bioensayos muertos-vivos.....	30

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribución de <i>A. obliqua</i> en el continente Americano.....	6
Figura 2. Distribución de <i>A. obliqua</i> en México.....	7
Figura 3. Ciclo biológico de <i>A. obliqua</i> .....	8
Figura 4. Morfología de huevo de <i>A. obliqua</i> .....	9
Figura 5. Larva de tercer instar de <i>A. obliqua</i> .....	9
Figura 6. Características morfológicas de larvas de <i>A. obliqua</i> .....	9
Figura 7. Espiráculos anteriores de larva de <i>A. obliqua</i> .....	10
Figura 8. Lóbulos anales de larva de <i>A. obliqua</i> .....	10
Figura 9. Pupas de <i>A. obliqua</i> .....	11
Figura 10. Adulto hembra de <i>A. obliqua</i> .....	11
Figura 11. Cabeza de adulto de <i>A. obliqua</i> .....	12
Figura 12. Tórax de adulto de <i>A. obliqua</i> .....	12
Figura 13. Abdomen de adulto de <i>A. obliqua</i> .....	13
Figura 14. Estructura alar de adulto de <i>A. obliqua</i> .....	13
Figura 15. Ovipositor de adulto de <i>A. obliqua</i> .....	13
Figura 16. Cría de especímenes de campo de <i>A. obliqua</i> .....	20
Figura 17. Cría de especímenes susceptibles de <i>A. obliqua</i> .....	21
Figura 18a. Mortalidad de <i>A. obliqua</i> de acuerdo a la concentración.....	27
Figura 18b. Mortalidad de <i>A. obliqua</i> de acuerdo al sexo.....	27
Figura 19a. Actividad acetilcolinesterasa de acuerdo a la concentración.....	29
Figura 19b. Actividad acetilcolinesterasa de acuerdo al estado.....	29
Figura 20. Actividad acetilcolinesterasa de acuerdo al sexo.....	30
Figura 21. Actividad acetilcolinesterasa de acuerdo al municipio.....	31

## I. INTRODUCCIÓN

En México, el mango es uno de los frutales de gran valor comercial, que proviene tanto de huertos comerciales como de traspatio, y provee empleos tanto directos como indirectos para los habitantes de la región (Uriás *et al.*, 2013).

El centro de origen del mango se ubica en el continente asiático, entre la zona geográfica del noreste de la India y el norte de Burma, muy cerca del Himalaya. Se cree, que es cultivado desde hace aproximadamente 4000 años en la India, en donde aún se encuentran selvas de mango silvestre. Su distribución se extendió primeramente por el sudeste asiático y más tarde al archipiélago Malayo; así los portugueses lo trasladaron primero al continente Africano, y en el siglo XVIII lo introdujeron a las costas de Brasil, y de ahí se distribuyó al resto del continente americano (Rodríguez *et al.*, 2002).

A nivel mundial se producen aproximadamente 16, 127 millones de toneladas métricas por año. Asia produce el 79%; América el 13% y el 8% África, Europa y Oceanía. Las diferentes variedades de mango tienen demanda en el mercado local e internacional por su excelente sabor y presentación. Se consume como fruta fresca o procesada en forma de jaleas, conservas, salsas, encurtidos, ensaladas, helados y jugos enlatados e inclusive deshidratados (Rodríguez *et al.*, 2002).

Entre las problemáticas sanitarias del cultivo de mango, se encuentra la presencia de la mosca de las indias occidentales *Anastrepha obliqua* (Macquart), considerada como la principal plaga insectil en cultivos comerciales de este frutal, ocasiona pérdidas que oscilan del 25-70% de la producción (Jirón, 1995; Martínez y Serna, 2005; Toledo *et al.*, 2005; Aluja *et al.*, 2014). Su presencia en los huertos es motivo de restricciones cuarentenarias, lo que dificulta la libre movilización y comercialización de mango en mercados nacionales e internacionales.

Desde 1992 bajo la NOM-023-FITO-1995, se inició la Campaña Nacional Contra Moscas de la Fruta (CNMF), la que describe estrategias de manejo como trapeo, muestreo, control legal, cultural, autocida, biológico y químico. El control químico consiste en la aspersión de cebo tóxico a base de una combinación de malatión con proteína hidrolizada y agua en proporción 1:4:95 respectivamente. Este método ha sido utilizado

por más de 20 años, lo que sugiere que se ejerce una fuerte presión de selección sobre *A. obliqua* (Isiordia, 2011; SENASICA, 2016). El uso intensivo de malatión tiene varios efectos negativos, uno de ellos es la resistencia generada por las plagas; debido a ello, en 2009 la Unión Europea prohibió en sus campañas de aplicación el uso de malatión, utilizado irracionalmente para el control de *Ceratitis capitata* (Couso *et al.*, 2011).

En las poblaciones de insectos hay intervalos de respuesta normal a cada insecticida, conocida como línea base susceptibilidad, la cual representa la respuesta natural a cada tóxico. Para determinarla, se realizan bioensayos con el fin de establecer las Concentraciones Letales (CL), para cada especie. El ensayo biológico, es una herramienta indispensable para determinar la pérdida de susceptibilidad en las poblaciones plaga, con respecto a los valores  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  determinados (Lagunes *et al.*, 2009).

La resistencia a insecticidas, es quizá la consecuencia más seria de su uso indiscriminado (Díaz *et al.*, 2004). Al paso del tiempo, la lista de insecticidas eficaces para el control de plagas se reduce rápidamente (Feyereisen, 1995). Diferentes autores, definen la resistencia como *"Característica genética, que permite a un organismo sobrevivir a la exposición de cierta concentración de un plaguicida que normalmente resultaría letal para la mayoría de los organismos susceptibles, lo que implica el fracaso de control en la población"* (Bisset, 2002; Fonseca y Quiñones, 2005; Rodríguez, 2005; Badii y Garza, 2007; Lagunes *et al.*, 2009; FAO, 2012; IRAC, 2016).

Entre las principales estrategias biológicas de los insectos para evadir químicos tóxicos, se encuentran las enzimas glutatión S-transferasas (GST), y acetilcolinesterasas (AChE). Las GST son una superfamilia de isoenzimas implicadas en el metabolismo, detoxificación y excreción de xenobióticos (Díaz *et al.*, 2004; Fonseca y Quiñones, 2005). Catalizan la conjugación del tripéptido glutatión (GSH), en los centros electrofílicos de los xenobióticos, transformándolos en compuestos solubles menos tóxicos, los que son excretados con facilidad (Enayati *et al.*, 2005). La AChE es una enzima sináptica que termina por hidrólisis el impulso nervioso del neurotransmisor acetilcolina. Se considera una enzima clave en el sistema nervioso de los insectos, por ser blanco principal de los insecticidas organofosforados (Vontas *et al.*, 2001).

El estado actual de susceptibilidad de *A. obliqua* hacia el malatión, está escasamente documentado. Se considera pertinente, generar datos que permitan coadyuvar a la toma de decisiones en el adecuado manejo del insecticida, mediante el planteamiento de los siguientes objetivos:

### **1.1 Objetivo general**

Determinar la diferencia de susceptibilidad al malatión, de especímenes hembras y machos de *A. obliqua* con y sin presión de selección.

#### **1.1.1 Objetivos específicos**

- Evaluar mediante bioensayos de concentraciones crecientes de malatión, la susceptibilidad de especímenes hembras y machos de *A. obliqua*, sin presión de selección.
- Establecer una línea base de susceptibilidad para especímenes hembras y machos de *A. obliqua*.
- Determinar y comparar la actividad enzimática glutatión S-transferasa de especímenes hembras y machos de *A. obliqua*, con y sin presión de selección.
- Determinar y comparar la actividad acetilcolinesterasa de especímenes hembras y machos de *A. obliqua*, con y sin presión de selección.

### **1.2 Hipótesis**

La susceptibilidad de *A. obliqua*, así como el aumento en la actividad enzimática, será directamente proporcional al incremento de las concentraciones de malatión.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Importancia de la agricultura en México

En México la agricultura es una actividad económica importante, ya que es la base del desarrollo económico y social (FAO, 2009). La superficie cultivada al año 2016 fue de 21, 938,183 millones de hectáreas (SIAP, 2016), y es fuente de ingreso para aproximadamente cinco millones de personas (SAGARPA, 2013). La producción de alimentos, prácticamente se origina en su totalidad en este sector, ya que los productos agropecuarios son la base de un número importante de las actividades comerciales e industriales del país (FAO, 2009).

### 2.2 Importancia del cultivo de mango en Nayarit

Según SIAP 2016, en el estado de Nayarit se sembró una superficie agrícola de 389,065 hectáreas. Uno de los principales cultivos agrícolas es el mango, con una superficie establecida de 24,978 hectáreas, con un rendimiento de 12.61 toneladas/hectáreas, obteniéndose una producción de 311,218 toneladas, lo que originó un ingreso anual para el estado de 516 millones de pesos, por lo que es considerado uno de los frutales más importantes para la región (Urias *et al.*, 2013).

### 2.3 Plagas insectiles

Todas las especies vegetales en cultivo están expuestas al ataque de plagas, que afectan principalmente su calidad y rendimiento. Las plagas son definidas como cualquier organismo que interfiera con la conveniencia o bienestar del ser humano, o cualquier otra especie de su interés (Badii y Landeros, 2007). Los elementos que propician la presencia de una plaga son: el hospedero (cultivo), agente causal (plaga) y ambiente favorable para su desarrollo (humedad relativa y temperatura), con la ausencia de uno de estos factores, el problema no se presentaría (Aguilar y Holguin, 2013).

### 2.4 Moscas de la fruta

Son una de las principales plagas que afectan a frutales de todo el mundo, se consideran un serio problema para los productores, ya que atacan severamente a los cultivos (Briceño, 1979; Núñez *et al.*, 2004). Los daños causados por las larvas en el

fruto, o indirectamente por las limitantes de comercialización, ocasionan pérdidas millonarias e incluso pueden ocasionar la desaparición de zonas frutícolas enteras (Boscárt, 1992). Algunas especies poseen una extraordinaria capacidad de adaptación al ambiente, la cual les permite proliferar prácticamente en cualquier tipo de clima.

#### **2.4.1 Problemática por moscas de la fruta en México**

Debido a la importancia económica del género *Anastrepha* en México, existen dos normas oficiales mexicanas: la NOM-023-FITO-1995 y la NOM-075-FITO-1997, que tienen como finalidad disminuir la problemática fitosanitaria ocasionada por las moscas de la fruta en el país. En la primera se establece la CNMF, con el objetivo de reconocer huertos temporalmente libres, zonas de baja prevalencia y zonas libres de las especies *A. obliqua*, *A. ludens*, *A. serpentina* y *A. striata*. Además, establece los lineamientos para la protección de las zonas de baja prevalencia y libres de la plaga. En la segunda, se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta (López, 2008; SENASICA, 2016; CESAVENAY, 2017).

### **2.5 *Anastrepha obliqua***

A lo largo de la historia y hasta la fecha, la mosca de las indias occidentales o comúnmente llamada *mōsca del mango*, es una de las plagas principales que atacan cultivos establecidos de mango en distintos países del continente americano (Briceño, 1979; Jirón, 1995; Weems *et al.*, 2001; Martínez y Serna, 2005; Hernández *et al.*, 2007; Aluja *et al.*, 2014). En México, existe una limitante de comercialización nacional e internacional, debido a su alta incidencia de infestación en los frutos (Hernández *et al.*, 2007; CESAVENAY, 2017).

#### **2.5.1 Comportamiento**

Son insectos diurnos y descansan en el envés de las hojas de sus plantas hospederas, sus actividades diarias se dividen en cinco categorías funcionales: 1. Alimentación, 2. Copulación, 3. Oviposición, 4. Dispersión y 5. Descanso. El tiempo que se invierte en cada actividad depende del sexo, disponibilidad de cópula, plantas hospederas y condiciones climáticas (Donoso, 1989).

## 2.5.2 Distribución

A nivel mundial, se distribuye ampliamente de norte a sur en el continente americano (Weems *et al.*, 2001) (Figura 1). En México, su distribución se da principalmente en las regiones bajas tropicales (SENASICA, 2017) (Figura 2).

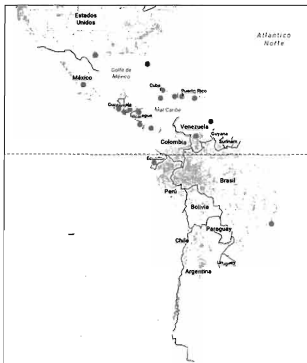


Figura 1. Distribución de *A. obliqua* en el continente americano. Los puntos verdes representan su presencia a lo largo del continente.



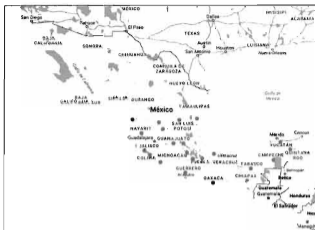


Figura 2. Distribución de *A. obliqua* en México. Los puntos verdes representan su presencia en el país.

### 2.5.3 Posición sistemática

De acuerdo con Avendaño (2006), y López (2008), la clasificación de *A. obliqua*, es la siguiente:

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Subclase: Pterigota

División: Endopterygota

Orden: Diptera

Suborden: Cyclorhapha

Superfamilia: Tephritoidea

Familia: Tephritidae

Subfamilia: Trypetinae

Tribu: Toxotrypanini

Género: *Anastrepha*

Especie: *Anastrepha obliqua* (Macquart)

## 2.5.4 Biología y ciclo de vida

Presenta metamorfosis completa: huevo, larva pupa, adulto (Briceño, 1979; Donoso, 1989; Boscán, 1992; Aluja, 1994; Vilatuña *et al.*, 2010) (Figura 3). La duración de cada una de las etapas del desarrollo del ciclo biológico y el número de generaciones al año dependen de las condiciones ambientales en que se desarrollen, particularmente la temperatura, la humedad y del tipo de planta hospedera (Torres *et al.*, 2006).

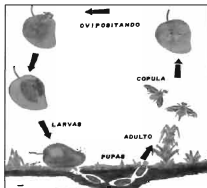


Figura 3. Ciclo biológico de *A. obliqua*  
En: Avendaño (2006).

### 2.5.4.1 Características de los estados de desarrollo

#### 2.5.4.1.1 Huevo

Son de color blanco cremoso, con un cuerno respiratorio ubicado en el extremo anterior el que queda por fuera del fruto y el extremo posterior es de forma redondeada. Con una longitud total entre 1.181-1.584 mm, un ancho entre los 0.202-0.259 mm y la longitud del cuerno respiratorio entre los 0.086-0.245 mm. Los huevos eclosionan después de 48 horas de ser ovipositados (Murillo y Jirón, 1994) (Figura 4).



Figura 4. Morfología de huevo de *A. obliqua*  
En: Murillo y Jirón (1994).

#### 2.5.4.1.2 Larva

Las larvas de primer instar se obtienen después de tres días de que la hembra haya depositado sus huevos en el fruto. El desarrollo de los tres estadios larvales puede variar de 8 a 13 días, esto depende de las propiedades nutricionales del sustrato. En condiciones de campo las larvas pueden pupar después del segundo estadio larval pero su mortalidad es muy elevada (Soto *et al.*, 1997). Una larva de tercer instar mide de 8-10 mm de longitud y está constituida por doce segmentos. El primero de ellos responde a la cabeza, los tres siguientes al tórax, los siete segmentos restantes al abdomen y el último al segmento caudal (SAGARPA-SENASICA, 2009) (Figura 5 y 6).

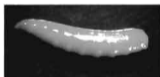


Figura 5. Larva de tercer instar de *A. obliqua*  
En: SAGARPA-SENASICA (2009).

Especie	Vista lateral	Segmento caudal Vista lateral	Aparato bucofaríngeo	Espínsculos	
				Anterior	Posterior
<i>Acetopogon obliqua</i> Hloaz.					
	~8-10 mm	Lóbulos anales embulados	7-9 carnosos	12-15 dígitos	

Figura 6. Características morfológicas de larvas de *A. obliqua*  
En: López (2004).

#### 2.5.4.1.2.1 Sistema respiratorio: espiráculos anteriores

Se encuentran ubicados en la región lateral del primer segmento torácico uniéndose a los espiráculos posteriores por intermedio de una larga tráquea que prácticamente cruza toda la longitud de la larva, están formados por una serie de tubos o dígitos que varían en número y disposición según la especie, *A. obliqua* presenta de 12-15 dígitos (Figura 7).



Figura 7. Espiráculos anteriores de larva de *A. obliqua*  
En: SAGARPA-SENASICA (2009).

#### 2.5.4.1.2.2 Lóbulos anales

Se encuentran ubicados en la parte posterior de la larva, es un órgano de dos partes, redondeado, carnoso y prominente que es la terminación del canal alimenticio. Generalmente es visible; pero a veces está retraído y encogido dentro de la elevación anal que lo circunda, *A. obliqua* presenta lóbulos enteros (Figura 8).

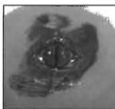


Figura 8. Lóbulos anales de larva de *A. obliqua*  
En: SAGARPA-SENASICA (2009).

### 2.5.4.1.3 Pupa

Una vez alcanzada la pupación, la emergencia de adultos se puede presentar de dos a cinco semanas, se ha observado que la emergencia de formas adultas se da de manera escalonada, de tal forma que quedan algunas pupas después de la quinta semana sin lograr emerger. El porcentaje de emergencia es de alrededor del 54%. Este periodo depende de dos factores climáticos: la temperatura y la humedad relativa. Una alta humedad relativa apresura la emergencia de las formas adultas. Esta característica explica el por qué las poblaciones de esta mosca nunca llega a cero a pesar de estar asociada a cultivos de fructificación estacional (Soto *et al.*, 1997) (Figura 9).

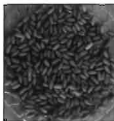


Figura 9. Pupas de *A. obliqua*

### 2.5.5 Morfología en adultos

Según Jirón (1995), Weems *et al.* (2001), Caraballo (2001), López (2004), Vilatuña *et al.* (2010), Hernández (2014): El adulto de *A. obliqua* es de tamaño medio (5.9 a 5.3 mm de longitud por 2.3 a 2.8 mm de ancho), y de color café amarillento (Figura 10). Para su identificación en la fase adulta, se deben de tomar en cuenta los siguientes caracteres:

#### a) Adulto



Figura 10. Adulto hembra de *A. obliqua*.  
En: Torres *et al.* (2006).

- b) **Cabeza:** con las genas y el vértice amarillos, carina facial bien desarrolladas y sin protuberancia; sedas ocelares escasamente desarrolladas; frente con dos pares de sedas orbitales presentes; longitud antenal moderada (Figura 11).

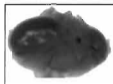


Figura 11. Cabeza de adulto de *A. obliqua*  
En: Hernández (2014).

- c) **Tórax:** posee cuatro bandas en la parte superior del tórax (noto), con el mesonoto amarillo castaño con áreas amarillas pálidas (húmero, estriás media y laterales definidas y escutelo), pilosidad mesonotal castaña oscura excepto sobre la estria media que es amarilla pálida y con el metanoto amarillo naranja (algo oscurecido lateralmente) (Figura 12).

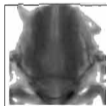


Figura 12. Tórax de adulto de *A. obliqua*  
En: Hernández (2014).

d) **Abdomen:** con los terguitos de un solo color (Figura 13).



Figura 13. Abdomen de adulto *A. obliqua*  
En: Hernández (2014).

e) **Diseño alar:** En sus alas presenta una mancha en forma de "V" invertida con los dos brazos completos generalmente unida a la banda S, con bandas castañas amarillentas, bandas Costal y S tocándose sobre R4+5 (Figura 14).

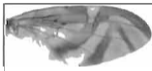


Figura 14. Estructura alar de adulto de *A. obliqua*  
En: Hernández (2014).

f) **Ápice del aculeus y/o ovipositor:** con sierra de dientes irregulares y agudos sobre más de la mitad apical y leve constricción basal, pilosidad del mesonoto uniformemente castaña amarillenta, el postescutelo y melanoto están siempre oscurecidos lateralmente. De 1.3 a 1.6 mm de longitud con 9 a 1 dientes por lado en forma de diminutas serraciones. La funda del ovipositor o segmento VII igual o ligeramente mayor que la longitud del resto del abdomen (Figura 15).



Figura 15. Ovipositor de *A. obliqua*  
En: Hernández (2014).

### 2.5.6 Importancia económica

México cuenta con un área de 193,342 hectáreas establecidas de mango, en 2016 se obtuvo una producción alrededor de los 1.8 millones de toneladas, lo que generó un ingreso económico aproximado de 6,018 millones de pesos. *A. obliqua*, representa la plaga principal en cultivos comerciales de mango (Jirón, 1995; Martínez y Serna, 2005; Hernández *et al.*, 2007; Aluja *et al.*, 2014). Su importancia económica se centra en que puede ocasionar pérdidas que oscilan del 25-70% de la producción (Martínez y Serna, 2005; Toledo *et al.*, 2005). Además, perjudica los ingresos de los productores al incrementarse los costos de producción por su combate (CESAVENAY, 2017).

### 2.6 Plaguicidas y su uso en México

Los plaguicidas, son compuestos utilizados en la producción agrícola, definidos como cualquier sustancia o mezcla de estas, utilizadas de manera intensiva para prevenir, destruir, controlar o repeler cualquier tipo de plaga. (González y Bernal, 2000; Ferrer, 2003; Badii y Landeros, 2007; FAO, 2012; Del Puerto *et al.*, 2014; IRAC, 2016). Estos compuestos pueden ser clasificados de acuerdo a: su uso, familia química, grado de toxicidad, persistencia en el ambiente y modo de acción (Ferrer, 2003; Badii y Landeros, 2007; Del Puerto *et al.*, 2014; IRAC, 2016). Estos agroquímicos, se aplican en el ambiente para combatir a insectos, malezas y enfermedades de los cultivos que afectan la producción (Plenge *et al.*, 2007; Hernández y Hansen, 2011).

A lo largo de la historia, el uso de plaguicidas ha estado concentrado en los estados del noroeste del país, en los que prevalece la agricultura dedicada a cultivos de exportación. Sin embargo los estados del sur y centro del país se han unido poco a poco a esta tendencia. Actualmente las regiones con mayor uso de plaguicidas son: Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México, Puebla y Oaxaca, se calcula que en estos se aplica el 80% de la totalidad de los plaguicidas utilizados en el país. Entre los insecticidas los más utilizados son los organofosforados: malatión, paratión metílico y metamidofós. Los efectos tóxicos producidos por los plaguicidas organofosforados se enfocan principalmente en el sistema nervioso, de tal manera que afecte las terminales nerviosas a nivel enzimático (Albert, 2005; González *et al.*, 2010; Plenge *et al.*, 2007).



### **2.6.1 Efectos negativos al uso de plaguicidas**

Dentro de las desventajas sociales y ambientales del uso de plaguicidas destacan:

1. El daño a la salud, sobre todo de las personas que están directamente expuestas al contacto prolongado (Varona *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2011; Aiassa *et al.*, 2012);
2. El daño a los ecosistemas, debido al impacto sobre la vida silvestre entre ellos a los polinizadores, controladores naturales como parasitoides, y depredadores, además de competidores por el nicho ecológico;
3. La incidencia sobre la adquisición de resistencia genética, ya que estas moléculas representan una fuerte presión de selección, tanto para los organismos a los que van dirigidos como para aquellos que comparten mecanismos metabólicos similares (González y Bernal, 2000; Díaz *et al.*, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2013; Del Puerto *et al.*, 2014).

### **2.7 Susceptibilidad a plaguicidas**

En ausencia de genes de resistencia, la susceptibilidad a insecticidas tiene una distribución normal. Por lo tanto los insectos presentan una reacción natural a los tóxicos. Algunos individuos son altamente sensibles, otros poseen una sensibilidad reducida, mientras que la mayoría presenta un valor medio. A esto se le conoce como susceptibilidad a insecticidas, la cual se mide en colonias de insectos que están libres de presión de selección (Lagunes *et al.*, 2009).

### **2.8 Resistencia a plaguicidas**

Distintos autores, la definen como *"Característica genética, que permite a un organismo sobrevivir a la exposición de cierta concentración de un plaguicida que normalmente resultaría letal para la mayoría de los organismos susceptibles, lo que implica el fracaso de control en la población"* (Bisset, 2002; Fonseca y Quiñones, 2005; Rodríguez, 2005; Badii y Garza, 2007; Lagunes *et al.*, 2009; FAO, 2012; IRAC, 2016). Se conoce que las poblaciones de organismos, desarrollan resistencia a casi todas las familias químicas, debido a fuerzas evolutivas, como por ejemplo la presión de selección, que en este caso es provocada por el hombre (Feyereisen, 1995; Ffrench *et al.*, 2004; Rodríguez, 2005; Lagunes *et al.*, 2009; Hsu *et al.*, 2011; Trumper, 2014).

Al paso de las generaciones, la presión de selección que ejercen los insecticidas, provoca cambios microevolutivos que permiten la sobrevivencia de aquellos individuos

que poseen una o varias características genotípicas y fenotípicas de resistencia, permitiéndoles adaptarse ya que se inhabilita al insecticida a ejercer un control satisfactorio (Rodríguez, 2005; Trumper, 2014). La resistencia, representa un fenómeno microevolutivo y preadaptativo que limita la producción agrícola; fenómeno que se puede abordar a distintos niveles: genes, cromosomas, células, individuos y poblaciones. Desde el punto de vista de la agronomía, es de importancia considerar la resistencia a nivel poblacional (Rodríguez, 2005; Liu, 2012).

### **2.8.1 Clasificación de la resistencia**

Se puede clasificar en distintas categorías: resistencia a la penetración cuticular, por comportamiento, sitio blanco insensible y metabólica o bioquímica (Bisset, 2002; Badii y Garza, 2007; Liu, 2012). En la mayoría de los casos, las enzimas detoxificadoras son el principal factor causal de resistencia a diversas moléculas químicas; al penetrar el tóxico al organismo, es sujeto a la acción enzimática, generándose una serie de reacciones metabólicas que dan como resultado subproductos menos tóxicos que son excretados con mayor facilidad (Bisset, 2002).

### **2.9 Resistencia metabólica**

Se presentan cambios fisiológicos o bioquímicos en los organismos, que impiden que el tóxico alcance su sitio de acción (Flores *et al.*, 2001). Las enzimas detoxificadoras más importantes son: las glutatión S-transferasas (GST), las monooxigenasas (citocromos P450), las oxidasas de función mixta (FOM) y las esterasas (Bisset, 2002; Ranson *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2004; Badii y Garza, 2007; Hsu *et al.*, 2011; Liu, 2012; Ying *et al.*, 2013; French *et al.*, 2013). La resistencia metabólica se correlaciona con niveles altos de actividad de las GST. Las especies de insectos resistentes presentan un aumento en la expresión o actividad de estas enzimas. En los dípteros, las GST se relacionan con la resistencia a organofosforados, organoclorados y piretroides, tanto por sobreexpresión como por duplicación génica (Díaz *et al.*, 2004; Penilla *et al.*, 2006; Den *et al.*, 2009; Couso, 2012).

### 2.9.1 Glutación S-transferasas

Son una superfamilia de isoenzimas implicadas en el metabolismo, detoxificación y excreción de xenobióticos; además están involucradas en la protección contra el estrés oxidativo, el transporte intracelular y la biosíntesis de hormonas (Sheehan *et al.*, 2001; Fonseca y Quiñones, 2005; Hu *et al.*, 2015). La detoxificación enzimática de xenobióticos se divide en tres fases (Sheehan *et al.*, 2001). Las GST se caracterizan por su actividad enzimática fase II, catalizan la conjugación del tripéptido glutatión (GSH), en los centros electrofílicos de los xenobióticos, con el fin de transformarlos en compuestos solubles no tóxicos, para ser excretados con mayor facilidad por enzimas fase III (Enayati *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2008; Umasuthan *et al.*, 2012).

Con base en la secuencia N-terminal de aminoácidos, relación filogenética y especificidad de sustrato (Umasuthan *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2015), las GST se engloban en tres familias independientes: citosólicas, microsomales y mitocondriales (Lumjuan *et al.*, 2007; Iriarte *et al.*, 2012; Umasuthan *et al.*, 2012), y se numeran catorce clases llamadas: alpha, beta, delta, epsilon, zeta, theta, kappa, lambda, mu, pi, sigma, tau, phi y omega.

Las GST están presentes en todas las formas de vida (Umasuthan *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2015). En insectos, se han encontrado seis tipos de GST citosólicas: delta, epsilon, sigma, omega, zeta y theta (Lumjuan *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015), identificadas en *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*, *Anopheles gambiae*, *Anopheles Dirus*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, *Nilaparvata lugens*, *Culicoides vanipennis*, *Plutella xylostella*, *Lucilia cuprina*, *Bombyx mori*, *Manduca sexta*, *Blattella germánica*, *Choristoneura fumiferana*, *Tribolium castaneum*, *Bactrocera dorsalis*, *Spodoptera exigua* y *Spodoptera litura* (Sheehan *et al.*, 2001; Enayati *et al.*, 2005; Lumjuan *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2008; Deng *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015), de las cuales delta y epsilon son específicas para la clase insecta (Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015).

## 2.9.2 Acetilcolinesterasas

Los insecticidas organofosforados y carbamatos, representan alrededor del 50% de los plaguicidas utilizados alrededor del mundo. Estos actúan mediante la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), enzima sináptica que termina por hidrólisis el impulso nervioso del neurotransmisor acetilcolina (ACh). Esta inhibición conduce a la acumulación de ACh en la sinapsis colinérgica, que a su vez deja a los receptores de ACh permanentemente abiertos, mismos que provocan una disfunción letal en el sistema nervioso de los organismos (Vontas *et al.*, 2001; Villatte y Bachmann, 2002; Fournier, 2005).

En algunos casos de resistencia, se debe a alteraciones cuantificables en la actividad de la AChE (Hsu *et al.*, 2006), que pueden ser variadas: 1) Las mutaciones puntuales en la secuencia de la enzima cambian su sensibilidad a los inhibidores (organofosforados y carbamatos); cinco sustituciones de aminoácidos (F115S, I1199T, I1199V, F368Y, y G303A) se encuentran en la secuencia de individuos resistentes en *D. melanogaster*, lo que sugiere que un número de mutaciones mucho más elevadas se encuentren en poblaciones de campo. 2) La sobreexpresión de la AChE ya sea por sobretranscripción o por una duplicación génica conduce a resistencia, mediante un aumento en la cantidad de AChE en la sinapsis colinérgica (Villatte y Bachmann, 2002).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Sitios de Muestreo

Los mangos larvados fueron obtenidos en los municipios de San Blas (21°32'29.77" N 105°17'06.37" O) y Compostela (21°14'16.34" N 104°54'03.52" O), Nayarit. Se eligieron estos municipios porque de acuerdo con el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Nayarit (CESAVENAY, 2017), se ha detectado durante años la presencia de *A. obliqua*, razón por la cual se han realizado aplicaciones frecuentes de malatión mediante aspersiones.

#### 3.2 Especie

Se trabajó con adultos de *A. obliqua*, susceptibles y especímenes recolectados en campo. Los organismos susceptibles fueron adquiridos de CESAVENAY dentro de la CNMF, y las muestras de campo fueron obtenidas a partir de frutos larvados recolectados en cultivos de mango de los municipios previamente mencionados. Los especímenes susceptibles y recolectados en campo, se trasladaron al laboratorio de Sanidad Vegetal y Control Biológico, del Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología (CENIT<sup>2</sup>) de la Universidad Autónoma de Nayarit, con el objetivo de realizar bioensayos tradicionales de susceptibilidad, así como pruebas bioquímicas.

#### 3.3 Cría de especímenes de *A. obliqua*

##### 3.3.1 Especímenes de campo

Se recolectaron dieciséis cajas (45x30x10 cm) con mangos larvados por cada municipio, en junio y julio del 2015 y 2016. Las cajas se colocaron sobre cama de siembra con sustrato de tierra oscura y jal (3:1). Los tres estadios larvales pueden variar de 8 a 13 días, tiempo en el que se registró la emergencia de larvas de tercer instar, que abandonaron el fruto y se enterraron en el sustrato para empezar la pupación.

Una vez alcanzada la pupación, los organismos se recogieron de las cámaras de siembra, se pasaron a recipientes de plástico de 500 ml y se taparon con tela (organza transparente), hasta la emergencia de formas adultas, la cual puede variar de dos a cinco semanas dándose de manera escalonada.

Los adultos se transfirieron a jaulas entomológicas de 30x30 cm, estructura de madera y forradas con tela (organza transparente). Al emerger las formas adultas de *A. obliqua* requieren de agua, esto se suplió manteniendo esponjas impregnadas con agua dentro de las jaulas entomológicas. La dieta consistió en trozos de mango, además de una solución de proteína hidrolizada y azúcar refinada de caña (Figura 16).



Figura 16. Cría de especímenes de campo de *A. obliqua*

### 3.3.1.1 Identificación taxonómica

Las formas adultas de especímenes de *A. obliqua* provenientes de campo, fueron identificadas y sexadas de acuerdo a los procedimientos establecidos dentro de la CNMF, en el Laboratorio de Identificación de Adultos e Inmaduros de Moscas de la Fruta del CESA VENAY en Tepic, Nayarit.

### 3.3.2 Especímenes susceptibles

Una vez obtenidas las pupas provenientes del CESA VENAY, se procedió a esperar la emergencia de los adultos. Inmediatamente a la emergencia, se colocaron en jaulas entomológicas que contenían bebedero con esponja impregnada con agua. La dieta consistió en trozos de mango, proteína hidrolizada y azúcar refinada de caña, estas dos últimas mezcladas con agua (Figura 17). Al alcanzar los 4-8 días de edad, ya que la emergencia de adultos se da en forma escalonada, se realizaron los bioensayos tradicionales de susceptibilidad a malatión.



Figura 17. Cría de especímenes susceptibles de *A. obliqua*

### 3.4 Bioensayos

Mediante bioensayos tradicionales de susceptibilidad, se probó en *A. obliqua* la efectividad biológica de malatión (Lucathion 1000-E, Química LUCAVA 1,000 g/L de IA), diluido en proteína hidrolizada (Captor 300, Agroquímica TRIDENTE 360 g/L de IA). Las Concentraciones Letales (CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub>), fueron expresadas en mg/L<sup>-1</sup> de ingrediente activo (IA).

Para establecer las concentraciones, se realizaron pruebas preliminares de mortalidad (papel Probit), y con base en los resultados obtenidos, se fijaron cinco concentraciones seriales que cubrieron de 0 a 100% de mortalidad, más un control. Los valores de mortalidad se corrigieron según Abbott (1925).

Con la ayuda de pincel y tubo falcón, se colocaron en jaulas entomológicas, moscas de 4-8 días de edad. Los ejemplares se mantuvieron en ayuno durante ocho horas, con la finalidad de detectar individuos que pudieron ser dañados por manipulación. Para simular el fruto de mango, se utilizaron globos de color verde previamente lavados y llenos de agua hasta alcanzar de 10-12 cm de diámetro (López *et al.* 2009). Los globos fueron tratados mediante inmersión en soluciones a concentraciones crecientes de malatión/proteína hidrolizada: 0 (control), 1, 10, 100, 1000 y 10000 mg/L de IA. Cada globo fue colocado en su respectiva jaula identificada por concentración. Por cada concentración se colocaron: 20 moscas hembras, 20 machos y una mezcla de 10 hembras/10 machos (50:50), en total 60 moscas por concentración (6 tratamientos x 60 moscas = 360 moscas). Las jaulas se ubicaron en un cuarto cerrado a una temperatura

de  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  y fotoperiodo 16 horas luz / 8 oscuridad. La mortalidad fue evaluada 24 horas después, considerándose muertos aquellos individuos inmóviles al ser tocados con un pincel o bien mostraran movimientos descoordinados. La mortalidad máxima aceptable para el control fue del 10%. Se realizaron seis repeticiones en días diferentes, con un total de 2160 ejemplares.

Los especímenes resultantes de los bioensayos fueron mantenidos a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su uso posterior (pruebas bioquímicas).

### 3.5 Determinación de proteína total

La concentración de proteína se determinó según Bradford (1976), utilizando Albumina Sérica Bovina (BSA), como patrón.

Para preparar el reactivo de Bradford, se disolvieron 100 mg de Coomassie Brilliant Blue (G-250), en 50 ml de etanol al 95%. Posteriormente, se añadieron 100 ml de ácido fosfórico al 85% y se aforó la solución resultante a volumen final de 1 L.

### 3.6 Determinación de actividad GST de especímenes de bioensayos

Para verificar si la susceptibilidad al malatión es conferida por la enzima GST, se determinó su actividad específica en organismos que resultaron vivos a los tratamientos de los bioensayos. Se tomó al azar un individuo de cada concentración por repetición (36 hembras y 36 machos). Se empleó el método descrito por Habig *et al.* (1974), con algunas modificaciones Xue *et al.* (2016). Se utilizaron como sustratos estándar al 1-cloro-2, 4-dinitrobenzoceno (CDNB, Sigma-Aldrich # Cas 97-00-7), y glutatión reducido (GSH, Sigma-Aldrich # Cas 70-18-8).

*Extracto enzimático:* se homogenizó en mortero un individuo de *A. obliqua* en 250  $\mu\text{L}$  de buffer de fosfatos de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), 0.1 M pH 8.5. Se tomó el extracto acuoso, y se transfirió a tubo eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente, se centrifugó a 1500 rpm a  $4^\circ\text{C}$  por cinco minutos. Se recuperó el sobrenadante para la cuantificación de GST.

*Reacción enzimática:* el ensayo se realizó en microplaca de 96 pocillos. En cada pozo, se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de CDNB 0.6 mM y 50  $\mu\text{L}$  de GSH 6 mM, se incubó por veinte minutos a temperatura ambiente. Enseguida, se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de extracto



enzimático, e inmediatamente se procedió a la lectura en lector de microplacas (BioTek, Epoch), a 340 nm al tiempo cero y al minuto uno. Cada muestra se leyó por duplicado y se calculó el promedio. Al cambio de absorbancia de la muestra, se le restó el cambio de absorbancia del blanco, posteriormente se le restó la absorbancia basal y el resultado se dividió sobre el tiempo de reacción. A partir de este dato se calculó la actividad enzimática específica, se utilizó el coeficiente de extinción molar del producto CDNB para microplaca de titulación  $5.3 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (Sigma-Aldrich). La actividad enzimática fue expresada en Unidades de actividad enzimática sobre miligramo de proteína (U/mg de proteína).

### 3.7 Determinación de Actividad GST de especímenes de campo

Se determinó la actividad específica GST de especímenes muestreados en 2015 y 2016, en los municipios de San Blas y Compostela Nayarit, y se tomó la actividad específica del grupo control susceptible (seis hembras y seis machos), de los especímenes de los bioensayos. Se tomaron al azar seis individuos hembras y seis machos por municipio, la identificación y sexado se realizó de acuerdo al punto 3.3.1.1, y la determinación de actividad se realizó de la misma manera que en el punto 3.6.

### 3.8 Determinación de actividad AChE de especímenes de bioensayos

Para probar si la AChE está involucrada en la susceptibilidad, se determinó su actividad en organismos que resultaron vivos y muertos a los tratamientos de los bioensayos. Para el caso de los individuos vivos, se tomó al azar un individuo por concentración considerándose cinco repeticiones (30 hembras y 30 machos); y para los especímenes muertos, se tomó al azar un individuo de las concentraciones de 10, 100, 1000 y 10000 mg/L de IA, de cinco repeticiones (20 hembras y 20 machos). Se empleó el método descrito por Ellman *et al.* (1961) con algunas modificaciones, el cual utiliza ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico como indicador (DTNB, Sigma-Aldrich # Cas 69-78-3), y yoduro de acetilticolina como sustrato (Sigma-Aldrich # Cas 1866-15-5).

*Extracto enzimático:* se homogenizó en mortero un individuo de *A. obliqua*, en 300  $\mu\text{L}$  de buffer fosfato salino (PBS), 1X pH 7.2 (considérese la relación peso en  $\mu\text{L}$  de buffer = 10 mg / 300  $\mu\text{L}$ ). Se tomó el extracto acuoso, y se transfirió a tubo eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente, se centrifugó a 4500 rpm a 4°C por 30 minutos. Se recuperó el sobrenadante para la cuantificación de AChE.

**Reacción enzimática:** el ensayo se realizó en microplaca de 96 pocillos, se adicionó a cada pozo 147  $\mu\text{L}$  de DTNB 10  $\mu\text{M}$ , 104  $\mu\text{L}$  de PBS 1X pH 7.2, y 46  $\mu\text{L}$  de muestra (equivalente a 0.1 mg/mL de proteína). Enseguida, se adicionaron 3  $\mu\text{L}$  de sustrato 28.3 mM e inmediatamente se procedió a la lectura en el lector de microplacas (BioTek, Epoch), a 405 nm al tiempo cero y 5 min. Cada muestra se leyó por triplicado y se calculó el promedio. Al cambio de absorbancia con la muestra, se le restó el cambio de absorbancia del blanco, posteriormente se le restó la absorbancia basal, el resultado se dividió entre el tiempo de reacción. A partir de este dato se calculó la actividad enzimática, dividiendo el valor obtenido sobre el equivalente en mg/mL de proteína. La actividad enzimática fue expresada en unidades de actividad enzimática sobre miligramo de proteína (U/mg de proteína).

### **3.9 Determinación de actividad AChE de especímenes de campo**

Se determinó la actividad acetilcolinesterasa de especímenes muestreados en 2015 y 2016, en los municipios de San Blas y Compostela Nayarit, y se tomó la actividad específica del grupo control susceptible (seis hembras y seis machos), de los especímenes de los bioensayos. Se tomaron al azar seis individuos hembras y seis machos por municipio, la identificación y sexado se realizó de acuerdo al punto 3.3.1.1, y la determinación de actividad se realizó de la misma manera que en el punto 3.6.

### **3.10 Análisis estadísticos**

Con la finalidad de establecer la  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ , se utilizó un análisis Probit (Finney, 1971), fijado por máxima verosimilitud. El análisis se realizó en el programa PoloPlus (LeOra software 2016, versión 2.0). La variable de respuesta fue la mortalidad; como variables explicativas se utilizaron las concentraciones (0, 1, 10, 100, 1000 y 10000 mg/L), y el sexo (hembra, macho, hembra/macho). Se realizó un análisis Probit por sexo (hembra, macho, hembra/macho), sumándose la mortalidad de las seis repeticiones por concentración. La Respuesta Relativa ( $RR_{50}$  y  $RR_{90}$ ), se calculó con base en la siguiente fórmula:  $RR = CL_{50} - CL_{90}$  de machos o mezcla de hembras-machos /  $CL_{50} - CL_{90}$  de las hembras (Young *et al.* 2004).

Para probar diferencias en la mortalidad, la actividad enzimática de la GST (organismos vivos), y la actividad enzimática de la AChE (organismos vivos y muertos), se utilizaron modelos lineales de efectos mixtos (librería "nlme", Pinheiro *et al.* 2016). Los modelos fueron fijados por máxima verosimilitud restringida (REML), y se examinó si los residuales fueron normalmente distribuidos, las varianzas homogéneas y cuando fue necesario los datos fueron transformados. Para el caso de la mortalidad y la actividad enzimática de la GST, la concentración (con seis niveles), el sexo (con tres niveles), y la interacción entre estos dos factores fueron utilizados como factores fijos, en el componente al azar del modelo se incluyó la edad anidada al ensayo. Para cumplir con los supuestos de los modelos, la mortalidad fue transformada con raíz cuadrada, y para la actividad enzimática GST la varianza fue modelada con la función "varPower", y se utilizó la estructura de correlación "corCAR1" (Pinheiro *et al.* 2011). Para el caso la actividad enzimática de la AChE, se usó la misma estructura de los componentes fijos y al azar, pero la concentración tuvo cuatro niveles (10, 100, 1000 y 10000) y el sexo dos niveles (machos y hembras).

Para probar diferencias en la actividad enzimática de la AChE pero solo de los organismos que resultaron vivos a los bioensayos de acuerdo a la concentración (seis niveles), y el sexo (dos niveles), se usó un análisis de varianza de dos vías. Se examinó si los residuales fueron normalmente distribuidos, y las varianzas homogéneas para cumplir con los supuestos del modelo.

Para probar diferencias en la actividad GST y AChE de los especímenes de campo de acuerdo al municipio (tres niveles: San Blas, Compostela, susceptible), y el sexo (dos niveles), se usaron análisis de varianza de dos vías. Para cumplir con los supuestos de los modelos la actividad de la GST fue transformada con logaritmo, Se examinó si los residuales fueron normalmente distribuidos, y las varianzas homogéneas.

En todos los casos, para probar diferencias entre los niveles de los factores (con más de dos niveles) y sus interacciones, se usaron contrastes a *posteriori* (librería "lsmeans" Russell 2016). Los modelos fueron hechos en el software estadístico R (R Development Core Team 2016).

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Bioensayos

De acuerdo al análisis Probit, las hembras presentaron una  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  menor que los machos y que la mezcla de hembras/machos. El valor para  $CL_{50}$  varió de 134.5 (hembras) a 535.4 (hembras/machos). Los machos presentaron un valor intermedio de 460.8 mg/L de IA. Mientras que la  $CL_{90}$  osciló entre 1362.1 (hembras), y 9032.4 (machos), en este caso la mezcla de hembras/machos fue la que mostró un valor intermedio de 8035 mg/L de IA. Las pendientes de las líneas Log-dosis Probit variaron de 1.27 (hembras), 0.99 (machos), y 1.09 (hembras/machos). La  $RR_{50}$  para los machos fue de 3.4X, mientras que la mezcla de hembras/machos presentó una  $RR_{50}$  de 3.9X. La  $RR_{90}$  para los machos fue de 6.6X y para la mezcla de hembras/machos de 5.8X, lo que evidencia la susceptibilidad de las moscas utilizadas en el estudio, ya que según Young *et al.* (2004), valores <10X corresponden a organismos susceptibles (Cuadro 1).

Cuadro 1. Susceptibilidad de hembras y machos de *A. obliqua* a malatión.

Sexo	N	Pendiente ±EE	$CL_{50}^*$ (LC95%)	$CL_{90}^*$ (LC95%)	$\chi^2$	$RR_{50}$	$RR_{90}$
<b>Hembras</b>	720	1.27±0.127	<b>134.6</b> (91.2-187.7)	<b>1362.1</b> (910.6-2314.5)	2.33	---	---
<b>Machos</b>	720	0.99±0.084	<b>460.8</b> (247.9-820.3)	<b>9,032.4</b> (4169-29697)	3.05	3.4	6.6
<b>Hembras/ Machos</b>	720	1.09±0.101	<b>535.4</b> (205-1168.5)	<b>8,035.0</b> (3139.8-51023)	5.77	3.9	5.8

\* $CL_{50,90}$  = Concentraciones Letales expresadas en  $mg/L^{-1}$  de IA; (LC95%) = Límites de Confianza  $\alpha$  0.05;  $RR_{50,90}$  = Respuesta Relativa; Pendiente ±EE = Pendiente de la línea de regresión ± error estándar.

La mortalidad de las moscas fue afectada por las diferentes concentraciones de malatión, encontrándose diferencias significativas ( $F_{5,85} = 130.43$ ,  $P < 0.001$ ) (Figura 18a). Las concentraciones de 1 y 10 mg/L de IA no difirieron del grupo control, la concentración de 100 mg/L mostró una mortalidad intermedia, mientras que las concentraciones de 1000 y 10000 mg/L, causaron la mayor tasa de mortalidad, y no hubo diferencias significativas entre estas (Figura 18a). También hubo diferencias significativas entre los

sexos ( $F_{2,85} = 5.78, P = 0.004$ ) (Figura 18b). Las hembras fueron más susceptibles que los machos y la mezcla de hembras/machos. Por último, no hubo diferencias entre la interacción de estos factores ( $F_{10, 85} = 0.61, P = 0.794$ ).

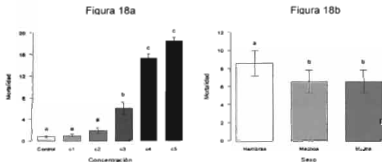


Figura 18. Mortalidad de *A. obliqua* a) diferentes concentraciones de malatión: c1=1, c2=10, c3=100, c4=1000, c5=10000 mg/L, y b) de hembras, machos y hembras/machos (mixtos). Las diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones o sexos de acuerdo al análisis de contrastes ( $P < 0.05$ ). Los valores indican las medias  $\pm$  error estándar sin transformar.

#### 4.2 Actividad GST especímenes bioensayos

No hubo diferencias significativas, en la actividad enzimática GST al incrementar la concentración de malatión ( $F_{5, 55} = 0.55, P = 0.714$ ) (Cuadro 2), ni tampoco entre las hembras y los machos ( $F_{1, 55} = 2.24, P = 0.139$ ). Por último, no se encontraron diferencias significativas entre la interacción de los factores ( $F_{5, 55} = 0.73, P = 0.602$ ) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Actividad específica glutatión S-transferasa de *A. obliqua* proveniente de bioensayos.

	*Concentración					Sexo		
	c0	c1	c2	c3	c4	c5	Hembras	Machos
*Actividad (±EE)	3.378 (±0.281)	3.454 (±0.226)	2.958 (±0.225)	3.272 (±0.414)	2.992 (±0.170)	3.193 (±0.156)	3.383 (±0.145)	3.032 (±0.147)

\*Media  $\pm$  error estándar de la actividad específica expresada en U/mg de proteína;  
 \*Concentraciones de malatión aplicadas c1=1, c2=10, c3=100, c4=1000, c5=10000 mg/L<sup>-1</sup> de IA.

### 4.3 Actividad GST especímenes de campo

No hubo diferencias significativas entre los municipios ( $F_{2, 29} = 0.664$ ,  $P = 0.522$ ). Hembras y machos presentaron una actividad similar ( $F_{1, 29} = 2.21$ ,  $P = 0.146$ ). Por último, no se encontraron diferencias significativas entre la interacción de estos factores ( $F_{2, 29} = 2.58$ ,  $P = 0.092$ ) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Actividad específica glutatión S-transferasa especímenes de campo.

Municipio	*Actividad (±EE)	
	Hembras	Machos
San Blas	3.851 (0.548)	2.398 (0.225)
Compostela	3.600 (0.497)	3.298 (0.375)
Población susceptible	3.226 (0.385)	3.516 (0.438)

\*Valores medios de actividad específica ± error estándar expresados en U/mg de proteína.

### 4.4 Actividad AChE especímenes bioensayos vivos

La actividad enzimática acetilcolinesterasa de los organismos que resultaron vivos en los bioensayos de susceptibilidad, no mostraron diferencias significativas al incrementar la concentración de malatión ( $F_{5, 48} = 1.63$ ,  $P = 0.169$ ), entre sexos ( $F_{1, 48} = 0.30$ ,  $P = 0.584$ ), o entre la interacción de estos dos factores ( $F_{5, 48} = 1.12$ ,  $P = 0.358$ ) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Actividad acetilcolinesterasa de especímenes vivos bioensayos.

	*Concentración					Sexo		
	c0	c1	c2	c3	c4	c5	Hembras	Machos
*Actividad (±EE)	0.098 (±0.005)	0.083 (±0.007)	0.074 (±0.007)	0.086 (±0.004)	0.082 (±0.005)	0.093 (±0.007)	0.085 (±0.002)	0.087 (±0.004)

\*Media ± error estándar de la actividad específica expresada U/mg de proteína; \*Concentraciones de malatión aplicadas: c0 = Control, c1=1, c2=10, c3=100, c4=1000, c5=10000 mg/L<sup>-1</sup> de IA.

#### 4.5 Actividad AChE especímenes bioensayos muertos-vivos

Se encontraron diferencias significativas en la actividad enzimática entre las concentraciones de malatión aplicadas ( $F_{3, 51} = 13.11$ ,  $P = <0.0001$ ) (Figura 19a), se necesitan concentraciones altas de tóxico (1000 y 10000 mg/L de IA) para causar una inhibición en la actividad de AChE. Además, se encontraron diferencias significativas entre el estado de los organismos (muerto-vivo); se detectó una mayor inhibición de la actividad enzimática en los organismos que murieron durante los bioensayos de susceptibilidad ( $F_{1, 16} = 14.64$ ,  $P = 0.001$ ) (Figura 19b). En el caso de los sexos, tanto hembras como machos se comportaron de manera similar ( $F_{1, 16} = 2.46$ ,  $P = 0.135$ ). En las interacciones de los factores concentración-estado se encontraron diferencias significativas ( $F_{3, 51} = 24.00$ ,  $P = <0.0001$ ) (Cuadro 5). Sin embargo, la interacción de los factores concentración-sexo no presentó diferencias significativas ( $F_{3, 51} = 1.86$ ,  $P = 0.147$ ), al igual que para la interacción de los factores sexo-estado ( $F_{1, 16} = 3.16$ ,  $P = 0.094$ ).

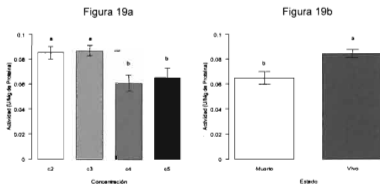


Figura 19. Actividad acetilcolinesterasa en *A. obliqua* de acuerdo a) a la concentración de malatión aplicada: c2=10, c3=100, c4=1000, c5=10000 mg/L. b) en muertos y vivos. Las diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones de acuerdo al análisis de contrastes ( $P < 0.05$ ). Los valores indican las medias  $\pm$  error estándar.

Cuadro 5. Actividad acetilcolinesterasa de especímenes de bioensayos muertos-vivos.

*Actividad ( $\pm$ EE)	*Concentración							
	c2v	c2m	c3v	c3m	c4v	c4m	c5v	c5m
	a	a	a	a	a	b	a	b
	<b>0.074</b> ( $\pm$ 0.007)	<b>0.095</b> ( $\pm$ 0.004)	<b>0.086</b> ( $\pm$ 0.004)	<b>0.087</b> ( $\pm$ 0.007)	<b>0.082</b> ( $\pm$ 0.005)	<b>0.039</b> ( $\pm$ 0.005)	<b>0.093</b> ( $\pm$ 0.007)	<b>0.037</b> ( $\pm$ 0.003)

Valores medios de actividad  $\pm$  error estándar expresados en U/mg de proteína; las diferentes letras sobre los valores indican diferencias estadísticamente significativas; \*Concentraciones de malatión aplicadas c2v=10, c3v=100, c4v=1000, c5v=10000 mg/L<sup>-1</sup> de IA (especímenes vivos), c2m=10, c3m=100, c4m=1000, c5m=10000 mg/L<sup>-1</sup> de IA (especímenes muertos).

#### 4.6 Actividad AChE especímenes de campo

Se encontró que las hembras presentan una menor actividad acetilcolinesterasa que los machos ( $F_{1, 29} = 4.74$ ,  $P = 0.037$ ) (Figura 20). Se encontraron diferencias significativas entre municipios, San Blas y Compostela, difieren de la colonia susceptible ( $F_{2, 29} = 3.85$ ,  $P = 0.032$ ) (Figura 21). Por último, no se encontraron diferencias significativas entre la interacción de estos factores ( $F_{2, 29} = 0.58$ ,  $P = 0.565$ ).

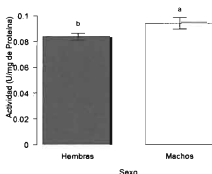


Figura 20. Actividad acetilcolinesterasa de acuerdo al sexo. Las diferentes letras sobre las barras, indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al análisis de contrastes ( $P < 0.05$ ). Los valores indican las medias  $\pm$  error estándar.



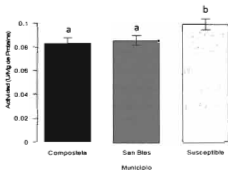


Figura 21. Actividad acetilcolinesterasa de acuerdo al municipio. Las diferentes letras sobre las barras, indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al análisis de contrastes ( $P < 0.05$ ). Los valores indican las medias  $\pm$  error estándar.

## V. DISCUSIÓN

### 5.1 Bioensayos

La pérdida de susceptibilidad es heredada y se ha demostrado que es uno de los principales problemas en el control de plagas agrícolas (Díaz *et al.* 2004). La fuerte presión de selección que se ha ejercido sobre *A. obliqua* en las últimas dos décadas, ha llevado a la necesidad de probar la efectividad biológica del malatión, con la finalidad de establecer una línea base de susceptibilidad, para a su vez determinar la respuesta relativa en especímenes de campo.

Lagunes *et al.* (2009), menciona que es importante comparar los resultados base, con los valores observados en la población, después de ser seleccionada con determinado plaguicida, así los resultados obtenidos, permiten seleccionar moléculas químicas hacia las cuales la población aún es susceptible, e incluso buscar alternativas al uso de éstas.

Desde 1992, en México el control químico contra *A. obliqua* se realiza mediante aspersiones terrestres y aéreas de cebo tóxico a base de malatión. De acuerdo con Aluja (1994), este procedimiento estándar, ha demostrado ser ineficaz y ambientalmente cuestionable, por lo que se considera que el manejo de moscas de la fruta ha estado estancado en los últimos 35 años.

Similar a lo ocurrido en Cuba con insecticidas organofosforados, los cuales fueron utilizados irracionalmente en campañas nacionales contra moscos vectores del dengue. Hasta 1986, el malatión se utilizó para la erradicación de *Aedes aegypti*, el cual al principio fue muy efectivo para su control, sin embargo, se prohibió su uso debido al incremento de las densidades poblacionales y la elevada resistencia de otras especies vectores como *Culex quinquefasciatus* (Bisset *et al.* 1985).

La mortalidad está relacionada tanto con el sexo, la edad y el tamaño de los organismos prueba (Keil *et al.* 1985), por ello en el presente estudio se estandarizó el sexo y la edad para reducir la variabilidad, disminuyendo con esto la mortalidad del control, ya que conforme la edad aumenta, la susceptibilidad probablemente será mayor. Al controlar todas estas variables, se obtienen resultados representativos de la

susceptibilidad del insecticida evaluado, sin obviar la variación natural inherente que tiene cada población de organismos (Robertson *et al.* 1995). Por lo tanto, los resultados obtenidos de una generación, pueden ser significativamente diferentes a los de otra generación de la misma especie.

De acuerdo a los resultados de susceptibilidad obtenidos en el presente estudio en organismos de laboratorio, las hembras mostraron mayor susceptibilidad, no obstante al combinar los sexos, la respuesta a  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  se elevó considerablemente. Lo anterior podría deberse según Sanderson *et al.* (1989), que al combinar la mortalidad de ambos sexos la respuesta se homogeniza y con ello se reduce el error estándar de la pendiente de regresión dosis-mortalidad (Santillán *et al.* 2011), sin embargo también se podría atribuir al comportamiento de las hembras con respecto a la alimentación.

En el presente estudio, se utilizaron especímenes de 4 a 8 días de edad, observándose diferencia de la mortalidad entre sexos, misma que posiblemente se deba a que las hembras se alimentan con mayor frecuencia y por ende consumen una cantidad mayor de tóxico que los machos. Para las hembras de *A. obliqua*, es fundamental el consumo de proteínas, ya que de ello depende su maduración sexual y la producción de huevos.

Las necesidades nutricionales de un insecto, varían en sus distintas fases de desarrollo, así como en la longevidad de éstos (Cresoni y Zucoloto 2001). Martínez *et al.* (1995), reportaron que la maduración de los ovarios en hembras de *A. serpentina* se produce a los 14 días de edad, sin embargo, los machos de 6 días de emergidos ya presentan una maduración testicular total.

Chaverri *et al.* (1999), reportan que en *A. obliqua* la maduración sexual se da por completo a los 17 días después de la emergencia, pero estos autores no hacen distinción entre sexos. Además, en la presente investigación, los machos de *A. obliqua* presentaron una respuesta más heterogénea al insecticida que las hembras, de acuerdo a la pendiente de la línea de regresión (0.99 machos; 1.27 hembras).

## 5.2 Actividad GST en especímenes de bioensayos

Después de realizar un bioensayo de susceptibilidad, se considera importante analizar bioquímicamente a los organismos, con la finalidad de explorar que enzima(s), **están involucradas en conferir resistencia en la población.** De acuerdo con Rodríguez *et al.* (2001), un bioensayo tradicional como tal, permite cuantificar los valores de susceptibilidad o resistencia, pero no detecta los mecanismos que la producen. Un ensayo bioquímico provee datos específicos por insecto, con lo cual se puede medir con exactitud el efecto del plaguicida (Bisset 2002).

Las GSTs poseen la capacidad de inactivar compuestos endógenos potencialmente citotóxicos y genotóxicos. Se ha documentado que presentan un rol importante en la detoxificación de compuestos organofosforados, por ende es importante la cuantificación de su actividad en insectos sometidos a presión de selección (Fournier *et al.* 1992).

En estudios realizados en poblaciones resistentes de moscos vectores, se reportaron actividades de GST con valores menores a 1 U/mg de proteína (Díaz *et al.* 2004; Mustafa y Eksi 2015), mientras que en el presente estudio todos los valores de actividad GST rondaron los 3 U/mg de proteína. Por lo tanto se podría considerar que esta actividad es alta. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la actividad respecto al control, tampoco al incrementar la concentración de insecticida hasta los 10000 mg/L de IA, y tanto hembras como machos se comportaron de manera similar, lo que sugiere que GST, no está directamente involucrada en la detoxificación de malatión en *A. obliqua* y además, que la actividad de la enzima no tiene relación con el sexo.

## 5.3 Actividad GST especímenes de campo

Al medir la actividad GST en especímenes de poblaciones de campo, esta no difirió estadísticamente entre municipios y organismos susceptibles, ni entre sexos. Lo cual al compararse con los resultados de la actividad GST de los especímenes de los bioensayos, demuestra que la GST, no está directamente involucrada en la detoxificación del malatión en *A. obliqua*.

#### 5.4 Actividad AChE especímenes bioensayos muertos-vivos

La función principal de un insecticida organofosforado es causar una inhibición de la AChE, impidiendo la terminación del impulso nervioso del neurotransmisor acetilcolina (ACh), lo que genera una disfunción letal en el sistema nervioso de los organismos (Fournier 2005). En el presente estudio, en la actividad de AChE de los organismos que resultaron vivos a los tratamientos, no se detectaron diferencias significativas de actividad al incrementar la concentración de tóxico, lo que sugiere que el insecticida no provocó una inhibición letal, y tanto hembras como machos no difirieron en su actividad. En contraste, con los resultados de actividad de los organismos que murieron, se logró detectar que las concentraciones más elevadas de tóxico son las que causan un efecto importante de inhibición de actividad de la AChE, lo que evidencia la poca efectividad de bajas concentraciones del insecticida sobre *A. obliqua*. Para determinar la actividad AChE, es importante el estado de los organismos ya que los especímenes muertos presentaron una inhibición significativa con respecto a los vivos.

La respuesta de actividad enzimática puede ser atribuida a la taxonomía de cada especie y a su potencial de detoxificación. Al igual que la respuesta tóxica de un xenobiótico puede variar aún entre organismos de la misma especie y sexo, o bien especies diferentes pueden presentar respuestas similares. Los factores relacionados con el organismo receptor pueden ser genéticos (sexo, especie, individuo), o fisiológicos (edad, peso, instar, gravidez). Otro aspecto importante a considerar, es que la concentración que determina la respuesta tóxica de un plaguicida es la que ingresa al organismo, y no la que se adicionó al ambiente (Peña *et al.* 2001).

#### 5.5 Actividad AChE especímenes de campo

En la actividad AChE de los organismos de campo, las hembras presentaron una actividad menor a las de los machos. Esta variación en la respuesta de actividad entre sexos, puede ser atribuida a los factores genéticos del organismo receptor como lo sugiere Peña *et al.* (2001); la respuesta de la actividad enzimática puede diferir entre sexos de individuos de la misma especie, por lo tanto, se debe considerar que todos los organismos de la población poseen una variación genética inherente (Robertson *et al.*, 1995).

Entre municipios y organismos susceptibles, se encontraron diferencias significativas de actividad, donde los organismos de campo presentaron un valor menor de actividad de la AChE, lo que sugiere una mayor inhibición de la enzima en comparación con los susceptibles. Sin embargo, de acuerdo a los resultados de actividad obtenidos de los bioensayos, se demostró que se necesitan cantidades elevadas de tóxico para generar una inhibición letal en los organismos.

## VI. CONCLUSIONES

- Se requiere una concentración de 8,035 mg/L de I.A para controlar el 90% de los individuos de *A. obliqua*, en poblaciones sin presión de selección.
- La actividad glutatión S-transferasa de los organismos susceptibles sometidos a concentraciones crecientes de malatión no fue significativamente diferente.
- Los especímenes de campo, presentaron una actividad glutatión S-transferasa que no difiere de la colonia susceptible.
- Se necesitan concentraciones de malatión elevadas (1000 a 10000 mg/L de IA), para causar una inhibición considerable de la actividad acetilcolinesterasa en individuos de *A. obliqua*.
- Las hembras de especímenes provenientes de campo, presentaron una actividad acetilcolinesterasa menor que la de los machos, sin embargo no difieren de la colonia susceptible.
- Los especímenes con presión de selección, presentaron actividad acetilcolinesterasa menor que los especímenes susceptibles.
- Al establecer, la línea base de susceptibilidad y la respuesta enzimática de GST y AChE en *A. obliqua* hacia el malatión, se determinó la respuesta que presentan los organismos de campo los cuales fueron seleccionados durante años con este insecticida; lo que puede coadyuvar a la toma de decisiones para seleccionar adecuadamente moléculas químicas para su control, e incluso buscar alternativas a su uso.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal economy entomology* 18: 265-267.
- Aguilar, M., Holguin, R. 2013. Estrategias de manejo fitosanitario en agricultura protegida. Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. Pág. 29.
- Aguilar, S., Rodríguez J.C., Santillán, C., Lagunes, A., Díaz O., Martínez, J.L. 2007. Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotipo B Colectadas en Baja California y Sinaloa, México. *Interciencia* 32: 266-269.
- Aiassa, D., Mañas, F., Bosch, B., Gentile, N., Bernardi, N., Gorla, N. 2012. Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana* 17: 485-509.
- Albert, L. 2005. Panorama de los plaguicidas en México. *Revista de Toxicología en línea*. <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>. Última consulta: noviembre 2014.
- Aluja, M. 1994. Bionomics and Management of *Anastrepha*. *Annual Reviews Entomology* 39: 155-178.
- Aluja, M., Arredondo, J., Díaz, F., Birke, A., Rull, J., Niogret, J., Epsky, N. 2014. Susceptibility of 15 mango (Sapindales: Anacardiaceae) cultivars to the attack by *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) and the role of underdeveloped fruit as pest reservoirs: management implications. *Journal of Economic Entomology* 107: 375-388.
- Avendaño, S. 2006. Búsqueda de parasitoides asociados a *Anastrepha* spp. En frutales de la región de Tapanatepec, Oaxaca. Tesis de Maestría. CIIDIR, Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca, México. 73 p.
- Badii, M., Garza, V. 2007. Resistencia en insectos, plantas y microorganismos. *CULCyT//Impacto ecológico* 4: 9-25.
- Badii, M., Landeros, J. 2007. Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT//Toxicología de plaguicidas* 4: 21-34.
- Bisset, J.A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54: 202-219.
- Bisset, J.A., Navarro, A., Marquetti, M.C., Mendizabal, M.E., González, B.M. 1985. La abundancia larval de mosquito urbano durante la campaña de erradicación de *Aedes aegypti* y del dengue en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 37: 161-8.
- Boscán, N. 1992. Manejo Integrado de las Moscas de las Frutas I. Identificación, biología y detención del insecto. *Revista FONAIAP DIVULGA*. 41.



- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Briceño, A. 1979. Distribución de las moscas de las frutas (*Anastrepha* spp., Diptera: Tephritidae) y sus plantas hospederas en los Andes. *Revista de la Facultad de Agronomía* 5: 449-457.
- Caraballo, J. 2001. Diagnósis y clave pictórica para las especies del género *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) de importancia económica en Venezuela. *Entomotrópica* 16: 157-164.
- CESAVENAY (Comité Estatal de Sanidad vegetal de Nayarit). 2017. <http://cesavenay.org.mx/>. Última consulta: mayo 2017.
- Chaverri, L., Soto, J., Jirón, L. 1999. Notas sobre la biología y ecología de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae), plaga de plantas anacardiáceas en América tropical. II. Formas adultas. *Agronomía Mesoamericana* 10: 99-102.
- Couso, F. 2012. Bases moleculares de la resistencia a insecticidas en la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* (Wiedemann). Tesis Doctoral. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. 224 P.
- Couso, F., Arouri, R., Beroiz, B., Perera, N., Cervera, A., Navarro, V., Castañera, P., Hernández, P., Ortego, F. 2011. Cross-resistance to insecticides in a malathion-resistant strain of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* 104: 1349-1356.
- Cresoni, C., Zucoloto, F. 2001. Dietary self-selection and discrimination threshold in wild *Anastrepha obliqua* females (Diptera, Tephritidae). *Journal of insect physiology* 47: 1127-1132.
- Del Puerto, A.M., Suárez, S., Palacio, D.E. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 52: 372-387.
- Deng, H., Huang, Y., Feng Q., Zheng, S. 2009. Two epsilon glutathione S-transferase cDNAs from the common cutworm, *Spodoptera litura*: Characterization and developmental and induced expression by insecticides. *Journal of Insect Physiology* 55: 1174-1183.
- Díaz, C., Rodríguez, M., Fresneda, M., Bisset, J. 2004. Determinación de la actividad glutatión-S-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 56: 111-116.
- NOM-023-FITO-1995. Por la que se establece la Campaña Nacional Contra las Moscas de la Fruta. Diario Oficial de la Federación, febrero de 1999. [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4880782&fecha=06/09/1995](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4880782&fecha=06/09/1995). Última consulta: marzo de 2016.



- NOM-075-FITO-1997. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta. Diario oficial de la federación, 1998. <http://senasica.gob.mx/?doc=699> . Última consulta: marzo de 2016.
- Donoso, J. 1989. Biología, epidemiología y biocenosis de las moscas de la fruta más importantes. En Curso sobre control de moscas de la fruta. Edit. IICA Biblioteca Venezuela. Quito, Ecuador. P. 49-61.
- Elfman, G., Courtney, K., Andres V. Jr., Featherstone R. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7: 88-95.
- Enayati, A.A, Ranson, H., Hemingway, J. 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology* 14: 3-8.
- FAO (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2012. Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications) . Última Consulta: Noviembre 2014.
- FAO (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2009. LA FAO en MÉXICO Más de 60 años de colaboración. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications) . Última Consulta: noviembre 2014.
- Ferrer, A. 2003. Intoxicación por plaguicidas. *ANALES Sis San Navarra* 26: 155-171.
- Feyereisen, R. 1995. Molecular biology of insecticide resistance. *Toxicology Letters* 82/83: 83-90.
- French, L., Rodríguez, M., Bisset, J., Ricardo, Y., Gutiérrez, G., Fuentes, I. 2013. Actividad incrementada de las enzimas citocromo P450 monooxigenasas en cepas cubanas de *Aedes aegypti* de referencia, resistentes a insecticidas. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 65: 328-338.
- French, R., Daborn, P., Le Goff, G. 2004. The genetics and genomics of insecticide resistance. *Sciencedirect* 20: 163-170.
- Finney, D. 1971. Probit Analysis. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 333 p.
- Flores, A., Badii, M., Ponce, G. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. <http://www.respyn.uanl.mx/ii4/ensayos/pesticidas.html> . Última consulta: junio 2017.
- Fonseca, I., Quiñones, M.L. 2005. Resistencia a insecticidas en mosquitos (Diptera: Culicidae): mecanismos, detección y vigilancia en salud pública. *Revista Colombiana de Entomología* 31: 107-115.
- Fournier, D., Bride, J.M., Poirie, M., Berge, J.B., Frederick Jr., W.P. 1992. Insect glutathione S-transferases. *Journal of Biological Chemistry* 267: 1840-1845.
- Fournier, D. 2005. Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in insect populations. *Chemico-Biological Interactions* 157/158: 257-261.

- Gómez, R., Rojas, G., Miranda, L., Cruz, I., Berrueta, L., Salmen, S., *et al.* 2011. Efectos de exposición ocupacional a plaguicidas sobre la integridad de la cromatina espermática. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* 9: 67-78.
- González, B., Bernal, A. 2000. Impacto social del uso de los plaguicidas en el mundo. Edit. Universitaria, Universidad de Matanzas. 13 p.
- González, C., Robledo, M., Medina, I., Velázquez, J., Girón, M., Quintanilla, B., Ostrosky, P., Pérez, N., Rojas, A. 2010. Patrón de uso y venta de plaguicidas en Nayarit, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 26: 221-228.
- Gutiérrez, A., Robles, A., Santillán, C., Ortiz, M., Cambero, O. 2013. Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias* 2: 102-112.
- Habig, W., Pabst, M., Jakoby, W. 1974. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal Biological Chemistry* 249: 7130-7139.
- Hernández, A., Hansen, A. 2011. Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 27: 115-127.
- Hernández, E., Orozco, D., Flores, S., Domínguez, J. 2007. Dispersal and longevity of wild and mass-reared *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 90: 123-135.
- Hernández, R. 2014. Manual técnico para la identificación de moscas de la fruta. SAGARPA-SENASICA. Dirección de moscas de la fruta. <http://senasica.gob.mx> Última consulta: octubre de 2016.
- Hernández, V. 1992. El género *Anastrepha* schiner en México (Diptera:Tephritidae). Taxonomía, distribución y sus plantas huéspedes. Instituto de Ecología. Vol. 33, Xalapa, Ver. México. 162 P.
- Hsu, J.C., Feng, H.T., Haymer D.S., Chen, Y.H. 2011. Molecular and biochemical mechanisms of organophosphate resistance in laboratory-selected lines of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 100: 57-63.
- Hsu, J.C., Haymer, D.S., Wu, W.J., Feng, H.T. 2006. Mutations in the acetylcholinesterase gene of *Bactrocera dorsalis* associated with resistance to organophosphorus insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36: 396-402.
- Hu, F., Dou, W., Wang, J., Jia, F., Wang, J. 2014. Multiple glutathione S-transferase genes: identification and expression in oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *Pest Manag Sci* 70: 295-303.
- Hu, W., Zhan S., Xia X., Xu P., You H., Jin B., Li J. 2015. Identification and functional characterization of an epsilon glutathione S-transferase from the beet armyworm (*Spodoptera exigua*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71: 1-8.

- IRAC (Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas). 2016. Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas. [www.irc-online.org/countries/spain/](http://www.irc-online.org/countries/spain/) Última consulta: agosto de 2016.
- Iriarte, A., Arbildi, P., La-Rocca, S., Musto, H., Fernández, V. 2012. Identification of novel glutathione transferases in *Echinococcus granulosus*: An evolutionary perspective. *Acta Tropica* 123: 208-216.
- Isiordia, N., García, O., Flores, R., Díaz M., Carvajal, C., Espino, R. 2011. El cultivo de mango en Nayarit, acciones e impactos en materia fitosanitaria 1993-2010. *Revista Fuente* 2: 34-43.
- Jirón, L. 1995. Opciones al uso de insecticidas en mango. En: Opciones al uso unilateral de plaguicidas en agricultura: pasado-presente-futuro. Edit. EUNED, San José, Costa Rica. P. 133-135.
- Keil, C.B., Parrella, M.P., Morse J.G. 1985. Method for monitoring and establishing baseline data for resistance to permethrin by *Liriomyza trifolii* (Burgess). *Journal Economy Entomology* 78: 419-422.
- Lagunes, A., Rodríguez, C., Loera, J. 2009. Susceptibilidad a insecticidas en colonias de artrópodos de México. *Revista Agrociencia* 43: 173-196.
- LeOra Software. 2016. PoloPlus, user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley, CA.
- Liu, H., He, J., Zhao, R., Chi, C., Bao, Y. 2015. A novel biomarker for marine environmental pollution of pi-class glutathione S-transferase from *Mytilus coruscus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 118: 47-54.
- Liu, N. 2012. Pyrethroid resistance in insects: genes, mechanisms, and regulation. Department of Entomology and Plant Pathology. Insect Molecular Toxicology and Physiology Program. Auburn University. Alabama, USA. P. 458-468.
- López, G., Valle, J., Llanderal, C., Rojas, J. 2009. Response of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) to visual and chemical cues under seminatural conditions. *Journal economic entomology* 102: 954-959.
- López, G. 2008. Estímulos visuales y químicos como potenciales atrayentes de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae). Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados, Montecillo Texcoco, Edo. De México.
- López, J. 2004. Apéndice Técnico para la identificación de moscas de la fruta. SAGARPA-SENASICA. Dirección de moscas de la fruta. <http://www.senasica.gob.mx/?doc=10106>. Última consulta: marzo 2015.
- Lumjuan, N., Stevenson, B.J., Prapanthadara, L., Somboon, P., Brophy, P.M., Loftus, B.J., Severson, D.W., Ranson, H. 2007. The *Aedes aegypti* glutathione transferase family. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 37: 1026-1035.
- Martínez, I., Hernández, V., Luna, R. 1995. Desarrollo y maduración sexual en *Anastrepha serpentina* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Acta zoológica mexicana* 65: 75-88.

- Martínez, J., Serna, F. 2005. Identificación y localización geográfica de especies del género *Anastrepha schiner* (Diptera: Tephritidae) en Cundinamarca (Colombia). *Revista Agronomía Colombiana* 23: 102-111.
- Murillo, T., Jirón, L. 1994. Egg morphology of *Anastrepha obliqua* and some comparative aspects with eggs of *Anastrepha fraterculus* (Diptera:Tephritidae). *Florida Entomologist* 77: 342-348.
- Mustafa, M.A., Eksi, E. 2015. Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanisms of *Culex pipiens* L. in four localities of east and middle mediterranean basin in Turkey. *International Journal of Mosquito Research* 2: 39-44.
- NOM-023-FITO-1995. Por la que se establece la campaña nacional contra las moscas de la fruta. Diario Oficial de la Federación, febrero de 1999. [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4880782&fecha=06/09/1995](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4880782&fecha=06/09/1995). Última consulta: marzo de 2016.
- NOM-075-FITO-1997. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta. Diario Oficial de la Federación, 9 de junio de 2000. <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/fito/fito075-00.pdf>. Última consulta: mayo de 2017.
- Núñez, L., Gómez, R., Guarín, G., León, G. 2004. Moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) y parasitoides asociados con *Psidium guajava* L. y *Coffea arabica* L. en tres municipios de la Provincia de Vélez (Santander, Colombia). *Revista Corpoica* 5: 5-12.
- Penilla, R., Rodríguez, A., Hemingway, J., Torres, J., Solís, F., Rodríguez M. 2006. Changes in glutathione S-transferase activity in DDT resistant natural Mexican populations of *Anopheles albimanus* under different insecticide resistance management strategies. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 86: 63-71.
- Peña, C.E., Carter, D., Ayala, F. 2001. Toxicología ambiental: evaluación de riesgos y restauración ambiental. The University of Arizona, Southwest hazardous waste program. <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/>. Última consulta: septiembre de 2016.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. 2016. R Core Team. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-126. <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sakar, D., R Development Core Team. 2011. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-102. Vienna, Austria: R foundation for statistical computing. <http://www.R-project.org/>.
- Plenge, F., Sierra, J., Castillo, Y. 2007. Riesgos a la salud humana causados por plaguicidas. *Tecnociencia Chihuahua* 1: 4-6.
- R Development Core Team. 2016. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.

- Ranson, H., Claudianos, C., Orтели, F., Abgrall, C., Hemingway, J., Sharakhova, M., Unger, M., Collins, F., Feyereisen, R. 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *SCIENCE* 298: 179-81.
- Robertson, J., Preisler H., NG, S., Hickie L., Gelenter, W. 1995. Natural variation: a complicating factor in bioassays with chemical and microbial pesticides. *Journal Economy Entomology* 88: 1-10.
- Rodríguez, M., Guerrero, M., Sandoval, R. 2002. Guía técnica cultivo de mango. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, El Salvador. 33 Págs.
- Rodríguez, J.C. 2005. Resistencia a insecticidas: de la teoría a la práctica. [http://www.cm.colpos.mx/moodle/file.php/13/BASES\\_DEL\\_RESISTENCIA\\_A\\_INSECTICIDAS.pdf](http://www.cm.colpos.mx/moodle/file.php/13/BASES_DEL_RESISTENCIA_A_INSECTICIDAS.pdf). Última consulta: enero de 2016.
- Rodríguez, M.M., Bisset J.A., Ricardo Y., Pérez, O., Montada, D., Figueredo D., Fuentes, I. 2010. Resistencia a insecticidas organofosforados en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Santiago de Cuba, 1997-2009. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 62: 217-223.
- Rodríguez, M.M., Bisset, J.A., Molina, D., Díaz, C., Soca, L.A. 2001. Adaptación de los métodos en placas de microtitulación para la cuantificación de la actividad de estererasas y glutation-S-transferasa en *Aedes aegypti*. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 53: 32-6.
- Russell, V.L. 2016. Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *Journal of statistical software* 69: 1-33.
- SAGARPA (Secretaría de agricultura ganadería pesca y alimentación). 2013. Diario Oficial: viernes 13 de diciembre de 2013. <http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/introduccion/Documents/Programa%20Sectorial%20de%20Desarrollo%20Agropecuario.%20Pesquero%20y%20Alimentario%202013-2018.pdf>. Última consulta: abril 2015.
- SAGARPA-SENASICA. 2009. Taxonomía de estados inmaduros de moscas de la Fruta del Género *Anastrepha schiner* de importancia económica. Curso PFA en Sinaloa, México.
- Santillán, C., Rodríguez, J., López, C., Díaz, O., Lagunes, A., Carrillo, J., Bernal, J., Robles, A., Aguilar, S., Silva, G. 2011. Susceptibilidad de hembras y machos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotipo B y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) a thiamethoxam. *Southwestern Entomologist* 36: 167-176.
- Sanderson, J.P., Parella, M.P., Trumble, J.T. 1989. Monitoring insecticides resistance in *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agramyziidae) with yellow sticky cards. *Journal Economy Entomology* 82: 1011-1018.
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2017. Dirección General de Sanidad Vegetal: *Anastrepha obliqua* (Macquart). [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/109244/Mosca\\_de\\_las\\_indias\\_occidentales\\_Anastrepha\\_obliqua.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/109244/Mosca_de_las_indias_occidentales_Anastrepha_obliqua.pdf). Última consulta: mayo de 2017.

- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2016. Sanidad Vegetal. Moscas nativas de la fruta <http://www.senasica.gob.mx/?id=4516>. Última consulta: marzo de 2016.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V., Dowd, C. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemistry* 360: 1-16.
- SIAP (Servicio de información agroalimentaria y pesquera). 2016. Producción agrícola 2015. En: [http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola\\_siap\\_gb/cultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/cultivo/index.jsp). Última consulta: mayo de 2016.
- Soto, J., Chaverri, L., Jirón, L. 1997. Notas sobre la biología y ecología de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae), plaga de plantas Anarcardiaceas en América tropical. I. Formas inmaduras. *Agronomía Mesoamericana* 8: 116-120.
- Toledo, J., Pérez, C., Liedo, P., Ibarra, J. 2005. Susceptibilidad de larvas de *Anastrepha obliqua* Macquart (Diptera: Tephritidae) a *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (Rhabditida: Heterorhabditidae) en condiciones de laboratorio. *Vedalia* 12: 11-22.
- Torres, D., Castillo, M., Pérez, Q. 2006. Guía para el Manejo Integrado de las Moscas de las Frutas. Editor: Amado, C., República Dominicana. 23 P. [http://www.promangord.org/publicaciones/mosca\\_fruta/Manejo\\_Mosca\\_Fruta.pdf](http://www.promangord.org/publicaciones/mosca_fruta/Manejo_Mosca_Fruta.pdf)
- Trumper, E.V. 2014. Resistencia de insectos a cultivos transgénicos con propiedades insecticidas: teoría, estado del arte y desafíos para la República Argentina. *Agriscientia* 31: 109-126.
- Umasuthan, N., Saranya, K., Lee, Y., Whang, I., Young, C., Lee, J. 2012. A novel molluscan sigma-like glutathione S-transferase from Manila clam, *Ruditapes philippinarum*: Cloning, characterization and transcriptional profiling. *Comparative Biochemistry and Physiology* 155: 539-550.
- Urias, M., Hernández, L., Osuna, J., Pérez, M., García, N., González, J. 2013. Aspersiones de insecticidas en campo para controlar la escama blanca del mango (Hemiptera: Diaspididae). *Revista Fitotecnia Mexicana* 36: 173-180.
- Varona, M., Henao, G.L., Díaz, S., Lancheros, A., Murcia, Á., Rodríguez, N., Álvarez, V. H. 2009. Evaluación de los efectos del glifosato y otros plaguicidas en la salud humana en zonas objeto del programa de erradicación de cultivos ilícitos. *Biomédica* 29: 456-475.
- Vilatuña, J., Sandoval, D., Tigrero, J. 2010. Manejo y control de moscas de la fruta. Editado por los autores. Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro AGROCALIDAD. Quito, Ecuador. 158 P.
- Villatte, F., Bachmann, T.T. 2002. How many genes encode cholinesterase in arthropods?. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 73: 122-129.

- Vontas, J.G., Cosmidis, N., Loukas, M., Tsakas, S., Hejazi, M.J., Ayoutanti, A., Hemingway, J. 2001. Altered acetylcholinesterase confer organophosphate resistance in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71: 124-132.
- Weems, H., Heppner, J., Steck, G., Fasulo, T. 2001. West Indian fruit fly, *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Insecta: Diptera: Tephritidae). EENY198, University of Florida. Entomology and Nematology Department, UF/IFAS Extension. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/IN/IN35500.pdf>. Última consulta: mayo 2017.
- White, I.M., Harris, M.M. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and bionomics. Ed. CAB international, Wallingford UK. 601 P.
- Xue, L., Luo, Wang, Yong H., Wei, D., Chang, C., Dong W., Jinn W. 2016. The epsilon glutathione S-transferases contribute to the malathion resistance in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *Comparative Biochemistry and Physiology* 180: 40- 48.
- Ying, L., Wei, T., Nai, T., Yi, L. 2013. Biochemical and molecular analyses to determine pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107: 266-276.
- Young, K., Si-Hyeock L., Si-Woo L., Young A. 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanism. *Pest management science* 60: 1001-1006.
- Yu, Q., Lu, C., Li, B., Fang, S., Zuo, W., Dai, F., *et al.* 2008. Identification, genomic organization and expression pattern of glutathione S-transferase in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect-Biochemistry and Molecular Biology* 38: 1158-1164.



## VIII. ANÉXOS

### 8.1 Resistencia Metabólica a Insecticidas (Artículo Aceptado en Revista Bio Ciencias ISSN: 2007-3380).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT UANON



SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias

#### A QUIEN CORRESPONDA: P R E S E N T E.-

Quien suscribe el Dr. Manuel Iván Girón Pérez, Editor de la *Revista Bio Ciencias* (ISSN: 2007-3380) incorporada a los índices: *Web of Science* (Thomson Reuters) DOAJ, IMBAMED y LATINDEX, hace

#### CONSTAR

Que el Artículo titulado "RESISTENCIA METABÓLICA A INSECTICIDAS", de la autoría de *García-Rojas J.C., Robles-Bermúdez A., Cambero-Campos O.J., Corvajal-Cazala C.R. y Peña-Sandriyal, G.R.* actualmente se encuentra en calidad de Artículo Aceptado en proceso de edición para su publicación en la *Revista Bio Ciencias*.

Se extiende la presente a petición de los interesados, para los fines Administrativos que a ellos convengan en la Ciudad de Tepic, Estado de Nayarit, México, a los veintinueve días del mes de noviembre del año dos mil dieciséis.

ATENTAMENTE

  
DR. MANUEL IVAN GIRON PEREZ  
EDITOR DE LA REVISTA BIO CIENCIAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE NAYARIT



SECRETARÍA DE  
INVESTIGACIÓN Y  
POSGRADO

8.2 Caracterización de la Susceptibilidad de Hembras y Machos de *Anastrepha obliqua* Macquart (Diptera: Tephritidae), a Malatión (Artículo enviado a Revista Southwestern Entomologist USPS 324050).



11May17

Estimada Dra. Peña: su manuscrito titulado 'Caracterización de la Susceptibilidad de Hembras y Machos de *Anastrepha obliqua* Macquart (Diptera: Tephritidae), a Malatión' ha sido recibido para revisión de pares en la revista *Southwestern Entomologist*. Dentro de pocas semanas le informaré sobre los comentarios que revisores anónimos le harán a su trabajo.

Sin más por el momento reciba un afectuosos saludo y le agradecemos su interés de publicar su interesante trabajo en nuestra revista.

Atentamente,

*Carlos A. Blanco*

Carlos A. Blanco, Editor asociado

[Carlos.a.blanco@aphis.usda.gov](mailto:Carlos.a.blanco@aphis.usda.gov) / [carlos.blanco1206@gmail.com](mailto:carlos.blanco1206@gmail.com)

Cc. Dr. Bonnie Pendleton, Editor-in-Chief

8.3 Participación como ponente en LI Congreso Nacional de entomología Santiago de Querétaro, México.



La Sociedad Mexicana de Entomología otorga la presente constancia a

**Julio Cesar García Rojas**

por su participación como

**PONENTE**

en el LI Congreso Nacional de Entomología

Santiago de Querétaro, México  
del 19 al 22 de junio de 2016



**Dra. M. Patricia Chaires Grijalva**  
Presidenta de la  
Sociedad Mexicana de Entomología

**Dr. Robert Wallace Jones**  
Presidente del Comité  
Organizador Local



**Dra. Edith Estrada Venegas**  
Presidenta del Comité  
Organizador Nacional





**SENASICA**  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,  
INOCUIDAD Y CALIDAD  
AGROALIMENTARIA




OTORGAN LA PRESENTE  
**CONSTANCIA**

A: Julio César García Rojas

Por el apoyo logístico del Curso-Taller Didáctico  
**Manejo de Plagas y Enfermedades del Aguacatero,**  
celebrado en Tepic, Nayarit del 1-4 de noviembre del 2016

  
MC Carlos Rubén Gervajal Cazola  
Unidad Académica de Agricultura  
Director, UAA

  
Dr. Octavio Jhonathan Cambero Campos  
Cuerpo Académico de Parasitología Agrícola  
Coordinador



# QIAGEN MÉXICO

8.5 Capacitación en q-PCR en Rotor Gene Q

Otorga el presente

## Diploma

a

*Julio César García Rojas*

Por concluir exitosamente su capacitación de la plataforma de PCR en tiempo real "Rotor Gene® Q" llevada a cabo los días 15 y 16 de julio del 2015 en las instalaciones del Centro de Innovación y Transferencia de Tecnología (CENIT) con una duración de 16 horas.



José Manuel Camacho Flores, MSc  
Field Application Specialist - QIAGEN México



## ELSEVIER CERTIFICA QUE:

*JULIO CESAR GARCIA ROJAS*

Asistió al curso de ScienceDirect - Scopus - Mendeley  
con una duración de 2 horas impartido en:

Universidad Autónoma de Nayarit

el día 29 de mayo del 2015

Enka Hdz. Macías

**Customer Marketer**

Latin America North- Research Solutions Sales





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



UNIDAD ACADÉMICA DE AGRICULTURA  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS  
CUERPO ACADÉMICO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Otorgan la presente:

CONSTANCIA

Al **C. Julio Cesar García Rojas**

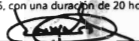
Por su asistencia al  
CURSO-TALLER

***Hongos fitopatógenos de importancia agrícola***

Impartido por el **Dr. Gerardo Leyva Mir**

Celebrado en Xalisco Nayarit, del 6 al 8 de julio del 2015, con una duración de 20 horas

  
M. en C. Jorge Ignacio Peña González

  
M. en C. Carlos Rubén Carvajal Cázola



Universidad Autónoma de Nayarit  
Posgrado en Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
Unidad Académica de Agricultura



Otorga la presente  
**CONSTANCIA**

A: **Biól. Julio César García Rojas**

Por su asistencia a la Primer Conferencia-Taller: **Técnicas de Genotipificación en Plantas** con duración de 40 h, en el marco del ciclo de conferencias "**Biotecnologías Agropecuarias**"

Xalisco, Nayarit del 30 de mayo al 1ro de junio del 2016

MC Carlos Rubén Carvajal Cazola  
Unidad Académica de Agricultura  
Director

MTA Norma Lilián Salván Meza  
Secretaria de Docencia