



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**ESTÍMULOS VISUALES Y QUÍMICOS COMO POTENCIALES ATRAYENTES**  
**DE *Anastrepha obliqua* (MACQUART) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

**GUILLERMO LÓPEZ GUILLÉN**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2008

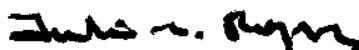
La presente tesis titulada: **ESTÍMULOS VISUALES Y QUÍMICOS COMO POTENCIALES ATRAYENTES DE *Anastrepha obliqua* (MACQUART) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)** realizada por el alumno **GUILLERMO LÓPEZ GUILLÉN**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:

\_\_\_\_\_  
DRA. CELINA LLANDERAL CAZARES



DIRECTOR DE TESIS:

\_\_\_\_\_  
DR. JULIO CÉSAR ROJAS LEÓN



ASESOR:

\_\_\_\_\_  
DR. LEOPOLDO CARIDAD CRUZ LÓPEZ



ASESOR:

\_\_\_\_\_  
DR. JOSÉ LÓPEZ COLLADO

ASESOR:

\_\_\_\_\_  
DR. HÉCTOR GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

## DEDICATORIA

A mi madre Maria Bertha Guillén Morales  
A mi padre Guillermo López Pérez †  
A mis hermanos J. Raquel y Rubén  
A todos mis sobrinos

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme la beca nacional y mixta para la realización de los estudios de doctorado con estancia en Texas A&M University. También deseo agradecer a CONACyT por el financiamiento otorgado a través del programa de apoyo integrales a tesis de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados a través del Instituto de Fitosanidad por la formación recibida.

A El Colegio de la Frontera Sur a través de la línea de investigación de Ecología Química por darme la oportunidad de realizar la investigación en sus instalaciones.

Al Dr. Julio Bernal del Laboratorio de Control Biológico por todas las facilidades otorgadas durante mi estancia en Texas A&M University.

Al Dr. Julio Rojas León por la dirección en el presente trabajo de investigación tanto en la realización de los experimentos como en la escritura de la tesis.

A la Dra. Celina Llanderal por la asesoría y consejos durante la realización de los estudios de doctorado.

A los doctores: Leopoldo Cruz López, José López Collado, Héctor González Hernández por la asesoría brindada en la realización de la tesis.

Al Dr. Jorge Toledo Arreola por la revisión del manuscrito final.

Al Dr. Edi Malo Rivera por la asesoría brindada en algunos experimentos de laboratorio.

Al M. E. Javier Valle Mora por la asesoría prestada en los análisis estadísticos.

Al Q. A. Antonio Santiesteban y al Tec. Armando Virgen por el apoyo en la realización de algunos experimentos y la amistad brindada.

A la M. C. Azucena Oropeza y al Ing. Gustavo Rodas por la ayuda proporcionada en los pedidos de moscas de la fruta a la planta MOSCAFRUT.

Al programa MOSCAFRUT por proporcionar el material biológico para la realización de todos los experimentos.

A la Lic. Ana María Galindo encargada del servicio bibliotecario por el apoyo siempre tan oportuno con el material bibliográfico requerido.

A mis compañeros (as) y amigos (as) del Colegio de Postgraduados y del laboratorio de Ecología Química de ECOSUR.

**ESTÍMULOS VISUALES Y QUÍMICOS COMO POTENCIALES ATRAYENTES  
DE *Anastrepha obliqua* (MACQUART) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

**Guillermo López Guillén, Dr.**

**Colegio de Postgraduados, 2008**

El comportamiento sexual y de búsqueda de hospedera de la mosca de las Indias Occidentales, *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) es mediado por estímulos visuales y químicos. Los análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-EM) de los volátiles liberados por machos durante el llamado sexual permitieron identificar nueve compuestos. La hora del día, la edad, la irradiación, y el apareamiento afectaron la liberación de los compuestos emitidos por los machos. En un estudio de campo en un huerto comercial de mango se encontró que la combinación de volátiles de jobo de pava (VJ) + putrescina (PT) + acetato de amonio (AA) no mejoró las capturas en relación al PT + AA utilizados como testigo. En jaulas de campo se determinó que la respuesta de las moscas a VJ y a la PT + AA fue afectada por el ayuno de azúcar o proteína, respectivamente, además del tiempo de ayuno, la edad y la irradiación. También en jaulas de campo se determinó que los objetos de forma esférica de 8 a 12 cm de diámetro pintados de color verde-lima fueron más atractivos en relación a otros colores, formas y tamaños que fueron evaluados. Las esferas verde-lima de 10 cm de diámetro en combinación con VJ fueron mas atractivas que el testigo.

Las implicaciones de cada uno de los resultados de los diferentes experimentos se discute en función de mejorar las capturas de *A. obliqua* en un contexto de manejo integrado de moscas de la fruta.

**PALABRAS CLAVE:** *Anastrepha obliqua*, feromona sexual, atrayentes.

**VISUAL AND CHEMICAL CUES AS POTENTIAL ATTRACTANTS FOR  
*Anastrepha obliqua* (MACQUART) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

**Guillermo López Guillén, Dr.**

**Colegio de Postgraduados, 2008**

The sexual and host-finding behavior of the West Indian fruit fly, *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) is mediated by visual and chemical cues. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) analyses of the volatile samples showed that calling males released nine components. The release of the major components emitted by calling males was influenced by the time of day, age, irradiation, and mating. The response of *A. obliqua* evaluated using a combination of mombin volatiles (MV) and putrescine (PT) + ammonium acetate (AA) in a commercial orchard of mango was similar to the PT + AA using as control. Field cages experiments showed that sugar deprivation and protein-deprivation of the flies affected its response to MV and PT + AA, respectively. The time of deprivation, age and irradiation also affected the response. Field cages experiments determined that the lime-green, orange, yellow and red color were more attractive than black and white color. In general, the response of *A. obliqua* to tridimensional shape objects was higher than that to flat shapes. Eight to 12 cm diameter lime-green spheres were more attractive to *A. obliqua* than 4 to 6 cm diameter spheres. The interaction between visual and chemical cues improved the response to 10 cm diameter lime-green spheres impregnated with mombin fruit odor *versus* lime-green spheres without host fruit odors.

The implications of these results are discussed to improve the captures of *A. obliqua* in a context of integrate pest management of this fruit flies.

**KEY WORDS:** *Anastrepha obliqua*, sex pheromone, attractants.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA.....	v
CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
<b>CAPITULO 1. Introducción General.....</b>	<b>1</b>
Objetivos.....	2
<b>CAPITULO 2. Revisión de Literatura.....</b>	<b>3</b>
2.1. Importancia de las moscas de la fruta.....	3
2.2. Clasificación del género <i>Anastrepha</i> .....	4
2.3. Posición sistemática y morfología de <i>A. obliqua</i> .....	5
2.3.1. Posición sistemática.....	5
2.3.2. Morfología.....	6
2.4. Ecología, distribución, hospederos y daños de <i>Anastrepha</i> .....	7
2.4.1. Ecología y distribución.....	7
2.4.2. Hospederos y daños.....	8
2.5. Biología, ciclo de vida y comportamiento de <i>Anastrepha</i> spp.....	9
2.5.1. Biología y ciclo de vida de <i>A. obliqua</i> .....	9
2.5.2. Comportamiento de <i>Anastrepha</i> spp.....	10
2.6. Feromonas sexuales y volátiles como atrayentes de <i>Anastrepha</i>	12
2.6.1. Feromonas sexuales en <i>Anastrepha</i> .....	12
2.6.1.1. Compuestos de feromonas sexuales identificados en <i>Anastrepha</i> .....	13
2.6.1.2. Glándulas productoras de feromona en <i>Anastrepha</i> sp.....	16
2.6.2. Atrayentes en <i>Anastrepha</i> .....	17
2.7. Estímulo visual y químico en moscas de la fruta.....	19

2.7.1. Respuesta al color, la forma y el tamaño.....	19
2.7.1.1. Interacción del color, la forma y el tamaño de diferentes objetos.....	22
2.7.2. Respuesta a la interacción del estímulo visual y químico.....	23
<b>CAPITULO 3. Feromona sexual de <i>Anastrepha obliqua</i>: Evidencia, identificación y evaluación de su actividad biológica.....</b>	<b>26</b>
3.1. Introducción.....	26
3.2. Materiales y Métodos.....	27
3.2.1. Material biológico.....	27
3.2.2. Evidencia de una feromona sexual en <i>A. obliqua</i> .....	27
3.2.3. Extracción de las glándulas salivales y del proctodeo...	28
3.2.4. Bioensayos para evaluar la respuesta de hembras a extractos de compuestos volátiles, glándulas salivales, proctodeo y compuestos sintéticos.....	28
3.2.5. Respuesta electrofisiológica de la antena (EAG) de hembras a extractos de compuestos volátiles, glándulas salivales, proctodeo y compuestos sintéticos.....	30
3.2.5.1. Montaje de la antena.....	30
3.2.5.2. Evaluación electrofisiológica.....	30
3.2.6. Identificación de los componentes de la feromona sexual.....	31
3.2.6.1. Colecta de volátiles.....	31
3.2.6.2. Análisis químico.....	32
3.3. Resultados.....	33
3.3.1. Evidencia de la feromona sexual.....	33
3.3.2. Respuesta a extractos de compuestos volátiles, glándulas salivales, proctodeo y compuestos sintéticos.....	34
3.3.3. Respuesta electrofisiológica a extractos de compuestos volátiles, glandulares y compuestos sintéticos.....	36

3.3.4. Identificación de los componentes de la feromona sexual.....	38
3.4. Discusión.....	41
<b>CAPITULO 4. Factores que afectan la liberación de compuestos feromonales en el macho de <i>Anastrepha obliqua</i>.....</b>	<b>44</b>
4.1. Introducción.....	44
4.2. Materiales y Métodos.....	45
4.2.1. Material biológico.....	45
4.2.2. Colecta de volátiles.....	45
4.2.3. Protocolo experimental.....	45
4.2.3.1. Hora del día.....	45
4.2.3.2. Edad.....	46
4.2.3.3. Irradiación.....	46
4.2.3.4. Apareamiento.....	46
4.2.3.5. Presencia de hospedero.....	46
4.2.4. Análisis químico.....	47
4.2.5. Análisis estadístico.....	47
4.3. Resultados.....	48
4.3.1. Hora del día.....	48
4.3.2. Edad.....	49
4.3.3. Irradiación.....	50
4.3.4. Apareamiento.....	50
4.3.5. Presencia de hospedero.....	52
4.4. Discusión.....	52
<b>CAPITULO 5. Respuesta de <i>Anastrepha obliqua</i> a atrayentes derivados de volátiles frutales y proteicos en campo.....</b>	<b>57</b>
5.1. Introducción.....	57
5.2. Materiales y Métodos.....	58
5.2.1. Área de estudio.....	58
5.2.2. Tratamientos y diseño experimental.....	58
5.2.3. Análisis estadístico.....	59

5.3. Resultados.....	59
5.4. Discusión.....	59
<b>CAPITULO 6. Influencia de la dieta, el apareamiento, la edad, la irradiación y el tiempo de ayuno de azúcar, en la respuesta de <i>Anastrepha obliqua</i> a dos tipos de atrayentes.....</b>	<b>63</b>
6.1. Introducción.....	63
6.2. Materiales y Métodos.....	64
6.2.1. Material biológico.....	64
6.2.3. Jaulas de campo.....	64
6.2.4. Efecto de la dieta y el apareamiento.....	65
6.2.5. Efecto de los días de ayuno de azúcar.....	66
6.2.6. Efecto de la edad y la dieta.....	66
6.2.7. Efecto de la irradiación, la dieta y el apareamiento.....	67
6.3. Resultados.....	68
6.3.1. Efecto de la dieta y el apareamiento.....	68
6.3.2. Efecto de los días de ayuno de azúcar.....	70
6.3.3. Efecto de la edad y la dieta.....	71
6.3.4. Efecto de la irradiación, la dieta y el apareamiento.....	74
6.4. Discusión.....	76
<b>CAPITULO 7. Respuesta de <i>Anastrepha obliqua</i> a estímulos visuales y químicos en condiciones seminaturales.....</b>	<b>81</b>
7.1. Introducción.....	81
7.2. Materiales y Métodos.....	82
7.2.1. Material biológico.....	82
7.2.2. Determinación del color, la forma y el tamaño de objetos para la captura de <i>A. obliqua</i> .....	82
7.2.2.1. Evaluación de la respuesta de <i>A. obliqua</i> con esferas de diferente color.....	82
7.2.2.2. Evaluación de la respuesta de <i>A. obliqua</i> a objetos de diferente forma.....	83

7.2.2.3. Evaluación de la respuesta de <i>A. obliqua</i> a esferas de diferente tamaño.....	83
7.2.2.4. Evaluación de la respuesta de <i>A. obliqua</i> a la combinación de estímulos visuales y olores de su hospedero.....	84
7.2.2.5. Análisis estadístico.....	85
7.3. Resultados.....	85
7.3.1. Respuesta de <i>A. obliqua</i> a esferas de diferente color....	85
7.3.2. Respuesta de <i>A. obliqua</i> a objetos de diferente forma...	86
7.3.3. Respuesta de <i>A. obliqua</i> a esferas de diferente tamaño.	87
7.3.4. Respuesta de <i>A. obliqua</i> a la combinación de estímulos visuales y olores de su hospedero.....	87
7.4. Discusión.....	89
<b>CAPÍTULO 8. Discusión General.....</b>	<b>92</b>
<b>CAPÍTULO 9. Conclusiones Generales.....</b>	<b>96</b>
<b>CAPÍTULO 10. Literatura Citada.....</b>	<b>98</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
2.1	Algunas plantas hospederas de <i>A. obliqua</i> .....	8
2.2	Compuestos de feromonas sexuales identificados en el género <i>Anastrepha</i> spp.....	14
2.3	Principales atrayentes sexuales y alimenticios usados para la detección y/o monitoreo de moscas de la fruta.....	19
3.1	Compuestos volátiles liberados durante el llamado de los machos de <i>A. obliqua</i> .....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	(A) Glándula salival y (B) ámpula anal del macho de <i>A. obliqua</i> ..	17
3.1	Respuesta promedio ( $\pm$ EE) de hembras y machos hacia tres tratamientos: machos, hembras y hembras + machos. Los valores seguidos por la misma letra en cada barra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, $P > 0.05$ ).....	33
3.2	Número de hembras promedio ( $\pm$ EE) que respondieron a los extractos colectados de diferente cantidad de machos. M = machos. Las barras marcadas con ** y *** indican diferencias significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P < 0.01$ y $P < 0.001$ , respectivamente) y las marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P > 0.05$ ).....	34
3.3	Número de hembras promedio ( $\pm$ EE) que respondieron a los extractos del proctodeo (EP) vs testigo (hexano) y glándulas salivales (EGS) vs EP. Las barras marcadas con * indican diferencias significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P < 0.05$ ) y las marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P > 0.05$ ).....	35
3.4	Número de hembras promedio ( $\pm$ EE) que respondieron a los compuestos sintéticos: (Z)-3-nonenol, farnesenos, (Z)-3-nonenol + farnesenos y el testigo (hexano). Las barras marcadas con * indican diferencias significativas (prueba de <i>t</i> -indican diferencias no significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P > 0.05$ ).....	35
3.5	Respuesta antenal (mV) ( $\pm$ EE) a los extractos colectados de diferente cantidad de machos. M = machos. Los valores seguidos por la misma letra en cada barra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, $P > 0.05$ ).....	37

3.6	Respuesta antenal (mV) ( $\pm$ EE) a Respuesta antenal (mV) ( $\pm$ EE) a los extractos de la glándula salival y proctodeo. Los valores seguidos por la misma letra en cada barra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, $P > 0.05$ ).....	37
3.7	Respuesta antenal (mV) ( $\pm$ EE) a los compuestos sintéticos: (Z)-3-nonenol, farnesenos y (Z)-3-nonenol + farnesenos. En la barra de cada compuesto, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, $P > 0.05$ ).....	38
3.8	Espectro de masas de los volátiles desconocidos liberados durante el llamado de los machos de <i>A. obliqua</i> . Pico 2 (A); pico 6 (B); pico 7 (C); pico 8 (D).....	39
3.9	Cromatograma de los volátiles emitidos por machos de <i>A. obliqua</i> , colectados por aireación dinámica durante el llamado. Cada pico representa un compuesto: pico 1, (Z)-3-nonenol; pico 2, tridecano (estándar interno); pico 3, (Z,E)- $\alpha$ -farneseno; pico 4, (E,E)- $\alpha$ -farneseno; y pico 5, compuesto no identificado.....	40
3.10	Cromatograma de los volátiles emitidos por machos de <i>A. obliqua</i> , colectados por fase sólida durante el llamado. De izquierda a derecha: limoneno, (Z)-3-nonenol, $\beta$ -farneseno, (Z,E)- $\alpha$ -farneseno, (E,E)- $\alpha$ -farneseno y compuesto no identificado.....	40
3.11	Cromatograma de las glándulas salivales de machos de <i>A. obliqua</i> . De izquierda a derecha (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y (E,E)- $\alpha$ -farneseno.....	41
3.12	Cromatograma del proctodeo de machos de <i>A. obliqua</i> con presencia de (Z)-3-nonenol.....	41

4.1	Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos de <i>A. obliqua</i> a diferente hora del día. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar, $n= 12$ . En la barra de cada compuesto los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Bonferroni, $P < 0.003$ ).....	49
4.2	Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos de <i>A. obliqua</i> de diferente edad, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar, $n= 8$ . En la barra de cada compuesto los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Bonferroni, $P < 0.001$ ).....	50
4.3	Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos irradiados y fértiles de <i>A. obliqua</i> , colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar, $n= 8$ . Las barras marcadas con ** y ***indican diferencias significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P < 0.01$ y $P < 0.001$ ).....	51
4.4	Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por machos vírgenes y por machos de <i>A. obliqua</i> con 24 h después del apareamiento, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar, $n= 8$ . Las barras marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P > 0.05$ ).....	51
4.5	Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos vírgenes y recién apareados de <i>A. obliqua</i> , colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar, $n= 8$ . Las barras marcadas con * y ** indican diferencias significativas y altamente significativas, respectivamente (prueba de <i>t</i> -Student, $P < 0.00$ y $P < 0.05$ ).....	52

4.6	Cantidad promedio de los compuestos volátiles liberados por los machos de <i>A. obliqua</i> en presencia y ausencia de fruto hospedero, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar, $n= 8$ . Las barras marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de <i>t</i> -Student, $P > 0.05$ ).....	53
5.1	Captura de moscas/trampa/día ( $\pm$ EE) de <i>A. obliqua</i> utilizando trampas <i>Multilure</i> cebadas con diferentes atrayentes. PH, proteína hidrolizada; PT, putrescina; AA, acetato de amonio y VJ, volátiles de jobo de pava. Las barras con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey, $P > 0.05$ ).....	61
6.1	Captura promedio ( $\pm$ EE) de <i>A. obliqua</i> de ambos sexos en trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente frutal (VJ) y con un atrayente proteico (PT+AA). MAPSA = moscas apareadas con ayuno de azúcar; y MVPSA = moscas vírgenes con ayuno de azúcar. Las barras marcadas con *** indican diferencias altamente significativas (prueba de G, $P < 0.001$ ).....	69
6.2	Captura promedio ( $\pm$ EE) de hembras y machos de <i>A. obliqua</i> en trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente frutal (VJ) y con un atrayente proteico (PT+AA). MAASP = moscas apareadas con ayuno de proteína; y MVASP = moscas vírgenes ayuno de proteína. Las barras marcadas con *** indican diferencias altamente significativas (prueba de G, $P < 0.001$ ).....	69
6.3	Captura promedio ( $\pm$ EE) de <i>A. obliqua</i> en trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente frutal (VJ) y con un atrayente proteico (PT+AA). MA = moscas apareadas ayunadas de azúcar o de proteína y MV = moscas vírgenes ayunadas de azúcar o de proteína. Las barras marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de $X^2$ , $P > 0.05$ ).....	70

6.4	<p>Capturas promedio (<math>\pm</math> EE) de <i>A. obliqua</i> con trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente frutal (VJ) o uno proteico (PT+AA). MAPSA-1d = moscas apareadas con ayuno de azúcar durante un día; MAPSA-2d = moscas apareadas con ayuno de azúcar durante dos días; MVPSA-1d = moscas vírgenes con ayuno de azúcar durante un día; y MVPSA-2d = moscas vírgenes con ayuno de azúcar durante dos días. Las barras marcadas con *** indican diferencias altamente significativas (ANDEVA, <math>P &lt; 0.001</math>), comparando moscas apareadas privadas de azúcar por 1 día vs 2 días y moscas vírgenes privadas de azúcar 1 día vs 2 días.....</p>	71
6.5	<p>Capturas promedio (<math>\pm</math> EE) de ambos sexos de <i>A. obliqua</i> con ayuno de azúcar, utilizando trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente proteico (PT+AA) y un atrayente frutal (VJ). Las líneas de los errores estándar de cada edad y atrayente con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &gt; 0.05</math>).....</p>	73
6.6	<p>Capturas promedio (<math>\pm</math> EE) de hembras <i>A. obliqua</i> con ayuno de proteína, utilizando trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente proteico (PT+AA) y un atrayente frutal (VJ). Las líneas de los errores estándar de cada edad y atrayente con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &gt; 0.05</math>).....</p>	73
6.7	<p>Capturas promedio (<math>\pm</math> EE) de machos <i>A. obliqua</i> con ayuno de proteína, utilizando trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente proteico (PT+AA) y un atrayente frutal (VJ). Las líneas de los errores estándar de cada y atrayente con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &gt; 0.05</math>).....</p>	74

6.8	<p>Captura promedio (<math>\pm</math> EE) de <i>A. obliqua</i> en trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente frutal (VJ) o un atrayente proteico (PT+AA). MfAPSA y MiAPSA = moscas apareadas fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de azúcar; MfVPSA y MiVPSA = moscas vírgenes fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de azúcar. En la barra de cada tratamiento las comparaciones son entre moscas fértiles <i>versus</i> irradiadas con el mismo estado fisiológico, en donde los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &lt; 0.05</math>).....</p>	75
6.9	<p>Captura promedio (<math>\pm</math> EE) de <i>A. obliqua</i> en trampas <i>Multilure</i> cebadas con un atrayente frutal (VJ) o un atrayente proteico (PT+AA). MfAASP y MiAASP = moscas apareadas fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de proteína; y MfVASP y MiVASP = moscas vírgenes fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de proteína. En la barra de cada tratamiento las comparaciones son entre moscas fértiles <i>versus</i> irradiadas con el mismo estado fisiológico, en donde los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &lt; 0.05</math>).....</p>	75
7.1	<p>Capturas promedio (<math>\pm</math> EE) de ambos sexos de <i>A. obliqua</i> con esferas pintadas de diferentes colores. En la barra de cada color, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &gt; 0.05</math>).....</p>	86
7.2	<p>Capturas promedio (<math>\pm</math> EE) de ambos sexos de <i>A. obliqua</i> con esferas de diferentes forma. En la barra de cada forma, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, <math>P &gt; 0.05</math>).....</p>	87

7.3	Capturas promedio ( $\pm$ EE) de ambos sexos de <i>A. obliqua</i> con esferas de diferentes diámetro. En la barra de cada diámetro de la esfera, los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, $P < 0.05$ ).....	88
7.4	Capturas promedio ( $\pm$ EE) de ambos sexos de <i>A. obliqua</i> con esferas cebadas con volátiles de jobo de pava (VJ) y hexano (testigo). En la barra de cada tratamiento, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey, $P > 0.05$ ).....	88

# CAPÍTULO 1

## Introducción General

Las moscas de la fruta incluyen algunas especies plaga que ocasionan pérdidas económicas por concepto de daños en la producción de frutales, costos en los programas de monitoreo y control, e implementación de medidas cuarentenarias (Fletcher y Kitching, 1995; Landolt y Averill, 1999). Dichas plagas tienen características ecológicas y de comportamiento relevantes que han servido de modelo para el desarrollo de teorías generales en sistemas de apareamiento, fisiología de marcaje de huéspedes e interacción de la longevidad y fertilidad (Aluja, 1994; Vaupel *et al.*, 1998).

Dentro del género *Anastrepha* se conocen alrededor de 184 especies, siete de las cuales se consideran las de mayor importancia económica: *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann), *Anastrepha grandis* (Macquart), *Anastrepha ludens* Loew, *Anastrepha obliqua* (Macquart), *Anastrepha serpentina* (Wiedemann), *Anastrepha striata* Schiner y *Anastrepha suspensa* (Loew) (Aluja *et al.*, 1989; Aluja, 1994). La mosca de la Indias Occidentales, *A. obliqua*, es la segunda especie de importancia agrícola en México, después de *A. ludens*. Tiene como huésped principal a frutos del género *Spondias*, aunque los daños económicos más importantes los provoca en mango (*Mangifera indica* L.), debido a la importancia comercial de este cultivo y en menor frecuencia ataca a otras especies frutales como chicozapote (*Achras zapota* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) (Norrbom y Kim, 1988; Enkerlin *et al.*, 1989; Hernández-Ortiz, 1992).

El manejo integrado de esta especie se lleva a cabo a través de diferentes estrategias de combate que además del monitoreo y la técnica del macho estéril, incluyen los controles: legal, mecánico, cultural, químico y biológico (Aluja, 1993; Toledo, 1993; Aluja, 1994; Montoya y Cancino, 2004). El monitoreo de *A. obliqua*, se realiza con trampas McPhail cebadas con proteína hidrolizada o putrescina más acetato de amonio (Steyskal, 1977; Heath *et al.*, 1995; Thomas *et al.*, 2001) que aunque han tenido éxito en los programas de monitoreo, tienen la desventaja de no

ser específicos para *A. obliqua*. La feromona sexual y los atrayentes de frutos hospederos ofrecen una alternativa para incrementar la eficiencia del sistema de monitoreo e iniciar las medidas de manejo en tiempo y forma oportuna.

Los resultados de la búsqueda de nuevos atrayentes muestran que los volátiles de un fruto hospedero, el jobo de pava (*Spondias mombin* L.), son atractivos a hembras y machos de *A. obliqua* (Rojas *et al.*, 2004; Cruz-López *et al.*, 2006). Sin embargo, no se conoce cómo interaccionan en combinación con atrayentes proteicos y qué factores intrínsecos de las moscas condicionan su uso. Por otra parte, la feromona sexual de *A. obliqua* es una herramienta potencial para el monitoreo y control de este insecto, pero primero se deben identificar sus componentes y los factores que afectan su liberación. También es relevante establecer el color, la forma y el tamaño de los objetos que son atractivos para *A. obliqua*, con el fin de encontrar un diseño de trampa específico para este insecto. Para conocer los componentes de la feromona sexual y el efecto de los estímulos visuales y químicos como atrayentes potenciales de *A. obliqua* se plantearon los siguientes objetivos:

- Evidenciar, identificar y evaluar electrofisiológica y comportamentalmente la feromona sexual por medio de cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), electroantenografía (EAG) y olfatómetros.
- Determinar los factores que afectan la liberación de compuestos feromonales por medio de CG-EM.
- Conocer la interacción de los volátiles del fruto de jobo de pava y atrayentes proteicos en la respuesta de *A. obliqua* en condiciones de campo.
- Estudiar los factores intrínsecos que afectan la respuesta de *A. obliqua* a los volátiles del fruto de jobo de pava en jaulas de campo.
- Conocer la interacción del estímulo químico (volátiles de jobo de pava) y del visual (tamaño, color, forma) durante la localización del hospedero de *A. obliqua*.

## CAPITULO 2

### Revisión de Literatura

#### 2.1. Importancia de las moscas de la fruta

La familia Tephritidae incluye especies de gran importancia económica en todo el mundo debido a la fitofagia que presentan sus estados larvarios (Hernández-Ortiz, 1997b). En esta familia se ubica el género *Anastrepha*, que agrupa a algunas de las plagas de frutales más dañinas en Latinoamérica. Aunque existen pocos reportes concretos sobre las pérdidas económicas que ocasionan en la producción, se calculan en alrededor de 25%, pero la cifra varía dependiendo de las especies de *Anastrepha*, cultivos, época del año y otros factores. Existen áreas tropicales en donde estos insectos pueden infestar más del 80% de los hospederos si no se aplican medidas de control. Los cultivos más importantes que son afectados son los cítricos y el mango. En Jamaica se estima que en plantaciones de un millón de árboles de mango, con una densidad de plantas de 173 árboles/ha se registran pérdidas anuales hasta de 25% ocasionadas por dicha plaga, que equivalen a \$ 5.5 millones USD (Enkerlin *et al.*, 1989). En México las cuatro especies de moscas de la fruta de mayor importancia económica y cuarentenaría son: *A. ludens*, *A. obliqua*, *A. serpentina* y *A. striata*, que causan daños por un monto de \$ 710 millones USD por año. En adición a este costo, existen otros gastos relacionados con las acciones de control de la plaga y las pérdidas de mercados internacionales por restricciones cuarentenarias (Reyes *et al.*, 2000).

Probablemente *A. obliqua* es la segunda especie de *Anastrepha* más importante en México, después de *A. ludens*, porque tiene como hospedante principal al mango, un cultivo muy importante para el mercado local y de exportación. En Chiapas, México y en Jamaica esta plaga, es la más abundante en el cultivo de mango y jobo (*Spondias* spp.), aunque también se reporta que ataca a algunas especies de cítricos, guayaba y poma rosa (Enkerlin *et al.*, 1989). *A. obliqua* es la especie más abundante de *Anastrepha* en las Indias Occidentales y una de las más abundantes

en Panamá, así como la mayor plaga del mango en los países tropicales y con frecuencia es interceptada en otras frutas procedentes de varios países que exportan a EUA (Steck, 2001; Weems *et al.*, 2001).

En virtud de la importancia económica del género *Anastrepha* en México existen dos normas oficiales mexicanas: la NOM-023-FITO-1995 (1999) y la NOM-075-FITO-1997 (1998), que tienen como finalidad disminuir los problemas fitosanitarios ocasionados por las moscas de la fruta. En la primera se establece la campaña nacional contra moscas de la fruta con el objetivo de que se reconozcan huertos temporalmente libres, zonas de baja prevalencia y zonas libres de las especies *A. ludens*, *A. obliqua*, *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 norma se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta.

## **2.2. Clasificación del género *Anastrepha***

Las especies de la familia Tephritidae constituyen el grupo más grande de los Tephritoidea con alrededor de 4200 especies descritas en cerca de 500 géneros (Foote *et al.*, 1993). Presentan una amplia distribución, con mayor diversidad en las regiones tropicales y subtropicales. Sus especies presentan hábitos fitófagos, debido a que se alimentan de una gran variedad de tejidos vivos de las plantas, tales como frutos, semillas, flores, tallos y raíces (Christenson y Foote, 1960).

El género *Anastrepha* es el grupo más diverso de los tefrítidos nativos de América, con 185 especies descritas a la fecha (Hernández-Ortiz y Aluja, 1993). Este género es endémico del nuevo mundo y está restringido a regiones tropicales y subtropicales, en las cuales quedan ubicadas parte de Norteamérica, Centro y Sudamérica y en casi todas las islas del Caribe (Aluja, 1994). Su clasificación se sustenta en un análisis morfológico que incluye características estructurales y de patrones de coloración del cuerpo, así como características de las genitalias en ambos sexos (Hernández-Ortiz, 1997a).

Las moscas de la fruta representan un grupo muy diverso, por lo que para la descripción de nuevas especies se usa la combinación de criterios, tales como

morfología, citogénesis, estudios isoenzimáticos, análisis molecular (DNA) y conocimientos avanzados de ecología y comportamiento de grupo (Han y McPheron, 2000; Korneyev, 2000; Norrbom *et al.*, 2000). En la actualidad muchos países utilizan técnicas moleculares de diagnóstico rápido en la aplicación de cuarentenas, las cuales evitan la entrada de larvas de tefrítidos que son difíciles de caracterizar morfológicamente. Una técnica que se emplea comúnmente es el análisis de reacción en cadena polimerasa con restricción del polimorfismo de la longitud de fragmento (PCR-RFLP), la cual consiste en la amplificación del DNA ribosomal (rDNA) para la identificación exacta de la especie de mosca de la fruta bajo cuarentena (Armstrong *et al.*, 1997).

### **2.3. Posición sistemática y morfología de *A. obliqua***

#### **2.3.1. Posición sistemática**

*A. obliqua* fue descrita originalmente por Seín en 1933 como una variedad de *A. fraterculus* (Weems *et al.*, 2001). Esta especie también fue conocida como *Acrotoxa obliqua* (Macquart), *A. fraterculus* var. *ligata* Lima, *A. fraterculus* var. *mombinpraeoptans* Seín, *A. mombinpraeoptans* Seín, *A. trinidadensis* Greene, *Tephritis obliqua* Macquart y *Trypeta obliqua* (Macquart). En adición, más registros de *A. acidusa* (Walker) se basaron en identificaciones mal realizadas de esta especie (White y Elson-Harris, 1992). La especie *A. obliqua* se ha conocido ampliamente por su sinonimia *A. mombinpraeoptans* Seín, o una variedad de la especie neotropical continental, *A. fraterculus*, y es una de las especies estrechamente relacionadas de *Anastrepha* (Weems, 1970; Weems *et al.*, 2001). La sinonimia de *A. obliqua* es la siguiente:

*Anastrepha fraterculus* var. *mombinpraeoptans* Seín

*Anastrepha mombinpraeoptans* Seín

*Anastrepha acidusa* authors (not Walker)

*Anastrepha trinidadensis* Greene

*Anastrepha ethalea* Greene (not Walker)

*Anastrepha fraterculus* var. *ligata* Costa Lima

*Acrotoxa obliqua* (Macquart)

*Tephritis obliqua* Marquart

*Trypeta obliqua* (Macquart)

La posición sistemática de *A. obliqua*, según Borror *et al.* (1981) y White y Elson-Harris (1992) es la siguiente:

Phylum: Artropoda

Clase: Insecta

Subclase: Holometabola

Orden: Diptera

Suborden: Ciclorrapha

Superfamilia: Tephritoidea

Familia: Tephritidae

Subfamilia: Trypetinae

Tribu: Toxotrypanini

Género: *Anastrepha*

Especie: *Anastrepha obliqua*

### **2.3.2. Morfología**

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. El mesonoto tiene una longitud de 2.6 a 3.3 mm de color amarillo-naranja, con una franja central ensanchándose posteriormente y con otras dos franjas laterales que inician poco antes de la sutura transversal al escutelum, que es de color amarillo pálido, sin mancha en la parte media de la sutura escuto-escutelar; el metanoto es amarillo naranja y con dos manchas negras a los lados; vellosidades del tórax color café oscuro, excepto sobre la franja central donde son amarillo pálido. El ala tiene una longitud de 5.85 a 7.5 mm con bandas de color café, naranja y amarillo, las bandas en S y costal tocándose en la vena R4 + 5, la banda en V completa y por lo general unida a la banda en S. La vaina del ovipositor de la hembra tiene una longitud de 1.6 a 1.9 mm. El ovipositor con una longitud de 1.3 a 1.6 mm es moderadamente fuerte, con la base más amplia que la parte terminal, la cual finaliza en una punta afilada con dos, tres o más

dientecillos agudos en la parte apical (Aluja, 1993; Caraballo 2001; Weems *et al.*, 2001).

## **2.4. Ecología, distribución, hospederos y daños de *Anastrepha***

### **2.4.1. Ecología y distribución**

El género *Anastrepha* tiene una distribución neotropical, con una presencia menor en el norte del continente, debido principalmente a factores ecológicos y geográficos que limitan su distribución. Los límites de la región Neotropical al norte del continente se localizan en regiones de México y sur de EE. UU, un área de menor diversidad de especies comparada con Sudamérica (Hernández-Ortiz, 1997a; Hernández-Ortiz y Aluja, 1993). En México, las especies de *Anastrepha* se distribuyen mayormente en las planicies costeras de ambos litorales en relación con el Altiplano mexicano, debido a que esta región está delimitada por cadenas montañosas con climas y vegetación distintos (Hernández-Ortiz, 1992).

La tasa de desarrollo de los estados inmaduros está determinada en gran medida por los factores ambientales, tales como la temperatura y el sustrato de alimentación. Con frecuencia las larvas mueren por sobrecalentamiento del fruto, enfermedades de tipo bacteriano, depredadores y parasitoides que logran atacar hasta al 80% de la población nativa. El estado de pupa es influenciado por el pH y el tipo de suelo, debido a que dependen de la compactación y humedad de éste, además por el parasitismo, la depredación y las infecciones de microorganismos (Aluja, 1993, 1994). Después de la emergencia, los adultos se mueven a un refugio seguro para desdoblarse y secar sus alas, pasando por un periodo de maduración antes de presentar actividad sexual, durante el cual necesitan alimentarse regularmente de carbohidratos y agua para sobrevivir, además de consumir proteínas que les permitan la maduración de sus gónadas (Fontellas y Zucoloto, 1999). Los adultos presentan una mortalidad por diversos agentes, entre los que sobresalen los factores abióticos: alimento, temperatura, humedad e inclemencias climáticas; por ejemplo, Celedonio-Hurtado (1997) reporta que la lluvia tiene cierto efecto negativo en la abundancia de las capturas de moscas de la fruta. Dentro de los factores bióticos destacan el parasitismo, las enfermedades y la depredación (Aluja, 1993).

Las especies polífagas tales como: *A. fraterculus*, *A. ludens*, *A. obliqua*, *A. serpentina*, *A. striata* y *A. suspensa*, representan el 3.4% de todas las especies del género *Anastrepha*. Las especies restantes están clasificadas como oligófagas o monófagas. Las especies polífagas de este género tienen al mismo tiempo preferencias marcadas por ciertos hospederos nativos de taxa particulares, por ejemplo, *A. suspensa*, *A. fraterculus* y *A. striata* tienen preferencia por especies de la familia Myrtaceae, *A. ludens* por la familia Rutaceae, *A. serpentina* por la familia Sapotaceae y *A. obliqua* por las especies de la familia Anacardiaceae (Hernández-Ortiz, 1997b).

#### 2.4.2. Hospederos y daños

Las larvas de esta especie se alimentan de la pulpa del fruto hospedero y conforme crecen y se alimentan elaboran una serie de galerías en la pulpa del fruto, que al oxidarse favorece la proliferación de bacterias y de otros microorganismos que pudren a la fruta, creando zonas necróticas, fibrosas y endurecidas de color café oscuro o negro (Aluja, 1993; Liedo, 1997).

*A. obliqua* es una especie polífaga que tiene gran variedad de plantas hospederas, tanto comerciales como silvestres (Eskafi y Cunningham, 1987; Norrbom y Kim, 1988; White y Elson-Harris, 1992; Aluja, 1987; Aluja, 1993) (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Algunas plantas hospederas de *A. obliqua* (adaptado de White y Elson-Harris, 1992).

Nombre común	Nombre científico	Familia
Mango	<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae
Almendro	<i>Prunus dulcis</i>	Rosaceae
Café árabe	<i>Coffea arabica</i>	Rubiaceae
Zapote negro	<i>Diospyros dygina</i>	Ebenaceae
Carambola	<i>Averrhoa carambola</i>	Oxalidaceae
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i>	Anacardiaceae
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae
Granadilla gigante	<i>Passiflora quadrangularis</i>	Passifloraceae
Toronja	<i>Citrus x paradisi</i>	Rutaceae
Zapote verde	<i>Pouteria viridis</i>	Sapotaceae
Jobo de pava	<i>Spondias mombin</i>	Anacardiaceae
Huesito	<i>Malpighia glabra</i>	Malpighiaceae

Cuadro 2.1. Continuación...

<b>Nombre común</b>	<b>Nombre científico</b>	<b>Familia</b>
Ciruela japonesa	<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae
Ciruela judía	<i>Spondias cytherea</i>	Anacardiaceae
Ketembilla	<i>Dovyalis hebecarpa</i>	Flacurtiaceae
Níspero	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae
Manzana malaya	<i>Syzygium malaccense</i>	Myrtaceae
Pera	<i>Pyrus communis</i>	Rosaceae
Ramón	<i>Brosimum alicastrum</i>	Moraceae
Jocote rojo	<i>Spondias purpurea</i>	Anacardiaceae
Pomarrosa	<i>Syzygium jambos</i>	Myrtaceae
Chicozapote	<i>Manilkara zapota</i>	Sapotaceae
Zapote	<i>Pouteria sapota</i>	Sapotaceae
Naranja agria	<i>C. aurantium</i>	Rutaceae
Guayaba fresa	<i>Psidium littorale</i>	Myrtaceae
Lima dulce	<i>C. limetta</i>	Rutaceae
Naranja dulce	<i>C. sinensis</i>	Rutaceae

## 2.5. Biología, ciclo de vida y comportamiento de *Anastrepha* spp

### 2.5.1. Biología y ciclo de vida de *A. obliqua*

Las moscas de la fruta son insectos frugívoros que depositan sus huevos en la región del epicarpio o mesocarpio del fruto hospedero maduro. La mosca del ciruelo *A. obliqua*, pasa la mayor parte de su ciclo de vida en estado inmaduro, dañando a los frutos (Aluja, 1993). Según Aluja (1994) el ciclo de vida en todas las especies de *Anastrepha* es similar. En la mayoría de las especies, la hembra deposita sus huevos en el epicarpio o en el mesocarpio del fruto huésped maduro y algunas ovipositan en las semillas. De acuerdo a las especies, los huevos pueden ser depositados de manera individual o en paquetes. En el caso de *A. obliqua* deposita un huevo por ovipostura, mientras que *A. grandis* puede depositar racimos con más de 110 huevos (Celedonio-Hurtado *et al.*, 1988). La larva pasa por tres instares antes de abandonar el fruto y pupar en el suelo, aunque en ocasiones pupa en el fruto hospedero. La larva de la mayoría de las especies se alimenta exclusivamente de la pulpa de la fruta, aunque varias especies lo hacen de tallos, yemas y semillas (Aluja, 1994).

Los huevos de *A. obliqua* tienen un tiempo de desarrollo de aproximadamente tres días a una temperatura de 26°C y 65% de humedad relativa (Celedonio-Hurtado *et al.*, 1988). El hospedero juega un papel importante, tanto en el tiempo de desarrollo larvario como en la supervivencia. En *A. obliqua*, el tiempo de desarrollo

generalmente es menor a 10 días. El desarrollo de las pupas parece ser independiente del hospedero, siendo éste de 13 a 15 días. Los adultos tienen una expectativa de vida promedio de 79 días y a los 140 días todavía sobrevive un 10% de los individuos, algunos de ellos pueden alcanzar hasta 170 días de vida. *A. obliqua* presenta un periodo de reproducción de 33 días, durante el que oviposita 14.9 huevos por día. Las hembras ponen huevos durante 58% de los días de vida adulta que tienen. Entre las cuatro y seis semanas después de la emergencia oviposita el mayor número de huevos, después disminuye paulatinamente. Se ha observado una relación entre el tamaño y la fecundidad de éstas, las hembras de mayor peso depositan entre 30 y 40 huevos por día, mientras que las de menor tamaño entre 20 y 30 huevos. Esta especie deposita un solo huevo por ovipostura, lo cual al parecer está en función del hospedero. En general *A. obliqua* tiene una expectativa de vida corta, con una tasa intrínseca de incremento alta y por lo tanto un tiempo breve para duplicar su población, por lo que se puede considerar como una especie con alta capacidad para colonizar (Liedo, 1997). En lo que respecta a la relación de sexos (hembra: macho), en moscas criadas en mango es de 1: 1.09 y en jobo de pava es de 1: 1.17 (Toledo y Lara, 1996).

### **2.5.2. Comportamiento de *Anastrepha* spp**

Tres aspectos importantes a considerar en el estudio de especies de *Anastrepha* son el comportamiento de alimentación, oviposición y apareamiento (Aluja *et al.*, 2000).

El comportamiento de alimentación involucra varias modalidades, como la pizca, la succión, el burbujeo y la regurgitación del alimento (Aluja *et al.*, 1993). Existen variantes en los patrones de alimentación de las moscas, dependiendo de la especie y de las condiciones ambientales. En el caso de *A. obliqua* se ha observado que las hembras se alimentan por la mañana entre las 1000 y 1500 horas (Aluja y Birke, 1993). Otro hecho importante en el comportamiento de alimentación del género *Anastrepha*, es que muchas especies pueden utilizar el mismo fruto hospedero compitiendo por el recurso, tal es el caso de *A. ludens* y *A. obliqua* que infestan a *M. indica* (Aluja *et al.*, 2000).

El comportamiento de oviposición de las moscas del género *Anastrepha* tiene patrones estereotipados que incluyen los siguientes pasos: arribar al fruto, examinar e insertar el ovipositor para depositar huevos o marcar al hospedero. La probabilidad de inserción del ovipositor después del aterrizaje depende de varios factores, tales como el tipo de hospedero (primario vs. secundario), la calidad de la fruta (por ejemplo, el grado de madurez) y la evidencia del uso del fruto hospedero por conespecíficos (presencia de feromona de marcaje) (Aluja *et al.*, 2000). Se ha encontrado que las hembras *A. obliqua* empiezan a ovipositar a partir de las 0700 horas (Aluja y Birke, 1993); después de esta actividad secretan una feromona de marcaje sobre el sitio donde depositaron sus huevos, para que sus conespecíficos busquen otro sitio de oviposición (Aluja *et al.*, 2000).

En programas de liberación de machos estériles, el comportamiento de apareamiento de *Anastrepha* es muy importante, por lo que éste ha sido objeto de estudio para entender la interacción competitiva macho-macho y el criterio de selección de pareja de la hembra (Moreno *et al.*, 1991; Mangan *et al.*, 1992). Según Aluja *et al.* (2000), los sistemas de apareamiento de las especies de *Anastrepha* son complejos y comúnmente incluyen machos territoriales, agregados en algún grado para formar "leks". Además de las emisiones de feromona desde la glándula pleural y la invaginación de las membranas del ano, el apareamiento incluye diversos eventos, como son: el depósito de feromona en hojas, las señales acústicas como resultado del aleteo producidas antes y durante el apareamiento, el movimiento de las alas acompañados por movimientos laterales arqueando el cuerpo y las extensiones del aparato bucal del macho. El apareamiento ocurre principalmente en las hojas o en los pecíolos de las hojas de los árboles; el macho mantiene un territorio en el envés de la hoja, en la cual emite una feromona sexual y produce cantos para llamar a las hembras. Adicionalmente, el macho aletea vigorosamente y adopta diferentes posiciones. En los grupos de machos que se forman existen peleas entre sí para obtener la supremacía y escoger un territorio óptimo. La hembra atraída observa y selecciona al macho más apto, copulando entre 20 y 180 min, de acuerdo a la especie (Burk, 1983; Malavasi *et al.*, 1983; Aluja, 1993; Aluja y Birke, 1993). El máximo número de cópulas de la mosca del ciruelo ocurre entre las 0900 y 1000

horas, con un promedio de duración de 50 min y con un total de 10 cópulas por individuo a una temperatura de 31°C (Aluja, 1993; Aluja *et al.*, 2000).

En *Anastrepha*, la periodicidad del “llamado” del macho varía durante el día de acuerdo a la especie y a su ubicación geográfica (Aluja y Birke, 1993; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001). Así, *A. obliqua* tiene un patrón bimodal de “llamado” en poblaciones de Centro América, con el pico más intenso entre las 0700 y 1000 horas aproximadamente, con un ligero repunte entre las 1500 y 1700 horas (Aluja *et al.*, 1993), mientras que en poblaciones de Brasil, el periodo más intenso de llamado ocurre entre 1530 a 1630 horas (Henning y Matioli, 2006). La temperatura y la intensidad de luz también parecen jugar un papel primordial en el periodo de “llamado” durante el día (Aluja *et al.*, 2000).

## **2.6. Feromonas sexuales y volátiles como atrayentes de *Anastrepha***

### **2.6.1. Feromonas sexuales en *Anastrepha***

La comunicación a través de señales químicas es indudablemente el lenguaje más conocido, que probablemente se desarrolló con la vida misma, primero como comunicación intracelular, después como intercelular y finalmente como un vehículo para la comunicación entre organismos (Nation, 2002). Los compuestos involucrados en la comunicación son conocidos como semioquímicos, que se dividen en feromonas y aleloquímicos. Las feromonas actúan de manera intraespecífica, mientras que los aleloquímicos actúan entre diferentes especies y son principalmente de tres tipos: alomonas, kairomonas y sinomonas (Brown *et al.*, 1970). Las alomonas son aquellas señales químicas que dan una ventaja al emisor, las kairomonas son las que dan una ventaja al receptor y las sinomonas son ventajosas para ambos. El término feromona fue propuesto por primera vez en 1959 por Karlson y Lusher, cuyas raíces provienen de dos palabras griegas, *pherein*, que significa acarrear, y *hormon*, que significa excitar y se utiliza para designar a las sustancias químicas que son liberadas por un organismo y que causan una respuesta de comportamiento o fisiológica en otro individuo de la misma especie (Whittaker y Feeny, 1971). Oldham y Boland (1996) definen a las feromonas como compuestos químicos o mezclas de compuestos químicos, que son usados en la comunicación intraespecífica. Según

Nation (2002) casi todas las feromonas sexuales y otros tipos de feromonas son una mezcla de componentes y el total de la mezcla se considera como la feromona. Las feromonas se clasifican de acuerdo al comportamiento que provocan en el receptor, así, tenemos que existen feromonas sexuales, feromonas de agregación, feromonas de alarma, feromonas que influyen en la oviposición, feromonas para promover el cuidado de la cría, feromonas de reclutamiento, feromonas marcadoras de sendero y feromonas marcadoras de territorio o epideícticas (Shorey, 1973). Las feromonas en tefrítidos son de dos categorías: feromonas sexuales y feromonas marcadoras de hospedero. Las feromonas sexuales incluyen las señales químicas que funcionan a corta distancia, modulando interacciones de cortejo y también incluyen señales químicas que funcionan a grandes distancias y provocan respuesta de orientación o atracción. Estas señales además sirven para encontrar al sexo opuesto localizado en un lugar aledaño, junto con otros tipos de señales acústicas y visuales que también influyen en este proceso (Landolt y Averill, 1999).

Las feromonas sexuales utilizadas por los tefrítidos son muy complejas, no sólo porque se liberan numerosos compuestos durante el período de “llamado” sino también porque las cantidades y proporciones pueden variar en el tiempo o entre diferentes poblaciones de moscas de la misma especie (Nation, 1989). En adición al rango de compuestos volátiles producidos por el macho, está la dificultad para formular mezclas de sintéticos que tengan tasas y relaciones de feromonas similares a las liberadas por los machos vivos. En general, se desconoce si la falta de eficiencia en el campo de los compuestos sintéticos que se han evaluado, se debe a la ausencia de actividad biológica o a una inadecuada formulación (Heath *et al.*, 2000).

#### **2.6.1.1. Compuestos de feromonas sexuales identificados en *Anastrepha***

La mayoría de las investigaciones con feromonas sexuales en moscas de la fruta se han enfocado a encontrar atrayentes sexuales, debido a su uso potencial como cebos para detectar, monitorear o controlar las especies plaga. Estas feromonas pueden atraer ambos sexos pero en su mayoría son liberadas por los machos para atraer a las hembras (Landolt y Averill, 1999). En los tefrítidos las

estructuras de los compuestos de las feromonas varían según la especie y son liberados generalmente como una mezcla de compuestos (Tumlinson, 1989) (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Compuestos de feromonas sexuales identificados en el género *Anastrepha* spp.

<b>Especie</b>	<b>Compuesto identificado</b>	<b>Referencia</b>
<i>A. ludens</i>	(Z)-3-Nonenol	(Stokes <i>et al.</i> , 1983; Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1985; Robacker, 1988; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(Z,Z)-3,6-Nonadienol	(Stokes <i>et al.</i> , 1983; Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1985; Robacker, 1988; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(S,S)-(-)-Epianastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(R,R)-(+)-Epianastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(S,S)-(-)-Anastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1985; Robacker, 1988; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(R,R)-(+)-Anastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	Suspensolido	Rocca <i>et al.</i> (1992)
	$\beta$ -Bisaboleno	Rocca <i>et al.</i> (1992)
	<i>E,E</i> - $\alpha$ -Farneseno	Rocca <i>et al.</i> (1992)
	$\alpha$ - <i>trans</i> -Bergamotino	Rocca <i>et al.</i> (1992)
<i>A. suspensa</i>	Limoneno	Rocca <i>et al.</i> (1992)
	(Z)-3-Nonenol	(Nation, 1983a; Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1987; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(Z,Z)-3,6-Nonadienol	(Nation, 1983a; Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1987; Rocca <i>et al.</i> , 1992)
	(S,S)-(-)-Anastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1987; Rocca <i>et al.</i> , 1992; Lu y Teal, 2001)
	(R,R)-(+)-Anastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Robacker y Hart, 1987; Rocca <i>et al.</i> , 1992; Lu y Teal, 2001)
	(S,S)-(-)-Epianastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Rocca <i>et al.</i> , 1992; Lu y Teal, 2001)
	(R,R)-(+)-Epianastrefina	(Battiste <i>et al.</i> , 1983; Rocca <i>et al.</i> , 1992; Lu y Teal, 2001)
	Suspensolido	(Chuman <i>et al.</i> , 1988; Lu y Teal, 2001)
	$\beta$ -Bisaboleno	(Rocca <i>et al.</i> , 1992; Lu y Teal, 2001)
	$\beta$ -Ocimeno	Rocca <i>et al.</i> (1992)
	<i>E,E</i> - $\alpha$ -Farneseno	Rocca <i>et al.</i> (1992)
	(Z,E)- $\alpha$ -Farneseno	Lu y Teal (2001)

Cuadro 2.2. Continuación...

<b>Especie</b>	<b>Compuesto identificado</b>	<b>Referencia</b>
<i>A. obliqua</i>	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farneseno	(Heath <i>et al.</i> , 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001)
	( <i>Z,E</i> )- $\alpha$ -Farneseno	(Heath <i>et al.</i> , 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001)
	( <i>Z</i> )-Nonenol	(Heath <i>et al.</i> , 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001)
<i>A. fraterculus</i>	( <i>Z,E</i> )- $\alpha$ -Farneseno	De Lima (1995)
	( <i>E,E</i> )- Suspensolido	De Lima (1995)
	( <i>E,Z</i> )- $\alpha$ -Farneseno	De Lima (1995)
	( <i>S,S</i> )-(-)-Anastrefina	De Lima (1995)
	( <i>R,R</i> )-(+)-Anastrefina	De Lima (1995)
	( <i>S,S</i> )-(-)-Epianastrefina	De Lima (1995)
	( <i>R,R</i> )-(+)-Epianastrefina	De Lima (1995)
	2,3,5-Trimetilpirazina	De Lima (1995)
	3-Etil-2,5-dimetil-pirazina	De Lima (1995)
	2,5-Dimetil-3n-butilpirazina	De Lima (1995)
	Limoneno	De Lima (1995)
<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimeno	De Lima, 1995	
<i>A. striata</i>	Linalol	Heath <i>et al.</i> (2000)
	Hexanoato de etilo	Heath <i>et al.</i> (2000)
	Octanoato de etilo	Heath <i>et al.</i> (2000)
<i>A. serpentina</i>	2,6-Dimetilpirazina	Lascares (2004)
	2,4,6-Trimetilbenceno	Lascares (2004)
	2,3,5-Trimetilpirazina	Lascares (2004)
	Limoneno	Lascares (2004)
	2-Etil-3,5-dimetilpirazina	Lascares (2004)
	Octanoato de etilo	Lascares (2004)

Los compuestos identificados en las feromonas sexuales de *A. suspensa*, *A. ludens*, *A. obliqua*, *A. fraterculus*, *A. serpentina* y *A. striata*, son comunes en algunas de las especies y diferentes en otras (Cuadro 2.2) (Fletcher y Kitching, 1995; El-Sayed, 2004). De acuerdo con Heath *et al.* (2000), generalmente son de naturaleza lactónica, terpénica, sesquiterpénica, alcohólica y aldehídica, que no son

completamente consistentes con la filogenia sugerida por Norrbom *et al.* (2000) y por McPheron *et al.* (2000).

#### **2.6.1.2. Glándulas productoras de feromona en *Anastrepha* sp.**

A pesar de que se conoce poco sobre los mecanismos de la biosíntesis de feromonas en tefrítidos, se sabe que existe una amplia variedad de rutas (Tumlinson, 1989). La biosíntesis de los diferentes compuestos feromonales en *A. suspensa*, *A. ludens*, *A. fraterculus*, *A. obliqua*, *A. striata*, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) y *Ceratitis rosa* Karsch, se lleva a cabo en dos glándulas pleurales que se encuentran en los machos y que consisten de células epidérmicas alargadas en forma de columna, y en las glándulas salivales dimórficas (Nation, 1981; Nation, 1989). Las glándulas salivales se localizan en posición latero-ventral con una porción torácica constituida por un conducto simple, abierto en la faringe y una abdominal. El patrón general de la porción abdominal de la glándula está compuesto de un conducto central con o sin proyecciones laterales, que termina en una porción alargada formada por un tubo fino y enredado. Los conductos y sus proyecciones tienen una coloración blanca y translúcida y la porción enredada tiene coloración amarillenta. La porción abdominal es diferente en cada especie y en *A. obliqua* la estructura es compleja, con proyecciones laterales más largas en la región proximal que en la distal (Barros, 1993).

En los machos de *A. obliqua* se encontró que las glándulas salivales contienen dos compuestos feromonales: el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno que también fueron identificados previamente por la técnica de aeración dinámica. Además se reporta que durante el “llamado”, los machos proyectan el tejido anal al exterior y forman protuberancias en la porción lateral abdominal que evidencian una posible liberación de compuestos feromonales (Fig. 2.1) (Heath *et al.*, 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001).

En machos de otras especies de moscas de la fruta como *Dacus tryoni* (Froggatt), *Dacus dorsalis* Hendel y *Dacus cucurbitae* Coquillet, las glándulas productoras de feromonas están asociadas con el intestino posterior (Koyama, 1989).

En machos de *C. capitata* se piensa que la ámpula anal y la glándula anal también producen feromonas (Jones, 1989).

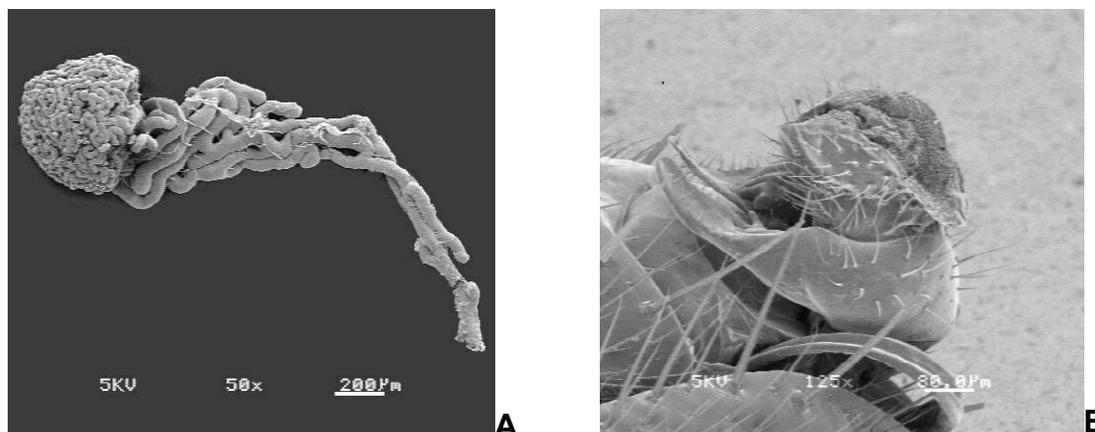


Figura 2.1. (A) Glándula salival y (B) ámpula anal del macho de *A. obliqua* (Tomada de Ibáñez-López y Cruz-López, 2001).

### 2.6.2. Atrayentes en *Anastrepha*

La diversidad de atrayentes alimenticios naturales y sintéticos utilizados por tefrítidos varía con su historia de vida y factores bióticos endógenos, tales como la edad, el sexo, el estado nutricional y otros. Los atrayentes también han jugado un papel dominante en la detección, monitoreo y control de moscas de la fruta, debido a su potencia y selectividad en programas de monitoreo o técnicas de control por aniquilación de machos, aplicaciones de cebos proteicos tóxicos y liberaciones de insectos estériles. Los semioquímicos olfatorios son compuestos químicos que modifican el comportamiento de tefrítidos y pueden clasificarse como atrayentes, repelentes, estimulantes, disuasivos e interruptores (Jang y Light, 1996). Al respecto, Montoya *et al.* (2006) mencionan que los atrayentes usados para moscas de la fruta se dividen en dos grandes grupos: atrayentes sexuales (paraferomonas y feromonas) y atrayentes alimenticios. Los atrayentes sexuales están representados por las paraferomonas, una clase de atrayentes químicos para los cuales las relaciones evolutivas no están del todo entendidas durante la historia de vida de los tefrítidos. También se les conoce como atrayentes de machos (Cunningham, 1989). Entre estos atrayentes encontramos al metileugenol, el *trimedlure*, el *cuelure*, la 3-metil-1-pirazina, el “spiroketal” ((1-7)-dioxaspiro-[5-5]-undecano), el *siglure*, el acetato de

tirpeneol, el *vertlure*, el *latilure*,  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ -yangleno y otros, cuyo uso no se recomiendan en combinación con la técnica del insecto estéril porque capturan machos que pueden reducir la eficiencia de ésta (Montoya *et al.*, 2006) (Cuadro 2.3). A pesar de los avances en el conocimiento de las paraferomonas todavía no han sido descubiertas para especies neotropicales del género *Anastrepha* (Jang y Light, 1996).

Los atrayentes alimenticios constituidos a base de proteínas hidrolizadas líquidas, soluciones de azúcar fermentada y jugos de frutas y vinagres, se han utilizado para capturar hembras de diferentes especies de moscas de la fruta (Sivinsky y Calkins, 1986; Robacker, 1998). Los atrayentes alimenticios sintéticos ofrecen la ventaja de tener una concentración definida de sus compuestos, una tasa de liberación controlada y una duración de cuatro a seis semanas (Epsky *et al.*, 1993; Montoya *et al.*, 2006). Entre ellos encontramos al *biolure*, acetato de amonio, putrescina, trimetil amina, bicarbonato de sodio, pirrolidina, ácido linolenico, levadura de torula más borato de sodio y otros (Cuadro 2.3).

Los atrayentes alimenticios naturales y los productos de su descomposición emiten olores complejos que pueden tener muchas claves semioquímicas que son atractivas a tefritidos (Prokopy *et al.*, 1992, 1993). Dentro de los atrayentes alimenticios naturales encontramos los derivados de bacterias de los géneros *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*, además de las heces de pato, orina humana, jugos de frutas y otros (Jang y Light, 1996; Epsky *et al.*, 1998; Robacker *et al.*, 2000; Robacker y Lauzon, 2002; Santos-Lemos *et al.*, 2002; Aluja y Piñero, 2004; Robacker *et al.*, 2004).

La investigación de años recientes se ha enfocado al aislamiento e identificación de los volátiles liberados por frutos hospederos que ofrecen la ventaja de ser más específicos, efectivos y con mayor estabilidad en el ambiente (Landolt *et al.*, 1992; Montoya *et al.*, 2006). Para el género *Anastrepha* se han evaluado en laboratorio y campo algunos volátiles vegetales con resultados satisfactorios. Entre ellos encontramos a los volátiles de chapote amarillo (*Casimiroa* = *Sargentia greggii* S. Watson), matasano (*Casimiroa edulis* Llave & Lex.), guayaba (*P. guajava*), pomelo (*Citrus paradisi* Macfad.), naranja (*Citrus* sp.), jobo de pava (*S. mombin*) y otros

(Robacker *et al.*, 1990a; Robacker y Fraser, 2002; Robacker y Fraser, 2003; Malo *et al.*, 2005; Cruz-López *et al.*, 2006; González *et al.*, 2006).

Cuadro 2.3. Principales atrayentes sexuales y alimenticios usados para la detección y/o monitoreo de moscas de la fruta (Modificado de Montoya *et al.*, 2006).

Nombre	Abreviatura	Formulación	Persistencia (semanas)	Especies blanco
<b>Atrayentes sexuales</b>				
<b>Paraferomonas</b>				
Trimedlure	TML	Pastilla/panel polimérico	4-6	<i>C. capitata</i>
		lamina	4-6	<i>C. rosa</i>
		líquido	2-4	
Metileugenol	ME	Pastilla/panel polimérico	4-6	<i>Bactrocera</i>
		Líquido	2-4	
Cuelure	CUE	Pastilla/panel polimérico	4-6	<i>Bactrocera</i>
<b>Feromonas</b>				
3-metil-1-pirazina	PFPP	Membrana	2-4	<i>T. curvicauda</i>
Spiroketal	OFP	Polímero	2-4	<i>B. oleae</i>
<b>Atrayentes alimenticios</b>				
<b>Cebos proteicos</b>				
Proteína hidrolizada	PH	Líquida	1-2	<i>Anastrepha</i>
				<i>Bactrocera</i>
				<i>Ceratitidis</i>
Levadura Torula/borax	LT	Pastillas	1-2	<i>Anastrepha</i>
				<i>Bactrocera</i>
				<i>Ceratitidis</i>
<b>Cebos sintéticos</b>				
Acetato de amonio	AA	Membrana	4-6	<i>Anastrepha</i>
		Polímero	4-6	<i>Ceratitidis</i>
				<i>Rhagoletis</i>
Putrescina	PT	Membrana	4-6	<i>Anastrepha</i>
				<i>Ceratitidis</i>
Trimetilamina	TMA	Membrana	4-6	<i>Ceratitidis</i>
Bicarbonato de Amonio	BA	Membrana	4-6	<i>Bactrocera</i>
		Polímero	4-6	

## 2.7. Estímulo visual y químico en moscas de la fruta

### 2.7.1. Respuesta al color, la forma y el tamaño

Para encontrar a sus hospederos, las moscas de la fruta responden a una combinación de estímulos visuales y químicos. La respuesta de comportamiento a estímulos visuales constituye una parte de la ecología visual y puede entenderse mejor en términos de la relación insecto-planta (Katsoyannos, 1989). Prokopy y Owens (1983) dividieron los principales factores visuales que estimulan a los

tefrítidos durante la localización de plantas a distancias largas y cortas. Entre los factores a distancias considerables están las propiedades visuales del follaje o el color del sitio de oviposición, contraste, patrón y tamaño. Estos mismos autores mencionan que los factores que inciden cuando los insectos se encuentran a distancias cortas o en áreas de forrajeo, son la calidad espectral, las dimensiones y patrón del objeto blanco. De hecho, un insecto detecta a un objeto en función de las dimensiones, el contraste contra el fondo, las propiedades ópticas del medio y la intensidad lumínica (Economopoulos, 1989). La respuesta visual de las moscas de la fruta especialmente a la forma, el tamaño y el color, depende de sus receptores visuales (ojos compuestos y ocelos). Los fotorreceptores son extremadamente sensibles a la luz, la cual se traduce en impulsos eléctricos que son sumados, procesados e integrados por las interneuronas en el sistema central y en unos cuantos milisegundos los insectos tienen una imagen de su entorno (Carlson y Chi, 1979).

Antes de estudiar la visión de los tefrítidos es importante conocer algunos aspectos de la ultraestructura morfológica de los receptores visuales, sobre los que existen pocos trabajos. En *A. suspensa* se ha estudiado la estructura del ojo compuesto, la cual consiste de 360 omatidias que tienen una longitud de 190 a 260  $\mu\text{m}$ , cada una con lentes hexagonales de 25-30  $\mu\text{m}$  de anchura (Agee *et al.*, 1977). En *C. capitata* se realizaron estudios comparativos entre los ojos compuestos de moscas tanto silvestres como de laboratorio sin irradiar e irradiadas, en los cuales se encontró que las moscas criadas en laboratorio, particularmente las irradiadas, tenían más comprimida la omatidia, presentando un menor número de paquetes celulares en la retínula, además de que los rabdómeros eran pequeños y ocasionalmente estaban ausentes o distribuidos en la periferia de la cavidad omatidial. Adicionalmente, las moscas criadas en laboratorio tenían las cavidades omatidiales más alargadas y frecuentemente con inclusiones que no están presentes en las moscas silvestres (Davis *et al.*, 1983). En resumen, se ha encontrado que el proceso de cría, el número de generaciones de la cría, la irradiación y las condiciones del transporte (anoxia o calor excesivo), afectan la visión de *C. capitata* y *A. suspensa* (Calkins, 1989).

Las moscas de la fruta como la mayoría de los insectos responden a una banda amplia del espectro que se extiende desde el color ultravioleta hasta el rojo (360 a 650 nm), respondiendo positivamente a colores que reflejan la mayoría de su energía entre 500 y 600 nm (Katsoyannos, 1989). Se ha sugerido que la mayoría de las moscas de la fruta responden al color amarillo que refleja mayor energía entre 500 y 600 nm en comparación con otros colores. Por ejemplo, en estudios realizados en campo se encontró que *A. suspensa* responde mejor a rectángulos de 15 x 20 cm pintados de color naranja, seguidos de los rectángulos de color amarillo y verde-amarillo. La explicación que dieron los investigadores es que la atracción parece depender más del matiz que de la intensidad de emisión, y la respuesta al color naranja fue probablemente indicativa de la búsqueda de frutos más que de follaje, porque se capturó una proporción más alta de hembras que de machos (Greany *et al.*, 1977). Posteriormente Greany *et al.* (1978) realizaron un experimento para comparar la tasa de capturas de *A. suspensa* con rectángulos pintados de color naranja fluorescente (reflexión máxima entre 580 a 590 nm) *versus* rectángulos pintados de color naranja no fluorescente (reflexión máxima a 590 nm), encontrando que se capturaron más moscas en los rectángulos pintados de color naranja fluorescente. Los investigadores relacionaron la tasa de capturas con la proporción total de luz reflejada en la región de 580 a 590 nm y con la intensidad de luz de su matiz, afirmando que el color naranja fluorescente combinó las características óptimas de matiz y de emisión de alta intensidad. En *C. capitata*, Prokopy y Economopoulos (1976) reportan que los rectángulos de color amarillo capturaron mayor cantidad de moscas que los rectángulos de color naranja, verde claro, rojo y gris en un huerto de olivo y durazno, respectivamente. En el caso de *A. ludens*, se ha encontrado que el color amarillo-limón (reflexión máxima entre 542 a 576 nm) y el color verde capturan mayor número de moscas que otros colores (Rodríguez-Valverde, 1989; Robacker *et al.*, 1990b).

Según Economopoulos (1989), las moscas de la fruta son más atraídas hacia objetos de formas convexas representadas por la forma esférica, probablemente porque imitan mejor la forma de los frutos hospederos, los cuales sirven como lugares para la oviposición y el apareamiento. Epsky y Heath (1998) mencionan que

las superficies planas de los rectángulos junto con el color fluorescente, representan un tipo de estímulo foliar que provoca un comportamiento de búsqueda de alimento o de plantas hospederas. En relación a la mejor forma de un objeto para capturar moscas, Katsoyannos (1989) menciona que en diferentes estudios las formas tridimensionales han capturado mayor número de moscas que las bidimensionales, entre 500 y 600 nm. En un experimento conjunto con *A. fraterculus* y *C. capitata*, donde se evaluaron rectángulos y esferas con diferentes colores, se encontró que los rectángulos amarillos fueron más atractivos que los de color naranja, verde o rojo para ambas especies. Asimismo, se encontró que las esferas amarillas siempre capturaron más hembras de *A. fraterculus* que los otros colores, mientras que el mayor número de capturas de hembras de *C. capitata* fue con esferas de color rojo y negro (Cytrynowicz *et al.*, 1982).

#### **2.7.1.1. Interacción del color, la forma y el tamaño de diferentes objetos**

Además del color y la forma, el tamaño también juega un papel importante en la imitación de un fruto natural. Por ejemplo, Robacker (1992) encontró que en *A. ludens*, las trampas rectangulares de 13 x 18 cm y esféricas de 13 cm de diámetro, capturaron más moscas que las trampas rectangulares de 10 x 13 cm y las esféricas de 8 cm de diámetro. En este mismo experimento también se encontró que las trampas esféricas y rectangulares en posición vertical, de mayor tamaño y de color amarillo, verde y rojo, capturaron el mayor número de moscas. Por su parte, Vargas *et al.* (1991) encontraron en *D. dorsalis* que las esferas de color amarillo de 4 cm de diámetro capturaron más insectos que las esferas de 2 cm de diámetro.

Prokopy y Owens (1983) mencionan que el espectro y la cantidad de iluminación natural afectan la discriminación visual de plantas y de sus estructuras, variando de acuerdo a una multitud de factores ambientales y a la posición del insecto dentro de un hábitat. Esta variabilidad sin duda puede afectar considerablemente la respuesta de las moscas de la fruta a objetos de diferentes formas, tamaños y colores. Katsoyannos (1989) menciona que además de los factores ambientales como la temperatura, el viento o la lluvia que afectan la respuesta de las moscas en campo, existen otros como la posición del objeto cerca o

dentro del dosel del árbol, densidad, distribución y madurez de frutos, nivel de infestación, densidad del follaje, estado fisiológico y variedad del hospedero del que se suspende el objeto, posición en relación a otra vegetación del área, frecuencia de remoción de los objetos, estado fisiológico y aprendizaje de las moscas, presencia de feromonas de marcaje en los frutos, y otros factores.

Se ha demostrado que las especies del género *Anastrepha* son altamente polífagas, por lo que se podría suponer que existe una forma, tamaño y color “generalizado” de dispositivos para incrementar las capturas (Cytrynowicz *et al.*, 1982). Sin embargo, con moscas de la fruta de regiones templadas que son monófagas u oligófagas se ha establecido la forma, tamaño y color idóneos, así como la densidad de objetos por árbol para incrementar la tasa de capturas (Prokopy, 1991; Aluja y Prokopy, 1993).

### **2.7.2. Respuesta a la interacción del estímulo visual y químico**

Las moscas de la fruta son atraídas hacia objetos de un color, forma y tamaño específicos (Epsky y Heath, 1998), sin embargo, cuando las poblaciones de moscas son bajas, las trampas capturan un número muy reducido de insectos, por lo que una alternativa para incrementar la eficiencia de las trampas, reducir los costos y evitar la captura de insectos no blanco, es incorporar un atrayente alimenticio o sexual de intervalo corto (Economopoulos, 1989). Las especies monófagas u oligófagas de moscas de la fruta son más atraídas hacia objetos que combinan estímulos visuales y químicos, teniéndose capturas elevadas, pero cuando se trata de especies polífagas no sucede lo mismo, por lo que se debe pensar en un diseño “generalizado” de forma, color y tamaño de trampa, complementada con atrayentes alimenticios o sexuales muy eficientes para incrementar las capturas (Cytrynowicz *et al.*, 1982; Epsky y Heath, 1998). En especies monófagas se ha demostrado que la combinación de estímulos visuales y químicos, incrementa la captura de moscas. Por ejemplo, *Rhagoletis pomonella* (Walsh) se ha utilizado como especie modelo para comprender el papel de las interacciones visuales y químicas tanto por separado como en conjunto, por lo que en la actualidad se dispone de una mezcla comercial de seis atrayentes sintéticos de los volátiles de manzana (acetato de hexilo, 2-metil-

butirato de butilo, hexanoato de propilo, propionato de hexilo, hexanoato de butilo y butirato de hexilo), que se utilizan con esferas rojas adhesivas de 7.5 cm de diámetro en programas de monitoreo y control de dicha plaga (Fein *et al.*, 1982; Prokopy, 1991; Aluja y Prokopy, 1993). En *R. pomonella* la interacción de la forma esférica, del diámetro mencionado, el color rojo y los sintéticos de frutos de manzana, induce una respuesta de oviposición y apareamiento hacia los objetos con el atrayente, aunque cuando se adicionan los mismos sintéticos a rectángulos amarillos, las capturas de adultos disminuyen (Reissig *et al.*, 1982). En cambio cuando se utilizaron rectángulos de color amarillo cebados con amonio, las capturas se incrementaron debido a que los objetos más el atrayente provocaron un estímulo de búsqueda de alimento (Epsky y Heath, 1998). Aunque existen pocos trabajos relacionados con el estudio de las interacciones de estímulos visuales y químicos en especies polífagas de regiones subtropicales o tropicales del género *Anastrepha*, se han probado con relativo éxito objetos de diferentes formas, colores y tamaños con atrayentes de tipo proteico y frutales, tales como las trampas McPhail (Robacker, 1995; Robacker y Heath, 1996), esferas adhesivas de color amarillo (Robacker, 1995), trampas cilíndricas y de otras formas (Rodríguez-Valverde, 1989; Epsky *et al.*, 1995; Heath *et al.*, 1997; Robacker y Czokajlo, 2005). Al momento no se han realizado investigaciones con *A. obliqua* para conocer su respuesta a objetos de diferentes colores, formas y tamaños, aunque para el monitoreo de las especies de *Anastrepha* recientemente se ha generalizado el uso de las trampas *Multilure* (McPhail de plástico de color amarillo) que han mostrado buenos resultados en las capturas de moscas cuando se combinan con los atrayentes adecuados (Heath *et al.*, 1995; Robacker y Czokajlo, 2005). Con relación al estímulo químico, recientemente Cruz-López *et al.* (2006) en un estudio en jaulas de campo encontraron que *A. obliqua* es fuertemente atraída hacia los volátiles sintéticos de jobo de pava (*S. mombin*) liberados en trampas *Multilure* McPhail de color amarillo.

A pesar del conocimiento que se tiene del estímulo visual en ciertas especies del género *Anastrepha* hace falta evaluar objetos de diferentes colores, formas y tamaños que contribuyan a incrementar la captura de moscas *A. obliqua*, y de esta manera tener un sistema de trampeo más efectivo. Además se deben conocer las

interacciones de los estímulos visual y químico, en este caso con los sintéticos de jobo de pava, para mejorar las capturas de esta especie en campo.

## CAPITULO 3

### Feromona sexual de *Anastrepha obliqua*: Evidencia, identificación y evaluación de su actividad biológica

#### 3.1. Introducción

La factibilidad del uso de feromonas sexuales sintéticas para el control o monitoreo se ha documentado para varias especies de insectos, principalmente lepidópteros. En el caso de dípteros existen pocos estudios, por lo que en años recientes se ha empezado a investigar la posible utilización de feromonas en moscas de la fruta (Fletcher y Kitching, 1995). En la mayoría de las especies de moscas de la fruta, los machos producen y liberan sustancias volátiles, a excepción de *Bactrocera oleae* (Gmelin), en donde las hembras son las emisoras (Jang y Light, 1996). El número de volátiles identificados que produce y libera un macho varía desde uno hasta más de 50 compuestos (Chuman *et al.*, 1987; Jang *et al.*, 1989). Estos compuestos volátiles, además de las señales acústicas y visuales, son un componente importante del comportamiento de apareamiento de moscas de la fruta (Aluja, 1994).

Los machos de varias especies de *Anastrepha* producen y liberan compuestos volátiles durante la actividad de llamado (Sivinski y Calkins, 1986; Landolt y Averill, 1999; Heath *et al.*, 2000). Los compuestos emitidos por los machos han sido identificados en *A. ludens*, *A. suspensa* y *A. fraterculus* (Fletcher y Kitching, 1995; De Lima *et al.*, 2001), los cuales fueron obtenidos a partir de extractos del cuerpo entero, extractos del abdomen, extractos de glándulas salivales y colecta de volátiles usando adsorbentes (Nation 1975; Nation, 1989; Robacker y Hart, 1985; Robacker, 1988; De Lima *et al.*, 2001) y algunos de estos compuestos identificados han demostrado actividad feromonal (Fletcher y Kitching, 1995). En *A. obliqua* apenas existen algunos trabajos preliminares en los que se reportan algunos compuestos volátiles liberados por los machos y la actividad feromonal de los extractos de glándulas salivales (Heath *et al.*, 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001). Sin embargo, hace falta un estudio más completo que permita identificar los compuestos liberados por los

machos de *A. obliqua*, además de demostrar su actividad feromonal y si efectivamente son los machos los que producen y liberan compuestos que atraen a las hembras. El primer objetivo de este trabajo fue demostrar la atracción de las hembras hacia machos vivos durante el pico de llamado, después se determinó la respuesta de comportamiento y electrofisiológica de las hembras hacia los extractos de glándulas salivales, proctodeo y volátiles liberados por machos. Posteriormente se identificaron los compuestos liberados por los machos durante el llamado para atraer al sexo opuesto. Por último, se evaluó la actividad antenal y el comportamiento de las hembras hacia los compuestos sintéticos disponibles que previamente fueron identificados.

## **3.2. Materiales y Métodos**

### **3.2.1. Material biológico**

Los insectos fértiles utilizados en los experimentos fueron proporcionados en estado de pupa por la planta MOSCAMED localizada en Metapa de Domínguez, Chiapas. Los adultos se mantuvieron en jaulas de 30 x 30 x 30 cm (27 dm<sup>3</sup>) cubiertas con tela organdí transparente, a temperatura de 27 ± 2°C, humedad relativa de 60-70% y un fotoperíodo de 12 horas luz por 12 de oscuridad. La fase luminosa inició a las 0700 h y finalizó a las 1900 h. Los machos fueron separados de las hembras dos días después de emergidos para evitar alguna interacción biológica entre ellos, y se les alimentó con una mezcla de levadura hidrolizada enzimáticamente (ICN, Biomedical, Inc.) y sacarosa en proporción 1:3. El agua fue proveída en tubos cubiertos con torundas de algodón.

### **3.2.2. Evidencia de una feromona sexual en *A. obliqua***

La respuesta de las hembras y machos de *A. obliqua* durante el pico de llamado fue evaluada en cajas de vidrio (30 x 30 x 30 cm) de acuerdo a la metodología descrita por Robacker y Hart (1984). Se colocaron 25 hembras, o 25 machos vírgenes de 8 a 10 días de edad en el interior de las cajas, 3 h antes de la realización de los bioensayos para que se aclimataran a las condiciones de temperatura y humedad. Después como tratamientos se colocaron 10 machos, 10

hembras o 10 machos + 10 hembras en jaulas de 7 cm de largo x 3 cm de diámetro, elaboradas con tela de mosquitero. Las jaulas junto con las moscas vivas fueron colgadas equidistantemente a 21 cm, y a 2 cm del techo de la caja de vidrio. El número de hembras o machos que aterrizó en los distintos tratamientos fue contado cada 2 min durante 30 min. En total se realizaron siete repeticiones por sexo.

El promedio de hembras y machos que aterrizó en cada uno de los cebos fue analizado con un análisis de varianza (ANDEVA) con arreglo factorial de 2 x 3 (Zar, 1999). La separación de medias se realizó por medio de una prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Los datos fueron analizados con el programa estadístico "Statistica" (Statsoft, 2003).

**3.2.3. Extracción de las glándulas salivales y del proctodeo.** Las glándulas salivales y el proctodeo fueron extraídas de machos sexualmente maduros de 8 a 10 días de edad, con actividad de llamado. Los machos fueron colocados en una caja Petri de vidrio que contenía agua destilada y utilizando unas pinzas entomológicas y bajo un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ800) se retiró cuidadosamente el tejido que cubría tanto a las glándulas salivales como al proctodeo. Inmediatamente, las glándulas salivales y el proctodeo fueron colocados por separado en un capilar de vidrio de 15 mm de longitud x 2 mm de diámetro (Varian Inc, Palo Alto, California, EUA) sellado en un extremo. Antes de introducir los capilares que contenían las muestras en el accesorio adaptado al cromatógrafo de gases (chromatoprobe), fueron limpiados con acetona e inmediatamente después se procedió a analizarlos. En total se realizaron 10 inyecciones tanto para la glándula salival como para el proctodeo.

**3.2.4. Bioensayos para evaluar la respuesta de hembras a extractos de compuestos volátiles, glándulas salivales, proctodeo y compuestos sintéticos**

La respuesta de las hembras de *A. obliqua* fue evaluada durante el pico de llamado en cajas de vidrio de 30 x 30 x 30 cm, de acuerdo a la metodología descrita anteriormente. Seis horas antes de la realización de los bioensayos, se colocaron 25 hembras vírgenes de 8 a 10 días de edad en el interior de cajas, provistas

únicamente de agua, la cual fue retirada al inicio del bioensayo. Posteriormente, 20  $\mu$ l del extracto de los compuestos volátiles liberados por machos y 20  $\mu$ l de hexano que se utilizó como testigo fueron colocados en papel filtro de 2.5 x 2.5 cm (Whatman No. 4), respectivamente. Un papel filtro con el extracto se colocó en la esquina de la parte superior de la caja y otro más en la esquina opuesta, mientras que en las dos esquinas restantes se colocaron los papeles filtro con el testigo. Con esta metodología fueron evaluados los extractos de 5, 10, 20 y 50 machos, los extractos de las glándulas salivales, los extractos del proctodeo y los compuestos sintéticos. Los extractos de diferente número de machos se obtuvieron usando la técnica de aireación dinámica descrita posteriormente (ver sección 3.2.6.1), en donde se utilizaron machos sexualmente maduros durante el pico de llamado. Las glándulas salivales y el proctodeo fueron obtenidos de 10 machos en actividad de llamado, los tejidos de ambos órganos fueron macerados independientemente en 1 ml de hexano y para su evaluación se colocaron 20  $\mu$ l de éste extracto en un papel filtro. Los compuestos sintéticos evaluados fueron el farneseno (mezcla de 20 isómeros que incluye el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno) y el (*Z*)-3-nonenol a una concentración de 1  $\mu$ g/ $\mu$ L, proporcionados por Sigma-Aldrich (Toluca, México). Se colocaron 20  $\mu$ l de cada uno de los compuestos y sus combinaciones en papel filtro y se procedió de igual manera como en los ensayos anteriores. En todos los casos se utilizaron 20  $\mu$ l de hexano para el testigo. Cada dos min durante 20 min se registró el número de moscas que aterrizó en cada uno de los tratamientos y los testigos. En total se realizaron cinco repeticiones para evaluar los extractos de 5, 10, 20 y 50 machos, los extractos glandulares y los compuestos sintéticos, en donde las hembras se utilizaron una sola vez.

Los promedios de las moscas que aterrizaron en cada uno de los tratamientos y el testigo fueron sometidos a un análisis mediante una prueba de *t*-Student (Steel y Torrie, 1993).

### **3.2.5. Respuesta electrofisiológica de la antena (EAG) de hembras a extractos de compuestos volátiles, glándulas salivales, proctodeo y compuestos sintéticos**

**3.2.5.1. Montaje de la antena.** Tanto la cabeza de una hembra de *A. obliqua* que fue cortada cuidadosamente con tijeras de disección, como la parte apical de una antena, se insertaron por separado en capilares que contenían solución Ringer (14.08 g de NaCl, 3.99 de CaCl<sub>2</sub>, 0.15 g de KCl y 0.10 g de NaHCO<sub>3</sub> en 1L de H<sub>2</sub>O tridestilada). Estos capilares estaban en contacto con electrodos de plata de 0.3 a 0.5 mm de tierra y registro, respectivamente. Cada uno de los electrodos fue sujetado por un mango de Tungsteno, que estaba conectado a una central de tierra que registró la diferencia de potencial producido. La estructura que estaba unida al segmento torácico se insertó al capilar que hacía contacto con el electrodo de tierra y la antena se insertó en el capilar que tenía contacto con el electrodo de registro, el cual tenía conexión con una caja de estimulación conectada con un tablero de interfaces (IDAC) (Intelligent Data Acquisition Controller<sup>®</sup>), integrado a la computadora. La antena fue estimulada mediante los compuestos provenientes del papel filtro evaluado. La señal emitida por los dos electrodos fue enviada a una computadora en donde se procesó y analizó con la asistencia de un programa de cómputo (Syntech '98).

**3.2.5.2. Evaluación electrofisiológica.** La respuesta antenal de las hembras de *A. obliqua* fue probada con extractos provenientes de 5, 10, 20 y 50 machos colectados durante el llamado. También se evaluaron los extractos de glándulas salivales y del proctodeo de 10 machos disecados durante la actividad de llamado y posteriormente macerados en 1 ml de hexano. Por último se evaluaron los sintéticos de los compuestos identificados que estaban disponibles: farneseno (mezcla de 20 isómeros que incluye el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno), el (*Z*)-3-nonenol y la mezcla del farneseno + (*Z*)-3-nonenol a una concentración de 1 $\mu$ g/ $\mu$ L, proporcionados por Sigma-Aldrich (Toluca, México).

El protocolo experimental utilizado fue el siguiente: Inicialmente se evaluó la respuesta antenal a un flujo de aire usado como testigo, después se colocó 1  $\mu$ L del extracto o del compuesto a utilizar por medio de una micropipeta (Sigma-Aldrich,

Toluca, México) sobre un trozo de papel filtro (10 mm x 4 mm) que fue secado ligeramente por agitación durante 20 seg con la ayuda de una pinza entomológica; en seguida, la muestra se introdujo en una pipeta Pasteur limpia designada solamente para este tratamiento y se aplicó el estímulo. El tratamiento se evaluó mediante la activación de un pedal que hizo circular un flujo de aire a través de una manguera de tygon de 150cm de longitud x 4mm de diámetro interno, conectada a la pipeta Pasteur que contenía el papel filtro con la muestra, la cual fue arrastrada hacia la antena del insecto. La respuesta fue observada en el antenograma por una deflexión de la línea base y se almacenó en la computadora. En el caso de los sintéticos, las mediciones de cada uno de los compuestos se efectuaron de forma aleatoria, empleando 1  $\mu$ L del sintético y hexano utilizado como testigo. En total se realizaron 11 repeticiones para cada uno de los extractos de los machos, seis repeticiones para los extractos de glándulas salivales y el proctodeo, y 10 repeticiones para cada uno de los compuestos sintéticos evaluados.

Los datos de la amplitud en mV de cada uno de extractos de compuestos volátiles de machos, extractos glandulares, compuestos sintéticos y el testigo, fueron analizados separadamente mediante un ANDEVA y la separación de medias se realizó por medio de una prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) (Zar, 1999). Los datos fueron analizados con el programa estadístico “Statistica” (Statsoft, 2003).

### **3.2.6. Identificación de los componentes de la feromona sexual**

**3.2.6.1. Colecta de volátiles.** Los volátiles emitidos por diez y cinco machos de *A. obliqua* de 8 a 10 días de edad, en actividad de llamado (0700 a 1000 h) (Aluja *et al.*, 2000) fueron colectados por la técnica de aireación dinámica descrita por Heath y Manukian (1992) y por microextracción en fase sólida (MEFS), respectivamente. El sistema de aeración dinámica consiste de recipientes de vidrio de 36 cm de largo x 7.5 cm de diámetro interno y una base colectora con entradas múltiples. Los recipientes poseen en uno de sus extremos un filtro de carbón activado y en el otro extremo una salida donde se inserta el filtro que contiene el adsorbente sólido Súper Q (Alltech Associates Inc. Deerfield, IL<sup>®</sup>). Los machos fueron colocados en cada uno de los recipientes y los volátiles liberados fueron extraídos con una

bomba de vacío con un flujo de aire de 1 L/min. Una vez concluida la captura, los volátiles fueron eluidos del adsorbente con 200  $\mu$ L de cloruro de metileno (Baker, grado HPLC) y colocados en viales, los cuales fueron herméticamente cerrados y almacenados a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis químico. En la segunda técnica de colecta, los insectos fueron colocados en un vial de 25 mL (5 cm diámetro x 10 cm de longitud) con un septo de silicón/PTE como tapa (Supelco, Toluca, México), en donde los volátiles fueron capturados con una fibra MEFS de polidimetilsiloxano/divinilbenceno (capa de 65  $\mu\text{m}$ , Supelco, Toluca, México). La captura de los volátiles se realizó por inserción de la aguja de MEFS en el interior del vial y de inmediato se procedió a su análisis. Antes de cada colecta se verificó que la fibra estuviera limpia a través de inyecciones subsecuentes en el inyector de un cromatógrafo de gases. La colecta de los volátiles en el laboratorio fue realizada a una temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , humedad relativa de 50-60% e iluminación de 70 lux proporcionada por lámparas fluorescentes colocadas a 3 m sobre los frascos colectores.

**3.2.6.1. Análisis químico.** El análisis químico de las muestras de los compuestos volátiles se realizó en un cromatógrafo de gases Varian CP-3800 acoplado a un espectrómetro de masas Varian Saturn 2200 (GC-EM). Se utilizó una columna no polar de sílica cubierta con poli (5%-difenil-95%-dimetilsiloxano, Supelco MD N-5S de 30 m, 0.25 mm de diámetro interno y una capa de 0.25  $\mu\text{m}$ ) programada a una temperatura inicial de  $50^{\circ}\text{C}$  que se mantuvo durante 2 min y un incremento posterior de  $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta alcanzar  $280^{\circ}\text{C}$ , permaneciendo a esta temperatura por 10 min. Se empleó Helio como gas de arrastre. La temperatura del inyector fue de  $200^{\circ}\text{C}$ . La ionización de las muestras fue por impacto electrónico a 70 eV. Los compuestos fueron identificados comparando los índices de Kovat y el espectro de masas de los estándares sintéticos y los volátiles de las muestras inyectadas. El farneseno (mezcla de isómeros que incluye el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno, el  $\beta$ -farneseno, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno), el (*Z*)-3-nonenol y el limoneno fueron obtenidos comercialmente de Sigma-Aldrich (Toluca, México). El espectro de masas del (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno fue comparado con el espectro de la base de datos Wiley/NBS (McLafferty y Stauffer, 1989) y el reportado por Rocca *et al.* (1992), respectivamente. En el caso de los

capilares con las glándulas salivales y el proctodeo, la inyección se realizó con la ayuda de un accesorio adaptado al cromatógrafo de gases (chromatprobe), utilizado para el análisis de muestras sólidas (Gordin y Amirav, 2000). Para los análisis de muestras con este inyector modificado, se utilizó bióxido de carbono como gas enfriador.

### 3.3. Resultados

#### 3.3.1. Evidencia de la feromona sexual

Las moscas respondieron significativamente diferente de acuerdo a su sexo ( $F = 10.34$ ;  $gl = 1, 41$ ;  $P = 0.003$ ) y a los tratamientos ( $F = 8.58$ ;  $gl = 2, 41$ ;  $P = 0.001$ ). Se encontró una interacción significativa entre el sexo de las moscas x tratamientos ( $F = 67.78$ ;  $gl = 2, 41$ ;  $P = 0.000$ ). Se encontró una mayor respuesta de las hembras al tratamiento constituido por machos, seguida por la respuesta de los machos hacia el tratamiento consistente de hembras, mientras que la respuesta de hembras y machos hacia el tratamiento formado por hembras + machos fue similar entre sí y menor a la provocada por los demás tratamientos (Fig. 3.1).

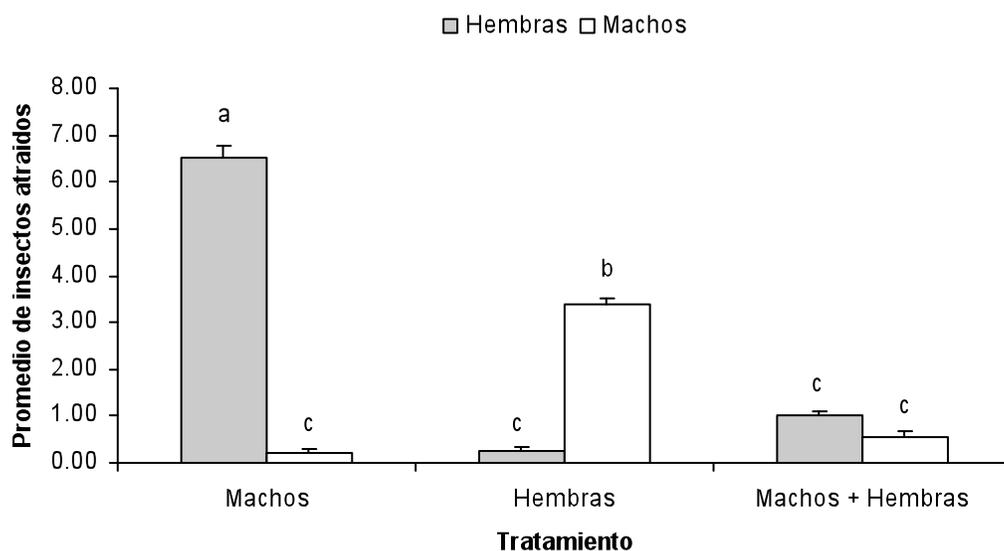


Figura 3.1. Respuesta promedio ( $\pm EE$ ) de hembras y machos hacia tres tratamientos: machos, hembras y hembras + machos. Los valores seguidos por la misma letra en cada barra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

### 3.3.2. Respuesta a extractos de compuestos volátiles, glándulas salivales, proctodeo y compuestos sintéticos

Las hembras vírgenes de *A. obliqua* respondieron significativamente diferente al extracto de 10 machos ( $t = 22.97$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.000$ ), 20 machos ( $t = 22.49$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.000$ ) y 50 machos ( $t = 5.65$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.005$ ) comparados con el testigo. En contraste, la respuesta al extracto de cinco machos no fue significativamente diferente al testigo ( $t = 2.7$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.052$ ) (Fig. 3.2).

Por su parte, las hembras vírgenes respondieron significativamente a los extractos del proctodeo ( $t = 22.99$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.040$ ) en comparación con el testigo. La respuesta al extracto de glándulas salivales no fue significativamente diferente de la respuesta del extracto del proctodeo ( $t = 0.28$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.79$ ) (Fig. 3.3).

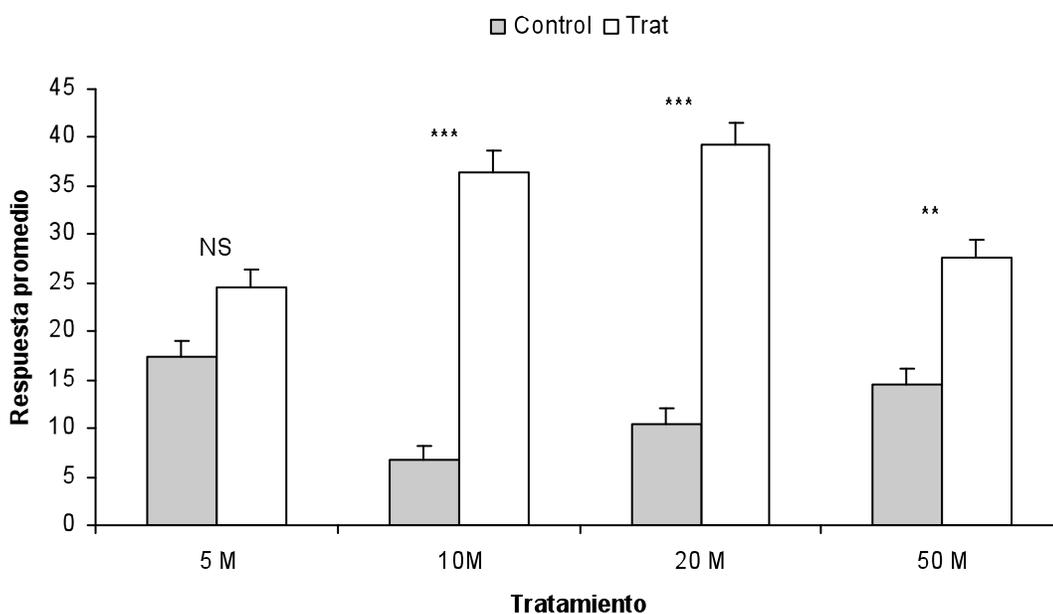


Figura 3.2. Número de hembras promedio ( $\pm EE$ ) que respondieron a los extractos colectados de diferente cantidad de machos. M = machos. Las barras marcadas con \*\* y \*\*\* indican diferencias significativas (prueba de *t*-Student,  $P < 0.01$  y  $P < 0.001$ , respectivamente) y las marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de *t*-Student,  $P > 0.05$ ).

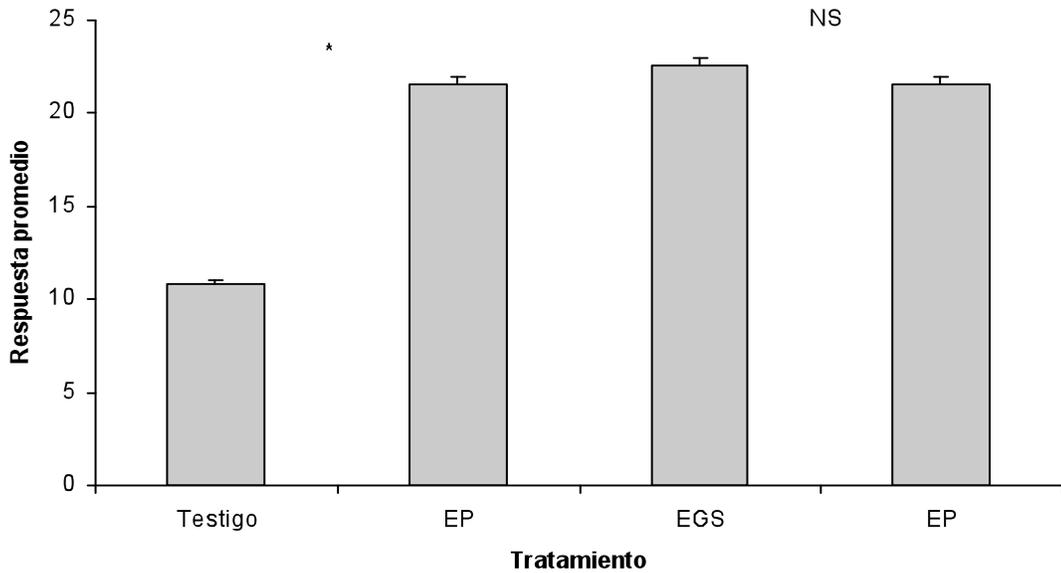


Figura 3.3. Número de hembras promedio ( $\pm$ EE) que respondieron a los extractos del proctodeo (EP) vs testigo (hexano) y glándulas salivales (EGS) vs EP. Las barras marcadas con \* indican diferencias significativas (prueba de *t*-Student,  $P < 0.05$ ) y las marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de *t*-Student,  $P > 0.05$ ).

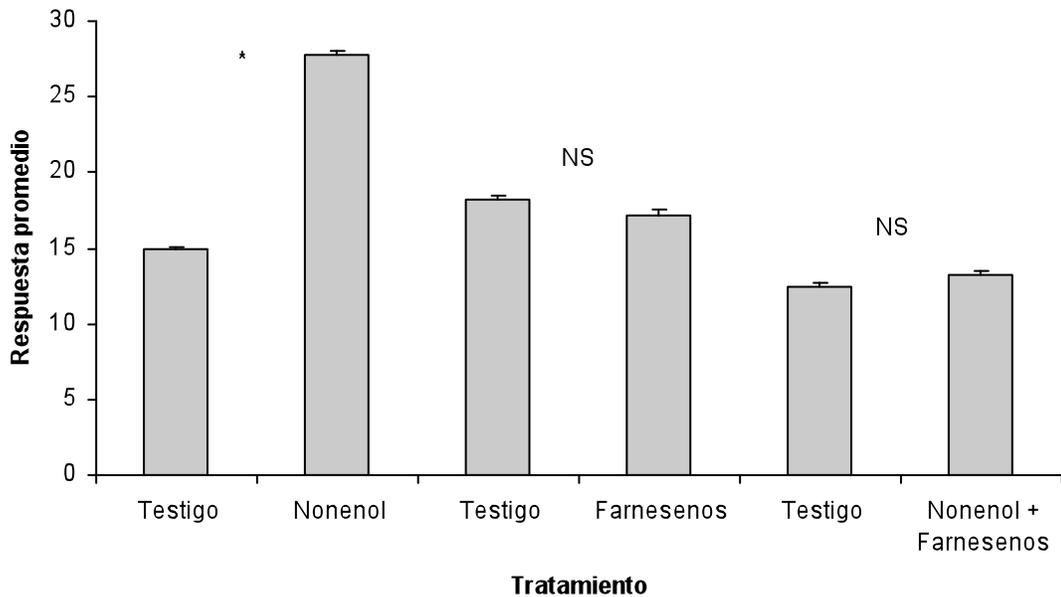


Figura 3.4. Número de hembras promedio ( $\pm$ EE) que respondieron a los compuestos sintéticos: (Z)-3-nonenol, farnesenos, (Z)-3-nonenol + farnesenos y el testigo (hexano). Las barras marcadas con \* indican diferencias significativas (prueba de *t*-Student,  $P < 0.05$ ) y las marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de *t*-Student,  $P > 0.05$ ).

La respuesta de las moscas vírgenes hacia el (Z)-3-nonenol fue significativamente diferente y mayor en comparación al testigo ( $t = 3.05$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.038$ ). Por su parte, la respuesta hacia los farnesenos ( $t = 0.40$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.71$ ) y la mezcla de (Z)-3-nonenol + farneseno ( $t = 0.39$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0.72$ ) no fue significativamente diferente en relación con el testigo (Fig. 3.4).

### **3.3.3. Respuesta electrofisiológica a extractos de compuestos volátiles, glandulares y compuestos sintéticos**

La respuesta antenal de las hembras hacia los extractos de los machos y el testigo fue significativamente diferente ( $F = 22.90$ ;  $gl = 4, 54$ ;  $P = 0.000$ ). La mayor respuesta antenal se obtuvo con los extractos de 20 y 50 machos, la respuesta antenal al extracto de 10 machos fue intermedia a la obtenida con estos extractos y el de 5 machos, y éste a su vez fue superior a la respuesta del testigo, mientras que la respuesta del testigo fue significativamente menor a todas las demás (Fig. 3.5).

La respuesta antenal de las hembras hacia los extractos de las glándulas y el testigo fue significativamente diferente ( $F = 22.95$ ;  $gl = 2, 17$ ;  $P = 0.000$ ). La antena respondió con mayor amplitud al extracto del proctodeo, seguido por el extracto de las glándulas salivales. El testigo provocó una menor respuesta en comparación a las obtenidas con los extractos (Fig. 3.6).

La respuesta antenal de las hembras hacia los compuestos sintéticos y el testigo fue significativamente diferente ( $F = 9.98$ ;  $gl = 3, 39$ ;  $P = 0.000$ ). La mayor respuesta antenal fue con el (Z)-3-nonenol. Las respuestas a los farnesenos y a la mezcla de (Z)-3-nonenol + farnesenos no fueron estadísticamente diferente a la del testigo (Fig. 3.7).

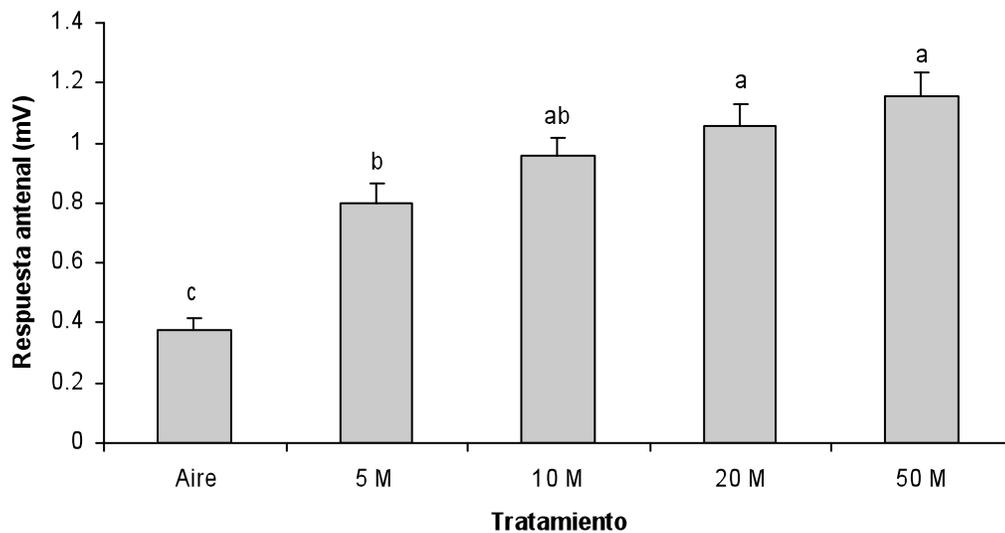


Figura 3.5. Respuesta antena (mV) ( $\pm$ EE) a los extractos colectados de diferente cantidad de machos. M = machos. Los valores seguidos por la misma letra en cada barra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

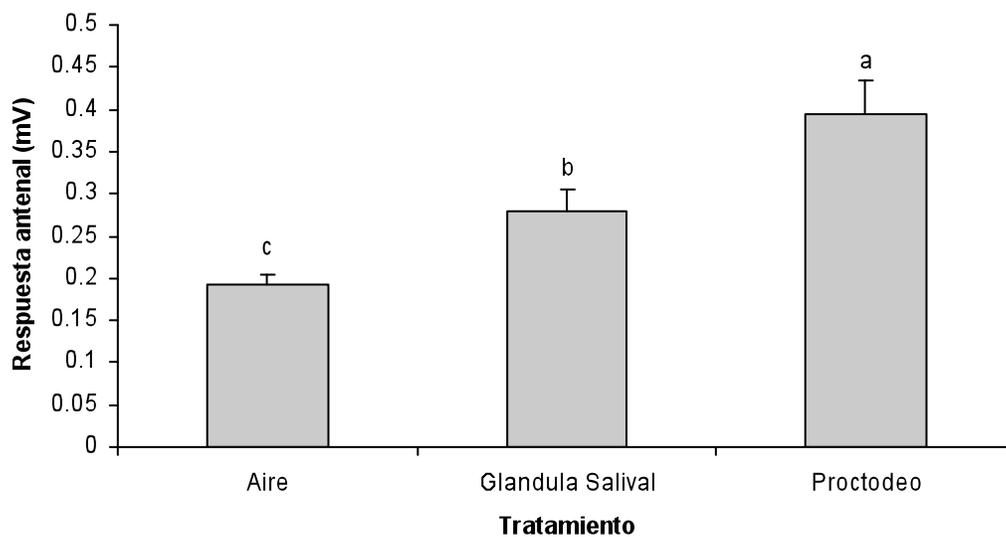


Figura 3.6. Respuesta antena (mV) ( $\pm$ EE) a los extractos de la glándula salival y proctodeo. Los valores seguidos por la misma letra en cada barra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

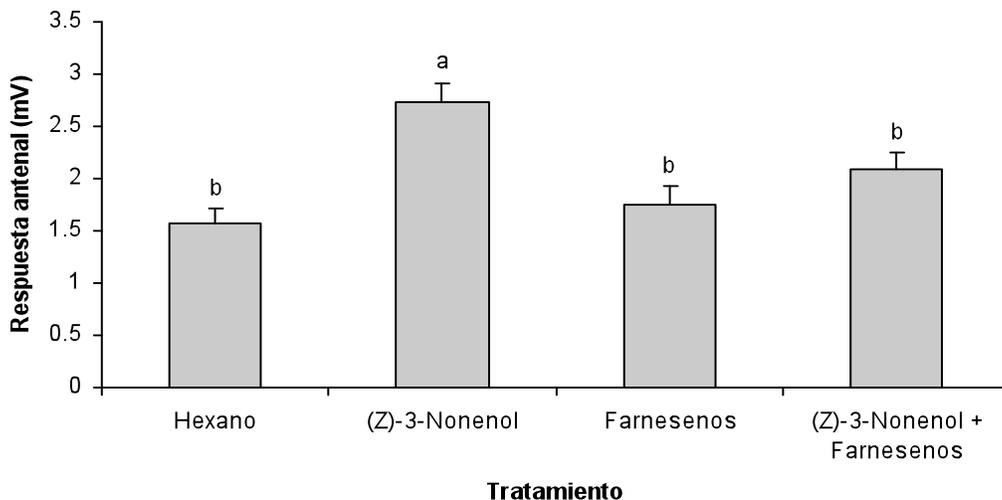


Figura 3.7. Respuesta antenal (mV) ( $\pm$ EE) a los compuestos sintéticos: (Z)-3-nonenol, farnesenos y (Z)-3-nonenol + farnesenos. En la barra de cada compuesto, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

### 3.3.4. Identificación de los componentes de la feromona sexual

Los análisis por GC-EM mostraron que durante el llamado los machos de *A. obliqua* liberaron consistentemente nueve compuestos: el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno, el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, el (Z)-3-nonenol, un sesquiterpeno (pico 2), el  $\beta$ -farneseno, tres isómeros de farneseno (picos 6, 7 y 8) y limoneno que no habían sido reportados anteriormente en los volátiles de *A. obliqua* o de alguna otra especie de *Anastrepha*, por lo que es la primera vez que se dilucida su identidad (Cuadro 3.1). El espectro de masas del pico 2 indica que se trata de un sesquiterpeno con ión molecular de  $m/z$  204, mientras que el espectro de masas de los picos 6, 7 y 8 sugiere que son compuestos análogos con un ión molecular de  $m/z$  204, los cuales además poseen los iones  $m/z$  107 y  $m/z$  135. Estos compuestos se consideraron como isómeros de farneseno debido a que el espectro de masas y los tiempos de retención se relacionan con los encontrados en la mezcla de farnesenos proporcionados por Sigma-Aldrich (Toluca, México) (Fig. 3.8). Las cantidades relativas de los compuestos capturados por las dos técnicas fueron muy similares, excepto el (Z)-3-nonenol que se capturó en mayor cantidad por la técnica de microextracción en fase sólida (Fig. 3.9 y 3.10) (Cuadro 3.1). En el caso de las muestras de los extractos

glandulares inyectadas en los capilares de vidrio, las glándulas salivales presentaron dos picos consistentes: el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno (Fig. 3.11). Por su parte, el proctodeo mostró consistentemente la presencia de un pico, identificado como el (*Z*)-3-nonenol (Fig. 3.12).

Cuadro 3.1. Compuestos volátiles liberados durante el llamado de los machos de *A. obliqua*.

Pico	Compuesto	Índice de Kovat <sup>a</sup>	(% $\pm$ E.E.) <sup>b</sup>	(% $\pm$ E.E.) <sup>c</sup>
1	( <i>Z</i> )-3-Nonenol	1138	8.01 $\pm$ 6.10	32.46 $\pm$ 5.52
2	Sesquiterpeno	1410	0.58 $\pm$ 0.45	0.88 $\pm$ 0.32
3	$\beta$ -Farneseno	1393	1.01 $\pm$ 0.74	0.93 $\pm$ 0.08
4	( <i>Z,E</i> )- $\alpha$ -Farneseno	1481	56.22 $\pm$ 41.08	35.83 $\pm$ 3.13
5	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farneseno	1493	13.17 $\pm$ 9.64	10.59 $\pm$ 1.42
6	Isómero de farneseno	1500	0.33 $\pm$ 0.25	1.28 $\pm$ 0.42
7	Isómero de farneseno	1580	20.47 $\pm$ 14.96	17.08 $\pm$ 2.24
8	Isómero de farneseno	1604	0.21 $\pm$ 0.16	0.95 $\pm$ 0.13
9	Limoneno	1024	t	t

<sup>a</sup> Índices de Kovat calculadas de los datos de tiempo de retención en una columna capilar SPB-1, <sup>b</sup> Volátiles obtenidos por aeración dinámica; <sup>c</sup> Volátiles obtenidos por MEFS; t, trazas.

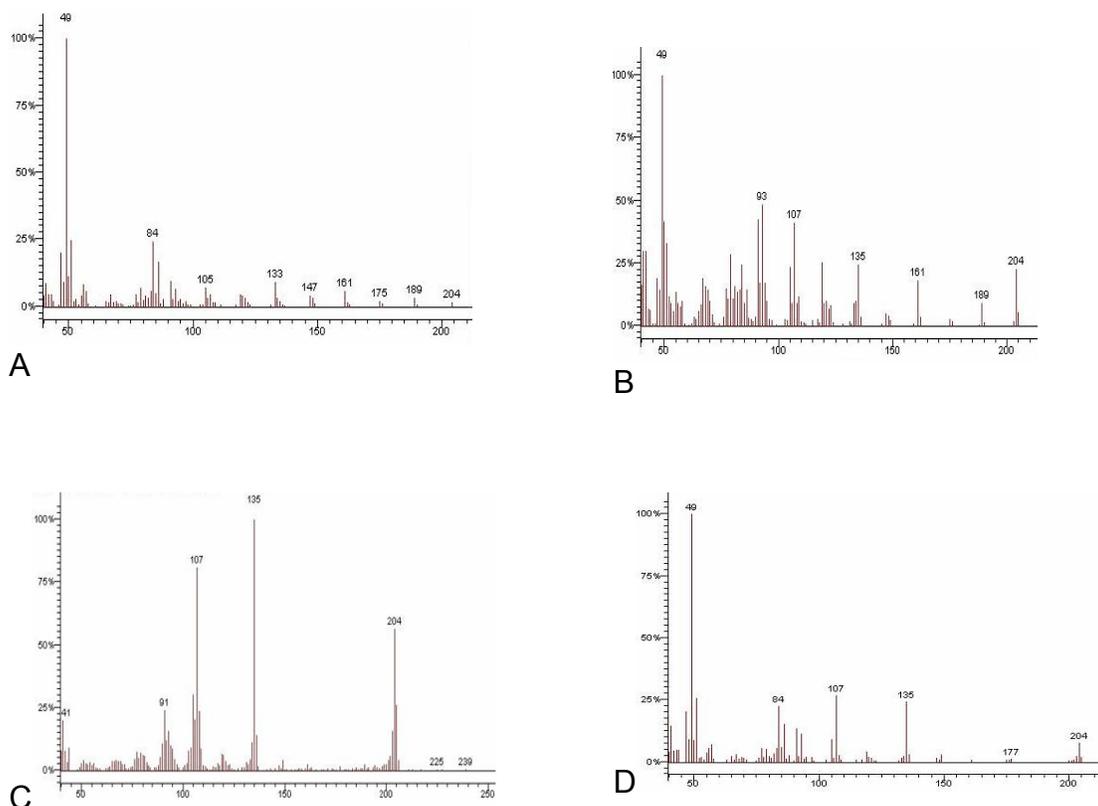


Figura 3.8. Espectro de masas de los volátiles desconocidos liberados durante el llamado de los machos de *A. obliqua*. Pico 2 (A); pico 6 (B); pico 7 (C); pico 8 (D).

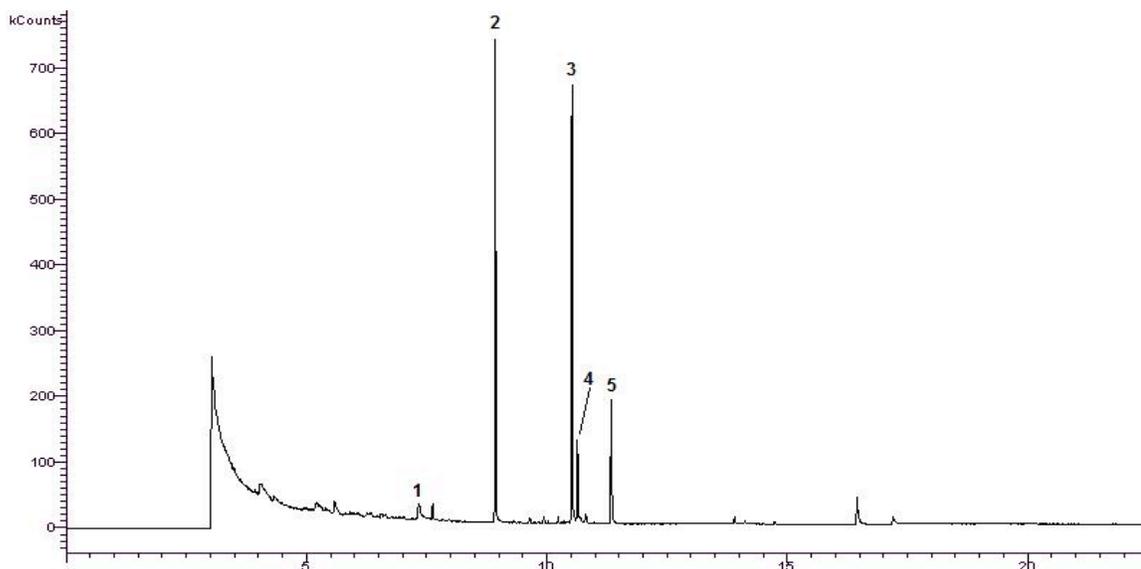


Figura 3.9. Cromatograma de los volátiles emitidos por machos de *A. obliqua*, colectados por aireación dinámica durante el llamado. Cada pico representa un compuesto: pico 1, (*Z*)-3-nonenol; pico 2, tridecano (estándar interno); pico 3, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno; pico 4, (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno; y pico 5, compuesto no identificado.

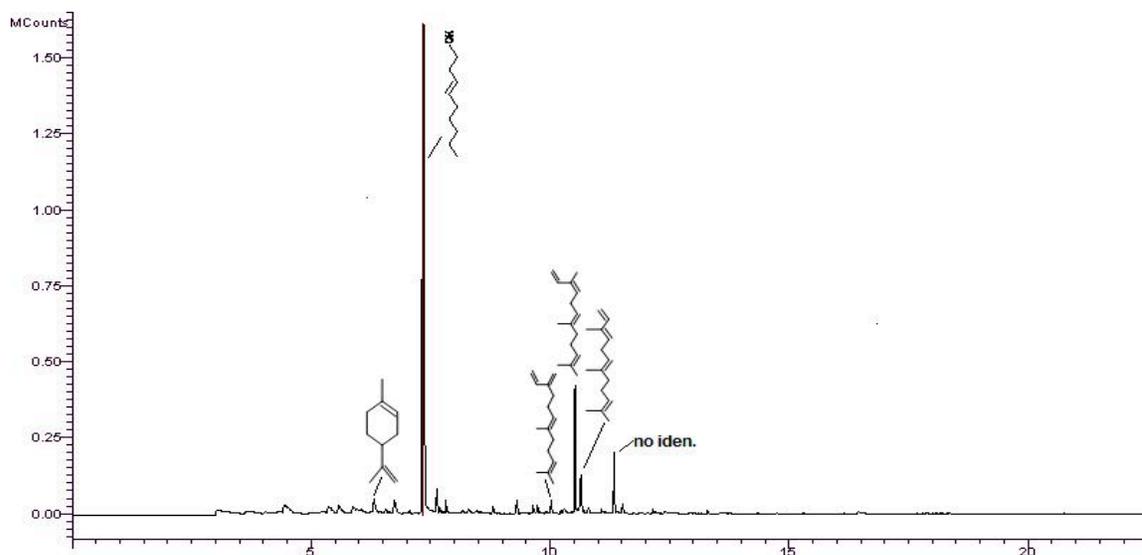


Figura 3.10. Cromatograma de los volátiles emitidos por machos de *A. obliqua*, colectados por fase sólida durante el llamado. De izquierda a derecha: limoneno, (*Z*)-3-nonenol,  $\beta$ -farneseno, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y compuesto no identificado.

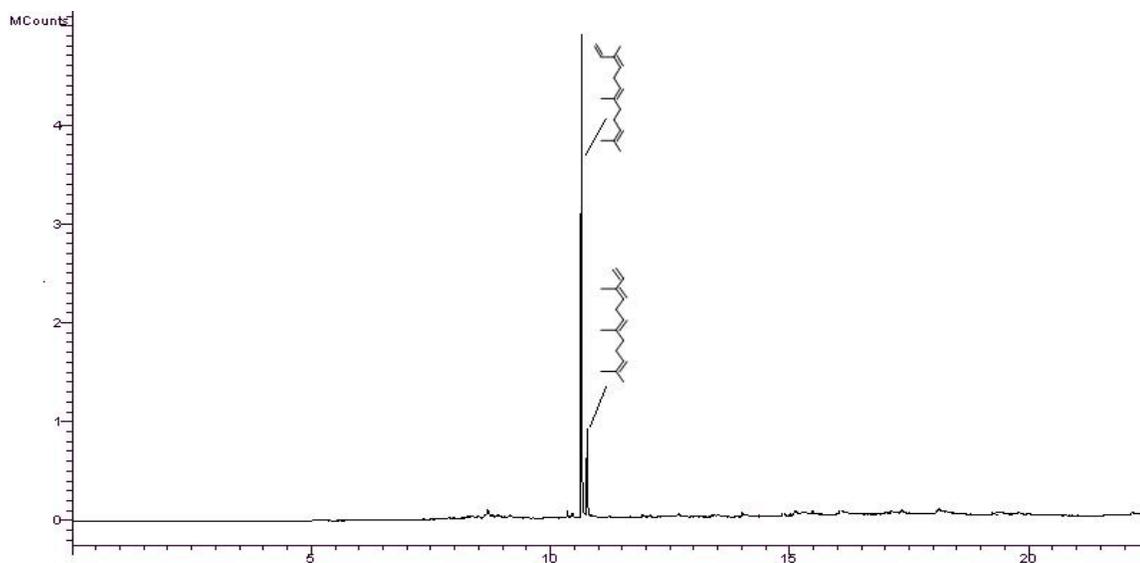


Figura 3.11. Cromatograma de las glándulas salivales de machos de *A. obliqua*. De izquierda a derecha (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y (E,E)- $\alpha$ -farneseno.

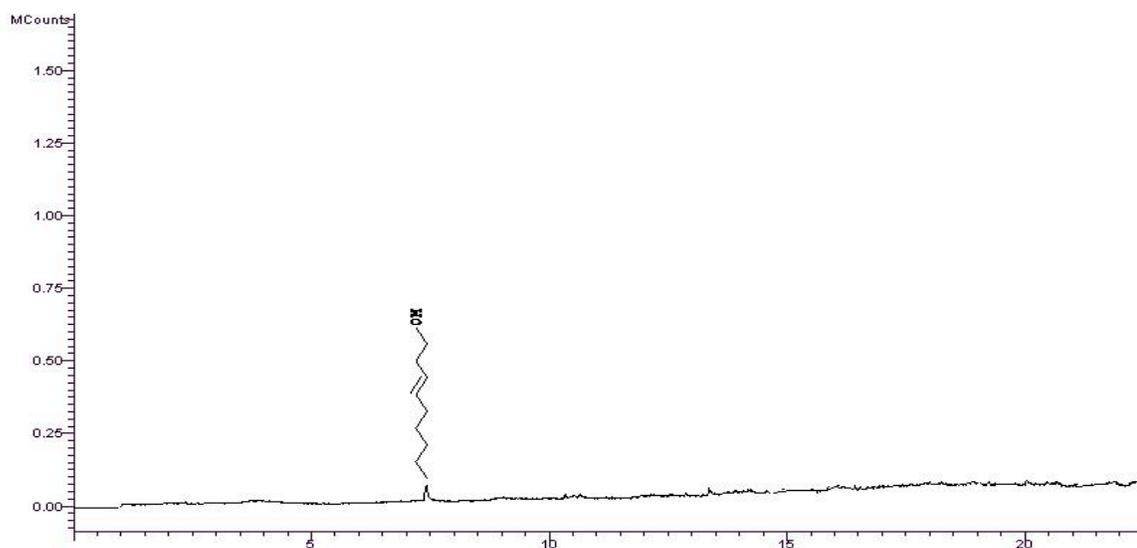


Figura 3.12. Cromatograma del proctodeo de machos de *A. obliqua* con presencia de (Z)-3-nonenol.

### 3.4. Discusión

Los resultados muestran que los machos de *A. obliqua* atraen a las hembras vírgenes sexualmente maduras. Resultados similares fueron reportados por Nation (1972) y Webb *et al.* (1983) en las hembras de *A. suspensa*, que respondieron a los estímulos producidos y liberados por machos vivos, sexualmente maduros. De

acuerdo con Sivinski y Calkins (1986), en las especies tropicales de moscas de la fruta, los machos son los responsables de liberar sustancias volátiles que atraen a las hembras, aunque la atracción es complementada por señales acústicas y visuales. Landolt y Averill (1999) reportaron que los machos de moscas de la fruta resultan atraídos a las señales de corto alcance de tipo visual que emiten las hembras, por lo que no es raro que los machos de *A. obliqua* fueran atraídos a las señales emitidas por las hembras debido a la naturaleza del bioensayo. Tampoco se puede descartar que las hembras produzcan feromonas de contacto que puedan atraer a los machos, lo cual no han sido investigado en las especies de *Anastrepha* (Nation, 1989). En este estudio se encontró que los machos de *A. obliqua* no fueron atraídos fuertemente hacia los cebos constituidos solamente por machos o en combinación con hembras. Perdomo *et al.* (1976) en un trabajo con *A. suspensa*, reportaron que un factor que atrae a los machos es la agregación de hembras y machos; sin embargo, los resultados de la respuesta de los machos de *A. obliqua* indican lo contrario. Lo anterior probablemente se debió a la densidad de insectos utilizados en ambos experimentos, debido a que en los ensayos con *A. suspensa* se utilizaron cebos con 40 machos y con *A. obliqua* solamente 10 machos.

Los extractos colectados de 10 a 50 machos de *A. obliqua* resultaron atractivos a las hembras. Nation (1975) reportó respuesta de las hembras de *A. suspensa* hacia los extractos de machos. Por su parte, Robacker y Hart (1986) encontraron que las hembras de *A. ludens* respondieron a los extractos provenientes del abdomen de machos. Las glándulas salivales y el proctodeo resultaron similarmente atractivos a las hembras de *A. obliqua*, aunque en este estudio las glándulas salivales se utilizaron como testigo debido a que Ibáñez-López y Cruz-López (2001) habían probado la respuesta de las hembras de *A. obliqua* hacia los extractos de estas glándulas. De Lima *et al.* (2001) también observaron que las hembras de *A. fraterculus* respondieron a los extractos de glándulas salivales de los machos. Es la primera vez que se observa respuesta de las hembras de *A. obliqua* hacia los extractos del proctodeo. Las hembras de *D. dorsalis* y *D. cucurbitae* fueron atraídas hacia los extractos del proctodeo de los machos (Kobayashi *et al.*, 1978). La

atracción de las hembras de *A. obliqua* a los extractos del proctodeo parece ser debida a la presencia del alcohol (Z)-3-nonenol, que fue encontrado en este órgano.

Se identificaron cinco compuestos y se dilucidó la identidad de cuatro de los compuestos restantes. El limoneno ha sido reportado en los volátiles de *A. ludens*, *A. fraterculus* y *A. serpentina* (Rocca *et al.*, 1992; De Lima, 1995; Lascares, 2004). El (Z)-3-nonenol también se ha reportado como uno de los componentes feromonales de *A. suspensa* y *A. ludens* (Nation, 1983b). El (E,E)- $\alpha$ -farneseno se ha encontrado en los volátiles de *A. suspensa*, *A. ludens* y *Ceratitis capitata* (Baker *et al.*, 1985; Rocca *et al.*, 1992) mientras que el (Z,E)- $\alpha$ -farneseno ha sido reportado en *A. suspensa* y *A. fraterculus* (De Lima, 1995; Lu y Teal, 2001). La presencia de tres compuestos mayoritarios: (Z)-3-nonenol, (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y (E,E)- $\alpha$ -farneseno en los volátiles liberados por machos de *A. obliqua* también fue reportada preliminarmente por Heath *et al.* (2000). En las glándulas salivales de *A. obliqua* se identificaron dos compuestos: (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y (E,E)- $\alpha$ -farneseno, los cuales también fueron reportados por Ibáñez-López y Cruz-López (2001). En contraste, en *A. suspensa* se reportó principalmente la presencia de suspensólido y una lactona (Nation, 1989). En el proctodeo del macho de *A. obliqua* se encontró (Z)-3-nonenol, compuesto que se reporta por primera vez en esta estructura. En el proctodeo de *A. suspensa* también se reportó principalmente la presencia del (Z)-3-nonenol más (Z,Z)-3-6-nonadienol (Nation, 1990). Es posible que la biosíntesis del (Z)-3-nonenol, el (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y el (E,E)- $\alpha$ -farneseno ocurra en estas glándulas tal como sucede en *A. suspensa*, en donde se producen las lactonas y los alcoholes (Nation, 1989), pero queda por averiguar cuál es el sitio de biosíntesis del cuarto compuesto mayoritario: un isómero del farneseno [índice de Kovat (KI) 1580 en columna SPB-1], que podría ser en la hemolinfa, el resto del tubo digestivo, o las secreciones bucales.

El único compuesto sintético que resultó comportamentalmente atractivo y antenalmente activo a las hembras de *A. obliqua* fue el (Z)-3-nonenol. Nation (1983b) también encontró que este alcohol fue atractivo a las hembras de *Anastrepha suspensa* (Loew), mientras que Nation (1989) en hembras de *A. ludens* reporta que este mismo compuesto provocó la repuesta antenal.

## CAPITULO 4

### Factores que afectan la liberación de compuestos feromonales en el macho de *Anastrepha obliqua*

#### 4.1. Introducción

El comportamiento sexual de las moscas de la fruta del género *Anastrepha* es mediado principalmente por feromonas emitidas por los machos (Landolt y Averill, 1999). Durante el llamado sexual, los machos liberan feromonas por medio de la boca, el ano y posiblemente por evaporación a través de la cutícula (Nation, 1989). El llamado de los machos de *A. obliqua* ocurre de 0700 a 1800 h, con un pico entre las 0700 y 1000 h (Aluja *et al.*, 2000). Se ha encontrado que los machos de esta especie liberan hasta nueve componentes durante el llamado, los cuales han sido identificados como (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, (*Z*)-3-nonenol, un sesquiterpeno, el  $\beta$ -farneseno, tres isómeros de farneseno y limoneno (Heath *et al.*, 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001, Capítulo III). La evaluación antenal y de comportamiento de los primeros tres compuestos han mostrado que el (*Z*)-3-nonenol es un componente feromonal de *A. obliqua* (Capítulo III). La actividad de los farnesenos no fue muy clara, posiblemente porque se usó una mezcla de varios compuestos que pueden haber afectado la actividad del (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno.

Varios estudios han documentado que diversos factores bióticos y abióticos afectan la producción y liberación de los compuestos feromonales en *Anastrepha* spp. (Moreno *et al.*, 1991; Nation, 1990, 1991; Epsky y Heath, 1993a, b). Por ejemplo, la cantidad y la proporción de los compuestos liberados pueden variar en el tiempo o entre diferentes poblaciones de moscas de la misma especie (Heath *et al.*, 2000). En *A. obliqua*, preliminarmente se ha demostrado que la hora del día y la edad influyen en la liberación de la feromona (Heath *et al.*, 2000; Meza-Hernández *et al.*, 2002), pero se desconoce aún qué otros factores pueden afectar la liberación de dichos compuestos. El objetivo del presente trabajo fue confirmar el efecto de la edad y la hora del día, así como investigar si la irradiación, el apareamiento y la presencia

del fruto hospedero afectan la liberación de compuestos feromonales en el macho de *A. obliqua*.

## **4.2. Materiales y Métodos**

### **4.2.1. Material biológico**

Los insectos fértiles e irradiados fueron proporcionados por la planta MOSCAMED localizada en Metapa de Domínguez, Chiapas. Las pupas y los adultos fueron mantenidos en jaulas de 27 dm<sup>3</sup> cubiertas con tela organdí transparente bajo las condiciones de temperatura, humedad relativa y fotoperíodo descritas en el capítulo III. En el mismo capítulo se describe la alimentación y el sexado de las moscas.

### **4.2.2. Colecta de volátiles**

Los volátiles emitidos por los machos de *A. obliqua* durante el periodo de llamado fueron colectados con la técnica de aireación dinámica descrita en detalle por Heath y Manukian (1992). El sistema de colecta se describe en el capítulo III con la diferencia de que en este estudio, una vez concluida la elusión de las muestras se les agregaron 20 µL de tridecano a una concentración de 100 ng/µL, como estándar interno para la cuantificación de los compuestos feromonales. Los viales herméticamente cerrados fueron almacenados a una temperatura de -20°C para su posterior análisis químico. La colecta de los volátiles en el laboratorio fue realizada a una temperatura de 25 ± 2°C, humedad relativa de 50-60%, e iluminación de 70 lux proporcionada por lámparas fluorescentes colocadas a 3 m sobre los frascos colectores.

### **4.2.3. Protocolo experimental**

**4.2.3.1. Hora del día.** La influencia de la hora del día en la liberación de compuestos volátiles de *A. obliqua* fue determinada colocando 10 machos de 8 a 10 días de edad dentro de cada recipiente de vidrio de 0700 a 1900 h. Estudios previos indican que los machos de esta especie alcanzan la madurez sexual a los 8 días de edad (Celedonio-Hurtado *et al.*, 1988). Cada 2 horas, los filtros que contenían los

volátiles fueron retirados, eludidos como se describió antes y se procedió a colocar filtros limpios en el sistema de colecta. En total se realizaron 12 repeticiones.

**4.2.3.2. Edad.** La influencia de la edad de los machos en la liberación de compuestos volátiles fue investigada usando grupos de 10 machos de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 días de edad. El procedimiento de colecta fue similar al descrito previamente, sólo que en este caso la colecta fue hecha de 0700 a 1000 h, periodo en el que ocurre el pico de llamado (Aluja *et al.*, 2000). En total se realizaron ocho repeticiones por edad.

**4.2.3.3. Irradiación.** La influencia de la irradiación sobre la liberación de volátiles fue determinada usando dos grupos de machos, obtenidos de la misma generación de cría masiva. El primer grupo de machos fue irradiado con  $\text{Co}^{60}$  a una dosis de 0.8 Gy en estado de pupa, 30 h antes de emerger como adultos y el segundo grupo se usó como testigo. El equipo y las condiciones durante la irradiación de los insectos han sido previamente descritos por Toledo *et al.* (2004). La colecta de volátiles fue efectuada usando 10 machos de 8 a 10 días de edad por cada grupo experimental. Los volátiles fueron colectados entre las 0700 y las 1000 h. Se realizó un total de ocho repeticiones por cada grupo de insectos.

**4.2.3.4. Apareamiento.** La influencia del apareamiento sobre la liberación de volátiles fue evaluada utilizando machos recién apareados y machos de 24 h después de apareados y como testigo se usaron machos vírgenes. Todos los insectos utilizados tenían de 8 a 10 días de edad. Los machos vírgenes fueron separados de las hembras dos días después de emergidos. Para obtener machos apareados, 200 machos y 200 hembras fueron confinados a partir del segundo día de emergidos en una jaula de 30 x 30 x 30 cm, cubierta en uno de sus lados con tela organdí. Los apareamientos fueron verificados visualmente y una vez que la cópula ocurría, las parejas fueron separadas y transferidas a recipientes individuales para preparar los dos grupos de machos. Los volátiles fueron colectados de 0800 a 1100 h. Se utilizaron 10 machos por cada grupo experimental y en total se realizaron ocho repeticiones por tratamiento.

**4.2.3.5. Presencia de hospedero.** Un fruto maduro de *S. mombin* fue introducido en el recipiente de vidrio del sistema colector de volátiles, junto con 10

machos de 8 a 10 días de edad. Como testigo, en otro recipiente de vidrio se introdujeron 10 machos con un objeto ovoide de unicel de color amarillo, tamaño (1.8 cm de diámetro x 3 cm de largo) y forma semejantes al fruto natural. Los volátiles fueron colectados de 0700 a 1000 h. En total se efectuaron ocho repeticiones por tratamiento.

**4.2.4. Análisis químico.** El análisis químico de los compuestos presentes en los volátiles fue realizado en un cromatógrafo de gases Varian CP-3800 acoplado a un espectrómetro de masas Varian Saturn 2200 (CG-EM). La columna y la rampa de temperaturas utilizadas se describieron en el capítulo III.

La identificación de los compuestos fue hecha tomando como base el tiempo de retención y el espectro de masas de cada pico comparado con estándares sintéticos. La cuantificación de los volátiles liberados por los machos se reporta en nanogramos/macho/hora y fue calculada a partir del área del tridecano que se inyectó como estándar interno. Los estándares sintéticos de farneseno (mezcla de isómeros que incluye el (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno) y el (*Z*)-3-nonenol fueron proporcionados por Sigma-Aldrich (Toluca, México). El espectro de masas del (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno y del (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno fueron comparados con los espectros de la base de datos Wiley/NBS (McLafferty y Stauffer, 1989) y el reportado por Rocca *et al.* (1992), respectivamente.

#### **4.2.5. Análisis estadístico**

Los valores obtenidos en la cuantificación de la influencia de la hora del día y la edad de los machos fueron procesados mediante un análisis multivariado (MANOVA) con mediciones repetidas para determinar si existía o no un efecto significativo del tiempo (hora del día y edad), o una interacción entre los compuestos liberados (tratamiento) y el tiempo (hora del día y edad). Los datos fueron transformados con  $\ln(x+1)$  para cumplir con los supuestos de normalidad y esfericidad. El uso del MANOVA fue indicado por un valor significativo de la prueba de esfericidad de Mauchly ( $P = 0.000$ ) que verifica que se cumpla con el supuesto de esfericidad (Morrison, 1990). Las medias fueron separadas por contrastes con la

significancia de  $\alpha = 0.05$  ajustada con Bonferroni de  $\alpha = 0.003$  y  $\alpha = 0.001$  para los datos de la hora del día y edad, respectivamente. Los datos de la influencia de la irradiación, apareamiento y de la presencia del hospedero fueron analizados con pruebas de *t*-Student ( $\alpha = 0.05$ ), suponiendo varianzas desiguales. Los datos fueron analizados en el programa estadístico SAS (SAS, 2001).

### 4.3. Resultados

Los análisis por CG-EM mostraron que los machos de *A. obliqua* liberan consistentemente cuatro compuestos, tres de los cuales fueron identificados como (*Z*)-3-nonenol, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno. El cuarto compuesto no fue identificado, sin embargo, su espectro de masas tiene una apariencia de un isómero de farneseno [índice de Kovat (KI) 1580 en columna SPB-1].

**4.3.1. Hora del día.** La cantidad de volátiles liberados por los machos de *A. obliqua* es afectada significativamente por la hora del día (prueba de Pillai  $V = 0.77$ ;  $F = 26.95$ ;  $gl = 5, 40$ ;  $P = 0.000$ ). No existe una interacción significativa entre los volátiles liberados y la hora del día (prueba de Pillai  $V = 0.03$ ;  $F = 0.09$ ;  $gl = 15, 126$ ;  $P = 1.00$ ). La mayor cantidad de (*Z*)-3-nonenol, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el compuesto no identificado fue liberada de 0700 a 0900 h, pero no fue significativamente diferente a la cantidad de volátiles liberados de 0900 a 1100 h, 1100 a 1300 h y 1700 a 1900 h, mientras que la cantidad liberada entre las 1300 y las 1700 h fue significativamente diferente a la cantidad liberada en todos los horarios antes mencionados (Fig. 4.1).

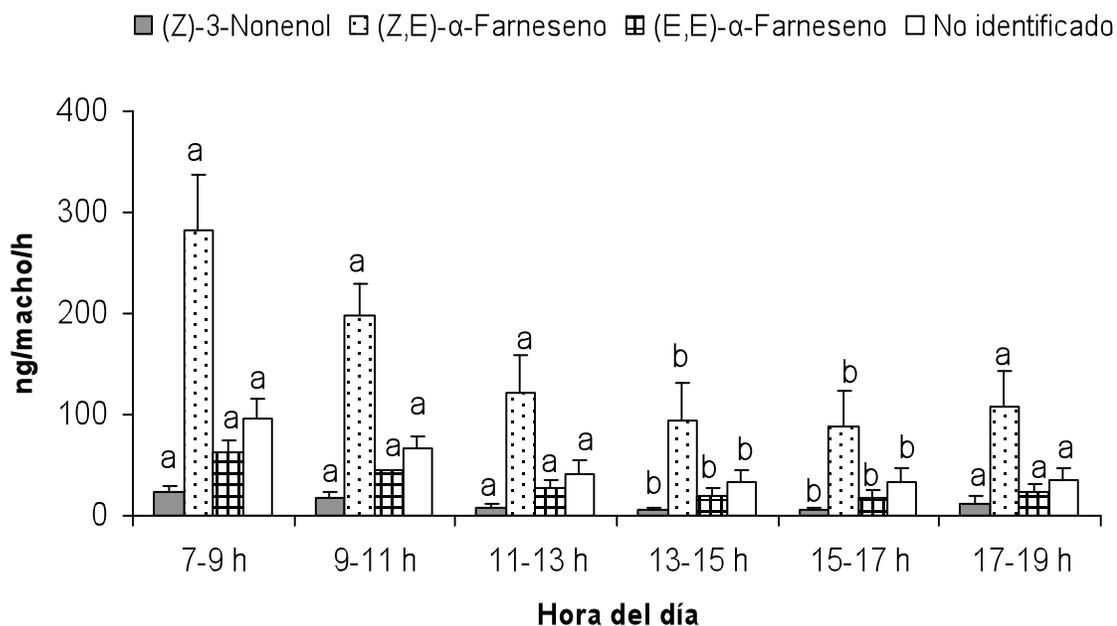


Figura 4.1. Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos de *A. obliqua* a diferente hora del día. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar,  $n=12$ . En la barra de cada compuesto los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Bonferroni,  $P < 0.003$ ).

**4.3.2. Edad.** Los machos de *A. obliqua* comenzaron a liberar compuestos volátiles a partir del sexto día. Los resultados muestran que la cantidad de volátiles liberados por los machos de *A. obliqua* fue significativamente afectada por la edad (prueba de Pillai  $V = 0.96$ ;  $F = 71.10$ ;  $gl = 7, 22$ ;  $P = 0.000$ ). No se encontró interacción significativa entre la cantidad de volátiles liberados y la edad de los machos (prueba de Pillai  $V = 0.98$ ;  $F = 1.67$ ;  $gl = 21, 72$ ;  $P = 0.058$ ). La mayor cantidad de (Z)-3-nonenol fue liberada del sexto al octavo día y fue estadísticamente similar a la liberada en el catorceavo día; en contraparte, la cantidad liberada del décimo al doceavo y del dieciseisavo al veinteavo día, fueron significativamente diferentes a los otros días. No hubo ninguna diferencia significativa en la cantidad de (Z,E)-α-farneseno, (E,E)-α-farneseno y el compuesto no identificado en ninguno de los días en los que se realizó la colecta (Fig. 4.2).

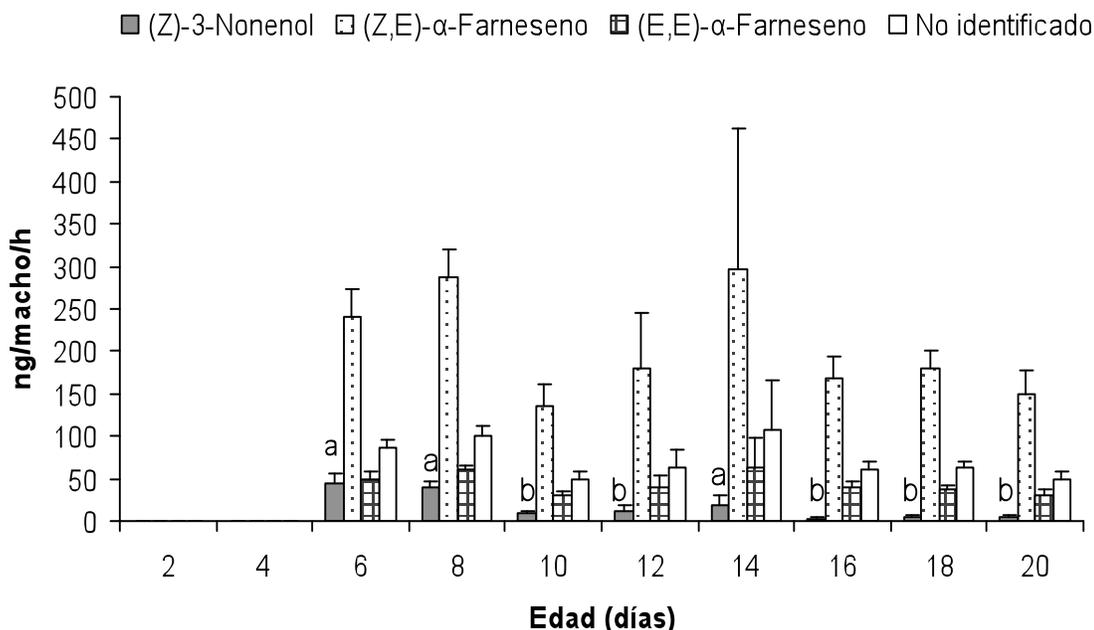


Figura 4.2. Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos de *A. obliqua* de diferente edad, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar,  $n=8$ . En la barra de cada compuesto los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Bonferroni  $P < 0.001$ ).

**4.3.3. Irradiación.** Los machos fértiles liberaron significativamente una mayor cantidad de (Z)-3-nonenol ( $t = 3.02$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.007$ ), (Z,E)-α-farneseno ( $t = 4.8$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.000$ ), (E,E)-α-farneseno ( $t = 3.08$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.009$ ) y del compuesto no identificado ( $t = 4.43$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.000$ ) que los machos irradiados (Fig. 4.3).

**4.3.4. Apareamiento.** Los machos vírgenes y machos después de 24 h de apareados no mostraron diferencias significativas en la cantidad liberada de (Z)-3-nonenol ( $t = 0.87$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.40$ ), (Z,E)-α-farneseno ( $t = 0.42$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.68$ ), (E,E)-α-farneseno ( $t = 0.06$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.95$ ) y el compuesto no identificado ( $t = 0.33$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.75$ ) (Fig. 4.4). Sin embargo, los machos recién apareados liberaron significativamente una menor cantidad de (Z)-3-nonenol ( $t = 2.92$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.022$ ), (Z,E)-α-farneseno ( $t = 3.89$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.003$ ), (E,E)-α-farneseno ( $t = 3.77$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.005$ ) y del compuesto no identificado ( $t = 3.93$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.006$ ) que los machos vírgenes (Fig. 4.5).

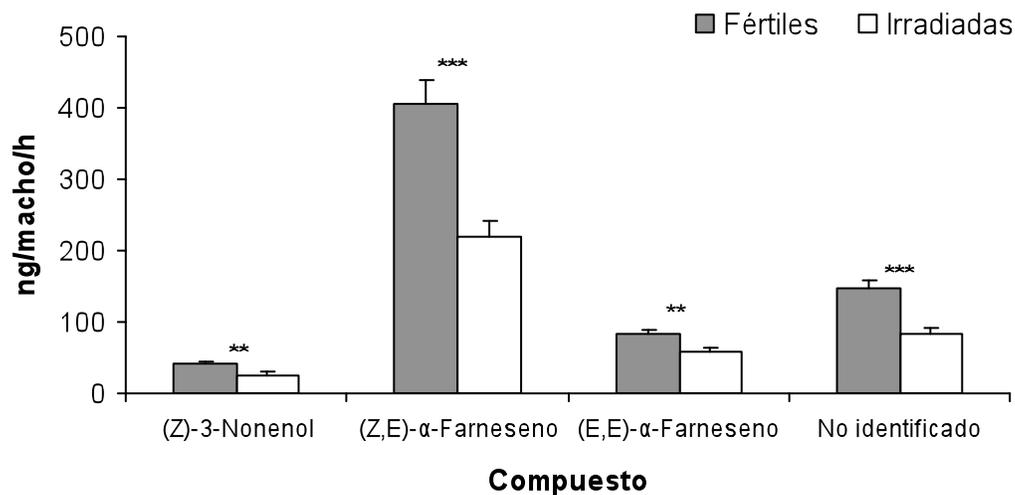


Figura 4.3. Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos irradiados y fértiles de *A. obliqua*, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar,  $n=8$ . Las barras marcadas con \*\* y \*\*\* indican diferencias significativas (prueba de *t*-Student,  $P < 0.01$  y  $P < 0.001$ ).

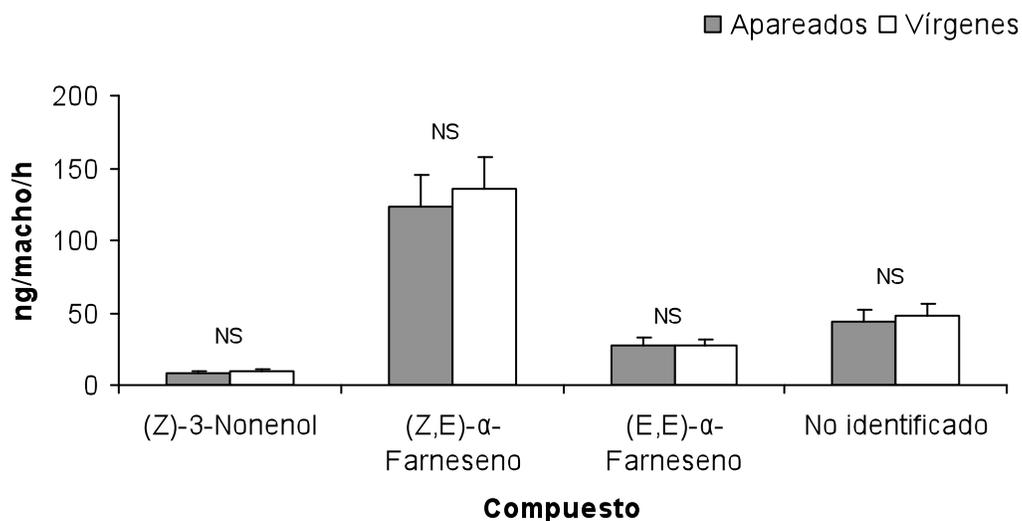


Figura 4.4. Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por machos vírgenes y por machos de *A. obliqua* con 24 h después del apareamiento, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar,  $n=8$ . Las barras marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de *t*-Student,  $P > 0.05$ ).

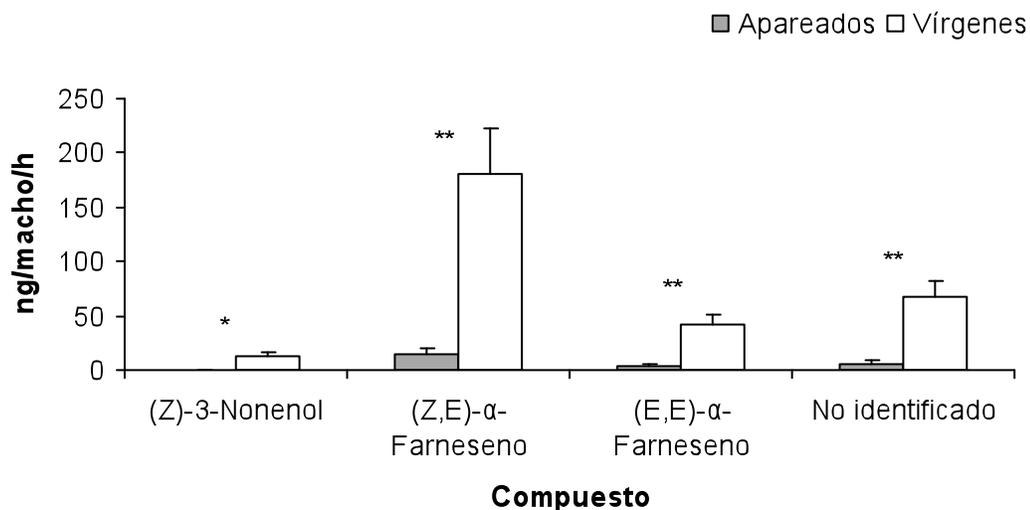


Figura 4.5. Cantidad promedio de compuestos volátiles liberados por los machos vírgenes y recién apareados de *A. obliqua*, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar,  $n=8$ . Las barras marcadas con \* y \*\* indican diferencias significativas y altamente significativas, respectivamente (prueba de *t*-Student,  $P < 0.00$  y  $P < 0.05$ ).

**4.3.5. Presencia de hospedero.** La presencia del fruto de *S. mombin* no afectó significativamente la cantidad liberada de (Z)-3-nonenol ( $t = 0.40$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.70$ ), (Z,E)- $\alpha$ -farneseno ( $t = 0.28$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.79$ ), (E,E)- $\alpha$ -farneseno ( $t = 0.34$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.74$ ) y el compuesto no identificado ( $t = 0.42$ ;  $gl = 14$ ;  $P = 0.68$ ) (Fig. 4.6).

#### 4.4. Discusión

Los resultados de este estudio muestran que varios factores afectaron la liberación de compuestos volátiles en machos de cría masiva de *A. obliqua*. Se encontró que los machos de *A. obliqua* liberaron una mayor cantidad de compuestos volátiles por la mañana, con un ligero incremento por la tarde. La mayor cantidad de compuestos fue liberada de 0700 a 0900 h (465.93 ng/macho/h), de 0900 a 1100 h (326.94 ng/macho/h) y de 1100 a 1300 h (198.78 ng/macho/h), seguidos por la cantidad de compuestos liberada de 1700 a 1900 h (178.92 ng/macho/h). Un patrón similar de liberación de compuestos volátiles fue reportado por Heath *et al.* (2000), quienes encontraron que los machos de cría masiva de *A. obliqua* originalmente colectados en una huerta de mango en Haití, liberaron gran cantidad de volátiles de 0715 a 0900 h, con una menor cantidad emitida a medio día y un repunte de 1600 a

2000 h. La periodicidad de la liberación de volátiles coincide con el patrón bimodal de llamado de los machos de *A. obliqua*, teniendo un pico más intenso durante la mañana, seguido por un ligero repunte por la tarde (Aluja *et al.*, 2000; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001).

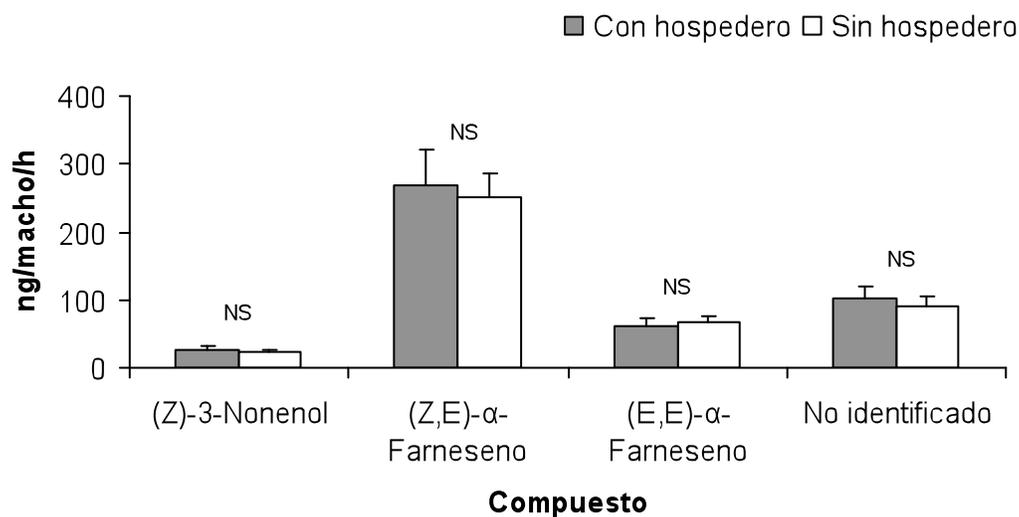


Figura 4.6. Cantidad promedio de los compuestos volátiles liberados por los machos de *A. obliqua* en presencia y ausencia de fruto hospedero, colectados durante el pico de llamado. Las líneas arriba de cada barra representan el error estándar,  $n=8$ . Las barras marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de *t*-Student,  $P > 0.05$ ).

Los machos de *A. obliqua* recién emergidos y de las primeras edades liberaron los compuestos volátiles hasta que alcanzaron los seis días de edad, lo cual coincide con la actividad de llamado, mostrando una relación positiva entre el llamado y la liberación de los compuestos volátiles. Sin embargo, se ha reportado que la actividad de llamado no siempre es un indicador de la cantidad de volátiles emitidos (Nation, 1990; Heath *et al.*, 2000), debido a que puede ser también un indicativo de la dominancia de un macho dentro de un “lek” (Nation, 1990). Durante los 20 días de observaciones, la cantidad de (Z)-3-nonenol producida por los machos decreció a partir de 10 días de edad, a pesar de existir una ligera recuperación en el catorceavo día, mientras que la cantidad liberada de los otros tres compuestos permaneció sin cambios significativos durante el tiempo de observación. Meza-Hernández *et al.* (2002) encontraron que la cantidad de (Z, E)-α-farneseno liberada

por los machos de *A. obliqua* de cría masiva permaneció constante de 8 a los 20 días de edad, mientras que la cantidad liberada por los machos silvestres se incrementó a partir del dieciseisavo día. La actividad sexual de los machos silvestres de *A. obliqua* ocurre entre los 12 y 20 días de edad, con un pico máximo a los 16 días de edad. En contraste, el máximo pico de actividad sexual de los machos procedentes de laboratorio ocurre a los 8 días de edad (Meza-Hernández *et al.* 2002). La edad también fue un factor que afectó la producción de feromona en machos silvestres de *C. capitata*, pero no tuvo ningún efecto en los machos de laboratorio (Heath *et al.* 1994). Este hecho indicó que la edad afecta notablemente la producción de volátiles feromonales en moscas de la fruta.

Los machos fértiles liberaron una mayor cantidad de compuestos volátiles que los machos irradiados. Resultados similares fueron obtenidos por Moreno *et al.* (1991), quienes informaron que los machos de *A. ludens* irradiados produjeron 35% menos de compuestos volátiles que los machos fértiles. Ponce *et al.* (1993) encontraron que la irradiación con  $\text{Co}^{60}$  a una dosis de 30 Gy no afectó la cantidad de feromona de los machos de *A. suspensa*. Sin embargo, a dosis de 50 Gy la cantidad de suspensolido y bisaboleno se redujo significativamente en comparación con los machos fértiles. Un efecto similar fue encontrado en los nonenoles y la epianastrefina a dosis de 70 Gy. La irradiación con la dosis de 100 Gy redujo todos los componentes feromonales, excepto el suspensólido. En contraste, Heath *et al.* (1994) reportaron que los machos de *C. capitata* irradiados producen una mayor cantidad de algunos compuestos volátiles tales como delta-1-pirrolina y 3-*E* octenoato de etilo en comparación con los machos fértiles pero sólo en un determinado tiempo debido a que después los machos fértiles producen la mayor cantidad de dichos compuestos. Indudablemente el hecho de que los machos de *A. obliqua* produzcan una mayor cantidad de feromona puede afectar su desempeño sexual y esto sería un punto importante a considerar para liberar a machos estériles de estas especies en un programa que utiliza la técnica del insecto estéril como elemento clave. Toledo *et al.* (2004) encontraron que la competitividad sexual de los machos de *A. obliqua* fue afectada por la radiación, siendo más pronunciado el efecto a dosis de 60 y 80 Gy. Meza-Hernandez *et al.* (2002) encontraron que si bien los

machos irradiados de laboratorio de *A. obliqua* compiten bien por las hembras silvestres fértiles, éstas tienden a escoger a machos silvestres fértiles. Futuros estudios deberán determinar si existe una relación entre competitividad sexual y la cantidad de feromona liberada por los machos de *A. obliqua*.

Los resultados muestran que los machos recién apareados liberaron menor cantidad de feromona que los vírgenes. El efecto del apareamiento sobre la liberación de la feromona parece diluirse en función del tiempo debido a que 24 h después de apareados los dos grupos de machos liberaron una cantidad similar de feromona. En *A. suspensa* se ha encontrado que los machos recién apareados tienen menos éxito en copular que sus rivales vírgenes, pero este efecto se pierde después de 2 h, y 24 h después los machos apareados son más exitosos que los machos vírgenes de su misma edad, aunque se desconoce la razón de ello (Sivinski, 1984). Sin embargo, una menor liberación de feromona no parece explicar la menor competitividad de los machos recién apareados, debido a que se conoce que estos producen y liberan la misma cantidad de feromona que los machos vírgenes (Nation, 1989). De hecho, se ha encontrado que después de su primer apareamiento, los machos de *A. suspensa* liberan el doble de feromona y adquieren a una pareja en menor del tiempo requerido por machos vírgenes de la misma edad (Teal *et al.*, 2000). Sivinski (1984) sugiere que la menor atracción de los machos recién apareados de *A. suspensa*, puede deberse a que sus glándulas accesorias se vacían después de la cópula y se vuelven a recargar un par de horas más tarde, de modo que los machos apareados vuelven a ser tan competitivos como los machos vírgenes. Un estudio reciente mostró que las reservas de esperma de machos de *A. obliqua* no disminuyen significativamente después de sucesivos apareamientos ocurridos en un mismo día (Pérez-Staples y Aluja, 2006). En el caso de *A. obliqua* se desconoce si la menor cantidad de feromona afecta la atracción de los machos recién apareados y por lo tanto se requieren estudios posteriores para investigar este aspecto.

Es bien conocido que las plantas hospederas pueden influir en el comportamiento sexual de los insectos herbívoros en diferentes maneras. Una de ellas consiste en que los volátiles de la planta hospedera pueden estimular la

producción o la liberación de feromonas (Landolt y Phillips, 1997). Varios estudios han mostrado que los machos de *C. capitata* expuestos a tridmelure y a volátiles frutales incrementan el nivel de llamado sexual y su éxito reproductivo (Shelly *et al.*, 1996; Shelly, 1999; Shelly, 2001; Papadopolus *et al.*, 2001). Por el contrario, en este trabajo se encontró que la presencia del fruto hospedero no afectó la cantidad de compuestos volátiles liberados por los machos de *A. obliqua*. Es posible que el tiempo de exposición de los machos de *A. obliqua* a los volátiles frutales no haya sido el suficiente para estimular una mayor producción de los componentes feromonales, aunque el experimento fue diseñado para evaluar la influencia del fruto en forma natural sobre la liberación de feromona. Los machos de *C. capitata* fueron expuestos a los volátiles durante 6 h y evaluados 24 h después. Futuros estudios usando diferentes tiempos de exposición serán realizados para investigar si los volátiles del fruto hospedero no afectan la producción y liberación de los componentes feromonales en *A. obliqua*.

## CAPITULO 5

### Respuesta de *Anastrepha obliqua* a atrayentes derivados de volátiles frutales y proteicos en campo

#### 5.1. Introducción

Los atrayentes a base de proteína como la putrescina, el acetato de amonio y la proteína hidrolizada se han usado exitosamente en programas de detección y monitoreo en varias especies de moscas de la fruta (Epsky *et al.*, 1995; Heath *et al.*, 1995, 1997; Robacker, 1995). Por otro lado, los volátiles frutales han mostrado potencial para utilizarse como atrayentes en varias especies de moscas de la fruta, incluyendo a *C. capitata* (Prokopy y Vargas, 1996; Warthen *et al.*, 1997; Prokopy *et al.*, 1998), *A. suspensa* (Nigg *et al.*, 1994), *A. ludens* (Robacker *et al.*, 1992; Robacker y Heath, 1996) y *A. obliqua* (Cruz-López *et al.*, 2006). Por ejemplo, se ha encontrado que los machos y hembras de *A. ludens* son atraídos a los volátiles de chapote amarillo (*Casimiroa* = *S. greggii*), guayaba (*P. guajava*) y matazano (*C. edulis*) (Robacker *et al.*, 1990c; Malo *et al.*, 2005; González *et al.*, 2006). Mientras que recientemente Cruz-López *et al.* (2006) demostraron que *A. obliqua* es atraída hacia nueve compuestos volátiles de uno de sus hospederos, el jobo de pava (*S. mombin*).

Desde el punto de vista práctico la combinación de volátiles de origen proteico y frutales sería deseable para mejorar las capturas de moscas debido a que se conoce que el estado fisiológico de las moscas de la fruta puede afectar su respuesta al tipo de atrayente evaluado (Robacker, 1991; Malavassi y Prokopy, 1992), y en un huerto existen moscas de diferente estado fisiológico. Sin embargo, poco se conoce cómo funciona la combinación de compuestos proteicos con compuestos volátiles frutales en condiciones de campo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de *A. obliqua* en campo hacia volátiles de jobo de pava combinados con putrescina y acetato de amonio.

## 5.2. Materiales y Métodos

**4.2.1. Área de estudio.** El trabajo se efectuó en un huerto comercial de mango Cv. "Ataulfo" con una superficie de 60 ha, localizado en la finca El Refugio, Municipio de Tapachula, Chiapas con coordenadas de 14° 10' y 15° 20' latitud Norte y 92° 10' y 93° 10' longitud Oeste, y a una altura de 172 msnm. La región tiene un clima tropical húmedo.

**5.2.2. Tratamientos y diseño experimental.** El estudio se desarrolló con poblaciones naturales de moscas de la fruta ubicadas en la huerta comercial, en junio de 2006, periodo con mayor infestación de la plaga. Los tratamientos evaluados consistieron en acetato de amonio (Suterra LLC, OR, EUA) + mezcla completa de volátiles de "jobo de pava" (VJ), putrescina (Suterra LLC, OR, EUA) + VJ, acetato de amonio + putrescina, acetato de amonio + putrescina + VJ y proteína hidrolizada Captor 300 (Promotora Agropecuaria Universal S.A. de C.V., México, D. F.) como testigo.

Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento con arreglo en bloques completamente al azar. La proteína hidrolizada fue preparada usando 5 g de bórax mezclado con 10 mL de proteína hidrolizada disuelta en 235 mL de agua (NOM-023-FITO-1995, 1999). Un volumen de 100 µL de los compuestos sintéticos de los volátiles de jobo de pava fueron cargados en septos de caucho (Sigma-Aldrich, Toluca), preparados de acuerdo a la proporción determinada por Cruz-López *et al.* (2006). En cada una de las trampas *Multilure* (MacPhail de plástico, versión húmeda) se colocaron 250 mL de agua adicionados con 2 mL de Tween 80 (ICI, Wilmington, DE, USA) para retener las moscas en las trampas con los diferentes tratamientos, excepto en las trampas testigo, que contenían proteína hidrolizada, cuyo contenido fue sustituido cada seis días. Por su parte, los septos que contenían los volátiles de jobo fueron cambiados cada tres días. Las trampas fueron colgadas a una altura aproximada de 4 m en la copa de cada árbol. En la huerta, con distancia entre árboles de 24 m, las trampas fueron rotadas en cada revisión para reducir el efecto de posición. La colecta de material biológico capturado fue efectuada cada tres días utilizando colador, pinzas y frascos entomológicos con alcohol al 70%. Los frascos fueron previamente etiquetados, después se llevaron al laboratorio para la

separación de los especímenes capturados y para la identificación de adultos de *A. obliqua* de las otras especies de *Anastrepha* que fueron capturadas. En la identificación de *A. obliqua* se utilizaron las características morfológicas descritas para dicha especie (Hernández-Ortiz, 1992; White y Elson-Harris, 1992).

**5.2.3. Análisis estadístico.** Los datos de la captura de *A. obliqua* en cada tratamiento fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y la separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). La diferencia en la proporción capturada de hembras y machos fue verificada mediante una prueba de *t*-Student (Steel y Torrie, 1993), la cual no encontró diferencias significativas por lo que los datos se analizaron considerando el total de moscas capturadas. Antes de los análisis, los datos fueron transformados con  $\ln(x+1)$  para cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Los análisis se realizaron con el programa estadístico “Statistica” (Statsoft 2003).

### 5.3. Resultados

Después de cinco revisiones se capturó un total de 950 adultos de *A. obliqua*, de los cuales 615 fueron hembras y 335 fueron machos. Durante el estudio, las trampas capturaron otras especies de *Anastrepha*, entre las cuales destacaron *A. ludens* y *A. serpentina*.

Se encontró que el índice de moscas/trampa/día capturado con los diferentes atrayentes fue significativamente diferente ( $F = 22.94$ ; g.l. = 4, 16;  $P < 0.001$ ). Las trampas que contenían proteína hidrolizada, acetato de amonio + putrescina + volátiles de jobo de pava y acetato de amonio + putrescina fueron las que capturaron más moscas y resultaron estadísticamente diferentes de las trampas cebadas con acetato de amonio + volátiles de jobo de pava y putrescina + volátiles de jobo de pava (Fig. 5.1).

### 5.4. Discusión

Los resultados del presente estudio indicaron que la combinación de los volátiles frutales provenientes del jobo de pava, con los volátiles de origen proteico no incrementaron la captura de hembras y machos de *A. obliqua* en las trampas

cebadas con dichos volátiles. Este hecho apoya los resultados que muestran que la combinación de volátiles frutales y proteicos no parece ser una estrategia efectiva para incrementar el número de capturas de las moscas de la fruta en huertos comerciales. Resultados similares fueron encontrados en *A. ludens* cuando se comparó una mezcla de cuatro compuestos volátiles de chapote amarillo: 1,8- cineol, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y hexanol por separado o en combinación con una fuente proteica de bicarbonato de amonio + metil amina + putrescina (Robacker y Heath, 1997). Estos investigadores reportaron que las capturas de hembras y machos fueron mayores en las trampas McPhail cebadas con la fuente proteica por separado, comparadas con las trampas que combinaron la fuente proteica con los cuatro volátiles de chapote amarillo. Recientemente se observó que las capturas de *A. ludens* se incrementaron usando una combinación de una mezcla de aceites de rosa (*Rosa centifolia* L.) y semilla de uva (*Vitis vinifera* L.) con una mezcla de atrayentes alimenticios (MAA) compuesta por amonio, metilamina, putrescina y 1-pirrolina (Robacker y Rios, 2005; Robacker 2007). Al mismo tiempo se encontró que no hubo un incremento en las capturas cuando se combinaron por separado el aceite de semilla de uva con la MAA, demostrándose así que el aceite de rosa fue el componente activo en la mezcla de aceite de rosa + semilla de uva. Los mismos investigadores reportaron después de haber evaluado otros aceites de frutos no hospederos en combinación con MAA que no hubo incrementó en las capturas de adultos (Robacker, 2007). Por su parte, Cornelius *et al.* (2000) encontraron que las capturas de *B. dorsalis* fueron más bajas en relación con la combinación de un puré de naranja, *Citrus sinensis* (L.) más una fuente proteica a base de *Nu-Lure*, borato de sodio y agua comparados con los volátiles de naranja. En general, estudios con *R. pomonella*, han tenido la respuestas inconsistentes a la combinación de volátiles frutales + proteicos *versus* volátiles frutales. En un estudio que se efectuó en un huerto de manzano utilizando esferas como trampas y cebadas con hexanoato de butilo y carbonato de amonio se incrementaron las capturas de las hembras comparadas con el hexanoato de butilo por separado (Duan y Prokopy, 1992). Sin embargo, Reynolds y Prokopy (1997) observaron que las capturas de hembras de *R. pomonella* liberadas en un huerto artificial fueron más numerosas en esferas cebadas

con hexanoato de butilo + carbonato de amonio comparado con ambos atrayentes por separado. En contraste, cuando el experimento se desarrolló en campo abierto, la combinación de los dos atrayentes no incrementó las capturas de *R. pomonella* sobre el hexanoato de butilo por separado.

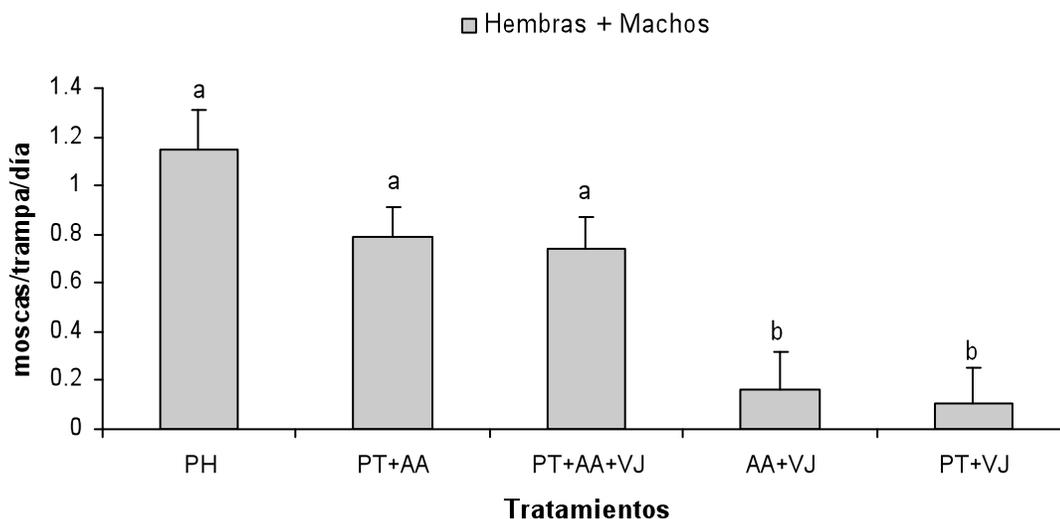


Figura 5.1. Captura de moscas/trampa/día ( $\pm$  EE) de *A. obliqua* utilizando trampas *Multilure* cebadas con diferentes atrayentes. PH, proteína hidrolizada; PT, putrescina; AA, acetato de amonio y VJ, volátiles de jobo de pava. Las barras con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

La razón por la cual la combinación de cebos de diferente origen no tuvieron un efecto positivo para incrementar las capturas de *A. obliqua* y de otras especies de *Anastrepha* no está totalmente esclarecida, pero una posible explicación es que cuando el experimento fue realizado la población de insectos estaba constituida de adultos con necesidades de proteína y no de azúcar debido a que existían frutos de mango disponibles para la alimentación de las moscas. En *A. ludens* y *A. obliqua* se ha encontrado que moscas alimentadas con proteína y en ayuno de azúcar tuvieron mayor respuesta a los cebos de origen frutal, mientras que las alimentadas de azúcar y en ayuno de proteína fueron más atraídas a los cebos de origen proteico (Robacker, 1998; López-Guillén *et al.*, 2006; Capítulo V).

Por otra parte, las capturas numerosas en las trampas cebadas con proteína hidrolizada y putrescina + acetato de amonio que se tuvieron en este experimento

con *A. obliqua*, también han sido reportadas en otros estudios con *A. ludens* (Epsky *et al.*, 1995; Heath *et al.*, 1995). Estos investigadores encontraron que las capturas con putrescina y el acetato de amonio por separado fueron muy bajas por lo que sugirieron el uso de la combinación de ambos como un atrayente alimenticio alternativo para monitorear moscas del género *Anastrepha*, además de la proteína hidrolizada. La ventaja de la putrescina + acetato de amonio es que son cebos secos que se pueden utilizar en combinación con volátiles frutales de manera más eficiente y duradera (Montoya *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007).

## CAPITULO 6

### Influencia de la dieta, el apareamiento, la edad, la irradiación y el tiempo de ayuno de azúcar, en la respuesta de *Anastrepha obliqua* a dos tipos de atrayentes

#### 6.1. Introducción

Los derivados sintéticos de frutos hospederos representan una alternativa para monitorear y controlar poblaciones de moscas de la fruta (Montoya *et al.*, 2006) y la posibilidad de utilizarlos ha sido explorada en *A. ludens*, *R. pomonella*, *B. dorsalis*, *C. capitata* y otras especies (Malo *et al.*, 2005; Cornelius *et al.*, 2000; Cohen y Voet, 2002). Recientemente se encontró que la mosca del ciruelo, *A. obliqua*, es fuertemente atraída a los volátiles de uno de sus hospederos, el jobo de pava (*S. mombin*) (Cruz-López *et al.*, 2006). Los estudios de campo con los compuestos sintéticos de volátiles de jobo de pava en un huerto de mango (*M. indica*) mostraron que la captura de moscas decreció conforme los frutos de mango maduraron, por lo que probablemente las moscas fueron afectadas por factores intrínsecos a la especie (estado fisiológico) (López-Guillén *et al.*, 2006). En este trabajo se realizaron experimentos en jaulas de campo para determinar si el ayuno de proteína y azúcar en *A. obliqua* vírgenes y apareadas de 8 a 12 días de edad afecta su respuesta hacia volátiles de jobo de pava y putrescina + acetato de amonio. La edad de 8 días para *A. obliqua* es un tiempo crítico porque es cuando las hembras y los machos alcanzan la madurez sexual (Celedonio-Hurtado *et al.*, 1988). También se determinó el efecto del ayuno de azúcar y proteína en moscas de distintas edades en su respuesta a los volátiles de jobo de pava y putrescina más acetato de amonio. Por último se determinó la respuesta de *A. obliqua* fértiles e irradiadas, con ayuno de azúcar y proteína en relación a los dos atrayentes.

## **6.2. Materiales y Métodos**

### **6.2.1. Material biológico**

Los insectos fértiles e irradiados utilizados en los experimentos fueron proporcionados por la planta MOSCAMED localizada en Metapa de Domínguez, Chiapas. Las pupas y los adultos se mantuvieron en jaulas de 30 x 30x 30 cm (27 dm<sup>3</sup>) cubiertas con tela organdí transparente a temperatura de 27 ± 2°C, humedad relativa de 60-70% y fotoperíodo de 12 h luz por 12 h de oscuridad. Los adultos recién emergidos fueron separados en dos grupos distintos. El primero fue alimentado con una mezcla en proporción 1:3 de levadura hidrolizada enzimáticamente (ICN, Biomedical, Inc.), sacarosa y agua. A los insectos alimentados con este régimen alimenticio no se les permitió ingerir azúcar 24 h antes de iniciar el ensayo correspondiente, por lo que su dieta consistió de proteína y agua. El segundo grupo se alimentó con azúcar y agua (sin proteína) durante el tiempo que duraron los ensayos.

Durante la realización de los experimentos, los insectos fueron subdivididos en cuatro grupos: 1) machos vírgenes, 2) hembras vírgenes, 3) machos apareados, y 4) hembras apareadas, excepto para el ensayo del efecto de la edad, en donde solamente se evaluaron moscas vírgenes. Los machos y las hembras vírgenes fueron separados antes del segundo día de emergidos para evitar que se aparearan.

### **6.2.3. Jaulas de campo**

Los experimentos fueron realizados en jaulas de campo de forma cilíndrica de 2.85 m de diámetro x 2 m de altura, construidas con malla de nylon tipo mosquitero, en cuyo interior fueron colocados tres árboles de mango de 1.20 m de altura. También se colgaron dos trampas *Multilure* (MacPhail de plástico, versión húmeda) a 10 cm de distancia del techo de la jaula, en las cuales se colocaron 250 mL de agua adicionados con 2 mL de Tween 80 (ICI, Wilmington, DE, EUA) para retener las moscas capturadas por las trampas con los diferentes tratamientos. La primera trampa fue cebada con 100 µl de una mezcla completa de compuestos sintéticos de volátiles de jobo de pava (VJ), que se agregaron en un septo de caucho (Sigma-Aldrich, Toluca, México). La mezcla de compuestos sintéticos, tratamiento que en lo

sucesivo se llamará atrayente frutal, fue preparada de acuerdo a la proporción determinada por Cruz-López *et al.* (2006). La segunda trampa fue cebada con putrescina (PT) (Suterra LLC, OR, EUA) + acetato de amonio (AA) (Suterra LLC, OR, EUA) como fuente proteica (Heath *et al.*, 1995), y de aquí en adelante a este tratamiento se le llamará atrayente proteico. Todos los experimentos fueron efectuados de 0800 a 1800 h.

#### **6.2.4. Efecto de la dieta y el apareamiento**

El efecto de la dieta y el apareamiento fue evaluado en moscas fértiles vírgenes y apareadas de 8 a 12 días de edad de una misma cepa, las cuales fueron alimentadas con dos dietas: azúcar-agua y proteína-agua. Los tratamientos fueron divididos en cuatro grupos: 1) 25 machos vírgenes + 25 hembras vírgenes, alimentados con azúcar-agua, 2) 25 machos vírgenes + 25 hembras vírgenes, alimentados con proteína-agua, 3) 25 machos apareados + 25 hembras apareadas, alimentados con azúcar-agua, y 4) 25 machos apareados + 25 hembras apareadas, alimentados con proteína-agua. Cada grupo de insectos se colocó en frascos de plástico (10 cm de diámetro x 15 cm de alto) cubiertos con tela organdí y posteriormente los insectos fueron liberados en el interior de las jaulas por separado de acuerdo al tratamiento. Al final del día se registraron las capturas en las trampas cebadas con el atrayente frutal o el atrayente proteico, respectivamente. Se efectuaron seis repeticiones para cada uno de los tratamientos evaluados.

Los datos de las capturas de las moscas vírgenes y apareadas con las dos dietas fueron analizados independientemente mediante una prueba de  $G$  con corrección de Williams (Sokal y Rohlf, 1995). La diferencia en la proporción capturada de hembras y machos fue verificada mediante una prueba de  $Z$  (Zar, 1999), cuando no se encontraron diferencias significativas entre sexos, los datos se analizaron como capturas totales y en el caso contrario fueron analizados como machos y hembras por separado. Por su parte, los datos de las moscas apareadas vs vírgenes en cada atrayente y de las dos dietas se analizaron con un modelo polinomial con la instrucción CATMOD. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SAS (SAS, 2001).

### **6.2.5. Efecto de los días de ayuno de azúcar**

El ensayo se desarrolló en jaulas de campo con la misma metodología descrita en el experimento anterior, en cuyo interior se colgaron las trampas cebadas con los atrayentes. Se evaluaron dos grupos de moscas fértiles con ayuno de azúcar pero alimentadas con proteína-agua, las cuales tenían entre 8 y 12 días de edad. El primer grupo estuvo con ayuno de azúcar durante 1 día y el segundo durante 2 días. Dos grupos de 25 hembras apareadas + 25 machos apareados y 25 hembras vírgenes + 25 machos vírgenes fueron liberados en el interior de las jaulas de campo de forma separada. Al final del experimento se registraron las capturas en cada una de las trampas cebadas con los atrayentes. En total se realizaron seis repeticiones por tratamiento de los dos grupos de moscas.

Los datos de capturas de moscas con ayuno de azúcar durante 1 día *versus* 2 días fueron analizados mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) con arreglo factorial de 2<sup>3</sup>. El modelo estadístico incluyó el análisis de la proporción capturada de hembras y machos (Steel y Torrie, 1993), la cual no encontró diferencias significativas entre sexos, por lo que se analizaron como datos de capturas totales. Los datos fueron analizados en el programa estadístico “Statistica” (Statsoft, 2003), los cuales fueron transformados con  $\ln(x+1)$  para cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

### **6.2.6. Efecto de la edad y la dieta**

El efecto de la edad y la dieta de *A. obliqua* en su respuesta hacia los dos tipos de atrayentes fue evaluado en moscas fértiles de 0, 1, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 15, 20 y 30 días después de emergidas de una misma cepa. Las moscas recién emergidas fueron consideradas como el grupo de cero días. Los tratamientos de cada una de las edades fueron evaluados en moscas vírgenes con dos dietas: 1) 25 machos vírgenes + 25 hembras vírgenes, alimentados con azúcar-agua, y 2) 25 machos vírgenes + 25 hembras vírgenes, alimentados con proteína-agua. Cada uno de los grupos de insectos fue colocado en frascos de plástico de 10 cm de diámetro x 15 cm de alto, cubiertos con tela organdí. Después cada uno de los grupos de insectos de acuerdo a la dieta fue liberado en el interior de las jaulas de forma separada, en cuyo

interior estaban las trampas cebadas con el atrayente frutal y el atrayente proteico, registrando al final del experimento el número de insectos capturados por cada trampa. En total se realizaron seis repeticiones por cada tratamiento.

Los datos de las capturas de las moscas de cada una de las edades por cada tipo de dieta fueron analizados mediante ANDEVA con mediciones repetidas con la instrucción PROC MIXED y la separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) con el programa estadístico SAS (SAS, 2001). El modelo estadístico incluyó el análisis de la proporción capturada de hembras y machos con ayuno de azúcar, en la que no se encontraron diferencias significativas, por lo que los datos se analizaron considerando el total de moscas capturadas. En el caso de las hembras y machos con ayuno de proteína los datos fueron analizados por separado debido a que se encontraron diferencias significativas en la proporción de sexos capturada.

#### **6.2.7. Efecto de la irradiación, la dieta y el apareamiento**

El efecto de la irradiación en la respuesta de *A. obliqua* alimentadas con las dos dietas hacia los dos tipos de atrayentes fue evaluado comparando moscas irradiadas y fértiles de la misma cepa de 8 a 12 días de edad. Las moscas estériles fueron irradiadas con una dosis de 0.8 Gy de  $\text{Co}^{60}$  en estado de pupa, 30 h antes de emerger como adultos. El equipo y las condiciones durante la irradiación de los insectos han sido previamente descritos por Toledo *et al.* (2004). Los tratamientos evaluados en las jaulas de campo descritas anteriormente fueron los siguientes: 1) 25 machos vírgenes fértiles + 25 machos vírgenes irradiados + 25 hembras vírgenes fértiles + 25 hembras vírgenes irradiadas, alimentados con azúcar-agua, 2) 25 machos vírgenes fértiles + 25 machos vírgenes irradiados + 25 hembras vírgenes fértiles + 25 hembras vírgenes irradiadas, alimentados con proteína-agua, 3) 25 machos apareados fértiles + 25 machos apareados irradiados + 25 hembras apareadas fértiles + 25 hembras apareadas irradiadas, alimentados con azúcar-agua, y 4) 25 machos apareados fértiles + 25 machos apareados irradiados + 25 hembras apareadas fértiles + 25 hembras apareadas irradiadas, alimentados con proteína-agua. Cada uno de los tratamientos de moscas fértiles e irradiadas fue liberado en jaulas por separado. El número de moscas fértiles e irradiadas (marcadas en estado

de pupa) en cada una de las trampas cebadas con el atrayente frutal y el atrayente proteico fueron registradas. En total se realizaron seis repeticiones por cada uno de los tratamientos.

Las capturas con las dos dietas de las moscas fértiles e irradiadas, vírgenes como apareadas, fueron analizadas mediante un ANDEVA con arreglo factorial 4 x 2 x 2. El modelo estadístico incluyó el análisis de la proporción capturada de hembras y machos (Steel y Torrie, 1993), el cual no encontró diferencias significativas entre sexos por lo que los datos fueron analizados como capturas totales. La separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) cuando alguna interacción fue significativa. Los datos fueron analizados en el programa estadístico "Statistica" (Statsoft, 2003), los cuales fueron transformados con  $\ln(x + 1)$  para cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

### **6.3. Resultados**

#### **6.3.1. Efecto de la dieta y el apareamiento**

Las trampas cebadas con el atrayente frutal capturaron más moscas apareadas ( $G = 20.13$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ) y vírgenes ( $G = 35.44$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ) con ayuno de azúcar en comparación con las moscas de las mismas condiciones capturadas por las trampas cebadas con el atrayente proteico (Fig.6.1). En contraste, las trampas cebadas con el atrayente proteico capturaron más moscas apareadas (total  $G = 43.02$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ; hembras  $G = 31.80$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ; machos  $G = 11.41$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ) y vírgenes (total  $G = 43.31$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ; hembras  $G = 34.56$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.000$ ; machos  $G = 9.44$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.002$ ) con ayuno de proteína que las trampas con el atrayente frutal (Fig. 6.2).

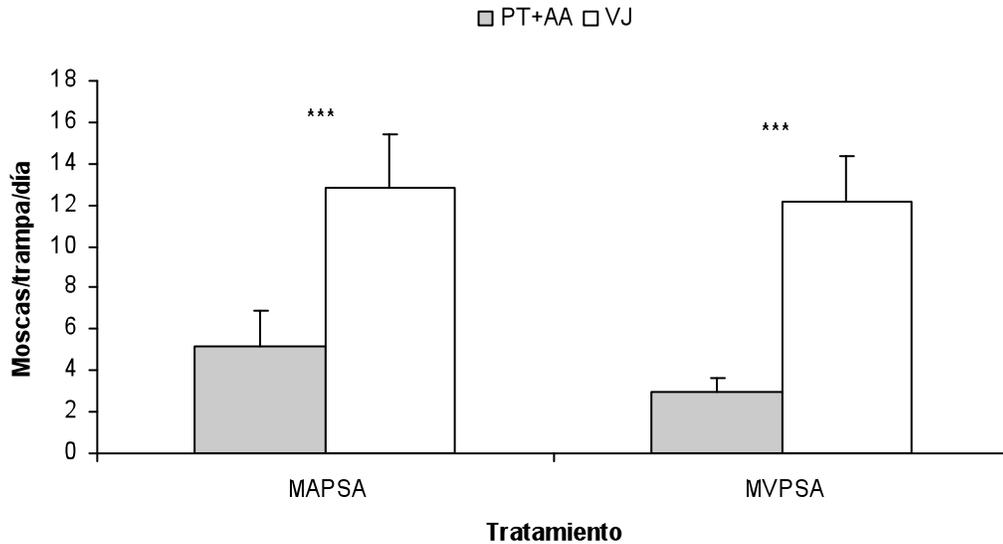


Figura 6.1. Captura promedio ( $\pm$  EE) de *A. obliqua* de ambos sexos en trampas *Multilure* cebadas con un atrayente frutal (VJ) y con un atrayente proteico (PT+AA). MAPSA = moscas apareadas con ayuno de azúcar; y MVPSA = moscas vírgenes con ayuno de azúcar. Las barras marcadas con \*\*\* indican diferencias altamente significativas (prueba de G,  $P < 0.001$ ).

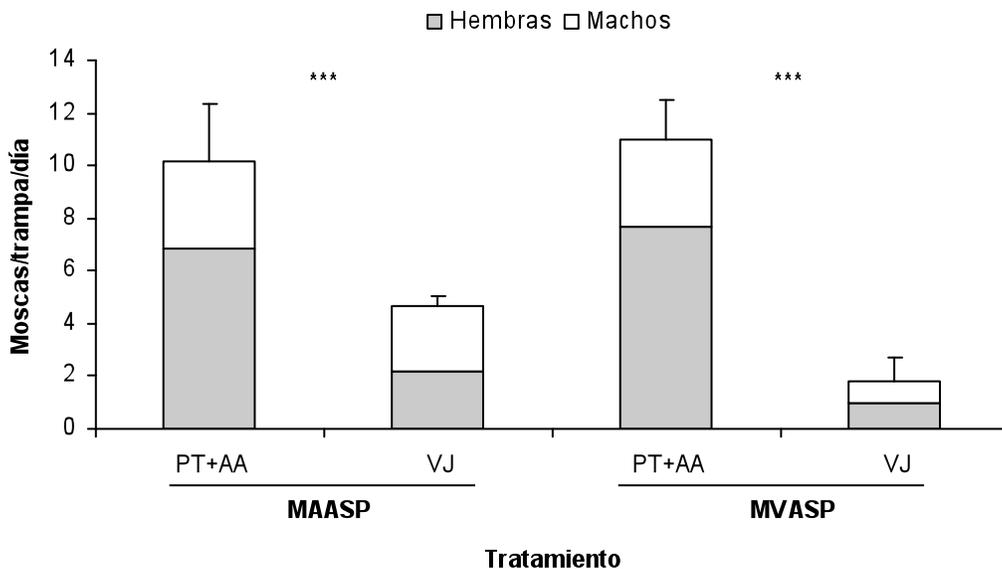


Figura 6.2. Captura promedio ( $\pm$  EE) de hembras y machos de *A. obliqua* en trampas *Multilure* cebadas con un atrayente frutal (VJ) y con un atrayente proteico (PT+AA). MAASP = moscas apareadas con ayuno de proteína; y MVASP = moscas vírgenes ayuno de proteína. Las barras marcadas con \*\*\* indican diferencias altamente significativas (prueba de G,  $P < 0.001$ ).

Las capturas de moscas apareadas *versus* vírgenes con ayuno de azúcar en trampas cebadas con el atrayente frutal no fueron significativamente diferentes ( $\chi^2 = 0.03$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.855$ ). Lo mismo ocurrió con las capturas de moscas apareadas *versus* vírgenes con ayuno de azúcar en trampas cebadas con el atrayente proteico ( $\chi^2 = 2.72$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.100$ ). Al mismo tiempo las capturas de las moscas apareadas *versus* vírgenes con ayuno de proteína en trampas cebadas con el atrayente frutal no fueron significativamente diferentes ( $\chi^2 = 0.39$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.530$ ). Los resultados de las capturas de las moscas apareadas *versus* vírgenes con ayuno de proteína en trampas cebadas con el atrayente proteico no fueron significativamente diferentes ( $\chi^2 = 1.13$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0.289$ ) (Fig. 6.3).

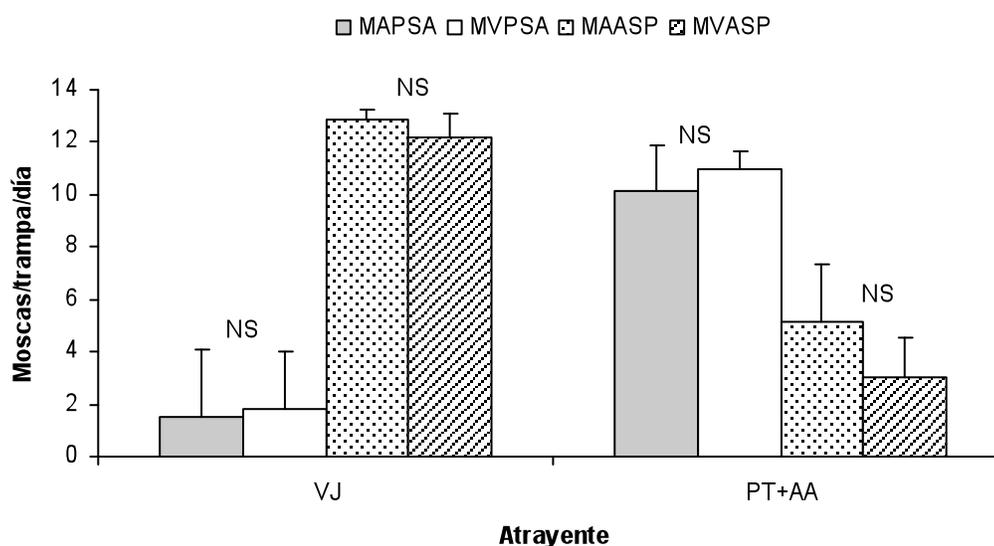


Figura 6.3. Captura promedio ( $\pm$  EE) de *A. obliqua* en trampas *Multilure* cebadas con un atrayente frutal (VJ) y con un atrayente proteico (PT+AA). MA = moscas apareadas ayunadas de azúcar o de proteína y MV = moscas vírgenes ayunadas de azúcar o de proteína. Las barras marcadas con NS indican diferencias no significativas (prueba de  $\chi^2$ ,  $P > 0.05$ ).

### 6.3.2. Efecto de los días de ayuno de azúcar

Los días de ayuno afectaron significativamente la respuesta de las moscas ( $F = 6.61$ ;  $gl = 1, 47$ ;  $P = 0.001$ ), presentándose diferencias significativas en las capturas con ambos atrayentes ( $F = 69.77$ ;  $gl = 1, 47$ ;  $P = 0.000$ ). La respuesta de las moscas

vírgenes y apareadas no fue significativamente diferente a los dos atrayentes ( $F = 0.12$ ;  $gl = 1, 47$ ;  $P = 0.731$ ). No se encontró interacción entre las moscas vírgenes y apareadas x día ( $F = 1.86$ ;  $gl = 1, 47$ ;  $P = 0.181$ ), entre las moscas vírgenes y apareadas x atrayente ( $F = 1.34$ ;  $gl = 1, 47$ ;  $P = 0.249$ ) y entre las moscas vírgenes y apareadas x día x atrayente ( $F = 0.33$ ;  $gl = 1, 47$ ;  $P = 0.569$ ). Tanto las moscas vírgenes como apareadas ayunadas de azúcar durante 1 y 2 días respondieron mejor al atrayente frutal (Fig. 6.4).

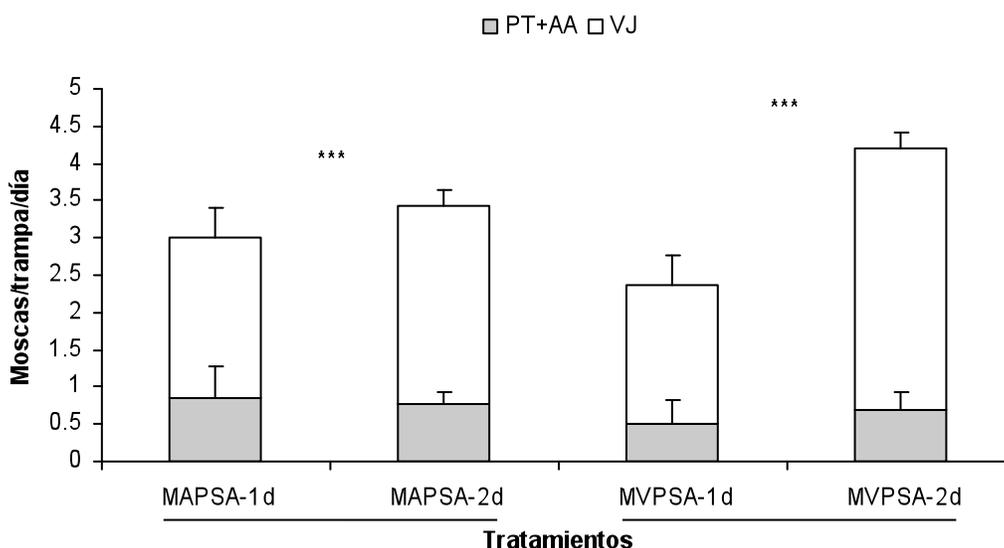


Figura 6.4. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de *A. obliqua* con trampas *Multilure* cebadas con un atrayente frutal (VJ) o uno proteico (PT+AA). MAPSA-1d = moscas apareadas con ayuno de azúcar durante un día; MAPSA-2d = moscas apareadas con ayuno de azúcar durante dos días; MVPSA-1d = moscas vírgenes con ayuno de azúcar durante un día; y MVPSA-2d = moscas vírgenes con ayuno de azúcar durante dos días. Las barras marcadas con \*\*\* indican diferencias altamente significativas (ANDEVA,  $P < 0.001$ ), comparando moscas apareadas privadas de azúcar por 1 día vs 2 días y moscas vírgenes privadas de azúcar 1 día vs 2 días.

### 6.3.3. Efecto de la edad y la dieta

La respuesta de las hembras y los machos de *A. obliqua* vírgenes con ayuno de azúcar fue afectada significativamente por la edad ( $F = 18.84$ ;  $gl = 9, 210$ ;  $P = 0.001$ ) y por el atrayente frutal ( $F = 198.27$ ;  $gl = 1, 210$ ;  $P = 0.001$ ). No se encontró una interacción significativa entre la edad x sexo ( $F = 0.36$   $gl = 10, 210$ ;  $P = 0.9513$ ). Sin embargo, la interacción entre la edad x el atrayente fue significativa ( $F = 5.16$ ;  $gl$

= 10, 210;  $P = 0.001$ ). Las moscas *A. obliqua* fueron atraídas al atrayente frutal y proteico a unas horas de haber emergido (cero días). Las edades en las que respondieron mejor las moscas al atrayente frutal fueron desde uno hasta 10 días y su respuesta decreció a partir de los 15 a los 30 días de edad. Por su parte, las moscas que prefirieron al atrayente proteico presentaron una mejor respuesta a los 3 días de edad, la cual no fue distinta a la respuesta de las moscas con 1, 4 a 15 días de edad pero sí con la respuesta de las moscas de 1, 20 y 30 días de edad (Fig. 6.5).

Por su parte, las hembras y los machos con ayuno de proteína respondieron significativamente diferente de acuerdo a la edad (total  $F = 7.19$ ;  $gl = 12, 241$ ;  $P = 0.001$ ; hembras  $F = 4.33$ ;  $gl = 12, 120$ ;  $P = 0.001$ ; machos  $F = 4.43$ ;  $gl = 10, 110$ ;  $P = 0.001$ ) y al atrayente proteico (total  $F = 124.63$ ;  $gl = 1, 241$ ;  $P = 0.001$ ; hembras  $F = 107.39$ ;  $gl = 1, 120$ ;  $P = 0.001$ ; machos  $F = 33.76$ ;  $gl = 1, 110$ ;  $P = 0.001$ ). No se encontró una interacción significativa entre la edad x sexo (total  $F = 0.93$ ;  $gl = 10, 241$ ;  $P = 0.5061$ ). Sin embargo, la interacción entre la edad x el atrayente fue significativa (total  $F = 6.51$ ;  $gl = 10, 241$ ;  $P = 0.001$ ; hembras  $F = 5.07$ ;  $gl = 10, 120$ ;  $P = 0.001$ ; machos  $F = 2.83$ ;  $gl = 10, 110$ ;  $P = 0.004$ ). De igual forma, las moscas fueron atraídas a los dos atrayentes a pocas horas de haber emergido (cero días). Las hembras ayunadas de proteína respondieron mejor al atrayente frutal cuando tenían de 3 a 20 días de edad, mientras que la respuesta al atrayente frutal fue mejor entre 1 y 4 días de edad (Fig. 6.6). Por su parte, los machos presentaron una mejor respuesta al atrayente proteico de 3 a 15 días de edad. En adición, los machos tuvieron mayor respuesta al atrayente frutal a los 3 días de edad y en las edades restantes su respuesta fue similar entre sí (Fig. 6.7).

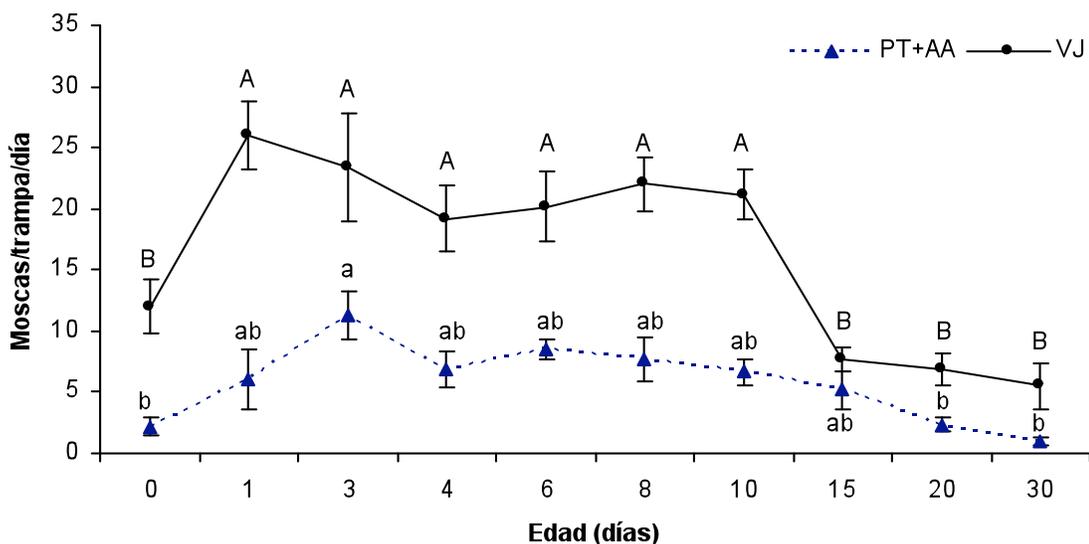


Figura 6.5. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de ambos sexos de *A. obliqua* con ayuno de azúcar, utilizando trampas *Multilure* cebadas con un atrayente proteico (PT+AA) y un atrayente frutal (VJ). Las líneas de los errores estándar de cada edad y atrayente con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

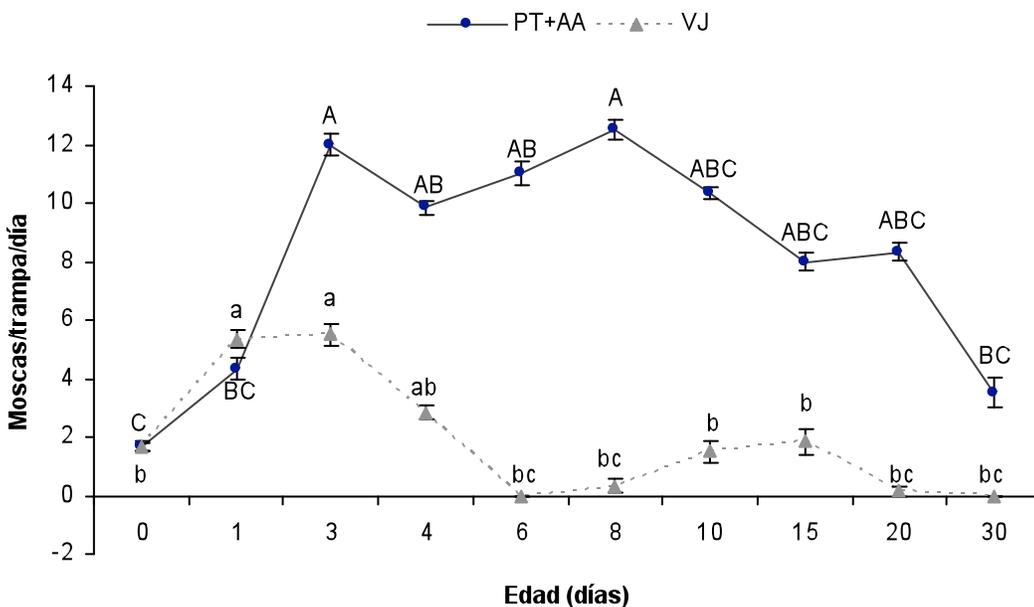


Figura 6.6. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de hembras *A. obliqua* con ayuno de proteína, utilizando trampas *Multilure* cebadas con un atrayente proteico (PT+AA) y un atrayente frutal (VJ). Las líneas de los errores estándar de cada edad y atrayente con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

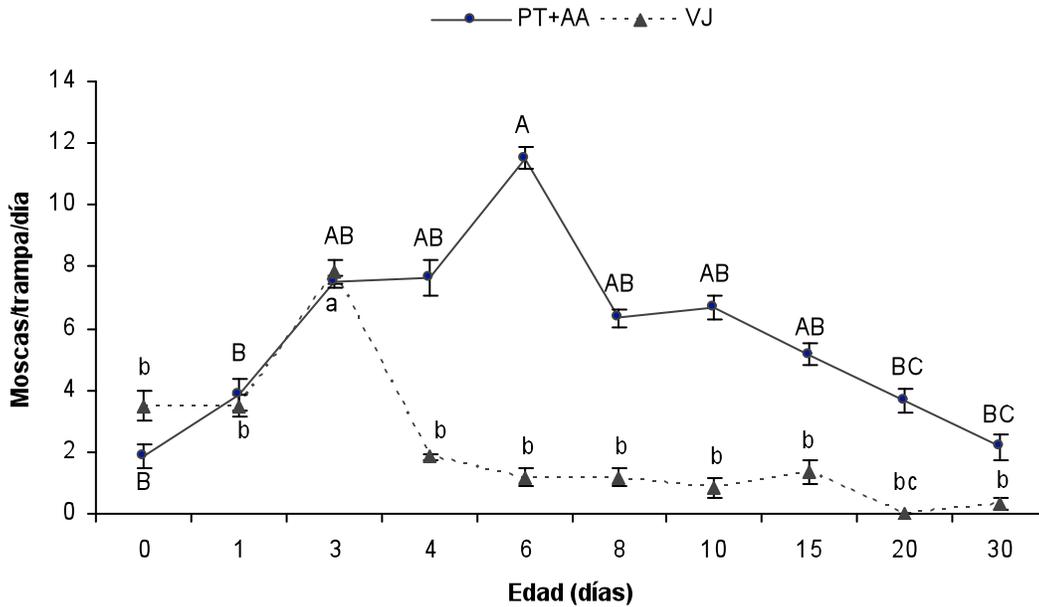


Figura 6.7. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de machos *A. obliqua* con ayuno de proteína, utilizando trampas *Multilure* cebadas con un atrayente proteico (PT+AA) y un atrayente frutal (VJ). Las líneas de los errores estándar de cada y atrayente con la misma letra no son significativamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

#### 6.3.4. Efecto de la irradiación, la dieta y el apareamiento

La respuesta de las moscas vírgenes y apareadas fue afectada significativamente por la irradiación ( $F = 37.54$ ;  $gl = 1, 95$ ;  $P = 0.000$ ) y por los dos atrayentes ( $F = 93.89$ ;  $gl = 1, 95$ ;  $P = 0.000$ ) (Fig. 6.8 y 6.9). No existió diferencia significativa en la respuesta de las moscas vírgenes y apareadas ( $F = 0.69$ ;  $gl = 3, 95$ ;  $P = 0.559$ ). Se encontró interacción significativa entre las moscas vírgenes y apareadas x atrayentes ( $F = 78.06$ ;  $gl = 3, 95$ ;  $P = 0.000$ ). Las moscas vírgenes y apareadas fértiles con ayuno de proteína respondieron mejor al atrayente proteico que las moscas irradiadas, mientras que las moscas vírgenes y apareadas fértiles con ayuno de azúcar presentaron una mejor respuesta al atrayente frutal que las moscas irradiadas. No se presentó interacción entre las moscas vírgenes y apareadas x moscas fértiles e irradiadas ( $F = 1.02$ ;  $gl = 3, 95$ ;  $P = 0.390$ ), entre moscas fértiles e irradiadas x atrayentes ( $F = 0.39$ ;  $gl = 1, 95$ ;  $P = 0.534$ ), y entre moscas vírgenes y apareadas x moscas fértiles e irradiadas x atrayentes ( $F = 0.21$ ;  $gl = 3, 95$ ;  $P = 0.886$ ).

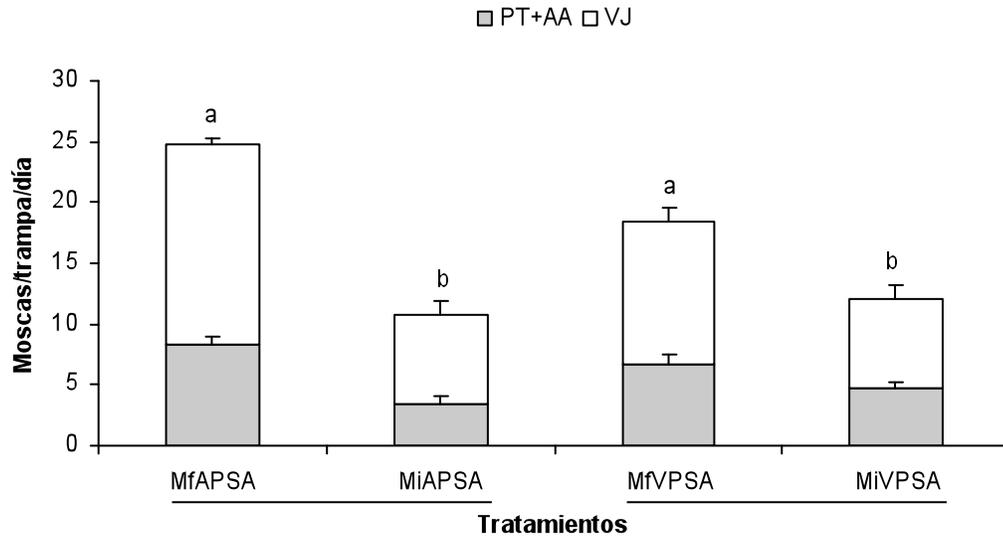


Figura 6.8. Captura promedio ( $\pm$  EE) de *A. obliqua* en trampas *Multilure* cebadas con un atrayente frutal (VJ) o un atrayente proteico (PT+AA). MfAPSA y MiAPSA = moscas apareadas fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de azúcar; MfVPSA y MiVPSA = moscas vírgenes fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de azúcar. En la barra de cada tratamiento las comparaciones son entre moscas fértiles *versus* irradiadas con el mismo estado fisiológico, en donde los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P < 0.05$ ).

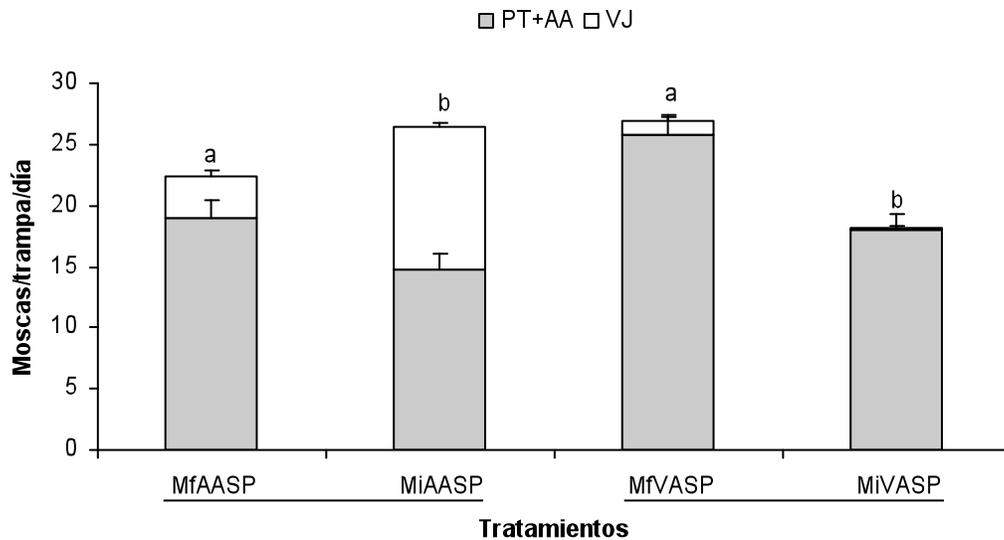


Figura 6.9. Captura promedio ( $\pm$  EE) de *A. obliqua* en trampas *Multilure* cebadas con un atrayente frutal (VJ) o un atrayente proteico (PT+AA). MfAASP y MiAASP = moscas apareadas fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de proteína; y MfVASP y MiVASP = moscas vírgenes fértiles (f) e irradiadas (i) con ayuno de proteína. En la barra de cada tratamiento las comparaciones son entre moscas fértiles *versus* irradiadas con el mismo estado fisiológico, en donde los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P < 0.05$ ).

#### 6.4. Discusión

En este trabajo se demostró que la preferencia de *A. obliqua* hacia al atrayente frutal o proteico fue afectada por su condición fisiológica (dieta, edad y apareamiento) y los resultados apoyan a la hipótesis del “sistema semioquímico” propuesta por Robacker (1998). Las moscas *A. obliqua* con ayuno de azúcar o proteína prefirieron un atrayente frutal o proteico, respectivamente. Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente en *A. ludens*, en donde se demostró que las moscas con ayuno de azúcar o proteína prefirieron un atrayente azucarado o proteico, respectivamente, mientras que la respuesta de las moscas que tuvieron acceso constante de azúcar o proteína decreció (Robacker *et al.*, 1990c; Robacker, 1991; Robacker *et al.*, 1991). Particularmente en un estudio con derivados de chapote amarillo, *Casimiroa* (= *S. greggii*), en laboratorio e invernadero se reportó que las moscas *A. ludens* con ayuno de azúcar prefirieron tres derivados sintéticos de chapote que estaban constituidos por 1,8-cineol, hexanoato de etilo y hexanol (CHH) comparados con la levadura de tórula y filtrados de la bacteria *Staphylococcus* spp. En contraste, las moscas que estuvieron con ayuno de proteína prefirieron a la levadura de tórula y a los filtrados de la bacteria comparados con la mezcla de compuestos CHH (Robacker, 1991). Los resultados del efecto del ayuno de proteína también fueron apoyados por Robacker y García (1993), quienes encontraron que las moscas *A. ludens* tuvieron una mayor respuesta al atrayente proteico constituido por olores de *S. aureus*.

El tiempo de ayuno de azúcar de *A. obliqua* fue un factor que ocasionó un incremento en la respuesta al atrayente frutal. En *A. ludens* se observó una respuesta similar hacia los olores de chapote amarillo, en moscas que estuvieron con ayuno durante 2 y 3 días, la cual fue diferente a la respuesta de las moscas en ayuno durante 1 día (Robacker *et al.*, 1990c). Los resultados anteriores confirmaron que entre mayor tiempo transcurre para *A. obliqua* sin ingerir azúcar más intensamente buscó el atrayente frutal sobre el atrayente proteico, en este caso los volátiles de jobo de pava.

De acuerdo a Robacker (1993), la atracción de *A. ludens* a derivados frutales *versus* derivados proteicos es el resultado del control de dos diferentes centros del

sistema nervioso central. Este investigador sugiere que el ayuno de azúcar tiene efectos opuestos en dos centros: el primero consiste en estimular al centro responsable de la atracción de derivados frutales y el segundo efecto, es inhibir al centro responsable de la atracción de derivados proteicos. Por otro lado, en moscas privadas de proteína, se estimula al centro responsable de la atracción de derivados proteicos, por lo que no existe efecto en el centro responsable de la atracción de derivados frutales (Robacker, 1998).

La edad de las moscas *A. obliqua* con ayuno de azúcar o proteína ejerció un efecto en la respuesta hacia el atrayente frutal o proteico, respectivamente. En un estudio similar con *A. ludens*, Robacker y García (1993) encontraron que las moscas con ayuno de proteína también fueron afectadas por la edad en su respuesta hacia un atrayente proteico que consistía de sobrenadantes de *S. aureus*; en dicho trabajo, el pico de respuesta de *A. ludens* al atrayente proteico fue en el rango 5 a 10 días de edad, mientras que en *A. obliqua* fue de 3 a 15 días. La respuesta de los adultos de *A. obliqua* con ayuno de proteína al atrayente proteico comenzó desde que fueron recién emergidos (0 días de edad), mientras que los adultos de *A. ludens* de la misma edad no respondieron, mostrando su preferencia a partir de 1 día de edad. Sin embargo, se debe considerar que la historia de vida de las dos especies es diferente y por lo tanto el pico de respuesta puede variar en algunos días, aunque la necesidad de este nutriente y quizá de algunos otros se relacionan con la madurez sexual de ambas especies (Dikens *et al.*, 1982; Celedonio-Hurtado *et al.*, 1988). Las hembras y los machos de 0 y 1 día de edad respondieron mayormente al atrayente proteico que al atrayente frutal pero después de esta edad la respuesta se invirtió, permaneciendo así hasta los 30 días de edad (Fig. 6.6 y 6.7); probablemente las moscas que estaban recién emergidas (menos de un día de edad) aun no se habían alimentado con azúcar, pero una vez que lo hicieron la respuesta al atrayente proteico se mantuvo por arriba de la respuesta del atrayente frutal. Además, la preferencia al atrayente frutal de las moscas de menos de un día de edad, se puede explicar porque el jobo de pava es un hospedero altamente preferido por *A. obliqua*, por lo que la respuesta a sus olores parece ser innata. La respuesta de *A. obliqua* con ayuno de azúcar hacia el atrayente frutal comenzó a los cero días de edad, en

contraste *A. ludens* respondió a los olores de chapote amarillo desde 1 día de edad (Robacker, 1991). Robacker *et al.* (1990c) relacionaron el incremento en la atracción a los olores de chapote amarillo con la edad-dependencia de las moscas con ayuno de azúcar. Esta programación de las moscas con 1 día de edad fue propuesta a partir de las observaciones en *A. ludens*, las cuales fueron alimentadas intensamente con azúcar a un día de haber emergido, después de tener poco interés al azúcar apenas algunas horas antes. Al igual que en *A. ludens*, el ayuno de proteína en *A. obliqua* provocó poco efecto en la atracción al atrayente frutal (Robacker, 1991). En otro trabajo, Cohen y Voet (2002) estudiaron la influencia de la dieta y la edad en la atracción hacia azúcar y proteína en jaulas de campo con hembras de *C. capitata* de uno a nueve días de edad, reportando una interacción significativa entre la edad y la dieta en moscas jóvenes. En el mencionado estudio, las moscas fueron alimentadas con tres dietas: sucrosa (2%) (S2), sucrosa (20%) (S20) y con proteína hidrolizada + sucrosa (1:2) (PHS). Los investigadores observaron que las moscas de dos a cinco días de edad expuestas a S2 no tuvieron preferencia por ninguno de los dos atrayentes, mientras que las moscas del mismo rango edad que fueron alimentadas con S20 o PHS mostraron una preferencia al azúcar. En adición, las hembras de seis a siete días de edad, alimentadas con S2 y S20 respondieron similarmente a los dos atrayentes, en contraste con las moscas alimentadas con PHS que prefirieron al azúcar. Por último, las moscas de ocho a nueve días de edad de los tres grupos fueron atraídas hacia la proteína. Los investigadores concluyeron que la edad y la dieta gobiernan el comportamiento de forrajeo, el cual a su vez es gobernado por las necesidades reproductivas.

Las moscas irradiadas de *A. obliqua* mostraron una respuesta más baja a los atrayentes, independientemente del tipo de ayuno al que fueron sometidas comparadas con las moscas fértiles. En un trabajo similar de Robacker y García (1993) con *A. ludens* ayunadas de proteína, reportaron que la irradiación a dosis entre 7 y 9.2 Gy de Co<sup>60</sup> afectó la respuesta de las moscas al atrayente proteico, que estaba constituido por los olores de los sobrenadantes de la bacteria *S. aureus*. De igual forma, se obtuvieron resultados similares cuando las moscas tenían ayuno de azúcar, en donde las moscas irradiadas fueron menos atraídas al atrayente basado

en olores de chapote amarillo (Robacker *et al.*, 1990c). La respuesta de *A. suspensa* y *C. capitata* irradiadas a dosis de 1 Gy de Co<sup>60</sup> hacia un atrayente proteico también fue reducida por la irradiación (Galun *et al.*, 1985).

El apareamiento no repercutió en la respuesta de *A. obliqua* a los dos atrayentes, el frutal y el proteico. En *B. dorsalis* se reportó que las moscas vírgenes y apareadas ayunadas de azúcar respondieron de forma similar al atrayente frutal constituido por puré de *C. sinensis* y el atrayente proteico a base de *N-Lure* (Cornelius *et al.*, 2000). En *A. obliqua* y *B. dorsalis* se supuso que las moscas se aparearon antes de los ensayos porque hembras y machos permanecieron juntos en las jaulas, aunque no se verificaron las cópulas de manera directa. Por su parte, Jang (1995) encontró que las hembras vírgenes de *C. capitata* prefirieron los compuestos feromonales de los machos a los volátiles de guayaba (*P. guajava*), en contraste, las hembras apareadas prefirieron al atrayente frutal. Este investigador encontró que la respuesta de las hembras apareadas al atrayente frutal se debía a factores asociados con la adquisición de fluidos de la glándula accesoria del macho. En dicho estudio se verificó lo anterior a través de inyecciones de fluidos de la glándula accesoria del macho en hembras vírgenes, las cuales se comportaron como apareadas. Las diferencias no significativas en las respuestas de las moscas *A. obliqua* vírgenes y “apareadas” a los dos atrayentes pueden explicarse en función de lo anterior, en donde las moscas aparentemente “apareadas” (quizá vírgenes muchas de ellas) en lugar de buscar el atrayente frutal prefirieron los volátiles liberados por los machos para copular, por lo que la respuesta fue similar tanto en las hembras vírgenes como en las apareadas.

Los resultados sugieren que los atrayentes pueden atraer con diferente eficacia a *A. obliqua* con ayuno de azúcar o proteína dependiendo de las condiciones locales en un determinado huerto. Los volátiles de jobo de pava que atraen principalmente a moscas con ayuno de azúcar pueden ser efectivos en huertos donde existen pocos frutos. En el extremo opuesto los atrayentes proteicos como la PT + AA que atraen a moscas con ayuno de proteína deben ser más efectivos en huertos con pocos recursos proteicos pero que tengan árboles con frutos (Drew y Lloyd, 1989). Dentro de las implicaciones, la estructura de edades de la población es

otro factor importante. En el caso de emergencias grandes de adultos de moscas de la fruta, los atrayentes frutales pueden inicialmente superar la atracción de los atrayentes proteicos, pero después estos últimos mejoran su atracción. En el caso de una estructura estable de edades con un balance de nuevas emergencias, inmigraciones, emigraciones y mortalidad, cada tipo de atrayente alimenticio debe funcionar consistentemente a través del tiempo aunque cada uno puede ser atractivo a moscas de diferentes edades (Robacker, 1991).

## CAPITULO 7

### Respuesta de *Anastrepha obliqua* a estímulos visuales y químicos en condiciones seminaturales

#### 7.1. Introducción

Los sistemas de trapeo son un componente importante en programas de manejo integrado de moscas de la fruta (Cunninggham, 1989). Los datos de capturas se utilizan para evaluar la eficiencia de los atrayentes y también para tomar decisiones de cuándo iniciar y terminar con las medidas de control (IAEA, 2003). Los adultos de moscas de la fruta utilizan estímulos visuales y químicos para localizar a sus huéspedes, lo cual se ha aprovechado para diseñar trampas específicas para determinadas especies (Economopoulos, 1989). Las trampas para moscas de la fruta de zonas templadas como *R. pomonella* utilizan principalmente señales visuales (Prokopy, 1968), mientras que las trampas para moscas de la fruta de zonas tropicales como *A. ludens*, utilizan primordialmente señales químicas (Heath *et al.*, 1995). Se ha establecido que los estímulos visuales son más atractivos en *A. suspensa*, *A. ludens* y *A. fraterculus* (Cytrynowicz *et al.*, 1982; Sivinski, 1990; Robacker, 1992), pero prácticamente no existen estudios en *A. obliqua*. En relación con la interacción del estímulo visual y químico, la especie con que la más se ha trabajado es *R. pomonella*, en donde se ha establecido el color, la forma y el tamaño de trampa idóneos, en combinación con los olores de los compuestos sintéticos del fruto hospedero (Fein *et al.*, 1982; Prokopy, 1991; Reissig *et al.*, 1982; Aluja y Prokopy, 1993).

Recientemente Cruz-López *et al.* (2006) encontraron que *A. obliqua* es atraída a nueve compuestos sintéticos de jobo de pava (*S. mombin*), sin embargo, no se ha estudiado la atracción de éstos en combinación con estímulos visuales. El primer objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de *A. obliqua* a objetos de diferente color, forma y tamaño. Una vez conocido el tipo de estímulo visual más atractivo, se determinó su interacción en combinación con los olores volátiles de jobo de pava en condiciones seminaturales.

## **7.2. Materiales y Métodos**

### **7.2.1. Material biológico**

Los insectos utilizados en los experimentos fueron proporcionados por el laboratorio de cría del programa MOSCAFRUT de la Dirección general de Sanidad Vegetal, SENASICA, SAGARPA, localizada en Metapa de Domínguez, Chiapas. Las pupas y los adultos se mantuvieron en jaulas de 30 x 30 x 30 cm (27 dm<sup>3</sup>) cubiertas con tela organdí transparente. Las condiciones de temperatura, humedad relativa y fotoperíodo, al igual que la alimentación y sexado fueron mencionadas en el Capítulo III.

### **7.2.2. Determinación del color, la forma y el tamaño de objetos para la captura de *A. obliqua***

Este trabajo consistió de dos etapas, ambas fueron realizadas en jaulas de campo. En la primera se determinó la preferencia de *A. obliqua* a objetos de diferente color, forma y tamaño en jaulas de campo y en la segunda etapa el efecto de la combinación del estímulo visual y los olores del hospedero.

#### **7.2.2.1. Evaluación de la respuesta de *A. obliqua* con esferas de diferente color**

En este ensayo se pintaron esferas de unicel de 10 cm de diámetro con los diferentes colores evaluados: blanco, negro, naranja, verde-lima, rojo y amarillo (Baco, S. A., México). Los colores fueron seleccionados con base en trabajos previos realizados con tefrítidos (Greany *et al.*, 1977; Nakagawa *et al.*, 1978; Katsoyannos, 1989). Posteriormente, las esferas fueron cubiertas con una película plástica adherente hialina (Great Value, México) sobre la cual fue colocada una capa delgada del pegamento Tangle-Trap (The Tanglefoot Company, Grand Rapids, MI, EUA.). Las esferas de diferentes colores se colgaron de manera aleatoria a 15 cm del techo de una jaula de campo de 2.85 m de diámetro x 2 m de altura, de forma cilíndrica, construida de malla de nylon, en cuyo interior fueron colocados tres árboles de mango de 1.20 m de altura. Las esferas fueron rotadas en cada revisión para reducir el efecto de posición. En el interior de la jaula se liberaron 50 machos y 50 hembras de 8 a 12 días de edad, donde permanecieron de 0800 h a 1800 h. Las capturas

ocurridas en cada esfera fueron registradas al final de cada día que duró el ensayo. En total se realizaron 40 repeticiones con cada uno de los colores evaluados.

#### **7.2.2.2. Evaluación de la respuesta de *A. obliqua* a objetos de diferente forma**

Se evaluó la respuesta de *A. obliqua* hacia objetos de unicel de forma tridimensional y plana. Dentro de los primeros se evaluaron las formas cúbica, esférica, cilíndrica y oblonga, y dentro de los segundos las formas circular, rectangular y triangular. Las formas fueron elegidas con base en trabajos previos con tefrítidos (Katsoyannos, 1989). Todos los objetos evaluados tenían una superficie aproximada de 316 cm<sup>2</sup> y fueron pintados con el color que resultó más atractivo en el experimento anterior. Cada uno de las formas fue cubierta con una película plástica (Great Value, México) sobre la que se colocó una capa delgada del pegamento Tangle-Trap (The Tanglefoot Company, Grand Rapids, MI, EUA). Las formas evaluadas fueron colgadas de manera aleatoria a 15 cm del techo de la jaula de campo descrita en el experimento anterior. Después de cada revisión, los objetos con sus formas respectivas fueron rotados para reducir el efecto de posición. En el interior de la jaula se liberaron 50 machos y 50 hembras de 8 a 12 días de edad, desde las 0800 h hasta las 1800 h. Se registraron las capturas de hembras y machos de *A. obliqua* en cada uno de los objetos con su forma respectiva. Se realizaron 24 repeticiones con cada una de las formas evaluadas.

#### **7.2.2.3. Evaluación de la respuesta de *A. obliqua* a esferas de diferente tamaño**

La forma esférica fue evaluada con diferentes tamaños porque fue la que capturó mayor cantidad moscas de manera numérica. Las esferas evaluadas medían: 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 y 12.0 cm de diámetro. Los tamaños de las esferas fueron seleccionados con base en trabajos previos con tefrítidos y al rango de tamaño de los frutos hospederos (Economopoulos, 1989; Katsoyannos, 1989). Cada una de las esferas fue pintada con el color que previamente atrapó mayor número de hembras y machos. Los objetos fueron cubiertos con una película plástica (Great Value, México) sobre la que se colocó una capa delgada del pegamento Tangle-Trap (The Tanglefoot Company, Grand Rapids, MI, EUA). Posteriormente estos fueron colgados

de manera aleatoria a 15 cm del techo de la jaula de campo previamente descrita. Los objetos fueron rotados en cada revisión para reducir el efecto de posición. En el interior de la jaula se liberaron 50 machos y 50 hembras de 8 a 12 días de edad, donde permanecieron de 0800 h a 1800 h. El número de hembras y machos capturados en cada uno de los objetos con su tamaño respectivo fue registrado. En total se realizaron 24 repeticiones.

#### **7.2.2.4. Evaluación de la respuesta de *A. obliqua* a la combinación de estímulos visuales y olores de su hospedero**

El objeto que visualmente resultó más atractivo por su color, forma y tamaño en los experimentos anteriores, fue evaluado al agregar volátiles de jobo de pava (*S. mombin*) (estímulo químico) en un arreglo experimental de doble elección. Las esferas de color verde-lima de 10.0 cm de diámetro, las cuales fueron las más atractivas en los experimentos previos, se cubrieron con una película plástica (Great Value, México) sobre la que se colocó una capa delgada del pegamento Tangle-Trap (The Tanglefoot Company, Grand Rapids, MI, EUA). Las esferas fueron colgadas de forma equidistante una de otra a 15 cm del techo de la jaula de campo utilizadas en los experimentos anteriores. En la parte superior junto al alambre del que se colgó cada una de las esferas se colocó un septo de caucho (Sigma-Aldrich, Toluca) impregnado con 100  $\mu$ L de los compuestos sintéticos de los volátiles de jobo de pava, preparados de acuerdo a la proporción determinada por Cruz-López *et al.* (2006), mientras que en la otra esfera utilizada como testigo se colocó otro septo de caucho impregnado con 100  $\mu$ L de hexano. Después de cada revisión las esferas fueron rotadas para reducir el efecto de posición. En el interior de la jaula de campo se liberaron 50 machos y 50 hembras de 8 a 12 días de edad, donde permanecieron de las 0800 h a las 1800 h. Las capturas de hembras y machos *de A. obliqua* en cada una de las esferas fueron registradas al final de cada revisión. Se efectuaron un total de 32 repeticiones para el tratamiento y el testigo.

**7.2.2.5. Análisis estadístico.** Los datos de moscas capturadas en los objetos con diferentes colores, formas, tamaños e interacción del estímulo visual con los olores del hospedero fueron analizados independientemente mediante un análisis de varianza (ANDEVA) con arreglo en parcelas divididas. El análisis anterior se efectuó debido a que se realizaron cuatro repeticiones por día durante el tiempo que duró cada uno de los ensayos, considerando a los días como un factor que afectó las capturas. En este diseño experimental las parcelas grandes fueron las jaulas que constituyeron las repeticiones y las parcelas chicas fueron los colores y formas de los objetos, respectivamente, evaluados durante diferentes días en cada uno de los experimentos. La separación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). La diferencia en la proporción capturada de hembras y machos fue incluida como una variable del arreglo en parcelas divididas y como no se encontró una interacción significativa sexo x tratamiento, los datos se analizaron como el total de moscas capturadas. Los datos antes del análisis fueron transformados con  $\sqrt{Y}$  para cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Los análisis se realizaron con el programa estadístico “Statistica” (Statsoft, 2003).

### **7.3. Resultados**

#### **7.3.1. Respuesta de *A. obliqua* a esferas de diferente color**

Las capturas de hembras y machos de *A. obliqua* en las esferas pintadas de diferentes color fueron significativamente diferentes ( $F = 42.56$ ;  $gl = 5, 119$ ;  $P = 0.000$ ). No se encontró una interacción significativa entre sexo x color ( $F = 0.05$ ;  $gl = 5, 119$ ;  $P = 0.871$ ). Las esferas pintadas de color verde-lima y de naranja fueron las que capturaron mayor cantidad de hembras y machos de *A. obliqua*. Las capturas de las esferas de color amarillo fueron intermedias entre las esferas verde-lima y naranja, y las capturas de las esferas rojas. Las esferas rojas tuvieron una captura intermedia entre las esferas amarillas y las esferas negras. Las esferas que capturaron menor cantidad de moscas fueron las de color blanco (Fig. 7.1).

### 7.3.2. Respuesta de *A. obliqua* a objetos de diferente forma

Las capturas de hembras y machos de *A. obliqua* con las esferas de diferente forma fueron significativamente diferentes ( $F = 5.88$ ;  $gl = 6, 335$ ;  $P = 0.000$ ). No se encontró una interacción significativa entre sexo x forma ( $F = 0.64$ ;  $gl = 6, 335$ ;  $P = 0.701$ ). La forma esférica, cúbica, cilíndrica y ovoide fueron las que capturaron mayor número de moscas; a su vez, la forma ovoide no capturó mayor cantidad de moscas que la forma rectangular, la cual tampoco capturó mayor número de moscas que la forma circular y triangular (Fig. 7.2).

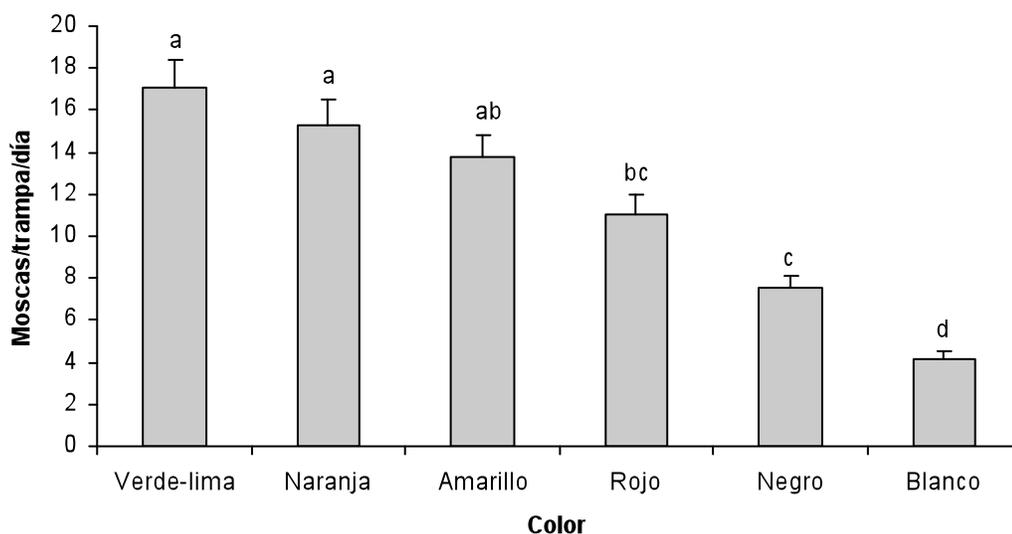


Figura 7.1. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de ambos sexos de *A. obliqua* con esferas pintadas de diferentes colores. En la barra de cada color, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

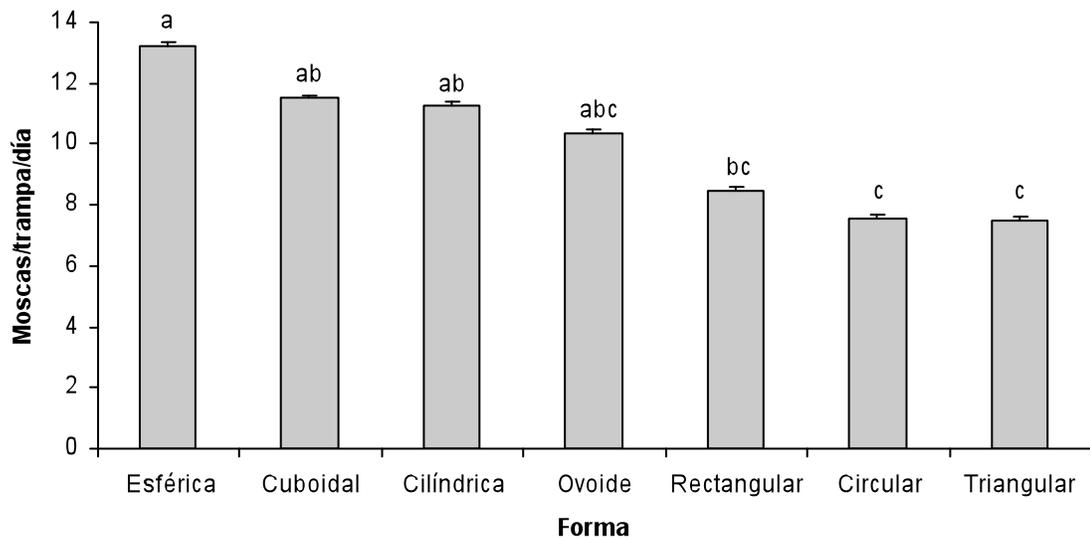


Figura 7.2. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de ambos sexos de *A. obliqua* con esferas de diferentes forma. En la barra de cada forma, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

### 7.3.3. Respuesta de *A. obliqua* a esferas de diferente tamaño

Las capturas de hembras y machos de *A. obliqua* con las esferas de diferente tamaño fueron significativamente diferentes ( $F = 11.11$ ;  $gl = 4$ , 239;  $P = 0.000$ ). No se encontró interacción significativa entre sexo x tamaño ( $F = 0.12$ ;  $gl = 4$ , 239;  $P = 0.977$ ). Las esferas de 8.0, 10.0 y 12.0 cm de diámetro capturaron un mayor número de moscas que las esferas de diámetros menores (Fig. 7.3).

### 7.3.4. Respuesta de *A. obliqua* a la combinación de estímulos visuales y olores de su hospedero

Las capturas de hembras y machos de *A. obliqua* con las esferas cebadas con volátiles de jobo de pava, fueron significativamente mayores a las capturas con las esferas utilizadas como testigo ( $F = 4.53$ ;  $gl = 1$ , 127;  $P = 0.035$ ). No se encontró una interacción significativa en el tratamiento x sexo ( $F = 0.94$ ;  $gl = 1$ , 127;  $P = 0.333$ ) (Fig. 7.4).

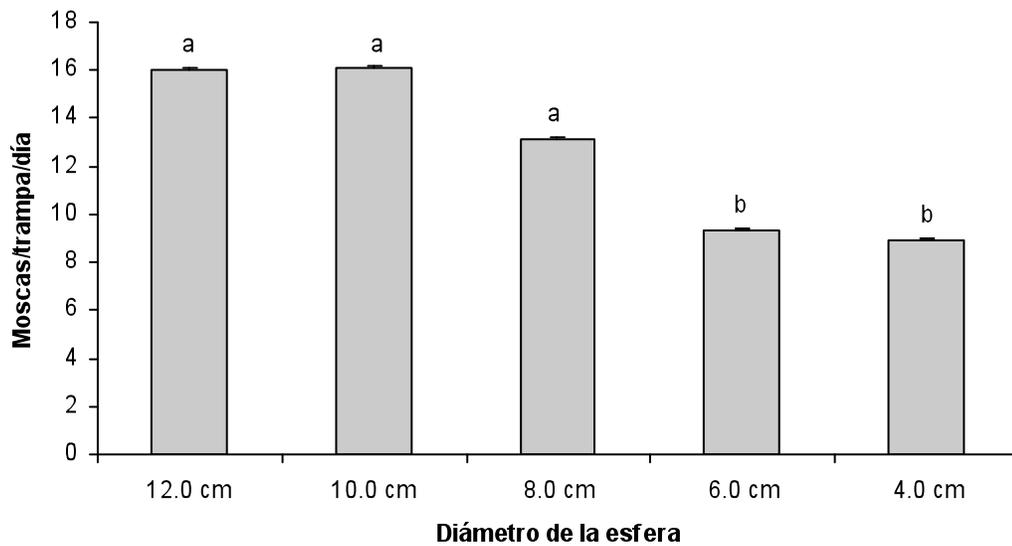


Figura 7.3. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de ambos sexos de *A. obliqua* con esferas de diferentes diámetro. En la barra de cada diámetro de la esfera, los valores seguidos por diferente letra son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P < 0.05$ ).

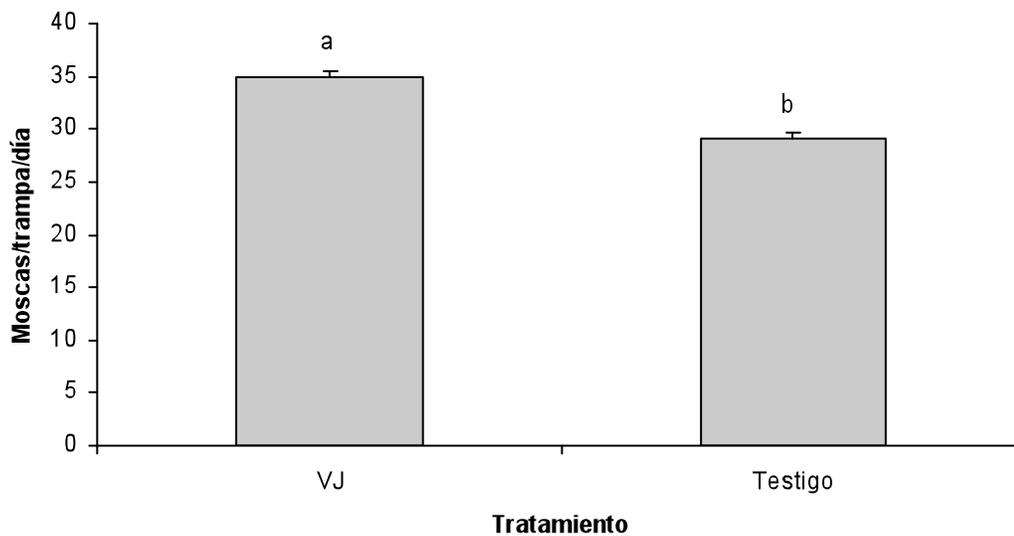


Figura 7.4. Capturas promedio ( $\pm$  EE) de ambos sexos de *A. obliqua* con esferas cebadas con volátiles de jobo de pava (VJ) y hexano (testigo). En la barra de cada tratamiento, los valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes (prueba de Tukey,  $P > 0.05$ ).

#### 7.4. Discusión

Los resultados reflejaron que los colores verde-lima, naranja, amarillo y rojo fueron los más preferidos por los individuos de *A. obliqua*. La preferencia por el color verde-lima también fue reportado en *Rhagoletis completa* Cresson y *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker (Riedl y Hislop, 1985; Landolt *et al.*, 1988). Por su parte, *A. ludens* mostró preferencia por las esferas de color amarillo seguidas por las esferas de color verde, rojo y naranja (reflexión entre 500 y 622 nm) en comparación con las esferas de color café, morado, negro, ámbar, azul y blanco (Rodríguez-Valverde *et al.*, 1989; Robacker *et al.*, 1990b; Robacker, 1992). *A. suspensa* prefirió el color naranja (reflexión máxima de 590 nm), seguido del el color amarillo y del verde-amarillo en relación con los colores verde oscuro, azul, rojo, negro y blanco (Greany *et al.*, 1977; Sivinski, 1990). En fecha reciente, Martínez *et al.* (2007) encontraron que las trampas *Multilure* de color amarillo y verde, respectivamente, capturaron mayor cantidad de adultos de *A. obliqua* en comparación con las trampas McPhail de vidrio. La respuesta al color naranja y rojo de *A. obliqua* puede explicarse en función del comportamiento de búsqueda de frutos hospederos maduros más que de follaje, mientras que la respuesta al color verde-lima y amarillo como un comportamiento de búsqueda de follaje, debido a que la reflexión máxima de éste ocurre en la región verde-limón comparada con la región naranja y roja del espectro, en donde un gran número de frutos hospederos tienen una reflexión importante. De forma general se conoce que la mayor respuesta de las moscas del género *Anastrepha* se presenta con objetos que tienen una reflexión máxima entre 500 y 620 nm (Katsoyannos, 1989).

Aunque la forma esférica capturó un número mayor de moscas, las capturas no difirieron de la forma cilíndrica, cúbica y ovoide, aunque en general estas formas tridimensionales fueron más eficaces que las formas planas. En *A. fraterculus*, *C. capitata* y *R. completa*, se encontró que las formas esféricas tuvieron mayor atracción que las rectangulares (Cytrynowicz *et al.*, 1982; Riedl y Hislop, 1985). Por su parte, Nakagawa *et al.* (1978) observaron en *C. capitata* que las formas esféricas capturaron mayor cantidad de moscas en comparación con las cilíndricas, rectangulares y cúbicas. La forma esférica parece ser la más atractiva en *A.*

*fraterculus*, *C. capitata*, *R. completa* y *A. obliqua*, probablemente porque imitan mejor la forma de los frutos hospederos que dichas especies buscan para ovipositar y aparearse (Economopoulos, 1989). La forma rectangular fue la superficie plana que numéricamente capturó mayor número de adultos de *A. obliqua*, probablemente porque esta superficie también representa un tipo de estímulo foliar que provoca un comportamiento de búsqueda de alimento o de plantas hospederas (Epsky y Heath, 1998).

Las capturas de adultos de *A. obliqua* se incrementaron conforme aumentó el tamaño de las esferas, debido a que las de 8 a 12 cm de diámetro fueron las que capturaron mayor cantidad de moscas. En *B. dorsalis*, *A. ludens* y *A. suspensa* se obtuvieron resultados similares, pues las esferas grandes capturaron un mayor número de moscas comparadas con las esferas pequeñas (Sivinski, 1990; Robacker, 1992; Cornelius *et al.*, 1999). Sin embargo, en *R. pomonella* a medida que las esferas fueron de mayor tamaño (7.5 a 45 cm de diámetro), las capturas decrecieron (Prokopy, 1968). En general se ha demostrado que las moscas de la fruta muestran una dependencia al tamaño de las esferas que simula a los frutos hospederos, los cuales utilizan para ovipositar y también como punto de encuentro para aparearse (Katsyannos, 1989).

Las esferas que combinaron el estímulo visual más atractivo y los compuestos sintéticos de jobo de pava capturaron mayor cantidad de adultos de *A. obliqua* que las esferas testigo. Resultados similares fueron observados en *R. pomonella* y *R. indifferens* Curran cuando se combinaron los compuestos sintéticos de sus hospederos con esferas, en relación con las esferas sin cebo (Reissig *et al.*, 1982, 1985; Mayer *et al.*, 2000). Por su parte, Aluja y Prokopy (1993) determinaron que las hembras de *R. pomonella* sexualmente maduras fueron más atraídas a frutos artificiales cuando se combinaron con los olores de los derivados sintéticos de su hospedero. El papel de los olores de los volátiles de jobo de pava no ha sido determinado del todo en el comportamiento de orientación y búsqueda del hospedero en *A. obliqua*. Sin embargo, estudios en *R. pomonella* han encontrado que los olores de los volátiles de manzana atraen moscas a los árboles, pero después de arribar a éstos localiza los frutos por medio del estímulos visuales más que químicos

(Prokopy, 1968, 1973). Los resultados del presente trabajo indican que los estímulos visuales y químicos influyeron en la orientación de *A. obliqua* debido a que las esferas cebadas capturaron más moscas que las esferas sin cebo, que fueron colgadas a distancias relativamente cortas. Aunque en este trabajo no se determinó de manera directa la madurez sexual de las hembras de *A. obliqua* y además se utilizaron insectos de cría masiva de 8 a 12 días de edad (sexualmente maduros) (Celedonio-Hurtado *et al.*, 1988), es probable que las moscas tuvieron mayor respuesta a la esfera cebada con los olores del jobo de pava porque también en este estado fisiológico es cuando buscan sitios para copular y ovipositar.

## CAPÍTULO 8

### Discusión General

En el presente trabajo de investigación se encontró que algunos compuestos presentes en la glándulas salivales, el proctodeo y liberados por *A. obliqua* durante el llamado tienen una similitud química con ciertos compuestos liberados por *A. ludens*, *A. suspensa* y *A. fraterculus*, lo cual parece estar relacionado con su filogenia debido a que estas especies están ubicadas dentro del grupo *fraterculus* (Hernández-Ortiz, 1993). De acuerdo con los análisis de ADN mitocondrial y ribosomal se tiene que *A. suspensa*, *A. fraterculus*, *A. ludens* y *A. obliqua* comparten relaciones evolutivas muy estrechas entre sí, y además con *A. striata*, aunque esta última especie no pertenece al mismo grupo (McPheron *et al.*, 2000).

La identificación de los compuestos volátiles liberados por machos de *A. obliqua*, así como la de los compuestos presentes en las glándulas salivales y el proctodeo ofrecen una alternativa potencial para el manejo integrado de esta plaga. Sin embargo, primero se debe ir por pasos porque todavía no se tienen todos los compuestos sintéticos disponibles que fueron identificados, a excepción del (Z)-3-nonenol. A pesar de lo anterior, los resultados de los bioensayos efectuados con los sintéticos disponibles mostraron que las hembras respondieron activa y antenalmente al (Z)-3-nonenol, mientras que con el farneseno no se encontró respuesta, probablemente porque se trataba de una mezcla de aproximadamente 20 isómeros de farneseno, en la que alguno de ellos, pudieron inhibir la actividad del (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y el (E,E)- $\alpha$ -farneseno, compuestos presentes en las glándulas salivales que son atractivas a las hembras de *A. obliqua* (Ibáñez-López y Cruz-López, 2001). Algunos isómeros de farneseno incluidos en la mezcla sintética no son liberados por los machos de *A. obliqua*, por lo que pudieron inhibir la respuesta de los demás farnesenos presentes en los volátiles naturales de los machos. Una vez que se tengan todos los compuestos sintéticos identificados se podrá continuar con más estudios de laboratorio y campo para determinar la viabilidad de utilizar el compuesto o los compuestos feromonales para el monitoreo y control de esta

especie. En las especies *A. ludens* y *A. suspensa*, es en donde más estudios se han realizado en relación con la feromona sexual debido a que se ha logrado la síntesis química de algunos de los compuestos producidos por los machos de estas especies (Fletcher y Kitching, 1995; Landolt y Averill, 1999). A pesar de los avances logrados en las investigaciones con estas dos especies aun no se tiene una feromona sexual comercialmente disponible (El-Sayed, 2004).

En este trabajo se evidenció que la actividad de llamado de *A. obliqua* tiene una relación directa con la liberación de compuestos feromonales, aunque no se observó directamente la actividad de llamado durante la colecta de volátiles (Aluja y Birke, 1993; Ibáñez-López y Cruz-López, 2001), en la cual los machos extienden lateralmente el abdomen, proyectan al exterior los tejidos anales y aletean constantemente para dispersar los compuestos feromonales (Nation, 1972). Se encontró que durante los picos de llamado se liberaron las cantidades más grandes de (*Z*)-3-nonenol, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno y el isómero de farneseno [índice de Kovat (KI) 1580 en columna SPB-1]. De acuerdo a Ibáñez-López y Cruz-López (2001), los machos de *A. obliqua* comienzan a mostrar el comportamiento de llamado desde los cinco días de edad, es probable que a partir de esta edad también los machos comiencen a liberar compuestos feromonales en lugar de los 6 días que se determinó en el experimento del efecto de la edad. La actividad de llamado de las moscas de la fruta es un proceso dinámico que varía de acuerdo a la especie, la ubicación geográfica de una misma especie, la estación del año en ciertas especies, la temperatura, la humedad y la intensidad de luz (Aluja *et al.*, 2000), por lo tanto se espera que la tasa de emisión de compuestos volátiles también cambie de acuerdo con todos estos factores.

Dentro de los resultados de la presente investigación, se encontró que los machos recién apareados liberaron menor cantidad de feromona, sin embargo, después de 24 h de apareados el efecto del apareamiento se diluyó. En experimento posteriores sería interesante evaluar el tiempo exacto que necesitan los machos para recuperar la tasa de emisión de compuestos feromonales, además de evaluar la competitividad de estos machos apareados contra no apareados en dicho tiempo. De acuerdo a McNeil (1991) en palomillas se ha observado un periodo refractario en la

expresión del comportamiento de llamado y biosíntesis de feromona después del apareamiento, aunque en especies que se aparean más de una vez, estas actividades se repiten varias veces después de aparearse.

Además de los factores que afectan la liberación de compuestos volátiles producidos por machos se debe estudiar que factores afectan la respuesta de las hembras hacia estos compuestos para tener un mejor entendimiento del proceso de emisión y recepción del compuesto o los compuestos feromonales. En hembras de *A. ludens* se ha determinado que la respuesta es afectada por la edad, el apareamiento y la irradiación (Robaker *et al.*, 1985; Moreno *et al.*, 1991).

En los estudios de campo del presente trabajo se demostró que las capturas de *A. obliqua* no se incrementaron al combinar putrescina + acetato de amonio con los compuestos sintéticos del jobo de pava de acuerdo a lo que se esperaba, probablemente la respuesta fue por la condición fisiológica de las moscas y la etapa fenológica de los frutos de mango (Robacker, 1998). Al parecer los volátiles de jobo de pava funcionan mejor antes de la madurez de los frutos de mango (Rojas, 2007; comentario personal), por lo que debe pensar en otras alternativas de uso de los volátiles de jobo durante esta etapa del cultivo. La combinación de los volátiles de jobo de pava con los compuestos feromonales de *A. obliqua*, es una posibilidad que debe explorarse para mejorar las capturas durante la madurez de los frutos. En *T. curvicauda* se observó que los extractos de cáscara de papaya verde en combinación con la feromona sexual incrementaron las capturas de moscas apareadas y sin apararse (Landolt *et al.*, 1992) debido a que las hembras mejoraron su habilidad para localizar a su hospedero por los olores que éste libera. Los resultados anteriores indicaron que ocurrió un sinergismo o un efecto aditivo entre los olores de los extractos de la cáscara de papaya y la feromona sexual. En otras especies de moscas de la fruta no ha sido demostrado el efecto sinergista. Sin embargo, en un trabajo de laboratorio con *A. ludens*, se encontró que la combinación de los extractos de machos (feromona sexual) y los extractos fermentados de chapote amarillo inhibió la respuesta de las moscas (Robacker y García, 1990), pero los investigadores tienen la hipótesis que la respuesta a los extractos de feromona y de chapote puede ser muy distinta en campo.

Las feromonas y los atrayentes alimenticios y sexuales constituyen señales de largo distancia, mientras que los estímulos visuales son señales de corta distancia que ayudan a los fitófagos a localizar su hospedero (Prokopy y Owens, 1983). Los experimentos del estímulo visual en jaulas de campo arrojan resultados interesantes que pueden complementarse con trabajos de campo para comprobar la atracción de los mejores colores, formas y tamaños de objetos pegajosos tal como se ha efectuado con *A. ludens* y *A. suspensa* (Sivinski, 1990; Robacker, 1992). De los resultados que se obtengan se puede pensar en un diseño de trampa que combine estímulos visuales y químicos para incrementar las capturas de adultos de *A. obliqua*. La posibilidad de utilizar en *A. obliqua* un modelo de trampeo basado en las esferas de color verde-lima de de 8 a 10 cm de diámetro o los colores que resulten más atractivos en un experimento de campo en combinación con los volátiles de jobo de pava + la feromona sexual, es otra alternativa que se puede investigar; los resultados obtenidos con otras especies de moscas de la fruta así lo demuestran. En *T. curvicauda* se encontró que las esferas de color verde de 12.7 cm de diámetro en combinación con la feromona sexual incrementaron la atracción hacia las hembras (Landolt *et al.*, 1988). En *R. pomonella* la combinación de esferas de color rojo de 7.5 cm de diámetro con los volátiles de su hospedero son utilizadas para el monitoreo y control de esta plaga (Prokopy, 1991). La combinación de un atrayente alimenticio: el acetato de amonio con un atrayente sexual: la etil pirazina fueron evaluados en trampas tipo delta de color amarillo, en donde se encontró que la combinación de ambos cebos capturó mayor cantidad de adultos de *C. capitata* que los cebos utilizados en forma separada (Baker *et al.*, 1990).

El entendimiento de los factores que afectan la liberación y recepción de la feromona sexual, así como la preferencia a ciertos estímulos visuales y químicos por parte de *A. obliqua* permitirá diseñar sistemas de trampeo más eficientes para el monitoreo de poblaciones de dicha plaga.

## CAPÍTULO 9

### Conclusiones Generales

1. Las hembras de *A. obliqua* fueron más atraídas por sus congéneres de sexo opuesto durante el llamado sexual. Asimismo, las hembras fueron atraídas a los extractos de los volátiles colectados de 10, 20 y 50 machos vivos y a los extractos de la glándula salival y el proctodeo de los mismos en pruebas de laboratorio.
2. Los machos liberan consistentemente nueve compuestos, seis de los cuales se reportan por primera vez: tres isómeros de farneseno, un sesquiterpeno,  $\beta$ -farneseno y limoneno. En las glándulas salivales se confirma la presencia de (Z,E)- $\alpha$ -farneseno y el (E,E)- $\alpha$ -farneseno. En el proctodeo se reporta por primera vez el (Z)-3-nonenol, único compuesto sintético al que fueron atraídas las hembras.
3. Las pruebas de EAG muestran que las hembras responden antenalmente a los extractos de 5, 10, 20 y 50 machos, extractos de glándulas salivales y de proctodeo y al compuesto sintético: (Z)-3-nonenol.
4. Se confirmó la influencia de la edad y la hora del día en la liberación de los compuestos feromonales en el macho de *A. obliqua*, y se demostró que la irradiación y el apareamiento inmediato también son otros factores importantes que afectan la liberación de la feromona en condiciones de laboratorio. La presencia del fruto hospedero no afectó la liberación de feromona.
5. La combinación de volátiles de jobo de pava + putrescina + acetato de amonio, volátiles de jobo de pava + putrescina y volátiles de jobo de pava + acetato de amonio, no incrementaron las capturas de *A. obliqua* en pruebas de campo.
6. La respuesta de *A. obliqua* hacia un atrayente frutal o proteico fue afectada por el ayuno de azúcar o proteína, respectivamente. El tiempo de ayuno de azúcar también afectó la respuesta al atrayente frutal. La respuesta de las moscas en ayuno de azúcar o proteína al atrayente frutal o proteico, fue afectada por la edad y la irradiación. El apareamiento no afectó la respuesta de *A. obliqua* a ninguno de los dos atrayentes evaluados en jaulas de campo.

7. *A. obliqua* fue más atraída a los colores verde-lima, naranja, amarillo y rojo. Las esferas con la forma tridimensional: esférica, cúbica, cilíndrica y ovoide resultaron más atractivas. Las esferas de 8 a 12 cm de diámetro fueron las que capturaron mayor cantidad de moscas. Los olores de los volátiles de jobo de pava mejoraron la respuesta hacia el estímulo visual representados por las esferas en jaulas de campo.

## CAPÍTULO 10

### Literatura Citada

- Agee, H. R., W. A. Phillis y D. L. Chambers. 1977. The compound eye of the Caribbean fruit fly and the apple maggot fruit fly. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 70: 359-364.
- Aluja, M. 1987. Natural host plant survey of the economically important fruit flies (Diptera: Tephritidae) of Chiapas, Mexico. *Fla. Entomol.* 70: 329-338.
- Aluja, M. M. Cabrera, J. Guillén y H. Celedonio. 1989. Behaviour of *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* and *A. serpentina* (Diptera: Tephritidae) on a wild mango tree (*Mangifera indica*) harbouring three McPhail traps. *Insect Sci. Appl.* 10: 309-318.
- Aluja, M. 1993. Manejo Integrado de las Moscas de la Fruta. 2ª Edición. Trillas, Ciudad de México, México. 252 p.
- Aluja, M. y A. Birke. 1993. Habitat use by *Anastrepha obliqua* flies (Diptera: Tephritidae) in a mixed mango and tropical plum orchard. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86: 799-812.
- Aluja, M. y R. J. Prokopy. 1993. Host odor and visual stimulus interaction during intratree host finding behavior of *Rhagoletis pomonella* flies. *J. Chem. Ecol.* 19: 2671- 2696.
- Aluja, M., I. Jácome, A. Birke, N. Lozada, y G. Quintero. 1993. Basic patterns of behavior in wild *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) flies under field cage conditions. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86: 776-793.
- Aluja, M. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 155-178.
- Aluja, M., J. Piñero, I. Jácome, F. Díaz-Fleischer y J. Sivinski. 2000. Behavior of flies in the genus: *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotrypanini). *In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior.* M. Aluja y A. L. Norrbom (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, pp: 375-406.

- Aluja, M. y J. Piñero. 2004. Testing human urine as a low-tech bait for *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in small guava, mango, sapodilla and grapefruit orchards. Fla. Entomol. 87: 41-50.
- Armstrong, K. F., C. M. Cameron y E. R. Frampton. 1997. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) species identification: a rapid molecular diagnostic technique for quarantine application. Bull. Entomol. Res. 87: 111-118.
- Baker, R., R. H. Herbert y G. G. Grant. 1985. Isolation and identification of the sex pheromone of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.). J. Chem. Soc. Chem. Commun. 12: 824-825.
- Baker, P. S., P. E. Howse, R. N. Ondarza y J. Reyes. 1990. Field trials of synthetic sex pheromone components of the male Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Southern Mexico. J. Econ. Entomol. 83: 2235-2245.
- Barros, M. D. 1993. Morphology and histology of salivary and pleural glands of *Anastrepha* from Brazil. In: Fruit Flies: Biology and Management. M. Aluja y P. Liedo (Eds.), Springer-Verlag, New York, USA, pp: 43-44.
- Battiste, M.A., L. Streckowski, D. P. Vanderbilt, M. Visnick, R. W. King y J. L. Nation. 1983. Anastrephin and epianastrephin, novel lactone components isolated from the sex pheromone blend of male Caribbean and Mexican fruit flies. Tetrahedron Lett. 24:2611-2614.
- Borror, D. J., D. M. DeLong y Ch. A. Triphrehorn. 1981. Introduction to the study of insects. 5a. Ed. Saunder Collegue Publishing, Philadelphia, USA, pp: 550-618.
- Brown, W. L., T. Eisner y R. H. Whittaker. 1970. Allomones and kairomones: transpecific chemical messengers. Bioscience 20: 21-22.
- Burk, T. 1983. Behavioral ecology of mating in the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). Fla. Entomol. 66: 330-344.
- Calkins, C. O. 1989. Quality control. In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. Volume 3A. B. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp: 153-165.
- Caraballo, J. 2001. Diagnosis y clave pictórica para las especies del género *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) de importancia económica en Venezuela. Entomotropica 16: 157-164.

- Carlson, S. D. y C. Chi. 1979. The functional morphology of the insect photoreceptor. *Annu. Rev. Entomol.* 24: 379-416.
- Celedonio-Hurtado, H. 1997. Fluctuación poblacional de adultos de moscas de la fruta en huertos frutales de diversas especies. En: Memorias del Curso Regional sobre Moscas de la Fruta y su Control en Áreas Grandes con Énfasis en la Técnica del Insecto Estéril. Septiembre 28 a Octubre 21 de 1997. Metapa de Domínguez, Chiapas, México, pp: 103-117.
- Celedonio-Hurtado, H., P. Liedo, M. Aluja, J. Guillén, D. Berrigan y J. Carey. 1988. Demography of *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* y *A. serpentina* (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Fla. Entomol.* 71: 111-120.
- Christenson, L. D. y R. H. Foote. 1960. Biology of fruit flies. *Annu. Rev. Entomol.* 5: 171-192.
- Chuman, T., P. J. Landolt, R. R. Heath y J. H. Tumlinson. 1987. Isolation, identification, and synthesis of male-produced sex pheromone of papaya fruit fly, *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker (Diptera: Tephritidae). *J. Chem. Ecol.* 13: 1979-1992.
- Chuman, T., J. Sivinski, R. R. Heath, C. O. Calkins y J. H. Tumlinson. 1988. Suspensolide, a new macrolide component of male Caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa* (Loew) volatiles. *Tetrahedron Lett.* 29:6561-6564.
- Cohen, H. y H. Voet. 2002. Effect of physiological state of young *Ceratitis capitata* females, on resource foraging behavior. *Entomol. Exp. Appl.* 104: 345-351.
- Cornelius, M. L., J. J. Duan y R. H. Messing. 1999. Visual stimuli and response of female Oriental fruit flies (Diptera: Tephritidae) to fruit-mimicking traps. *J. Econ. Entomol.* 92: 121-129.
- Cornelius, M. L., L. Nergel, J. J. Duan y R. H. Messing. 2000. Response of female Oriental fruit flies (Diptera: Tephritidae) to protein and host fruit odors in field cage and open tests. *Environ. Entomol.* 29: 14-19.
- Cruz-López, L., E. A. Malo, J. Toledo, A. Virgen, A. Del Mazo y J. Rojas. 2006. A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from *Spondias mombin* fruits. *J. Chem. Ecol.* 32: 351-365.

- Cunningham, R. T. 1989. Parapheromones. *In*: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 221-230.
- Cytrynowicz, M., J. S. Morgante y H. M. L. De Souza. 1982. Visual response of South American fruit flies, *Anastrepha fraterculus*, and Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata*, to colored rectangles and spheres. *Environ. Entomol.* 11: 1202-1210.
- Davis, J. C., H. R. Agee y E. A. Ellis. 1983. Comparative ultrastructure of the compound eye of the wild, laboratory-reared, and irradiated Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76:322-332.
- De Lima, I. S. 1995. Behaviour and chemical ecology of the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). Doctor of Philosophy dissertation, School of Biological Sciences, University of Southampton, England. 186 p.
- De Lima, I. S., P. E. House y R. Do Nascimento. 2001. Volatile substances from male *Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae): identification and behavioural activity. *J. Braz. Chem. Soc.* 12: 196-201.
- Dickens, J. C., E. Solís y W. G. Hart. 1982. Sexual development and mating behavior of the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Loew). *Southwest. Entomol.* 7: 9-15.
- Drew, R. A. I., y A. C. Lloyd. 1989. Bacteria associated with fruit flies and their host plants. *In*: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp: 131-140.
- Duan, J. J. y R. J. Prokopy. 1992. Visual and odor stimuli influencing effectiveness of sticky spheres for trapping apple maggot flies, *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Diptera: Tephritidae). *J. Appl. Entomol.* 113: 271-279.

- Economopoulos, A. P. 1989. Use of traps based on color and/or shape. *In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume 3B. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp: 315-327.
- El-Sayed AM. 2004. The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals [En línea]. Disponible en: <http://www.pherobase.com> (Consultado el 2 de Abril de 2005).
- Enkerlin, D., L. García R. y F. López M. 1989. Pest status: Mexico, Central and South America. *In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp: 83-90.
- Epsky, N. D., R. R. Heath, J. M. Sivinski, C. O. Calkins, R. M. Baranowski y A. H. Fritz. 1993. Evaluation of protein bait formulations for the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 76: 626-635.
- Epsky, N. D. y R. R. Heath. 1993a. Food availability and pheromone production by males of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Environ. Entomol.* 22: 942-947.
- Epsky, N. D. y R. R. Heath. 1993b. Pheromone production by male *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) under natural light cycles in greenhouse studies. *Environ. Entomol.* 22: 464-469.
- Epsky, N. D., R. R., Heath, A. Guzman y W. L. Meyer. 1995. Visual cue and chemical cue interactions in a dry trap with food-based synthetic attractant for *Ceratitis capitata* and *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Environ. Entomol.* 24: 1387-1395.
- Epsky, N. D. y R. R. Heath. 1998. Exploiting the interactions of chemical and visual cues in behavioral control measures for pest tephritid fruit flies. *Fla. Entomol.* 81: 273-282.
- Epsky, N. D., R. R. Heath, B. D. Dueben, C. R. Lauzon, A. T. Proveaux y G. B. MacCollom. 1998. Attraction of 3-methyl-1-butanol and ammonia identified from *Enterobacter agglomerans* to *Anastrepha suspensa*. *J. Chem. Ecol.* 24: 1867-1880.

- Eskafi, F. M. y R. T. Cunningham. 1987. Host plants of fruit flies (Diptera: Tephritidae) of economic importance in Guatemala. Fla. Entomol. 70:116-123.
- Fein, B. L., W. H. Reissig y W. L. Roelofs. 1982. Identification of apple volatile attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. J. Chem. Ecol. 8: 1473-1487.
- Fletcher, M. T. y W. Kitching. 1995. Chemistry of fruit flies. Chem. Rev. 95: 789-828.
- Fontellas, T. M. L. y F. S. Zucoloto. 1999. Nutritive value of diets with different carbohydrates for adult *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera, Tephritidae). Rev. Bras. Zool. 16: 1135-1147.
- Foot, R. H., F. L. Blanc y A. L. Norrbom. 1993. Handbook of the Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) of America North of Mexico. Comstock Publ., Cornell Univ. Press, New York, USA. 571 p.
- Galun, R., S. Gothilf, S. Blondeheim, J. L. Sharp, M. Mazor y A. Lachman. 1985. Comparison of aggregation and feeding responses by normal and irradiated fruit flies, *Ceratitis capitata* and *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). Environ. Entomol. 14: 726- 732.
- González, R., J. Toledo, L. Cruz-López, A. Virgen, A. Santiesteban y E. A. Malo. 2006. A new blend of white sapote fruit volatiles as potential attractant to *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 99: 1994-2001.
- Gordin, A., A. Amirav. 2000. SnifProbe: new method and device for vapor and gas sampling. J. Chromatography 903: 155–172.
- Greany, P. D., H. R. Agee, A. K. Burditt y D. L. Chambers. 1977. Field studies on color preferences of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). Entomol. Exp. Appl. 21: 63-70.
- Greany, P. D., A. K. Burditt Jr., H. R. Agee y D. L. Chambers. 1978. Increasing effectiveness of visual traps for the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae), by use of fluorescent colors. Entomol. Exp. Appl. 23: 20-25.

- Han H. Y. y B. A. McPherson. 2000. Nucleotide sequence data as a tool to test phylogenetic relationships among higher groups of Tephritidae: a case study using mitochondrial ribosomal DNA. *In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. M. Aluja y A. L. Norrbom (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, pp: 115-132.
- Heath, R. R. y A. Manukian. 1992. Development and evaluation of systems to collect volatile semiochemicals from insects and plants using a charcoal-infused medium for air purification. *J. Chem. Ecol.* 18:1209-1226.
- Heath, R. R., N. D. Epsky, B. D. Dueben, A. Guzman y L. E. Amrdrada. 1994. Gamma radiation effect on production of four pheromonal components of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 904-909.
- Heath, R. R., N. D. Epsky, A. Guzman, B. D. Dueben, A. Manukian y W. L. Meyer. 1995. Development of a dry plastic insect trap with food-based synthetic attractant for the Mediterranean and Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 88: 1307-1315.
- Heath, R. R., N. D. Epsky, B. D. Dueben, J. Rizzo y F. Jeronimo. 1997. Adding methyl-substituted ammonia derivatives to a food-based synthetic attractant on capture of the Mediterranean and Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 1584-1589.
- Heath, R. R., P. J. Landolt, D. C. Robacker, B. D. Dueben y N. Epsky. 2000. Sexual pheromones of tephritid flies: clues to unravel phylogeny and behavior. *In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. M. Aluja y A. L. Norrbom (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, pp: 793-809.
- Henning, F. y S. R. Matioli. 2006. Mating time of the West Indian Fruit flies *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Neotrop. Entomol.* 35:145-148.
- Hernández-Ortiz, V. 1992. El género *Anastrepha* Schiner en México (Diptera: Tephritidae): Taxonomía, distribución y plantas hospederas. Instituto de Ecología, A. C. y Sociedad Mexicana de Entomología. Publ. No. 33. Xalapa, Veracruz, México: 162 p.

- Hernández-Ortiz, V. 1993. Taxonomy, distribution, and natural host plants of *Anastrepha* fruit flies in Mexico. *In: Fruit Flies: Biology and Management*. M. Aluja y P. Liedo (Eds.), Springer-Verlag, New York, USA, pp: 31-34.
- Hernández-Ortiz, V. y M. Aluja. 1993. Listado de especies del género neotropical *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) con notas sobre su distribución y plantas hospederas. *Folia Entomol. Mex.* 88: 89-105.
- Hernández-Ortiz, V. 1997a. Filogenia y zoogeografía de los Tephritidae neotropicales. En: *Memorias del Curso Regional sobre Moscas de la Fruta y su Control en Áreas Grandes con Énfasis en la Técnica del Insecto Estéril*. Septiembre 28 a Octubre 21 de 1997. Metapa de Domínguez, Chiapas, México, pp: 39-48.
- Hernández-Ortiz, V. 1997b. Fitofagia y sus implicaciones evolutivas en Tephritidae. En: *Memorias del Curso Regional sobre Moscas de la Fruta y su Control en Áreas Grandes con Énfasis en la Técnica del Insecto Estéril*. Septiembre 28 a Octubre 21 de 1997. Metapa de Domínguez, Chiapas, México, pp: 49-56.
- IAEA. 2003. *Trapping Guidelines for Area-Wide Fruit Fly Programmes*. FAO/IAEA, Vienna, Austria, 47 p.
- Ibáñez-López, A. y L. Cruz-López. 2001. Glándulas salivales de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae): Análisis químico y morfológico, y actividad biológica de los componentes volátiles. *Folia Entomol. Mex.* 40: 221-231.
- Jang, E. B., D. M. Light, R. A. Flath, J. T. Nagata y T. R. Mon. 1989. Electroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* to identified volatile constituents from calling males. *Entomol. Exp. Appl.* 50: 7-19.
- Jang, E. B. 1995. Effects of mating and accessory gland injections on olfactory-mediated behavior in the female Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *J. Insect. Physiol.* 41: 705-710.
- Jang, E. B. y D. M. Light. 1996. Olfactory semiochemicals of tephritids. *In: Fruit Flies Pest: a World Assessment of their Biology and Management*. B. A. McPherson y G. J. Steck (Eds.). St. Lucie Press, Delray Beach, FL, USA, pp: 73-90.

- Jones, O. T. 1989. *Ceratitis capitata*. In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 179-183.
- Katsoyannos, B. I., 1989. Response to shape, size and color. In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp: 307-324.
- Kobayashi, R. M., K. Ohinata, D. L. Chambers y M. S. Fujimoto. 1978. Sex pheromone of the Oriental fruit fly and de melon fruit fly: mating behavior, bioassay method, and attraction of females by live males and by suspected pheromone glands of males. Environ. Entomol. 7:107-112.
- Korneyev, V. A. 2000. Phylogenetic relationships among higher groups of tephritidae. In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. M. Aluja y A. L. Norrbom (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, pp: 73-113.
- Koyama, J. 1989. Tropical Dacines. Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 165-178.
- Landolt, P. J. R. R. Heath, H. R. Agee, J. H. Tumlinson y C. O. Calkins. 1988. Sex pheromone-based trapping system for papaya fruit fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 81: 1163-1169.
- Landolt, P. J., H. C. Reed y R. R. Heath. 1992. Attraction of female papaya fruit fly (Diptera: Tephritidae) to male pheromone and host fruit. Environ. Entomol. 21: 1154-1159.
- Landolt, P. J. y T. W. Phillips. 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. Annu. Rev. Entomol. 42: 371-391.
- Landolt, P. J. y A. Averill. 1999. Fruit Flies. In: Pheromones of Non-Lepidopteran Insects Associated with Agricultural Plants. J. Hardie & A. K. minks (Eds.). CAB International, Wallingford , UK, pp: 3-25.

- Lascarez, O. S. P. 2004. Identificación de volátiles emitidos durante el llamado sexual de *Anastrepha serpentina* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula, Chiapas, México. 51 p.
- Liedo, F. P. 1997. Estudios demográficos en moscas de la fruta del género *Anastrepha*. En: Memorias del Curso Regional sobre Moscas de la Fruta y su Control en Áreas Grandes con Énfasis en la Técnica del Insecto Estéril. Septiembre 28 a Octubre 21 de 1997. Metapa de Domínguez, Chiapas, México, pp: 79-87.
- López-Guillén, G., C. Llanderal y J. C. Rojas. 2006. Influencia de la dieta y el apareamiento en la respuesta de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) a volátiles frutales y proteicos. En: Memorias del X Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. A. Castillo, J. Gómez, H. Morales, J. Toledo y R. Jarquín (Eds.). Tapachula, Chiapas, México, pp: 49-50.
- Lu, F. y P. E. A Teal. 2001. Sex pheromone components in oral secretions and crop of male Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Loew). Arch. Insect Biochem. Physiol. 48:144-154.
- Maclafferty, F. W. y D. B. Stauffer. 1989. The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. Wiley Publisher. USA. 2087 p.
- Malavasi, A., J. S. Morgante y R. J. Prokopy. 1983. Distribution and activities of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) flies on host and nonhost trees. Ann. Entomol. Soc. Am. 76: 286-292.
- Malavassi, A. y R. J. Prokopy. 1992. Effect of food deprivation on the foraging behavior of *Rhagoletis pomonella* females for food and host fruit. J. Entomol. Sci. 27:185-193.
- Malo, E. A., L. Cruz-López, J. Toledo, A. Del Mazo, A. Virgen y J. C. Rojas. 2005. Behavioral and electrophysiological responses of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to guava volatiles. Fla. Entomol. 88: 364-370.

- Mangan, R. L., D. S. Moreno y M. Sanchez. 1992. Interaction of wild males and laboratory-adapted females of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) in natural habitats. *Environ. Entomol.* 21: 294-300.
- Martínez, A. J., E. J. Salinas y P. Rendon. 2007. Capture of *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae) with multilure traps and biolure attractants in Guatemala. *Fla. Entomol.* 90: 258-263.
- Mayer, D. F., L. E. Long, T. J. Smith, J. Olsen, H. Riedl, R. R. Heath, T. C. Leskey y R. J. Prokopy. 2000. Attraction of adult *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) to unbaited and odor-baited red spheres and yellow rectangles. *J. Econ. Entomol.* 93: 347-351.
- McNeil, J. N. 1991. Behavioral ecology of pheromone-mediated communication in moths and its importance in the use of pheromone traps. *Annu. Rev. Entomol.* 36: 407-430.
- McPheron, B. A., H. Y. Han, J. G. Silva y A. L. Norrbom . 2000. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) based upon 16s rRNA mitochondrial DNA sequences. *In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior.* M. Aluja y A. L. Norrbom (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, pp: 343-373.
- Meza-Hernández, J. S., E. Hernández, M. Salvador-Figueroa y L. Cruz-López. 2002. Sexual compatibility, mating performance and sex pheromone release of mass-reared and wild *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) under field-cage conditions. *Proceedings of 6<sup>th</sup> International Fruit Fly Symposium, 6-10 May 2002, Stellenbosch, South Africa*, pp: 99-104.
- Montoya, P. y J. Cancino. 2004. Control biológico por aumento en moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae). *Folia Entomol. Mex.* 43: 257-270.
- Montoya, P., J. Toledo y S. Flores-Breceda. 2006. Trampas y atrayentes para la detección y monitoreo de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae). *En: Simposium sobre trampas y atrayentes en detección, monitoreo y control de plagas de importancia económica.* J. F. Gaytan y P. J. Montoya (Eds.), Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur, Manzanillo, Colima, México, pp: 17-25.

- Moreno, D. S., M. Sanchez, D. C. Robacker y J. Worley. 1991. Mating competitiveness of irradiated Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 84: 1227-1234.
- Morrison, D. F. 1990. *Multivariate statistical methods*. Third Edition. McGraw-Hill, Inc. New York, USA. 495p.
- Nakagawa, S., R. J. Prokopy, T. T. Y. Wong, J. R. Ziegler, S. M. Mitchell, T. Urago y E. J. Harris. 1978. Visual orientation of *Ceratitis capitata* flies to fruit models. *Entomol. Exp. Appl.* 24: 193-198.
- Nation, J. L. 1972. Courtship Behavior and evidence for a sex attractant in the male Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65: 1364-1367.
- Nation, J. L. 1975. The sex pheromone blend of Caribbean fruit fly males: isolation biological activity, and partial chemical characterization. *Environ. Entomol.* 4: 27-30.
- Nation, J. L. 1981. Sex-specific glands in tephritid fruit flies of genera *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Dacus* and *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embriol.* 10: 121-129.
- Nation, J. L. 1983a. Sex pheromone of the Caribbean fruit fly: chemistry and field ecology. *Proceedings of the Fifth International Conference on Pesticide Chemistry* 2: 109-110.
- Nation, J. L. 1983b. Sex pheromone of the Caribbean fruit fly: chemistry and field ecology. *In: J. Miyamoto y P. C. Kearney, P. C. (Eds). IUPAC Pesticide Chemistry, Human Welfare and the Environment*. Pergamon Press, New York, USA, pp: 109-110.
- Nation, J. L. 1989. The role of pheromones in the mating system of *Anastrepha* fruit flies. *In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume 3A. A. S. Robinson y G. Hooper (Eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, pp. 189-205.
- Nation, J. L. 1990. Biology of pheromone release by male bean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *J. Chem. Ecol.* 16: 553-572.

- Nation, J. L. 1991. Sex pheromone components of *Anastrepha suspensa* and their role in mating behaviour. *In*: K. Kawasaki, O. Iwahashi y K. Y. Kaneshiro (Eds.), Proceedings of the international symposium on the biology and control of fruit flies, Ginowan, Okiwan, Japan, pp. 224-236.
- Nation, J. L. 2002. Insect Physiology and Biochemistry. CRC Press LLC, Gainesville, FL, USA. 485 p.
- Nigg, H. N. , L. L. Mallory, S. E. Simpson, S. B. Callaham, J. P. Toth, S. Fraser, M. Klim, S. Nagy, J. L. Nation y J. A. Attaway. 1994. Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew), attraction to host fruit and host kairomones. *J. Chem. Ecol.* 20: 727-743.
- NOM-023-FITO-1995. 1999. Por la que se establece la campaña nacional contra moscas de la fruta. DOF, 11 de Febrero de 1999.
- NOM-075-FITO-1997. 1998. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta. DOF, 16 de marzo de 1998.
- Norrbom, A. L. y K. C. Kim. 1988. A List of the Reported Host Plants of the Species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). United States Department of Agriculture (APHIS 81-52), Washington, D. C. USA. 114 p.
- Norrbom, A. L., R. A. Zucchi y V. Hernández-Ortiz. 2000. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) based on morphology. *In*: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. M. Aluja y A. L. Norrbom (Eds.). CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, pp: 299-342.
- Oldham, N. J. y W. Boland. 1996. Chemical ecology: multifunctional compounds y multitrophic interactions. *Naturwissenschaften* 83: 248-254.
- Papadopoulos, N. T., B. I. Katsoyannos, N. A. Kouloussis y J. Hendrichs. 2001. Effect of orange peel substances on mating competitiveness of male *Ceratitis capitata*. *Entomol. Exp. Appl.* 99: 253-261.
- Perdomo, A. J., J. L. Nation y R. M. Baranowski. 1976. Attraction of female and male Caribbean fruit flies to food-baited and male-baited traps under field conditions. *Environ. Entomol.* 5: 1208-1210.

- Pérez-Staples, D. y M. Aluja. 2006. Sperm allocation and cost of mating in a tropical tephritid fruit fly. *J. Insect Physiol.* 52: 839-845.
- Ponce, W. P., J. L. Nation, T. C. Emmel, B. J. Smittle y P. E. A. Teal. 1993. Quantitative analysis of pheromone production in irradiated Caribbean fruit fly males, *Anastrepha suspensa* (Loew). *J. Chem. Ecol.* 19: 3045-3056.
- Prokopy, R. J. 1968. Visual responses of apple maggot, *Rhagoletis pomonella*: orchard studies. *Entomol. Exp. Appl.* 11: 403-422.
- Prokopy, R. J. 1973. Dark enamel spheres capture as many apple maggot flies as fluorescent spheres. *Environ. Entomol.* 2: 953- 954.
- Prokopy, R. J. y A. P. Economopoulos. 1976. Color responses of *Ceratitidis capitata* flies. *Z. Ang. Entomol.* 80: 434-437.
- Prokopy, R. J. y Owens, E. D. 1983. Visual detection of plants by herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 28: 337-364.
- Prokopy, R. J. 1991. A small low-input commercial apple orchard in eastern North America: management and economics. *Agric. Ecosyst. Environ.* 33: 353-362.
- Prokopy, R. J., D. R. Papaj, J. Hendrichs y T. T. Y. Wong. 1992. Behavioral responses of *Ceratitidis capitata* flies to bait spray droplets and natural food. *Entomol. Exp. Appl.* 64: 247-257.
- Prokopy, R. J., C. L. Hsu y R. I. Vargas. 1993. Effect of source and condition of animal excrement on attractiveness to adults of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Environ. Entomol.* 22: 453-458.
- Prokopy, R. J. y R. I. Vargas. 1996. Attraction of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) flies to odor of coffee fruit. *J. Chem. Ecol.* 22: 807-820.
- Prokopy, R. J., X. P. Hu, E. B. Jang, R. I. Vargas y J. D. Warthen. 1998. Attraction of mature *Ceratitidis capitata* females to 2-heptanone, a component of coffee fruit odor. *J. Chem. Ecol.* 24: 1293-1304.
- Reissig, W. H., B. L. Fein y W. L. Roelofs. 1982. Field tests of synthetic apple volatiles as apple maggot (Diptera: Tephritidae) attractants. *Environ. Entomol.* 75: 1294-1298.

- Reissig, W. H. B. H. Stanley, W. L. Roelofs y M. R. Schwarz. 1985. Test of synthetic apple volatiles in traps as attractants for apple maggot flies in commercial apple orchards. *Environ. Entomol.* 14: 55-59.
- Reyes, F. J., G. Santiago y P. Hernández. 2000. The Mexican fruit fly eradication programme. *In: Area-Wide Control of Fruit Flies and other Insect Pests. Keng-Hong Pests (Ed.)*. Penerbit University Sains Malaysia, Penang, Malaysia, pp: 377-380.
- Reynolds, A. H. y J. Prokopy. 1997. Evaluation of odor lures for use with red sticky spheres to trap apple maggot (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 1655-1660.
- Riedl, H. y R. Hislop. 1985. Visual attraction of the walnut husk fly (Diptera: Tephritidae) to color rectangles and spheres. *Environ. Entomol.* 14: 810-814.
- Robacker, D. C. y W. G. Hart. 1984. A bioassay for investigation of sex pheromones of fruit flies. *Southwest. Entomol.* 9: 134-137.
- Robacker, D.C. y W. G. Hart. 1985. (Z)-3-nonenol, (Z,Z)-3,6-nonandienol and (S,S)-(-)-epianastrephin: male produced pheromone of the Mexican fruit fly. *Entomol. Exp. Appl.* 39:103-108.
- Robacker, D. C., S. J. Ingle y W. G. Hart. 1985. Mating frequency and response to male-produced pheromone by virgin and mated females of the Mexican fruit fly. *Southwest. Entomol.* 10: 215-221.
- Robacker, D. C. y W. G. Hart. 1986. Behavioral responses of male and female Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* to male-produced chemicals in laboratory experiments. *J. Chem. Ecol.* 12: 39-47.
- Robacker, D. C. y W. G. Hart. 1987. Electroantennograms of male and female Caribbean fruit flies (Diptera: Tephritidae) elicited by chemicals produced by males. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 80:508-512.
- Robacker, D. C. 1988. Behavioral responses of female Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens*, to components of male-produced sex pheromone. *J. Chem. Ecol.* 14:1715-1726.

- Robacker, D. C. y J. A. García. 1990. Responses of laboratory-strain Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens*, to combinations of fermenting fruit odor and male produced pheromone in laboratory bioassays. *J. Chem. Ecol.* 16: 2027-2038.
- Robacker, D. C., A. M. T. Moreno, J. A. Garcia y R. A. Flath. 1990a. A novel attractant for Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens*, from fermented host fruit. *J. Chem. Ecol.* 16: 2799-2815.
- Robacker, D. C., D. S. Moreno y D. A. Wolfenbarger. 1990b. Effects of trap color, height, and placement around trees on capture of Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 412-419.
- Robacker, D. C., J. A. Garcia y W. G. Hart. 1990c. Attraction of a laboratory strain of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) to the odor of fermented chapote fruit and pheromones in laboratory experiments. *Environ. Entomol.* 19: 403-408.
- Robacker, D. C. 1991. Specific hunger in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): effects on attractiveness of proteinaceous and fruit-derived lures. *Environ. Entomol.* 20: 1686-1686.
- Robacker, D. C., J. A. García, A. J. Martínez y M. G. Kaufman. 1991. Strain of *Staphylococcus* attractive to laboratory strain *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 84: 555-559.
- Robacker, D. C. 1992. Effects of shape and size of colored traps on attractiveness to irradiated, laboratory-strain Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 75: 230-240.
- Robacker, D. C., W. C. Warfield y R. A. Flath. 1992. A four-component attractant for the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), from host fruit. *J. Chem. Ecol.* 18: 1239-1254.
- Robacker, D. C. 1993. Understanding olfactory attraction in *Anastrepha* using *A. ludens* as a model system. *In: Fruit Flies: Biology and Management.* M. Aluja y P. Liedo (Eds.), Springer-Verlag, New York, USA, pp: 201-206.
- Robacker, D. C. y J. A. Garcia. 1993. Effects of age, time of day, feeding history, and gamma irradiation on attraction of Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae), to bacterial odor in laboratory experiments. *Environ. Entomol.* 22: 1367-1374.

- Robacker, D. C. 1995. Attractiveness of a mixture of ammonia, methylamine and putrescine to Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a citrus orchard. Fla. Entomol. 78: 571-578.
- Robacker, D. C. y R. R. Heath. 1996. Attraction of Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae) to lures emitting host-fruit volatiles in a citrus orchard. Fla. Entomol. 79: 600-602.
- Robacker, D. C. y R. R. Heath. 1997. Decreased attraction of *Anastrepha ludens* to combinations of two types of synthetic lures in a citrus orchard. J. Chem. Ecol. 23: 1253-1262.
- Robacker, D. C., A. J. Martínez, J. A. García y R. J. Bartelt. 1998. Volatiles attractive to the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) from eleven bacteria taxa. Fla. Entomol. 81:497-509.
- Robacker, D. C. 1998. Semiochemical systems of the Mexican fruit fly: How they work and interact. Recent Res. Devel. in Entomol. 2: 127-149.
- Robacker, D. C., J. A. Garcia y R. J. Bartelt. 2000. Volatiles from duck feces attractive to Mexican fruit fly. J. Chem. Ecol. 26: 1849-1867.
- Robacker, D. C. y C. R. Lauzon. 2002. Purine metabolizing capability of *Enterobacter agglomerans* affects volatiles production and attractiveness to Mexican fruit fly. J. Chem. Ecol. 28: 1549-1563.
- Robacker, D. C. y I. Fraser. 2002. Attraction of Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to grapefruit: Enhancement by mechanical wounding and experience with grapefruit. J. Insect. Behav. 15: 399-413.
- Robacker, D. C. y I. Fraser. 2003. Relative attractiveness of oranges and grapefruits to Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a wind tunnel. J. Entomol. Sci. 38: 566-575.
- Robacker, D. C., C. R. Lauzon y X. D. He. 2004. Volatiles production and attractiveness to the Mexican fruit fly of *Enterobacter agglomerans* isolated from apple maggot and Mexican fruit fly. J. Chem. Ecol. 30: 1329-1347.
- Robacker, D. C. y D. Czokajlo. 2005. Efficacy of two synthetic food-odor lures for Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae) is determined by trap type. J. Econ. Entomol. 98: 1517-1523.

- Robacker D. C. y C. Rios. 2005. Grapefruit oil enhances attraction of Mexican fruit flies to a synthetic food-odor lure. *J. Chem. Ecol.* 31: 1039–1049.
- Robacker, D. C. 2007. Attractiveness to *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) of plant essential oils and a synthetic food-odour lure. *J. Appl. Entomol.* 131: 202-208.
- Rocca, J.R., J. L. Nation, L. Streckowski y M. A. Battiste. 1992. Comparison of volatiles emitted by male Caribbean and Mexican fruit flies. *J. Chem. Ecol.* 18:223-244.
- Rodríguez-Valverde, C. L., H. Bravo, J. Vera y J. Romero. 1989. Atrayentes visuales y olfatorios para *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) y su parasitoide *Diachasmimorpha (Biosteres) longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Agrociencia* 76: 99-106.
- Rojas, J., L. Cruz-López, A. Virgen, A. del Mazo, J. Toledo y E. Malo. 2004. Atracción de *Anastrepha obliqua* a volátiles de jobo de pava (*Spondias mombin* L.). En: *Entomología Mexicana*. Vol. 3. A. Morales, M. Ibarra, A. del Pilar y S. Stanford (Eds.), Mazatlán, Sinaloa, México, pp: 115-118.
- Santos-Lemos, R. N., C. M. Carvalho, J. R. Gusmão, L. J. M. Pires y J. R. Jesus. 2002. Eficiência de substâncias atrativas na captura de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em Goiabeiras no município Deitapecuru-Mirim (MA). *Rev. Bras. Frutic.* 24: 687-689.
- SAS Institute. 2001. Proc User's manual-(Version 8.2). Cary, North Carolina, SAS Institute.
- Shelly, T. E., T. S. Whittier y E. M. Villalobos. 1996. Trimedlure affects mating success and mate attraction in male Mediterranean fruit flies. *Entomol. Exp. Appl.* 78: 181-185.
- Shelly, T. E. 1999. Trimedlure and the mating competitiveness of irradiated male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Environ. Entomol.* 28: 780-786.
- Shelly, T. E. 2001. Exposure to  $\alpha$ -copaene and  $\alpha$ -copaene-containing oils enhances mating success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 94: 497-502.
- Shorey, H. H. 1973. Behavioral responses to insect pheromones. *Annu. Rev. Entomol.* 18: 349- 380.

- Sivinski, J. 1984. Effect of sexual experience on male mating success in a lek forming tephritid *Anastrepha suspensa* (Loew). Fla. Entomol. 67: 126-130.
- Sivinsky, J. M. y C. Calkins. 1986. Pheromones y parapheromones in the control of tephritids. Fla. Entomol. 69: 157-168.
- Sivinsky, J. 1990. Colored spherical traps for capture of Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. Fla. Entomol. 73: 123-128.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. F. J. 1995. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3<sup>rd</sup> Edition. Freeman & Company, New York, USA. 887 p.
- Statsoft, Inc. 2003. Statistica (data analysis software system), Version 6. <http://www.statsoft.com>.
- Steck, G. J. 2001. Concerning the occurrence of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) in Florida. Fla. Entomol. 84: 320-321.
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. 1993. Bioestadística: principios y procedimientos. 2<sup>a</sup>. Ed. Edit. McGraw-Hill, México. 622 p.
- Steyskal, G. C. 1977. History and use of the McPhail trap. Fla. Entomol. 60:11-16.
- Stokes, J.B., E. C. Uebel, J. D. Jr. Warthen, M. Jacobson, J. L. Flippen-Anderson, R. Gilardi, L. M. Spishakoff y K. R. Wilzer. 1983. Isolation and identification of novel lactones from male Mexican fruit flies. J. Agric. Food Chem. 31:1162-1167.
- Teal, P. E. A., Y. Gomez-Simuta y A. T. Proveaux. 2000. Mating experience and juvenile hormone enhance sexual signaling and mating in male Caribbean fruit flies. PNAS USA 97: 3708-3712.
- Thomas, D. B., T. C. Holler, R. R. Heath, E. J. Salinas y A. L. Moses. 2001. Trap-lure combinations for surveillance of *Anastrepha ludens* fruit flies (Diptera: Tephritidae). Fla. Entomol. 84: 344-351.
- Toledo, J. 1993. Optimum dosage for irradiating *Anastrepha obliqua* pupae to obtain highly competitive sterile adults. In: Fruit Flies: Biology and Management. M. Aluja y P. Liedo (Eds.), Springer-Verlag, New York, USA, pp: 301-304.
- Toledo, A. J. y J. R. Lara V. 1996. Comparison of the biology of *Anastrepha obliqua* reared in mango (*Mangifera indica* L.) and in mombin (*Spondias mombin*)

- infested under field conditions. *In*: Fruit Fly Pests: a World Assessment of their Biology and Management. B. A. McPherson y G. J. Steck (Eds.). St. Lucie Press, Delray Beach, FL, USA, pp: 359-362.
- Toledo, J., J. Rull, A. Oropeza, E. Hernández y P. Liedo. 2004. Irradiation of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) revisited: Optimizing sterility induction. *J. Econ. Entomol.* 97: 383-389.
- Tumlinson, J. H. 1989. Insect chemical communication systems. *Pure & Appl. Chem.* 61: 559-562.
- Vargas, R. I., J. D. Stark, R. J. Prokopy y T. A. Green. 1991. Response of Oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) and associated parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) to different-color spheres. *J. Econ. Entomol.* 84: 1503-1507.
- Vaupel, J. W., J. R. Carey, K. Christensen, T. E. Johnson, A. I. Yashin, N. V. Holm, I. A. Iachine, V. Kannisto, A. A. Khazaeli, P. Liedo, V. D. Longo, Y. Zeng, K. G. Manton y J. W. Curtsinger. 1998. Biodemographic trajectories of longevity. *Science* 280: 885-860.
- Warthen, J. D., C. J. Lee, E. B. Jang, D. R. Lance y D. O. McInnis. 1997. Volatile, potential attractants from ripe coffee fruit for female Mediterranean fruit fly. *J. Chem. Ecol.* 23: 1891-1900.
- Webb, J. C., T. Burk y J. Sivinski. 1983. Attraction of female Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae), to the presence of males and male-produced stimuli in field cages. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 996-998.
- Weems, H. V. Jr. 1970. West Indian fruit fly *Anastrepha mombinpraeoptans* Seín (Diptera: Tephritidae). Florida Department of Agriculture & Consumer Services Division of Plant Industry, Entomology circular No. 101. 2 p.
- Weems, H. V. Jr., J. B. Heppner, G. J. Steck y T. R. Fasulo. 2001. West Indian fruit fly, *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Insecta: Diptera: Tephritidae) [En línea]. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN355> (Consultado el 18 de Junio de 2005).
- White, I. M y M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit Flies of Economic Significance: Their Identification and Bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

Whittaker, R. H. y P. Feeny. 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science* 171: 757.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth edition. Prentice Hall, New Jersey, USA. 663 p.