



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN
VEGETAL

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y
MOLECULAR DEL BARRENADOR DE LA
GUANÁBANA EN ZONAS PRODUCTORAS DE
YUCATÁN, MÉXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL



COORDINACIÓN GENERAL
DE ESTUDIOS DE POSGRADO
APROBADA



PRESENTA:

DANIEL EDUVIGES CITUK CHÁVEZ

Bajo la supervisión de: Dr. Samuel Ramírez Alarcón



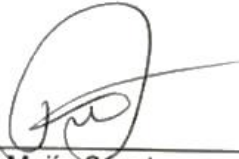
Chapingo, Texcoco, Estado de México, mayo de 2020

**IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DEL BARRENADOR DE
LA GUANÁBANA EN ZONAS PRODUCTORAS DE YUCATÁN, MÉXICO**

Tesis realizada por DANIEL EDUVIGES CITUK CHÁVEZ bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR: 
Dr. Samuel Ramírez Alarcón

ASESOR: 
Dr. Dimas Mejía Sánchez

ASESOR: 
Dr. Manuel Alejandro Tejeda Reyes

ASESOR: 
Dra. Erika Janet Zamora Macorra

CONTENIDO GENERAL

CONTENIDO GENERAL	iii
DEDICATORIAS	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
DATOS BIOGRÁFICOS	ix
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE APENDICES	xi
RESUMEN GENERAL	xii
SUMMARY	xiv
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.2 Objetivos específicos	3
1.3 Hipótesis	3
Capítulo 2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Aspectos generales de la guanábana (<i>Annona muricata</i> L.)	4
2.2 Biología	4
2.3 Fenología	5
2.4 Hábito de crecimiento y desarrollo	8
2.5 Importancia	8
2.6 Usos	9
2.7 Distribución mundial	10
2.7.1 Producción mundial	10
2.7.2 Distribución nacional	10
2.7.3 Producción nacional	11
2.8 Plagas en la guanábana	12
2.9 Distribución de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer	13
2.9.1 Taxonomía	15
2.9.2 Descripción y daños ocasionados por las plagas	15
2.10 LITERATURA CITADA	16

Capítulo 3. CICLO DE VIDA Y DAÑOS OCASIONADOS POR EL BARRENADOR DEL FRUTO DE GUANÁBANA <i>Annona muricata</i> L. EN YUCÁTAN.....	20
RESUMEN	20
SUMMARY.....	21
3.1 INTRODUCCIÓN	22
3.1.1 Importancia y distribución	22
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.2.1 Localización del área de estudio.....	23
3.2.2 Tercera fase (Captura de imagen).....	24
3.2.3 Descripción del ciclo biológico	24
3.2.4 Periodo de incubación larval.....	25
3.2.5 Periodo pupal.....	25
3.2.6 Emergencia de los adultos	26
3.2.7 Daños ocasionados al botón floral.....	26
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
3.3.1 Ciclo de vida del barrenador de la guanábana	27
3.3.2 Huevo	27
3.3.3 Larva.....	28
3.3.4 Pupa	29
3.3.5 Adultos.....	30
3.3.6. El Macho ♂ de <i>Oenomaus ortygus</i> Cramer	30
3.3.6.2 Adulto Hembra ♀ de <i>Oenomaus ortygus</i> Cramer	31
3.3.7 Daños ocasionados por la plaga.....	31
3.4 CONCLUSIONES	32
3.5 LITERATURA CITADA	33
ANEXOS I.....	35
ANEXO II	36
Capítulo 4 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DEL BARRENADOR DE LA GUANÁBANA.....	37

RESUMEN	37
SUMMARY	38
4.1 INTRODUCCIÓN	39
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	40
4.2.1 Colecta de Botones florales	40
4.2.2 Identificación morfológica del barrenador de la guanábana	41
4.2.3 Identificación molecular del barrenador de la guanábana <i>Oenomaus</i> <i>ortygna</i> Cramer	42
4.2.4 Extracción de ADN	42
4.2.5 Amplificación y secuenciación de ADN	43
4.2.6 Análisis filogenético.	44
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.3.1 Identificación morfológica del barrenador de la guanábana	44
4.3.2 Larva	45
4.3.3 Pupa	45
4.3.4 Dimorfismo sexual en adultos	46
4.3.5. Identificación molecular.	49
4.4 CONCLUSIONES	52
4.5 LITERATURA CITADA	53

DEDICATORIAS

A mis padres Vilma Chávez Canche y Daniel E. Cituk Chan, por brindarme su apoyo, educarme, aconsejarme, motivarme a seguir estudiando, son los pilares más importantes para mí,

A mis hermanos Carlos Cituk, Marcos Cituk y Melchor Cituk, Por apoyarme en todas mis decisiones y todos sus consejos para ser mejor persona.

A Katia Franco, por estar siempre a mi lado en este camino y apoyándome incondicionalmente.

A toda mi familia, amigos, profesores y personas que siempre me han apoyado personal y profesionalmente durante toda mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca para la realización de los estudios de Maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo, en particular al Departamento de Parasitología Agrícola por abrirme sus puertas para continuar por la senda del estudio y conocimiento y por las facilidades otorgadas para el desarrollo de esta investigación.

A la Universidad Federal de Alagoas por permitirme realizar parte de mi investigación en el Laboratorio de Pesquisa em Recursos Naturales (LPqRN) Instituto de Química y

Al M.C. Antonio Segura Miranda y Mary Espejel Cervantes por creer en mí y ser una parte fundamental en el programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal de igual manera por la predisposición y ayuda incondicional en el ámbito académico y personal.

Al Dr. Samuel Ramírez Alarcón por compartir su experiencia y conocimiento en el área a través de sus consejos y aportaciones en el trabajo para tomar buenas decisiones.

Al Dr. Roney Solano Vidal por sus consejos y por brindarme material para facilitar el desarrollo del trabajo de investigación.

Al Dr. Dimas Mejía Sánchez, por compartir parte de su experiencia en el ámbito académico, facilitar el acceso al laboratorio de bacterias para realizar la parte de biología molecular.

Al Dr. Manuel Alejandro Tejeda Reyes, por compartir sus conocimientos en área de entomología y sus consejos para desarrollar mejor este trabajo.

A la Dra. Erika Zamora Macorra, por sus consejos para el desarrollo de esta investigación y guiarme en la parte de biología molecular.

A la Dra. María Guadalupe Carrillo, por su paciencia y compartir sus conocimientos en la parte de biología molecular y bioinformática en este trabajo.

A la Dra. Iraildes Pereira Assunção y Dra. Roseane Cristina Predes Coordinadora y Sub coordinadora do Programa da Pós-graduação em Proteção de Plantas Universidad Federal de Alagoas y Centro de Ciencias Agrarias CECA/UFAL (Brasil) por permitirme realizar una estancia para complementar el trabajo de investigación

Al Dr. Eduardo Campos, por brindarme su amistad y compartir sus conocimientos en el área de fruticultura.

A los Dra Jackeline Dos Santos por asesorarme en la parte de taxonomía en este trabajo de investigación, su amistad y compañía en todos los recorridos realizados durante la estancia profesional.

Al Dr David Matus Zarate por la colaboración en el trabajo de investigación y aportar su valioso conocimiento.

A mis compañeros de Maestría, Helena Selik, Yazmín, Andrea Rosales, Alejandra Barrientos, Sandra vadillo, Gloria luna, Gloria Sánchez, Alfredo Flores, José Saavedra, José Schlickmann, Daniel Cerón, Daniel Quiroga y Merary por brindarme su amistad

A mi familia, amigos, profesores, y cada una de las personas que se estuvieron presentes en este camino. Muchísimas gracias por su apoyo y por todos sus consejos durante la maestría, estoy muy agradecido con todos ustedes.

DATOS BIOGRÁFICOS

Nombre: Daniel Eduviges Cituk Chavez

Fecha de nacimiento: 18 de marzo de 1989

Lugar de nacimiento:

Profesión: Licenciado en Biología.



Daniel Eduviges Cituk Chavez nació el 18 de marzo de 1989 en Mocochá, Yucatán México, realizó estudio básico en la primaria “Niño Artillero” (1994-2000) y la secundaria en la escuela “Matilde Cárdenas Álvarez”, (2000-2003) ambas localizadas en el Municipio de Mocochá. Posteriormente en (2006-2009) continuo sus estudios a nivel medio superior en la preparatoria Centros de Estudios Superiores “Conrado Menéndez Díaz”.

Durante el ciclo escolar (2009-2013) curso la Licenciatura en biología en el Instituto Tecnológico de Conkal, (ITC), en Conkal, Yucatán, México. A partir del 2014 al 2017 fungió como asesor en el diagnóstico de la producción e identificación de insectos plagas de guanábana *Annona muricata* L. en el grupo consultor en Agronegocios XELA y Asesor en la propagación de especies forestales nativas y manejos de viveros en la Secretaria de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente (SEDUMA) en Yucatán, México.

En enero de 2018 fue aceptado en el Programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, del departamento de Parasitología Agrícola perteneciente a la Universidad Autónoma Chapingo, titulándose en 2020.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción de las principales etapas fenológicas del cultivo de guanábana.	5
Cuadro 2. Factores climáticos para <i>Annona muricata</i> L. en México	11
Cuadro 3. Desarrollo del cultivo de guanábana en México 2009-2018.....	12
Cuadro 4. Principales plagas de <i>Annona muricata</i> L. reportadas en México....	13
Cuadro 5. Ubicación de las tres huertas y números de flores colectadas en guanábana.	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Épocas de floración y formación de estructuras reproductivas del cultivo de guanábana	6
Figura 2. Fenología de la fase reproductiva del cultivo de guanábana A) Yema floral, B) Botón floral, C) Flor semi abierta, D) Flor fértil, E) Flor polinizada (tabaco), F) Erizamiento, G) Fruto en crecimiento y desarrollo, H) Madurez.....	7
Figura 3. Distribución de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer (GBIF,2020).	14
Figura 4. Botón floral infestado, A) Ubicación del número de huevos en el pedúnculo y pétalos de la flor y B) Morfología del huevo de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer con aumento 2.5 X.	28
Figura 5. Instares larvales de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer A) Instar I, B) Instar II, C) Instar III, D) Instar IV y E) Instar V.....	29
Figura 6. Estadio de pupa de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer. A) Tamaño de la pupa, B) Vista ventral y C) Vista dorsal	30
Figura 7. Adultos de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer, A) Macho y B) Hembra	31
Figura 8. Larva de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer. A) Larva y B) Placa torácica	45
Figura 9. Pupa de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer. A) Vista ventral, B) Vista dorsal Y C) Vista lateral	46
Figura 10. Adulto Macho de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer. A) Vista Ventral B) Vista Ventral, C) Vista Lateral y D) coloración del abdomen.....	47
Figura 11. Adulto hembra de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer. A) Vista dorsal B) Vista ventral, C) Vista lateral y D) Coloración del abdomen.....	48

Figura 12. PCR amplificado de las seis accesiones de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer mediante el gel de agarosa.	49
Figura 13. Amplificación de las accesiones LYucatan, PYucatan, 1AYucatan y 1ACampeche	50
Figura 14. El análisis filogenético molecular del gen COI de <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer. Método de Máxima Verosimilitud. El árbol de las secuencias consenso Bootstrap se infirió a 1000 repeticiones	51

LISTA DE APENDICES

Anexo 1. Ciclo de vida del barrenador de la guanábana <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer	35
Anexo 2. Etapas del daño ocasionado por <i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer a las estructuras de los botones florales, flores abiertas y semiabiertas durante la época de floración.....	36

¹IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DEL BARRENADOR DE LA GUANÁBANA EN YUCATÁN, MÉXICO

RESUMEN GENERAL

La identificación, caracterización morfológica y molecular del barrenador de la guanábana *Oenomaus ortygnus* es una herramienta que permitirá evitar pérdidas en la producción de guanábana *Annona muricata* L. A nivel nacional e internacional existen pocos trabajos publicados de carácter científico y tecnológico sobre esta plaga, específicamente en las 12 entidades productoras de México. Sin embargo, al no tener un manejo agronómico adecuado en las plantaciones comerciales ya es considerada como plaga primaria. Motivo por el cual el presente estudio inicio en julio 2018 y finalizó en septiembre 2019. Este se desarrolló en dos fases una de campo y laboratorio, la fase de campo se realizó en tres zonas productoras, en la comunidad de Yaaxhon Yucatán, el segundo en el Colegio de Postgraduados ubicado en Sihochac, Champotón, Campeche y finalmente en Aripacara, Brasil y consistió en la descripción del ciclo de vida y daños ocasionados al botón floral. Así mismo, se consideró como unidad total 30 cámaras cría con cuatro larvas cada una, dando un total de 120 larvas y se utilizaron 20 repeticiones por cada zona de producción, cada repetición lo integro un individuo. De acuerdo con los resultados obtenidos se logró describir el ciclo de vida de *Oenomaus ortygnus* Cramer a partir de huevo hasta la etapa adulta a nivel de laboratorio, lo cual comprendió un periodo de 27 a 31 días y el mayor daño se presentó en el estadio tres. En el segundo capítulo trata sobre la caracterización morfológica y molecular del barrenador de la guanábana, el material biológico colectado fue procedente de las tres zonas productoras mencionadas con anterioridad, se registraron fotografías de las principales características morfológicas (larva, pupa y adulto): la larva posee una placa pro torácica de forma romboidal dividida como característica distintiva, la pupa tiene la forma característica de la familia Lycaenidos presentando la cabeza y los apéndices hundidos en la parte ventral, mientras que el adulto macho presenta en el primer par de alas unas androcones de color grisáceo, las alas del adulto macho son más brillantes que las de hembras. Así mismo, para la extracción del ADN se utilizó el método CTAB, posteriormente se amplificó el fragmento final del gen Citocromo Oxidasa I (COI) a 710 pares de bases. La secuencia del producto de PCR que se amplificó del gen COI a través de la extracción de ADNmt de *Oenomaus ortygnus* Cramer. concuerdan con las registradas en el GenBank, 2019, al obtener una similitud del 99% (652 pb) con respecto a la accesión de México y del 97% para la de Perú (639 pb). La

reconstrucción del análisis filogenético permitió agrupar a las accesiones de *Oenomaus ortygnus* Cramer: PYucatan, LYucatan, 1AYucatan, 2AYucatan, 2ACampeche, 3ACampeche con la accesión reportada JX458738 *O. ortygnus* Cramer México, de igual manera la accesión JX458733 *O. ortygnus* Cramer Perú, se ajustaron a las accesiones 1ABrasil y 2ABrasil.

Palabras clave: *Annona muricata*, *Oenomaus ortygnus* Cramer, ciclo de vida, severidad, filogenia

¹ Tesis de Maestría en Ciencias, Posgrado en Protección Vegetal, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: LB. Daniel Eduviges Cituk Chavez
Director de tesis: Dr. Samuel Ramirez Alarcon

²MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE SOURSOP BORER IN YUCATÁN, MEXICO

SUMMARY

The identification, morphological and molecular characterization of the soursop borer *Oenomaus ortygnus* is a tool that will avoid losses in the production of soursop *Annona muricata* L. At national and international level, there are few published scientific and technological works on this pest, specifically in the 12 producing entities of Mexico. However, since it does not have adequate agronomic management in commercial plantations, it is already considered a primary pest. Reason why this study started in July 2018 and ended in September 2019. This comprised two phases, one in the field and the second in the laboratory, the field phase was made in three producing areas, the first in Yaaxhon Yucatan, the second in the Postgraduate College located in Sihochac, Champotón, Campeche and finally in Aripacara, Brazil and consisted of the description of the life cycle and damage caused to the flower bud. Likewise, 30 brood chambers with four larvae each were considered as a total unit, giving a total of 120 larvae and 20 repetitions were used for each production area, each repetition was integrated by an individual. According to the results obtained, it was possible to describe and the life cycle of *Oenomaus ortygnus* Cramer from egg to the adult stage at the laboratory level, which included a period of 27 to 31 days and the greatest damage occurred in stage three. In the second chapter, it deals with the morphological and molecular characterization of the guanabana borer, and the biological material collected was from the three production areas mentioned above, photographs of the main morphological characteristics (larva, pupa and adult) were recorded: the larva has a divided rhomboidal pro thoracic plate as a distinctive feature, the pupa has the characteristic shape of the Lycaenidos family presenting the head and the appendages sunk in the ventral part, while the adult male presents on the first pair of wings a grayish androconeas, adult male wings are brighter than female wings. Likewise, for the extraction of DNA, the CTAB method was used, the final fragment of the Cytochrome Oxidase I (COI) gene was subsequently amplified at 710 base pairs. The sequence of the PCR product that was amplified from the COI gene through the extraction of mtDNA from *Oenomaus ortygnus* Cramer. agree with those registered in GenBank, 2019, when obtaining a similarity of 99% (652 bp) with respect to the accession of Mexico and 97% for that of Peru (639 bp) and the reconstruction of the phylogenetic analysis allowed to group the *Oenomaus ortygnus* Cramer accessions: PYucatan, LYucatan, 1AYucatan, 2AYucatan,

2ACampeche, 3ACampeche with the reported accession JX458738 *O. ortygnus* Cramer México, in the same way the accession JX458733 *O. ortygnus* Cramer Peru, were adjusted to accessions 1ABrasil and 2ABrasil.

Keywords: *Annona muricata*, *Oenomaus ortygnus* Cramer, life cycle, severity, phylogeny

² Master of Science Thesis, Postgraduate in Plant Protection, Department of Agricultural Parasitology, Universidad Autónoma Chapingo
Author: Ing. Agr. Daniel Eduviges Cituk Chavez
Thesis Director: Dr. Samuel Ramírez Alarcón

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México existen más de 14 géneros y 63 especies de anonáceas siendo las más relevantes la chirimoya (*A. cherimolla*), saramuyo (*A. squamosa*), ilama o papausa (*A. diversifolia*), anona colorada o amarilla (*A. reticulata*), chincuya o cabeza de negro (*A. purpurea*) y la guanábana (*Annona muricata*) (Andrés y Andrés, 2011). Donde la guanábana es la especie de mayor importancia por superficie cultivada, rendimiento, consumo per cápita, valor comercial en la agroindustria farmacéutica y cosmética (León, 2000).

México es el líder productor de guanábana a nivel mundial, con un rendimiento de 29,228.46 toneladas al año y un valor comercial de 299 millones de pesos (SIAP, 2019). La producción de guanábana se ubica en 11 entidades productivas siendo de mayor importancia por superficie cultivada y rendimiento: Nayarit, Colima, Veracruz, Michoacán y Guerrero.

Pinzón-García et al. (2016) mencionan que la guanábana (*Annona muricata* L.) es hospedero de más de 30 especies de insectos pertenecientes a diferentes familias como Coleoptera, Hemiptera, Himenoptera y Lepidoptera. En México se tienen registros de los insectos plagas que afectan la floración y limitan la producción como son *Bephratelloides cubensis* Ashmead. (Hymenoptera: Eurytomidae), *Oenomaus ortygnus* Cramer (Lepidoptera: Lycaenidae), *Optatus palmaris* Pascoe (Coleoptera: Curculionidae) y *Cerconota anonella* Sepp. (Lepidoptera: Elachistidae) (Vidal et al. 2014). Las larvas de estos insectos provocan daños severos al destruir los órganos reproductivos de la flor, mesocarpio de fruto y semillas, los cuales utilizan para su alimentación y provocan caída de frutos; además las perforaciones causadas en el pericarpio del fruto por larvas y adultos sirven de entrada a hongos fitopatógenos como es *Colletotrichum* spp, causante de la antracnosis (Ruiz-Montiel et al. 2014). Así mismo, la siembra intensiva y la aplicación de malas prácticas agrícolas generadas para esta especie frutícola causan un desequilibrio ecológico ocasionando que algunas plagas secundarias se conviertan en primarias para

otras anonáceas (Barahona y Jiménez 2012). Una de estas prácticas es el uso indiscriminado de agroquímicos, que en muchos casos eliminan los agentes de regulación natural, que conservan el equilibrio de las poblaciones de insectos plaga. Hoy día el manejo integrado es una alternativa que permite determinar la existencia de insectos plaga y organismos benéficos (polinizadores, parasitoides, depredadores y hongos entomopatógenos) que de forma natural regulan las poblaciones, en zonas aun no perturbadas por el hombre (Artigas, 1994).

Sommer (1982) menciona a *Oenomaus ortygnus* Cramer, *Cerconota anonella*, *Bephratelloides cubensis* Ashmead como las principales plagas que afectan la producción, al igual que la antracnosis disminuyendo la producción y calidad de los frutos. Sin embargo, existe poca información sobre aspectos biológicos del barrenador del fruto *Oenomaus ortygnus*, por lo que el propósito de esta investigación se basó en los siguientes objetivos.

1.1 Objetivo general

- ✓ Identificar morfológica y molecularmente al barrenador del fruto *Oenomaus ortygnus* que afecta a *Annona muricata* L. en Yucatán, México

1.2 Objetivos específicos

- ✓ Describir el ciclo biológico de *Oenomaus ortygnus* mediante la observación sistemática de los diferentes estadios del barrenador del fruto.
- ✓ Identificar la especie del barrenador mediante la comparación de secuencias en el Genbank.
- ✓ Realizar el análisis filogenético mediante la comparación de secuencias para diferenciar posibles poblaciones de la plaga.

1.3 Hipótesis

- ✓ Mediante la caracterización morfológica y molecular de las poblaciones del barrenador del fruto en guanábana, se podrá identificar al menos una especie con caracteres diferentes a las otras especies existentes en Yucatán, México.

Capítulo 2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aspectos generales de la guanábana (*Annona muricata* L.)

La guanábana pertenece al orden de las Magnoliales, uno de los géneros de mayor importancia en las anonáceas (Jiménez et al. 2016). La mayoría de las especies se encuentran en los trópicos cálidos, con algunas excepciones que se ubican en zonas templadas, en gran parte son arbustos o árboles pequeños y unos pocos producen frutos comestibles (Ochse, 1976; Pinto et al. 2005). La familia está integrada por aproximadamente 130 géneros y 3200 especies (Lawrence, 2000). Las cuales 14 géneros y 63 especies de la familia *Annonaceae* se encuentran en México de éstas algunas son de importancia económica: guanábana (*A. muricata*), chirimoya (*A. cherimola*), saramuyo (*A. squamosa*), ilama o papaya (*A. diversifolia*), anona colorada o amarilla (*A. reticulata*) y chincuya o cabeza de negro (*A. purpurea*) (Andrés y Andrés, 2011). De estas seis anonáceas, solamente la chirimoya e ilama se cultivan a nivel huerto familiar con fines comerciales y las otras tres especies se encuentran en la vegetación natural donde se recolectan los frutos para consumo en fresco.

2.2 Biología

La guanábana es un árbol semi caducifolio siempre verde de pequeño porte que alcanza de 4 a 6 m de altura, aunque en sus zonas de origen puede llegar hasta 9 m. Sus hojas son alternas, simples y de color verde oscuro brillante, y menos brillantes en el envés; tienen forma oblonga o elípticas, de 6-20 cm de longitud y 2.5-6 cm de diámetro, las hojas son puntiagudas en el ápice y en la base. Sus flores hermafroditas son solitarias, amarillentas y con pedúnculos cortos; se originan en los tallos maduros y brotes vegetativos del año (Vidal, 1997).

Las plantas florecen todo el año y producen tres veces al año, el fruto es un sincarpio grande de 15 a 20 cm de largo, y cuando se desarrollan todos los carpelos es de forma oblonga, acorazonada, y pueden pesar hasta 4.5 a 6.8 kg. El pericarpio es de color verde-amarillento cuando el fruto está maduro

dependiendo de la variedad y tiene numerosas protuberancias en forma de espinas blandas y dirigidas hacia el ápice. El mesocarpio es blanco, con fibras algodonosas, las semillas son de color café pueden presentar hasta poco más de 200 de acuerdo con la variedad cultivada (León, 2011).

2.3 Fenología

Escobar y Sánchez (1989) mencionan que la planta presenta diferentes estadios de floración, tamaño de frutos y estados de madurez fisiológica tal como se describen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de las principales etapas fenológicas del cultivo de guanábana.

Etapas	Descripción de los procesos fenológicos
Etapas 1	Se presenta un botón floral (yema floral) que puede medir entre 0.6-1 cm de diámetro de color blanquecino.
Etapas 2	El tamaño del botón varía entre 1 y 3 cm de diámetro y su color es verde mate.
Etapas 3	Comprende las fases de desarrollo de la flor en su estado I a V, terminando cuando el estigma está desarrollado y presenta una solución estigmática en su superficie.
Etapas 4	Abarca desde la polinización de la flor en estados V y VI Y termina en el estado de flor desnuda, a la que hemos denominado "Tabaco"
Etapas 5	Es el paso de tabaco al de fruto en erizamiento, que alcanza entre 3 y 4 cm de longitud.
Etapas 6	Se puede denominar la fase de alargamiento del fruto y como su nombre lo indica, allí se alcanza un rápido alargamiento del fruto, sus carpelos están bien unidos y las espinas están turgentes, aunque sus hombros están totalmente lisos.
Etapas 7	Se presentan cambios en los diámetros lateral y frontal del fruto, que se manifiestan por la separación de los carpelos y la disminución de la turgencia de las espinas sobre todo en la parte apical del fruto.
Etapas 8	Estado de madurez fisiológica considerada como aquella en que las semillas al interior del fruto están completamente desarrolladas al interior de cada carpelo. Se manifiesta externamente con la separación de los carpelos del ápice del fruto y la disminución de la turgencia de las espinas.

Fuente: Conte (1982).

En este se indica la distribución de la floración dos épocas del año, siendo la primera en el mes de febrero a mayo y la segunda comprende de octubre a noviembre. Lo anterior coincide con Guzmán (1994) al describir que la floración y fructificación pueden estar presentes durante todo el año sin embargo, se puede observar cuatro épocas de floración, dos se caracterizan por tener la más alta tasa de floración y las otras dos la tasa de floración menor, la primera floración se presenta de junio a septiembre con el índice más alto en julio, mientras que la segunda es a partir de noviembre a febrero con el índice de floración alto entre finales de diciembre y principios de enero. En la Figura 1 se muestra los dos picos máximos de floración y fructificación, los cuales se presentan en el ciclo de verano definiéndose un periodo de cosecha con una menor intensidad durante la temporada invernal, en un mismo árbol se presentan diferentes estados de floración, al igual que fructificación de diferente tamaño y estado de madurez (Casares, 1981).

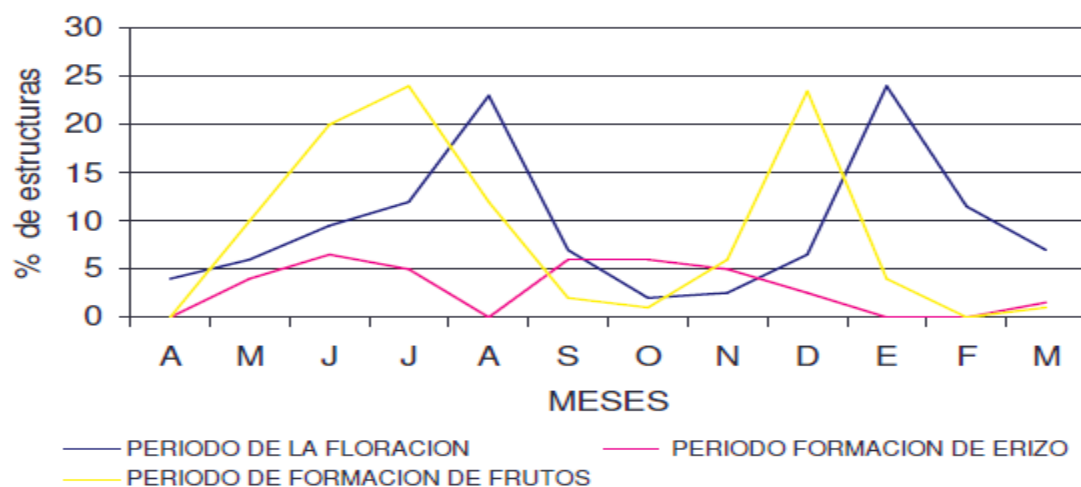


Figura 1. Épocas de floración y formación de estructuras reproductivas del cultivo de guanábana

Por otra parte, en la Figura 2 se describen las etapas de los eventos fenológicos de iniciación y diferenciación floral, crecimiento y desarrollo del botón floral, apertura floral, polinización y fecundación del fruto, crecimiento del fruto y madurez fisiológica del fruto. Así también algunos de los factores que limita la polinización natural a pesar de tener una flor hermafrodita esta especie es la

maduración de los órganos sexuales y la posición de estos los cuales, ante una ineficiente polinización da como resultado frutos deformes y asimétricos, una alternativa de manejo para mejorar la producción es la aplicación de la técnica de autopolinización manual y embolsado del fruto para lograr mejores rendimientos (Nakasone y Paull, 1998).



Figura 2. Fenología de la fase reproductiva del cultivo de guanábana A) Yema floral, B) Botón floral, C) Flor semi abierta, D) Flor fértil, E) Flor polinizada (tabaco), F) Erizamiento, G) Fruto en crecimiento y desarrollo, H) Madurez

2.4 Hábito de crecimiento y desarrollo

El crecimiento del tallo es vertical semi leñoso y leñoso al madurar, la ramificación es densa y la brotación vegetativa es intensa durante la época de verano (Vidal, 1997). El método de propagación vía vegetativa representa una alternativa para reducir el hábito de crecimiento y desarrollo del portainjerto y no de cultivar máximo hasta 5 m. Actualmente la técnica de injertación de enchapado lateral y de púa son los más usuales y demandados en los viveros comerciales la cual considera los siguientes aspectos: selección de los portainjertos, época de injertación, tipo de injerto y selección de varetas maduras lo cual asegura el éxito de una plantación comercial (Cañizares, 1966; Ponce, 2010; Barahona y Jiménez, 2012).

2.5 Importancia

Actualmente existen escasos trabajos de investigación realizados para la identificación, caracterización morfológica y molecular de los principales insectos que limitan la producción y comercialización a nivel mundial como es el barrenador del fruto, en México está presente esta plaga en las anonáceas, aunado a lo descrito con anterioridad en México existen otras plagas de importancia económica como es la cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus* Green Hemiptera: Pseudococcidae), el picudo de las anonáceas (*Optatus palmaris* Pascoe Coleoptera: Curculionidae) barrenadores de la semilla (*Bephratelloides maculicollis* Cameron y *B. cubensis* Ashmead Hymenoptera: Eurytomidae) y (*Euphoria leucographa* Gory y Percheron Coleoptera: Melolonthidae) (Coto y Saunders, 2001; Hernández et al. 2013, 2015, Cambero et al. 2017).

De igual manera Castañeda (2000) coincide con lo mencionado por Saunders, (2001) que uno de los principales problemas que enfrenta el cultivo de la guanábana se relaciona con aspectos fitosanitarios tales como el complejo de insectos barrenadores que afectan las flores y frutos. Por otra parte, las enfermedades están presentes debido a los daños ocasionados dando entrada a

hongos presentando diversas enfermedades importantes que pueden generar pérdidas de hasta el 100 % (Agrios, 2005).

Motivo por el cual las anonáceas se cultivan principalmente a nivel huerto familiar, es decir a traspatio, desaprovechando su alto potencial económico como frutales alternativos en el sur-sureste de México (Castañeda, 2000). Siendo principalmente la chirimoya, saramuyo, atemoya y guanábana las que poseen el mayor potencial y oportunidad para exportación como fruta de mesa o pulpa congelada en países de toda América, Asia y Australia (Peña et al. 2002; Pinto, 2005). Sin embargo, la guanábana es la especie de *Annona* de mayor cultivo a nivel comercial en la agroindustria y aprovechamiento farmacéutico en México (León, 2000).

2.6 Usos

Existe una mayor diversidad de compuestos químicos que se han extraído de las semillas, entre ellos se encuentran los flavonoides, alcaloides y acetogeninas; se cree que las acetogeninas tienen propiedades anticancerígenas donde actualmente se han obtenido amplia variedad de productos y están disponibles para el tratamiento del cáncer (I.C.U.C., 2002). Los flavonoides y alcaloides contenidos en la corteza, semilla y hojas de varias especies de la familia *Annonaceae* han demostrado propiedades como insecticidas y antibacterianas, y se han utilizado para los tratamientos médicos (I.C.U.C., 2002).

El valor económico está relacionado principalmente por el uso alimenticio ya que son frutas de pulpa dulce o agri dulce y de alto valor nutritivo, además de ser muy atractivos y exóticos. Son fuentes importantes de carbohidratos, minerales y vitaminas, particularmente la guanábana es uno de los frutos cultivados con la mayor superficie en México y sus propiedades nutricionales se caracterizan por la aportación de calorías, carbohidratos, fibra, grasa, proteína, ácido ascórbico, calcio, fósforo, hierro y vitaminas, según estudios realizados de la pulpa sobre el contenido nutricional (Badrie y Schauss, 2010). También se puede medir la importancia económica por su aplicación medicinal, como bioplaguicidas,

bioinsecticidas, antiparasitaria, antibacteriales, antimicótica, antioxidantes, antitumoral, ornamental, extracción de esencias y aceites (González-Esquinca et al. 2011, Coria-Téllez et al. 2016, Laguna-Hernández et al. 2017).

2.7 Distribución mundial

La guanábana *Annona muricata* L. es el frutal mayormente establecido de las especies de *Annona*, se considera que la región del Caribe, comprende principalmente: (Bermudas, Bahamas, Cuba, República Dominicana, St. Vincent, Granada) y como centros de origen Centroamérica (sur de México, Costa Rica), Suramérica (Colombia, Venezuela, Brasil); aunque se encuentra distribuido en el sureste de África y Asia, así también en Vietnam, Australia, Nueva Zelanda, y en las islas del Pacífico, entre otros. (Vidal y Nieto, 1997).

2.7.1 Producción mundial

La producción a nivel mundial lo comprenden 17 países los que destacan como productores de especies frutícolas, encontrándose entre ellos México, Brasil (15 mil has) Colombia (4,772 mil has), Venezuela (2,174 mil has) y Costa Rica (500 has), entre otros países tienen sus principales mercados de consumo en Argentina, Estados Unidos de Norteamérica, Francia, Alemania y Japón. Sin embargo, es importante señalar que hace falta realizar una actualización de las superficies cultivadas y rendimiento por planta. La principal fruta comercializada es la guanábana los frutos son una importante fuente de divisas ya que 32,000 toneladas anuales son exportadas a Estados Unidos de América (Vidal-Lezama et al. 2015).

2.7.2 Distribución nacional

La distribución del guanábano está limitado a las regiones tropicales y en climas cálidos con buen temporal de lluvias. En México, se adapta a altitudes desde el nivel del mar hasta los 1000 metros, aunque se han observado árboles con producción de frutos en traspatio en lugares de mayor altura (1300 msnm), por lo

que se hace necesario evaluar su adaptación y rentabilidad como cultivo en estas condiciones. En el Cuadro 2 se muestran las principales características edafoclimáticas que necesitan las plantas de guanábana para su establecimiento. En el interior de la República se distribuye en áreas de clima cálido en zonas costeras de Veracruz, Tabasco, Quintana Roo, Nayarit, Colima, Michoacán, Oaxaca, Guerrero, Yucatán y Chiapas, estados con mayor potencial que el que actualmente cultivan (Hernández et al. 2013).

Cuadro 2. Factores climáticos para *Annona muricata* L. en México

Altitud	0-1000 msnm
Temperatura promedio	20 - 30° C
Precipitación	1300 a 1500 mm distribuidos durante el año
Humedad relativa	60 y 80 %
Luminosidad	45 % de luz natural, 2000 horas luz/año
Suelo,	Textura media, suelos francos y bien drenados
pH	6.5 - 7.5

2.7.3 Producción nacional

México es el principal productor de guanábana en el mundo, de acuerdo con los datos estadísticos tiene una producción anual de 29,228.46 mil toneladas al año con un valor comercial de 299,956.32 millones de pesos (SIAP,2019). El cultivo de este frutal tiene un crecimiento constante y en los últimos diez años se muestra el incremento de 1,949.9 has en el 2009 a 3,693.1 has en el 2018, con un incremento neto de 1,743.2 ha en total y 94.7 ha por año. El aumento más importante se observa en el valor de la producción al pasar de 82 millones de pesos a 299.9 millones de pesos en los últimos nueve años (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comportamiento del cultivo de guanábana en México 2009-2018

Año	Superficie plantada (ha)	Superficie Cosechada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (kg/ha)	Valor producción (miles de pesos)
2009	1,949.9	1,929.40	17,419.4	9,000.0	82,061.6
2010	2,340.7	2,230.70	17,796.2	8,000.0	79,634.1
2011	2,400.6	2,333.55	20,050.2	8,600.0	88,117.2
2012	2,720.1	2,382.05	19,527.1	8,200.0	88,239.4
2013	2,723.4	2,311.36	19,841.3	8,600.0	104,090.7
2014	2,886.0	2,379.36	20,760.3	8,700.0	143,623.2
2015	2,964.1	2,433.74	16,620.9	6,800.0	102,562.6
2016	2,975.9	2,539.87	23,715.9	9,340.0	159,856.6
2017	3,527.43	2,884.74	28,853.66	10,000.0	246,163.49
2018	3,693.19	2,979.44	29,228.46	9.81	299,956.32

Fuente: SIAP (2019)

2.8 Plagas en la guanábana

El termino plaga se aplica a los insectos cuando origina un problema de competencia con el hombre; se considera nociva o destructiva de acuerdo a diversos factores como el umbral económico como la densidad a la que se debe aplicar medidas de control con el fin de evitar el aumento en la población de la plaga, impidiendo así que llegue al nivel de daño económico. La población de los insectos durante un período prolongado, sin que se modifique por los efectos del control de plagas; así mismo se define como nivel de daño económico como el nivel en el cual el daño ya no es tolerable, o aquella densidad más crítica en la que las pérdidas causadas por la plaga igualan al valor de los gastos por las medidas de control que se disponen. Por medio de esta medida se determina si un insecto puede ser considerado plaga (Metcalf y Luckmann, 1990).

En el Cuadro 4. Se describen algunas características generales de las principales plagas que afectan al cultivo en México.

Cuadro 4. Principales plagas de *Annona muricata* L. Reportadas en México

Orden	Familia	Especie
Coleoptera	Curculionidae	<i>Optatus palmaris</i> Pascoe
	Curculionidae	<i>Cratosomus</i> sp
Hymenoptera	Eurytomidae	<i>Bephratelloides cubensis</i> Ashmead
	Formicidae	<i>Atta</i> sp
Hemiptera	Coccidae	<i>Saissetia</i> sp
	Pseudococcidae	<i>Planococcus citri</i> Risso
	Tingidae	<i>Corythucha gossypii</i> Fabricius
	Diaspididae	<i>Unaspis citri</i> Comstock
	Aphididae	<i>Toxoptera aurantii</i> Boyer
	Aphididae	<i>Myzus persicae</i> Sulzer
Lepidoptera	Oecophoridae	<i>Cerconota anonella</i> Sepp
	Lycaenidae	<i>Oenomaus ortygnus</i> Cramer

2.9 Distribución de *Oenomaus ortygnus* Cramer

La familia Lycaenidae tiene una distribución mundial de las larvas en algunos grupos presentando hábitos poco comunes en las mariposas como la mimercofilia o la dieta no enteramente fitófaga (Pierce et al. 2002, Heath 2003) en los trópicos Lycaenidae es representada por tres subfamilias Lycaenidae, Polyommatainae y Theclinae, con alrededor de 1200 especies(Lamas, 2004, Robbins, 2005) en tanto, el conocimiento de sobre los estadios inmaduros, plantas hospederas y la biología de estas especies toda vía es poco estudiada (Duarte y Robbins, 2009, Kaminsky y Freitas, 2010). La gran parte de especificación de la dieta de los insectos herbívoros en ambientes tropicales y templados, trópicos centrales nos da una discusión sobre los factores que explican la hiperdiversidad de insectos tropicales. Los lycaenidos fitófagos tienden a presentar una dieta más amplia especialmente en los trópicos, (Lewinsohn y Roslin, 2008). Muchas de estas especies tropicales se alimentan

de, botones florales y flores tal es el caso de *Oenomaus ortygnus* Cramer plaga de importancia en cultivos semi comerciales y comerciales en guanábana en México.

La distribución de esta plaga se ha extendido en estos últimos años en diferentes estados del país tal como mencionan Godman y Salvin (1887-1901), Kendall (1975), Raguso y Llorente-Bousquets (1990) y Opler et al (2010). En el informe de GBIF, 2020. Se puede observar la distribución de la plaga desde 1990 hasta el 2019 abarcando diferentes zonas desde el Golfo de México, Pacífico y el Mar Caribe Figura 3.



Figura 3. Distribución de *Oenomaus ortygnus* Cramer (GBIF,2020).

El género *Oenomaus* se encuentra registrada en colecciones en diferentes países como Estados Unidos, México, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, la Guayana Francesa, Surinam, Guyana, Trinidad, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Brasil. La especie *O. ortygnus* es una plaga que afecta a *Annona muricata*, *Annona diversifolia* y *Annona reticulata*. Esta plaga

representa daños severos en el botón floral, flor y fruto permitiendo la entrada de otros microorganismos patógenos los cuales son algunos factores limitantes en la producción de estas tres anonáceas (Beccaloni et al 2008).

2.9.1 Taxonomía

De acuerdo con Faynel et al. (2012) y GBIF (2020). Las posiciones taxonómicas están divididas de la siguiente manera **Reino:** Animalia, **Filo:** Arthropoda **Subfilo:** Hexapoda, **Clase:** Insecta, **Subclase:** Pyterigota, **Orden:** Lepidoptera, **Superfamilia:** Papilionidae, **Familia:** Lycaenidae, **Subfamilia:** Theclinae, **Tribu:** Eumaeini, **Subtribu:** Eumaeina, **Género:** *Oenomaus*, **Especie:** *Oenomaus ortygnus* Cramer

2.9.2 Descripción y daños ocasionados por las plagas

Cerconota anonella (Lepidoptera: Oecophoridae) las hembras ovipositan en la epidermis del fruto y al emerger la larva se alimenta de la corteza, posteriormente se introduce, y se alimenta de las semillas construyendo galerías dentro del fruto que sirven de entrada a diversos patógenos (Castañeda, 2000, Hernández, 2011).

Bephratelloides cubensis Ashmead es considerada la plaga más destructiva (Castañeda et al. 2010). Las larvas son las que ocasionan el daño principal al alimentarse del endospermo de la semilla de los frutos en desarrollo, posteriormente realizan su ciclo de vida dentro de la semilla cuando emergen los adultos forman galerías a través de la pulpa dejando un orificio de salida de aproximadamente 1 a 2 mm de diámetro (Hernández et al. 2010) estos orificios permiten la entrada de patógenos al interior del fruto lo que provoca la pudrición y la calidad del fruto (Nadel y Peña, 1991).

Oenomaus ortygnus Cramer (Lepidoptera: Lycaenidae) la larva de esta plaga se alimenta de los botones florales impidiendo la polinización y el amarre del fruto así también puede alimentarse de varias especies de *Annona* (Coto y Saunders 2001) y (Castañeda-Vildozola et al. 2011).

2.10 LITERATURA CITADA

- Agrios, G. (2005). Plant Pathology. 5ed. Nueva York. Elsevier Academic Press. 922 p.
- Andrés, A. J. y L. Andrés H. (2011). Biología, Diversidad y uso sostenible de los recursos genéticos de Annonaceae en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 141 p.
- Artigas, J. N. (1994). Entomología Económica. Vol. 1, Edit. ANIBAL PINTO S.A. Concepción. Chile. P. 891-892, 987-988, 888-889, 965-966, 153-154, 453-454, 817-818
- Barahona, C. M y Jiménez H. S. (2012). Estudios preliminares para la obtención de método comercial de propagación vegetativa de la guanábana *Annona muricata*. Universidad Nacional "Campus Omar Dengo", Heredia, costa rica. P.20-29
- Badrie, N., y Schauss, A. G. (2010). Soursop (*Annona muricata* L.): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses, and Toxicology. En: Ronald Ross Watson y Victor R. Preedy (Eds), Bioactive Foods in Promoting Health. Oxford: Academic Press (Editorial). pp. 621-643.
- Beccaloni GW, Vilorio AL, Hall SK, Robinson GS (2008). Catalogue of the hostplants of the neotropical butterflies. Catálogo de las plantas huésped de las mariposas neotropicales. Zaragoza, Sociedad Entomológica Aragonesa vol. 8, 536p.
- Boscán, N.; F. Godoy (2004). «Principales insectos plagas de las anonáceas en Venezuela», INIA Divulga 1: 63-70,
- Cañizares, Z. (1966). Las Frutas Anonáceas. Ediciones Fruti/Cuba 66. La Habana, Cuba. 63 p.
- Casares M.R. (1981). Fenología de la guanábana. En: seminario nacional de fruticultura. Valencia, sociedad venezolana de ingenieros agrónomos pp. 38-39.
- Castañeda, A (2000). Insectos Barrenadores de Anonáceas. Fundación salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C. Coatepec Harinas, México. 42 p.
- Castañeda- Vildozola, A., C. Nava-Díaz. Duarte, O. Franco-Mora and L.M. Hernandez-fuentes. (2011). New host plant records for *Oenomaus ortygnus* (Cramer) Lepidoptera: Lycaenidae) in Mexico. Neotrop. Entomol. 40(4): 512-514.
- Castañeda Vildózola, A.; C. Nava Díaz; J. Valdez Carrascl; C. Ruiz Montiel; L. Vidal Hernández; S. Barrios Matías (2010). «Distribution and Host Range of *Bephratelloides cubensis* Ashmead (Hymenoptera:Eurytomidae) in Mexico», *Neotrop. entomol.* 39 (6):1053-1055.
- Coto, D. A. y J. L. Saunders. (2001). Insectos plaga de la guanábana (*Annona muricata*) en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas 61:60-68.

- Conte, A. (1982). Aspectos Fenológico- Ecológicos de productividad de *Graviola Annona muricata* L. Na Regia da Manaus, Acta Amazonica, Brazil. Vol. 1 No. 1
- Coria-Téllez, A. V., Montalvo-González, E., Yahia, E. M. y Obledo-Vázquez, E. N. (2016). *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. Arabian Journal of Chemistry In press: doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.01.004
- Duarte, M. & Robbins, R.K. (2009). Immature stages of *Calycopis bellera* (Hewitson) and *C. janeirica* (Felder) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini):
- Escobar T. W. y Sánchez, L (1989). Manual de asistencia técnica No. 51. Fruticultura Colombiana, guanábano, ICA, Bogota, Colombia. 100.p
- Faynel C, Busby R C, Robbins R K (2012). Review of the species level taxonomy of the neotropical butterfly genus *Oenomaus* (Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini). Plazi.org taxonomic treatments database. Checklist dataset <https://doi.org/10.3897/zookeys.222.3375> accessed via GBIF.org on 2020-05-01.
- GBIF, (2020). TAXREF, *Oenomaus ortygus* (Cramer, 1779) in Gargominy O Version 4.6. UMS PatriNat (OFB-CNRS-MNHN), Paris. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/vqueam> accessed via GBIF.org on 2020-05-01.
- Godman FD, Salvin O (1887-1901) Biologia Centrali-Americana. Insecta. Lepidoptera-Rhopalocera. Fam. Lycaenidae 2: 1-112.
- González-Esquínca, A. R., Luna-Cazárez, L.M., Gutiérrez-Jiménez, J., Schlie-Guzmán, M.A. y Vidal-López, D.G (2011). Anonáceas: Plantas antiguas, Estudios recientes, Parte 2. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. pp. 234-256.
- Guzmán, F. (1994). Polinización artificial del guanábano. En Gallego, R (ed) Frutas Tropicales. Colombia. 127 134 pp.
- Heath A. (2003). Ant-association among Southern African Lycaenidae. Journal of the Lepidopterists" Society 57(1): 1-16.
- Hernández F. L. M., M. A. Urias L. y N. Bautista M. (2010). Biología y Hábitos del Barrenador de la Semilla *Bephratelloides cubensis* Ashmead Hymenoptera: Eurytomidae). Neotropical Entomology 39 (4):527-534.
- I.C.U.C. 2002. Fruits for the Future. University of Southampton Department for International Development, International Centre for Underutilized Crops. Actsheet No.5.
- Hernández FLM, Gómez JR, Andrés AJ. (2013). Importancia, plagas insectiles y enfermedades fungosas del cultivo de guanábano. Libro técnico núm. 1. Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.

- Hernández FLM, Valdéz CJM, Urías LMA, Gómez JR. (2015). Identificación y fluctuación poblacional de *Godonta pyrgo* (Lepidoptera: Noctuidae) en *Annona muricata*. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 6: 1001–1012.
- Jiménez, Z. J., Balois, M. R., Alia, T. I., Juárez, L. P., Sumaya, M. M. and Bello, L. J. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 7(6): 1261- 1270.
- Kaminski, L.A. & Freitas, A.V.L. (2010). Natural history and morphology of immature stages of the butterfly *Allosmaitia strophius* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) on flower buds of Malpighiaceae. Studies on Neotropical Fauna and Environment 45: 11-19.
- Laborem G., Figueroa M. y Rangel L. (2003). Exportación de nutrientes por una cosecha de guanábana (*Annona Muricata* L.). Agronomía Tropical. p. 1-6.
- Laguna-Hernández G., Brechú-Franco A.E., De la Cruz-Chacón I., González-Esquinca A.R. (2017). A Histochemical Technique for the Detection of Annonaceous Acetogenins. En: Pellicciari C., Biggiogera M. (Eds) Histochemistry of Single Molecules. Methods in Molecular Biology, Humana Press, New York, NY. vol 1560, pp. 331-338.
- Lamas,G. (2004). Lycaenidae. POLyommatainae. in: Lamas G, editor. Checklist: Part 4^a. Hesperioidea- Papilionoidea. p. 138-140. In J.B. Heppner (ed.). Atlas of Neotropical Lepidoptera. Volume 5^a. Gainesville, Association for tropical Lepidoptera 439p.
- Leal, F.J. (2009). Notas sobre la guanábana (*Annona muricata* L.) en Venezuela. Proc Trop. Reg. Amer. Soc. Hort. Sci. 14:118-121
- León, J., (2000). Botánica de Los Cultivos Tropicales. Editorial IICA. San José, Costa Rica. 445 p
- León, J. (2011) Botánica de cultivos tropicales. San José, costa rica. IICA 424-430pp
- Lewinsohn, T.M. & Roslin, T. (2008). Four ways towards tropical herbivore megadiversity. Ecology Letters 11: 398-416.
- Metcalf, R. L. y W. H. Luckman. 1990. Introducción al manejo de plagas de insectos. Pp.913
- Nadel, H. and J. E. Peña. 1991 Host of *Bephratelloides cubensis* (Hymenoptera: Eurytomidae) in Florida. Florida Entomology. 74: 476-479.
- Nakasone H.Y.; R.E. Paul. 1998. Annonas. In. Nakasone H.Y. & Paull R.E. (Eds). Tropical fruits. CAB International. UK. pp. 45-75.
- Ochse J. J. M.J, Soule, M. J.Dijkman y C. Wehlburs.1976. Cultivo y Mejoramiento de plantas tropicales y Subtropicales, Mexico. Vol. 828 p.
- Opler PA, Lotts K, Naberhaus J (2010) Mariposas y polillas de América del Norte. (<http://butterfliesandmoths.org>).

- Peña, J. E., H. Nadel, M. Barbosa-Pereira & D. Smith. (2002). Pollinators and pests of *Annona* species. Pp. 197-222, en *Tropical fruit pests and Pollinators. Biology, economic importance, natural enemies and control* (J. E. Peña, ed.). CABI International Publishing, Wallingford, UK.
- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA. (2002). The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annual Review Entomology*. 47:733–71.
- Pinzón-García, J.M., Hernández-Fuentes, L.M., Luna-Esquivel, G., Isiordia-Aquino, N. y Ortiz-Catón, M. (2016). Biología y Hábitos de *Gonodonta pyrgo* Cramer en *Annona muricata*. *Southwestern Entomologist*, 41(1), 251-258.
- Pinto, A.C.Q., Cordeiro, M.C.R., Andrade, S.R.M, Ferreira, F.H., Filgueiras, H.A.C., Alves, R.E. y Kimpara, D.J. (2005). *Annona* species. Fruits for the future, 5. International Centre for Underutilised Crops. University of Southampton. UK. 263 pp
- Ponce, H. J. M. (2010). Multiplicación por injerto de la guanábana *Annona muricata* L. tesis ing. Agron. Escuela Nacional de Agricultura Chapingo, Mexico 66p.
- Raguso RA, Llorente-Bousquets JE (1990) The butterflies (Lepidoptera) of the Tuxtla Mts., Veracruz, Mexico, revisited: Species-richness and habitat disturbance. *J Res Lepid* 29: 105-133.
- Robbins, R.K. (2004a). Introduction to the checklist of Eumaeini (Lycaenidae). In: Lamas G, editor. Checklist: Part 4A. Hesperioidea - Papilionoidea. p. xxiv–xxx. In: J.B. Heppner (ed.). *Atlas of Neotropical Lepidoptera*. Volume 5A. Association for Tropical Lepidoptera, Gainesville 439p.
- Ruiz-Montiel, C., P. I. Domínguez-Espinosa, R. Flores-Peredo & C. P. Illescas-Riquelme. (2014). Insectos Asociados al Guanábano (*Annona muricata* L.) en Veracruz, México Insects Associated with Soursop (*Annona muricata* L.) in Veracruz, México. *Southwestern Entomologist*, 39: 367-37
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2018). Consultado el 28-09-2019. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>.
- Sommer, N. F. (1982). Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. *Plant Dis*. 66:357–364
- Vidal, H. L. y D. Nieto. (1997). Diagnóstico técnico y comercial de la guanábana en México. P.1-18. In: Memoria del I Congreso Internacional de Anonáceas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Vidal-Hernández, L., López-Moctezuma, H., Vidal-Martínez, N.A., Ruiz-Bello, R., Castillo-Rocha, D.G. y Chiquito-Contreras, R.G. (2014). La situación de las annonaceae en México: Principales plagas, enfermedades y su control. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 44-54.

Capítulo 3. CICLO DE VIDA Y DAÑOS OCASIONADOS POR EL BARRENADOR DEL FRUTO DE GUANÁBANA *Annona muricata* L. EN YUCÁTAN

RESUMEN

En México el cultivo de guanábana a nivel huerto familiar, semi comercial y en plantaciones intensivas es afectado en su producción por tres plagas de diferente género y especie como es *Cerconota anonella*, *B. cubensis* y *Oenomaus ortygnus* Cramer. Actualmente las 12 entidades productivas como son: Nayarit, Colima Tamaulipas, Michoacán, Puebla, Jalisco, Veracruz, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Campeche Yucatán y otros 17 países destacando la región del Caribe, Centroamérica y Sudamérica presentan daños en floración, baja producción y pérdidas económicas aun no cuantificadas. El material biológico colectado fue procedente de tres zonas de producción siendo la primera en Yaaxhon comisaria del municipio de Oxkutzcab, Yucatán, la segunda en el Colegio de Postgraduados Campus Campeche y la tercera en el Municipio de Arapiraca, Alagoas, Brasil, el estudio fue dividido en dos fases: fase de campo y laboratorio, para la fase de campo consistió en realizar un muestreo dirigido a 100 botones florales y 100 flores abiertas en forma zig zag con signos de infestación para la obtención de huevos y larvas, posteriormente estas fueron colocadas en cámaras de cría, para contabilizar el número de días para cada estado de desarrollo (huevo, larva, pupa y adulto) considerando 30 cámaras de cría con cuatro larvas respectivamente, siendo un total de 120 larvas en estudio. El resultado determinó que el ciclo de vida de *Oenomaus ortygnus* Cramer fue aproximadamente de 27 ± 31 días confirmando la existencia del dimorfismo sexual y otras características morfológicas aun no reportadas como la presencia de androconeas en el primer par de alas anteriores en los machos y la ausencia de estos en las hembras. Por otra parte, el principal daño ocasionado por la larva se registró en el instar III al alimentarse de las estructuras internas en la flor abierta.

Palabras clave: Guanábana, *Oenomaus ortygnus* Cramer, Ciclo de vida, Daños.

LYFE CICLE AND DAMAGE CAUSED BY THE SOURSOP FRUIT BORER *Annona muricata* L. IN YUCATAN

SUMMARY

In Mexico, the cultivation of soursop at the family, semi-commercial, and intensive plantation level is affected in its production by three pests of different genus and species, such as *Cerconota anonella*, *B. cubensis* and *Oenomaus ortygnus* Cramer. Currently the 12 productive entities such as: Nayarit, Colima Tamaulipas, Michoacán, Puebla, Jalisco, Veracruz, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Campeche Yucatán and 17 other countries, highlighting the Caribbean region, Central America and South America, show damage in flowering, low production and economic losses not yet quantified. The biological material collected was from three production zones, the first in Yaaxhon being the curator of the municipality of Oxkutzcab, Yucatán, the second in the Colegio de Postgraduados Campus Campeche and the third in the Municipality of Arapiraca, Alagoas, Brazil, The study was divided into two phases: field and laboratory phase. For the field phase, it consisted of carrying out a sampling aimed at 100 flower buds and 100 open flowers in zig zag shape with signs of infestation to obtain eggs and larvae. These were placed in brood chambers, to count the number of days for each stage of development (egg, larva, pupa, and adult) considering 30 brood chambers with four larvae respectively, for a total of 120 larvae under study. The result determined that the life cycle of *Oenomaus ortygnus* Cramer was approximately 27 ± 31 days confirming the existence of sexual dimorphism and other morphological features not yet reported, such as the presence of androconeas in the first pair of anterior wings in males and the absence of these in females. On the other hand, the main damage caused by the larva was recorded in instar III by feeding on the internal structures in the open flower.

Keywords: Soursop, *Oenomaus ortygnus* Cramer, Life Cycle, Damage.

3.1 INTRODUCCIÓN

3.1.1 Importancia y distribución

La familia Lycaenidae comprende aproximadamente 5,200 especies distribuidas a nivel mundial de las cuales algunas especies aun no estudiadas limitan la producción de guanábana (Lamas, 2008). Estas a su vez se dividen en seis subfamilias: Curetinae, Poritiinae, Miletinae, Lycaenidae, Polyommatainae, Theclinae (Lamas, 2006). Esta especie es única del género *Oenomaus*. Así también la taxonomía y el ciclo de vida de la familia Lycaenidae ha sido poco estudiada en el Neotrópico. La especie *Oenomaus ortygnus* es una mariposa pequeña que se encuentra y se ubica en diferentes hábitats siendo desde el sur de Texas en América Central hasta el sur de Brasil (Godman y Salvin 1887-1901, Fennah, 1937, Coto y Saunders 2001, Faynel 2006).

Por otra parte, Lewis (1975) identifica a *Oenomaus ortygnus* (Cramer) como mariposas de hábitos diurnos que predominan durante la época de floración, lo cual ocurre a partir de julio a septiembre y diciembre a febrero con una disminución gradual durante los meses de marzo, abril mayo y junio. La mayor cantidad de esta plaga se observa en los dos picos más altos de floración. Sin embargo, Opler et al. (2010) mencionan que la mayor o menor cantidad de *Oenomaus ortygnus* es variable su presencia durante el ciclo de producción en México y es el único género, que se encuentra en hábitats altamente perturbados.

En México esta plaga afecta los botones florales, flores abiertas y frutos en *Annona muricata* en los estados de Tamaulipas, Michoacán, Jalisco, Veracruz, Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Yucatán. Por otra parte, Castañeda et al. (2011). menciona el complejo de las tres plagas de anonáceas que afectan la producción como es *Cerconota anonella*, *B. cubensis* y *Oenomaus ortygnus* están presentes en países tales como Costa Rica, Guatemala, Panamá, Trinidad y Tobago y Brasil (Coto y Saunders, 2001).

El objetivo general del presente trabajo de investigación fue determinar el ciclo biológico y daños ocasionados por *Oenomaus ortygnus* Cramer en guanábana *Annona muricata* L. en tres zonas productoras.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Localización del área de estudio

El presente trabajo de investigación consistió de dos fases: La primera fase se realizó en tres zonas productoras y el primer muestreo fue el día 23 de julio 2018 en la zona productora en Yaaxhon comisaria de Oxkutzcab, Yucatán, México, ubicada en las siguientes coordenadas geográficas: 20° 15' 5.5379" N, 89° 28' 49.2956" W a una altitud es de 33 metros sobre el nivel del mar (msnm). El clima en toda la región es cálido-subhúmedo, presenta una temperatura media anual de 26.3°C. mientras que el segundo muestreo fue el 18 diciembre de 2018 en una plantación de guanábana establecida en altas densidades la plantación se encuentra ubicada en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Campeche en el kilómetro 17.5, de la Carretera Federal Haltunchen- Edzná, de la localidad de Sihochac, de Champotón Campeche sus coordenadas geográficas son 19° 29' 54.6004" N 90° 32' 58.9776 W a una altitud de 20 metros sobre el nivel del mar (msnm) y Finalmente el tercer muestreo fue el 13 de septiembre 2019 en Arapiraca, Alagoas, Brasil y sus coordenadas geográficas son 9° 47' 55.1544" S, 36° 36' 6.6841W a una altitud de 264 metros sobre el nivel del mar (msnm). Posteriormente los muestreos consistieron en colectar el material biológico de manera directa en los botones florales. Esta actividad se realizó de 10 am a 15 pm considerando la parte baja (tallo) e intermedia (ramas laterales maduras) de la planta dónde se concentra la mayor homogeneidad y cantidad de botones florales, siendo esta la única especie que florece y fructifica en los tallos maduros.

En la fase laboratorio el material biológico colectado proveniente de dos zonas de producción fueron trasladados en el laboratorio de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. de México. Mientras que el material colectado en una zona productora de Brasil fue trasladado en el Laboratorio de Pesquisa em Recursos Naturales (LPqRN) Instituto de Química y Biotecnología, Universidad Federal de Alagoas UFAL. En esta fase se utilizaron 40 larvas por zona de producción, es decir 120 larvas en total con la finalidad de describir su ciclo biológico. Estas larvas fueron colocadas a una temperatura de $27^{\circ} \pm 30^{\circ}\text{C}$. para completar su crecimiento y desarrollo. Posteriormente fue necesario la separación de machos y hembras para la identificación morfológica

3.2.2 Tercera fase (Captura de imagen)

La captura de imagen se efectuó en el Laboratorio de Microscopia ubicado en el Centro de Ciencias Agrarias CECA/UFAL y con ayuda de un microscopio trilocular estereoscópico Modelo OPZTS con cámara digital integrada y graduada a un campo de 2x a 3x.

3.2.3 Descripción del ciclo biológico

Para describir el ciclo biológico del barrenador del fruto en guanábana, se realizó un muestreo dirigido a 100 botones florales y 100 flores abiertas en forma zig zag con síntomas de infestación y consistió en la descripción morfológica del ciclo biológico, periodo de incubación larval, periodo pupal, emergencia de los adultos y daños ocasionados del botón floral.

3.2.4 Periodo de incubación larval

En este periodo de incubación las larvas fueron alimentadas para determinar la duración del estadio larval, posteriormente se colocaron cuatro larvas y cuatro botones florales por cada cámara de cría con el objetivo de obtener el registro de cada instar larval. En este periodo se observaron los cinco instares y la alimentación de las larvas consistía en utilizar botones florales recién colectados, estos a su vez se reemplazaban cada tercer día. Así mismo, las cámaras de cría se lavaban y desinfectaban con la finalidad de evitar la contaminación de esporas de hongos u otros microorganismos. Estas condiciones permitieron a la larva alcanzar su máximo desarrollo para entrar en un corto periodo de pre-pupa y realizar su última muda para convertirse en pupa.

3.2.5 Periodo pupal

Se observó cuando las larvas iniciaban su estado de reposo denominado prepupa, las pupas obtenidas fueron acondicionadas con sanitas en las cámaras de crías para suministrar, conservar la humedad adecuada y esto permitio evitar deformaciones y cuantificar el número de días de emergencia del adulto, posteriormente se procedió a realizar el sexado a cada pupa utilizando la clave taxonómica de Maddox, (1969). Se observó en el microscopio estereoscópico la abertura genital de la hembra la cual se divide completamente en el octavo segmento extendiéndose desde el margen caudal del séptimo segmento hasta la parte final del margen caudal del octavo segmento pero sin dividir el noveno, en el macho la abertura genital se encuentra localizada en el noveno segmento abdominal mostrando una línea ventral y en cada lado tiene pequeños abultamientos esta característica hace que la abertura genital y la abertura anal se encuentre en mayor proximidad en el macho que en la hembra. En el octavo segmento se puede observar con mayor facilidad por la presencia del último espiráculo posteriormente fueron colocadas en cámaras de crías previamente etiquetadas indicando la fecha del sexado. Esta actividad fue observada cada 24

hrs. con la finalidad de registrar el periodo pupal y el tiempo transcurrido entre la aparición de la primera pupa hasta la emergencia del ultimo adulto.

3.2.6 Emergencia de los adultos

Se colocaron en las cámaras de cría cuatro pupas machos y hembras previamente identificadas para determinar el número de días y finalización de la fase adulta del insecto, su alimentación inicial de los adultos fue basada con miel de abeja aplicando una dosis de tres gotas alrededor del margen superior del contenedor de las cámaras de cría durante su ciclo de vida.

3.2.7 Daños ocasionados al botón floral

Consistió en evaluar 100 árboles en etapa de floración y se obtuvo una muestra total de 200 botones florales con síntomas de daño para cuantificar el número de huevos por flor para estas dos zonas de producción en México. Sin embargo, en septiembre 2019 se realizó un tercer muestreo en una zona productora en Arapiraca, Alagoas, Brasil siguiendo la misma metodología aplicada en México.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Ciclo de vida del barrenador de la guanábana

El ciclo de vida del barrenador de la guanábana inicia con la oviposición diurna en las diferentes estructuras florales como son: pedicelos, pedúnculo floral, receptáculo floral y pétalos de la guanábana, tiene una duración de 4 a 5 días, en que las mariposas desovan en las plantaciones establecidas a nivel huerto familiar, semi comerciales y comerciales, posteriormente el estadio larval comprende de 11 a 12 días, y el estado de pupa tuvo una duración de 12 a 14 días y finalmente el estado adulto tuvo una duración de 27 a 31 días (Anexo 1) que coincide con lo reportado con Calvo (1998) y Coto y Saunders (2001).

3.3.2 Huevo

Se registró un promedio de 1 huevo por cada flor, sin embargo, durante la época de floración de mayor intensidad como se indica en Figura 4A existe la posibilidad de observar un rango y distribución hasta de 8 huevos por flor, estos son ovipositados generalmente en forma individual. Esta cantidad indicada coincide con lo reportado por Fennah (1937) y Calvo (1998) quien indica que no es raro encontrar más de cinco huevos juntos. Así mismo en Figura 4B. Se observó las siguientes características: el huevo es de color blanco arenoso, forma esférica o semiesféricos, con un ligero aplanamiento en la parte superior con estrías longitudinales y transversales espiradas no cuantificadas. Estas características coinciden con lo reportado por Coto y Saunders (2001) este mismo logro determinar el diámetro promedio del huevo lo cual asciende a 0.9 mm.

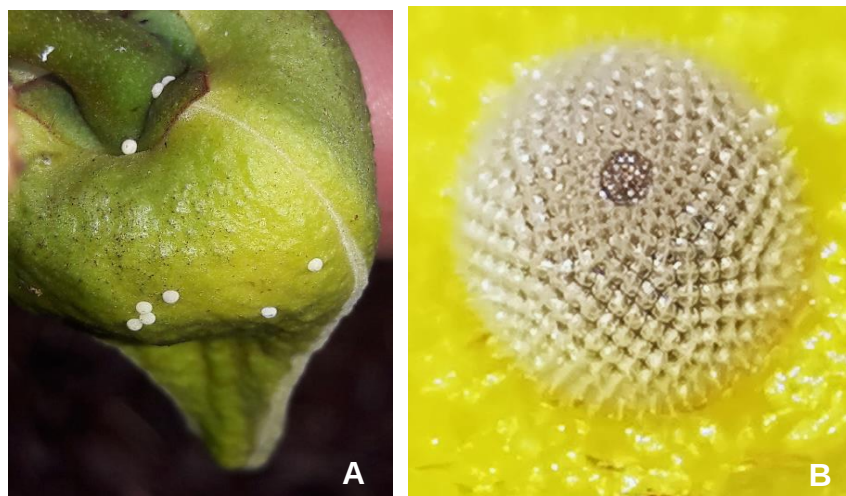


Figura 4. Botón floral infestado, A) Ubicación del número de huevos en el pedúnculo y pétalos de la flor y B) Morfología del huevo de *Oenomaus ortygnus* Cramer con aumento 2.5 X.

3.3.3 Larva

En la Figura 5A se describen los cinco instares larvales, en el primer instar la larva es de color traslucido y perfora los pétalos de la flor Figura 5A, en el segundo instar la larva es de color blanco arenoso la cual causa daño físico al ovario Figura 5B, mientras que en el instar III esta presentan una coloración amarillenta y ocasionan daño al estigma Figura 5C, en el instar IV tiene una coloración café claro y ocasiona el daño total a las estructuras internas del botón floral colocando hilos de seda en los pétalos para sostener el botón floral Figura 5D y finalmente en el quinto instar Figura 5F, la coloración se torna de color verde olivo y mide aproximadamente 1 cm. Se pueden encontrar más de una larva de esta especie en cada flor Castañeda (2011). Confirma que en *Annona diversifolia* se pueden encontrar de 1 a 5, mientras que Pereira y Anjos (1998) y Coto y Saunders (2001) reportan que las larvas se alimentan de flores y pupan en el suelo.

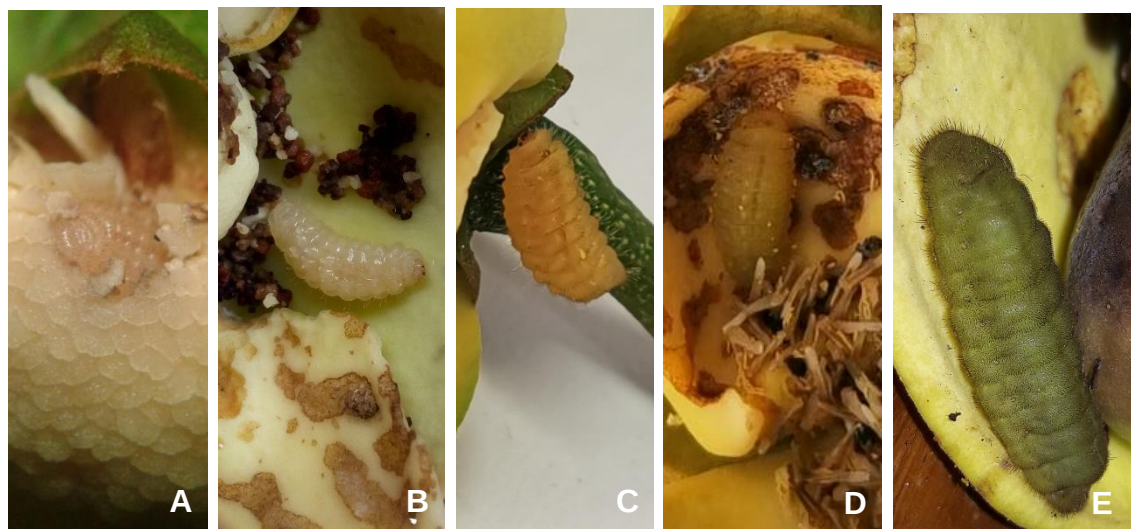


Figura 5. Instares larvales de *Oenomaus ortygnus* Cramer A) Instar I, B) Instar II, C) Instar III, D) Instar IV y E) Instar V

3.3.4 Pupa

La pupa mide aproximadamente 12.58 mm de longitud, cabeza y apéndices café claro, tórax café oscuro y vista dorsal café obscuro con pigmentaciones amarillas esta descripción coincide con lo reportado por Coto y Saunders (2001), Duarte et al. (2005) y Hernández et al. (2013). La pupa es del tipo obtecta como se muestra en Figura 6B y C en ambos extremos presentan una tonalidad de color café obscuro y se adhiere fácilmente a la superficie del suelo por la región ventral aplanada y esta es fijada mediante hilos de seda producida por sí misma.

Es importante señalar que durante los muestreos en campo no se pudo determinar con precisión esta fase de desarrollo, sin embargo, en condiciones de laboratorio las larvas puparon en los pétalos de las flores secas y otras se encontraron fijadas en las paredes y fondo de las cámaras de cría.

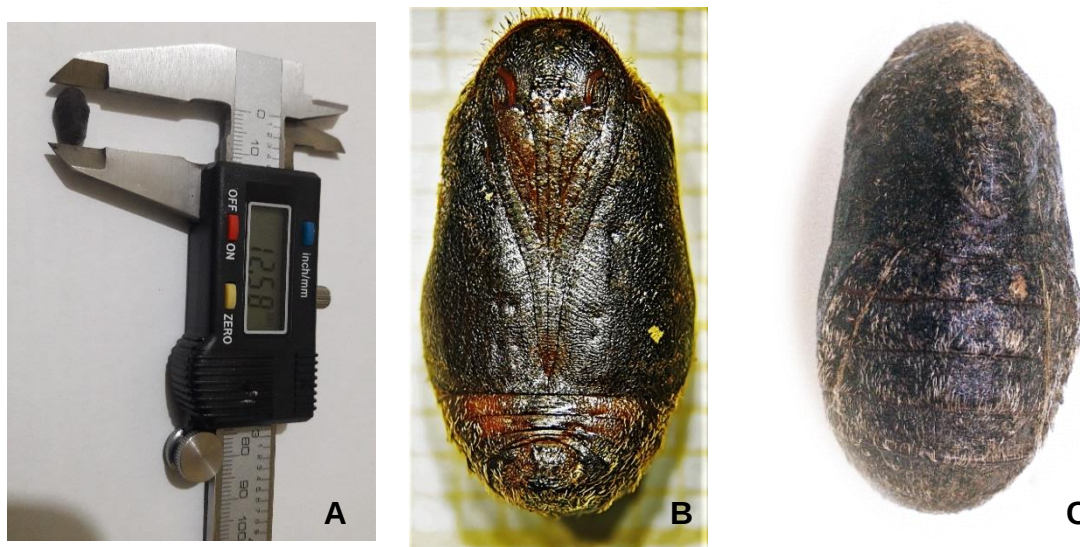


Figura 6. Estado de pupa de *Oenomaus ortygnus* Cramer. A) Tamaño de la pupa, B) Vista ventral y C) Vista dorsal

3.3.5 Adultos

En esta etapa se caracterizó al insecto *Oenomaus ortygnus* Cramer macho y la hembra que a continuación se mencionan:

3.3.6. El Macho ♂ de *Oenomaus ortygnus* Cramer

En el primer par de alas anteriores presentan una mancha irregular o punto negro que sirve para diferenciar a simple vista (Figura 8A). Así mismo están compuestos de escamas modificadas de color grisáceos denominadas androconeas y están ubicadas principalmente en la parte dorsal de las alas anteriores en esta especie, entre otras partes del cuerpo tales como: genitales, abdomen, 1er, 2o y 3er par de patas sirven como estructuras sexuales secundarias en el macho produciendo feromonas de atracción sexual Figura 8B. Esta actividad es común observarlo en la familia de Lycaenidae y otras especies de Lepidópteros tal como señala De Vries (1987). Los machos adultos presentaron una tonalidad azul marino en la parte interna con márgenes negros en el dorso de las alas, mientras que el lado ventral de las alas anteriores y

posteriores presenta una coloración grisácea. Esta descripción morfológica coincide a lo reportado por Coto y Saunders (2001), Faynel, (2006,2008).

3.3.6.2 Adulto Hembra ♀ de *Oenomaus ortygnus* Cramer

Una de las principales características apreciables para identificar a la hembra es la ausencia total de las manchas irregulares que se observa en el primer par de alas Figura 7A mientras que el margen externo de las alas presenta una mayor coloración negra intensa y el margen interno es de coloración azul marino Figura 8B esta característica morfológica coincide con lo reportado por Coto y Saunders (2001) y Faynel,(2006, 2008).



Figura 7. Adultos de *Oenomaus ortygnus* Cramer, A) Macho y B) Hembra

3.3.7 Daños ocasionados por la plaga

El daño de *Oenomaus ortygnus* Cramer inicio a partir de la emergencia del primer estadio larval, para lo cual durante el crecimiento y desarrollo de la larva utiliza como alimento varias estructuras florales de botones y flores abiertas hasta a completar su etapa larval y se observan daños severos como es la perforación de los pétalos, destrucción total de ovarios y estigmas dejando visiblemente en el interior de las flores sus excretas lo cual es una característica determinante de la presencia de esta plaga y en ocasiones la flor queda adherida al pedúnculo o se desprende del pedúnculo Anexo 2. Esta información coincide con lo reportado por Coto y Saunders (2001), Peña et al. (2002), Castañeda et al. (2011), Faynel et al. (2012) y Hernández et al. (2013).

3.4 CONCLUSIONES

El ciclo de vida de *Oenomaus ortygnus* a nivel de laboratorio es de 27 ± 31 días, para las tres zonas productoras, Yaaxhon Yucatán, Colegio de Postgraduados ubicado en Sihochac, Champotón, Campeche y Aripacara, Alagoas, Brasil.

En guanábana se logró describir cada uno de los estadios larvales y con base a los resultados obtenidos nos indica que en el tercer instar larval *Oenomaus ortygnus* Cramer ocasiona daño total de las estructuras florales.

Los adultos se diferencian por la presencia de manchas irregulares o puntos negros en el primer par de alas anteriores en la parte dorsal y la ausencia de estos en las hembras.

Las pérdidas ocasionadas por el daño del barrenador en guanábana aún no están cuantificadas por no ser considerada como una plaga primaria en las entidades productivas en México y otros países productores.

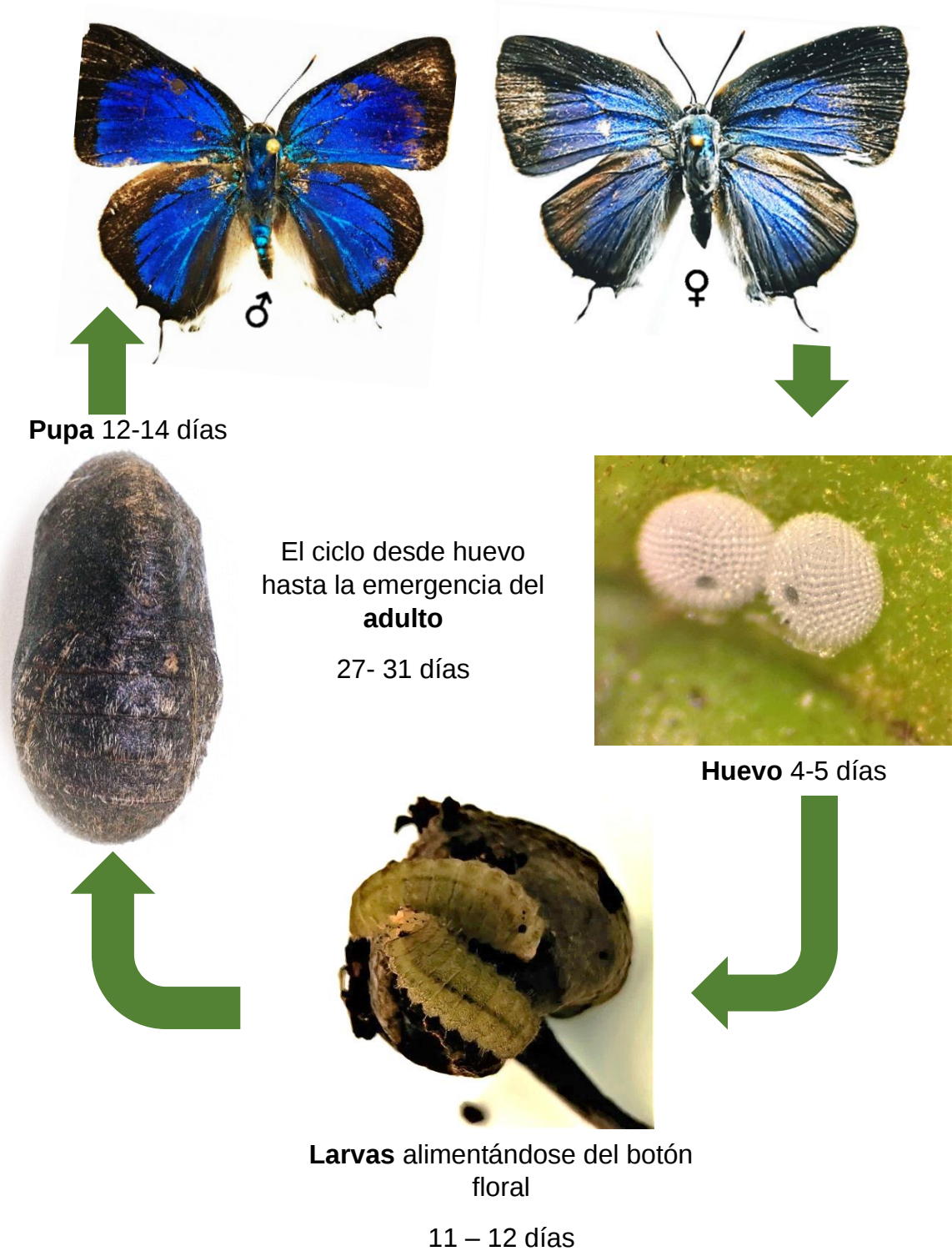
3.5 LITERATURA CITADA

- Calvo R. (1998). Reproducción de *Oenomaus ortygnus* (Lepidoptera: Lycaenidae) en Barva, Heredia, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 46: 101-104.
- Castañeda- Vildozola, A., C. Nava-Díaz, M. Duarte, O. Franco-Mora and L.M. Hernández-fuentes. (2011). New host plant records for *Oenomaus ortygnus* (Cramer) Lepidoptera: Lycaenidae) in Mexico. *Neotrop. Entomol.* 40(4): 512-514.
- Coto, D. A. y J. L. Saunders. (2001). Insectos plaga de la guanábana (*Annona muricata*) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 61:60-68.
- DeVries, P. 1987. The butterflies of Costa Rica and their natural history. Princeton University, Nueva Jersey. 327 p.
- Duarte M, Robbins RK, Mielke OHH. (2005). Immature stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1877) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with notes on rearing detritivorous hairstreaks on artificial diet. *Zootaxa.* 1063:1–31.
- Faynel C, (2006). Le género *Oenomaus* Hübner, 1819, en Guyane Française (Lepidoptera, Lycaenidae). *Bull Soc Entomol Fr* 111: 137-156.
- Faynel C, (2008). Le genre *Oenomaus* Hübner, 1819, en Guyane française. 2e partie (Lepidoptera, Lycaenidae). *Bulletin de la Société Entomologique de France* 113(1): 15–32.
- Faynel C, Moser A (2008). The neotropical genus *Oenomaus* Hübner with the description of eight new species belonging to the atena group (Lepidoptera, Lycaenidae). *Lamillionea*, 108(2): Supplément I, 36 pp.
- Faynel C., Busby R. C. & Robbins R. K. (2012). Review of the species level taxonomy of the neotropical butterfly genus *Oenomaus* (Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini). *ZooKeys* 222: 11–45.
- Fennah RG (1937). Plagas de lepidópteros del agro en Trinidad. (2) *Thecla ortygnus* Cramer. *Trop Agric* 14: 244-245.
- Godman FD, Salvin O. (1887-1901). *Biologia Central Americana. Insecta Lepidopteros-Rhopalocera. Fam. Lycaenidae* 2:1-112.
- Hernández FLM, Gómez JR, Andrés AJ. 2013. Importancia, plagas insectiles y enfermedades fungosas del cultivo de guanábano. Libro técnico núm. 1. Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.
- Lamas, G. (2006). Invalidation of six neotypes among Neotropical butterflies (Lepidoptera: Hesperidae, Pieridae, Lycaenidae and Nymphalidae). *Revista peruana de Entomología* 45:115-119.
- Lamas G. (2008). La sistemática sobre mariposas (Lepidoptera: Hesperioidea y Papilionoidea) en el mundo: estado actual y perspectivas futuras. In: Llorente JE, Lanteri A, editors. *Contribuciones taxonómicas en órdenes de insectos hiperdiversos*. México (DF): Universidad Nacional Autónoma de México. p. 57–70.

- Lewis, H.L. (1975). Las mariposas del Mundo. Omega, Barcelona. 312 p.
- Maddox, D, M. (1969). Sex determination of pupae of *vogtia malloi* Lepidoptera. *Annals of the Entomological Society of America* 62:1212-1213.
- Peña, J. E., H. Nadel, M. Barbosa-Pereira & D. Smith. (2002). Pollinators and pests of *Annona* species. Pp. 197-222, en *Tropical fruit pests and Pollinators. Biology, economic importance, natural enemies and control* (J. E. Peña, ed.). CABI International Publishing, Wallingford, UK.
- Pereira M.J.B. & Anjos N., (1998). - Ocorrência de *Cyclocephala* sp. (Coleóptera: Scarabaeidae) e *Tecla ortygna* Cramer (Lepidoptera: Lycaenidae) em flores de graviola (*Annona muricata* L.) no Estado de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro De Entomology, 17, 1998, Rio de Janeiro-RJ. Sociedade Brasileira de Entomologia, 1998. v. 1, p. 123.
- Opler PA, Lotts K, Naberhaus J (2010). Mariposas y polillas de América del Norte.
- Robbins, R.K. & Lamas, G. (2002). Nomenclatural Changes in the Neotropical Eumaeini (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae). *Revista brasileira de Zoologia* 19 (1): 197 – 214.

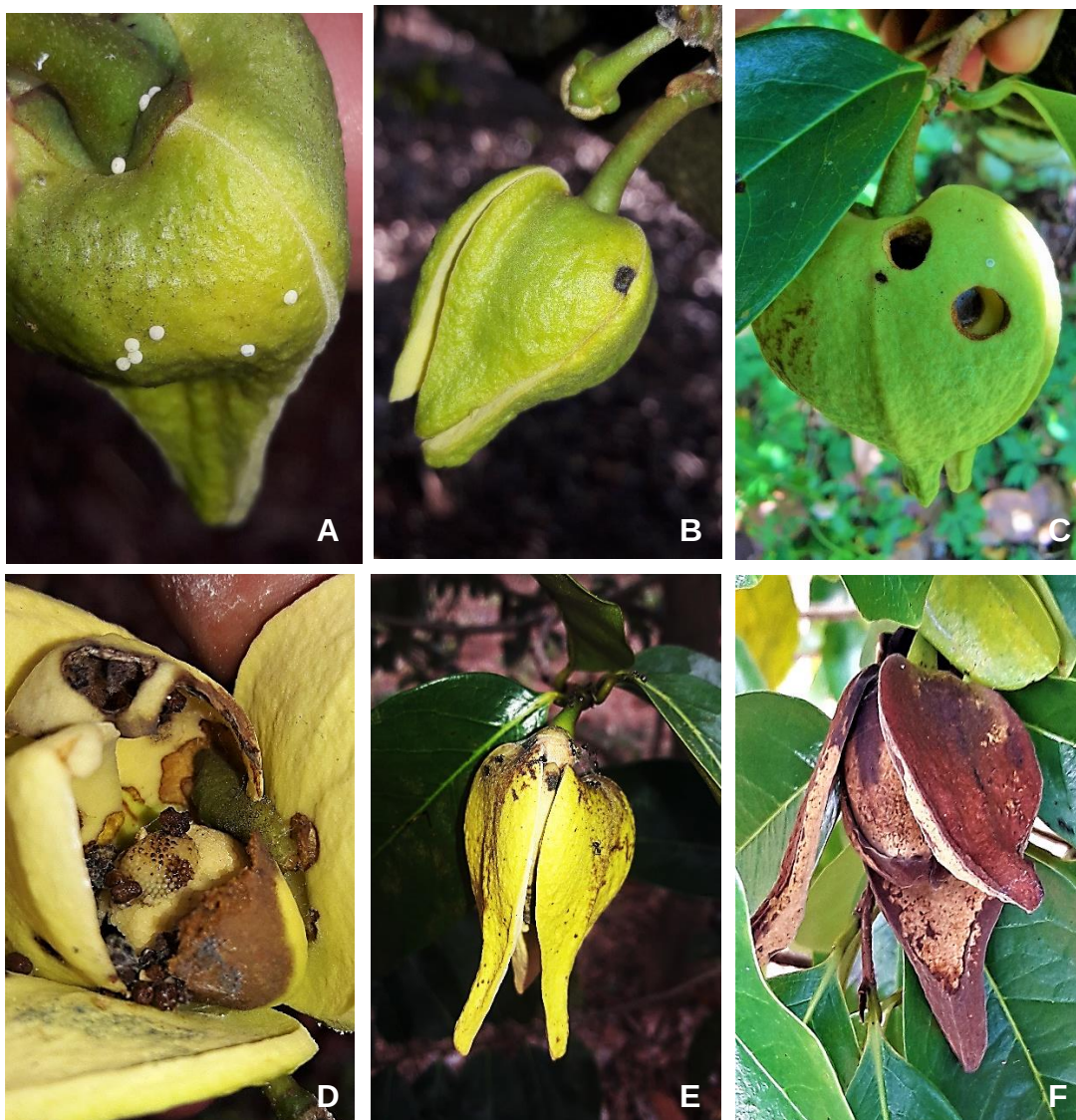
ANEXOS I

Anexo 1. Ciclo de vida del barrenador de la guanábana *Oenomaus ortygnus* Cramer



ANEXO II

Anexo 2. Etapas del daño ocasionado por *Oenomaus ortygnus* Cramer a las estructuras de los botones florales, flores abiertas y semiabiertas durante la época de floración



Oviposición de *Oenomaus Ortygnus* Cramer. A) Huevos distribuidos en el pedúnculo y pétalos, B) Perforación de larva, C) Daño a pétalos, D) Daño al ovario E) Daño interno de las estructuras florales y F) Necrosis del botón floral

Capítulo 4 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DEL BARRENADOR DE LA GUANÁBANA

RESUMEN

En México la guanábana es un frutal en expansión, la producción de este fruto asciende a 29,228.46 t al año con un valor comercial de 299 millones de pesos, sin embargo, la producción se ve afectada por el complejo de barrenadores de los diferentes estadios florales y frutos, como es *Oenomaus ortygnus* Cramer, lo cual es de importancia actualmente. El estudio inicio en julio 2018 a septiembre 2019, colectando botones florales y flores abiertas de guanábana *Annona muricata* L. El material biológico colectado fue procedente de tres zonas de producción siendo la primera de Oxkutzcab, Yucatán, la segunda del Colegio de Postgraduados Campus Campeche y la tercera en Aripacara Brasil, se registraron fotografías de las principales características morfológicas: la larva posee una placa pro torácica de forma romboidal dividida, la pupa tiene un aspecto general dentro de la familia de los Lycaenidos presentando la cabeza y los apéndices hundidos en la parte ventral, mientras que el adulto macho presenta en el primer par de alas unas androcones de color grisáceo, las alas del adulto macho son más brillantes que las de hembras. Así mismo, para la extracción del ADN se utilizó el método CTAB, posteriormente se amplificó el fragmento final del gen Citocromo Oxidasa I (COI) a 710 pares de bases, La secuencia del producto de PCR que se amplificó del gen COI a través de la extracción de ADNmt de *Oenomaus ortygnus* Cramer. Concuerdan con las registradas en el GenBank, 2019, al obtener una similitud del 99% (652 pb) con respecto a la accesión de México y del 97% para la de Perú (639 pb). La reconstrucción del análisis filogenético permitió agrupar a las accesiones de *Oenomaus ortygnus* Cramer: PYucatan, LYucatan, 1AYucatan, 2AYucatan, 2ACampeche, 3ACampeche con la accesión reportada JX458738 *O. ortygnus* Cramer México, de igual manera la accesión JX458733 *O. ortygnus* Cramer Perú, se ajustaron a las accesiones 1ABrasil y 2ABrasil.

Palabras claves: Extracción de ADN, Morfología, *Oenomaus ortygnus*, Molecular, Filogenia,

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE SOURSOP BORER

SUMMARY

In Mexico, soursop is an expanding fruit tree, the production of this fruit amounts to 29,228.46 tons per year with a commercial value of 299 million pesos, however, production is affected by the complex of borers of the different floral stages and fruits, such as *Oenomaus ortygnus* Cramer, which is of importance today. The Study started in July 2018 to September 2019, collecting flower buds and soursop flowers *Annona muricata* L. The biological material collected was from three production areas, the first being from Oxkutzcab, Yucatan, the second from the Campus Campeche Colegio Postgraduados and the third in Aripacara Brazil, photographs of the main morphological characteristics were recorded: the larva has a divided rhomboidal pro thoracic plate, the pupa has a general appearance within the family of lycaenidos presenting the head and the appendages sunk in the ventral part, while the adult male presents in the first pair of wings grayish androconeas, adult male wings are brighter than female wings. Likewise, for the extraction of DNA the CTAB method was used, the final fragment of the Cytochrome Oxidase I (COI) gene was subsequently amplified to 710 base pairs, The sequence of the PCR product that was amplified from the COI gene through the extraction of mtDNA from *Oenomaus ortygnus* Cramer. agree with those registered in GenBank, 2019, when obtaining a similarity of 99% (652 bp) with respect to the accession of Mexico and 97% for that of Peru (639 bp) and the reconstruction of the phylogenetic analysis allowed to group the *Oenomaus ortygnus* Cramer accessions: PYucatan, LYucatan, 1AYucatan, 2AYucatan, 2ACampeche, 3ACampeche with the reported accession JX458738 *O. ortygnus* Cramer México, in the same way the accession JX458733 *O. ortygnus* Cramer Peru, were adjusted to accessions 1ABrasil and 2ABrasil.

Keywords: DNA extraction, CTAB, Morphology, *Oenomaus ortygnus*, Molecular, Phylogeny,

4.1 INTRODUCCIÓN

La producción de guanábana (*Annona muricata* L.) en México asciende a 29,228.46 ton al año con un valor comercial de 299 millones de pesos (SIAP, 2019) Dentro de los factores limitantes en la producción para este cultivo son el complejo de barrenadores que afectan directamente al botón floral, flores y frutos en desarrollo y se encuentran distribuidos en diversas zonas de producción (Becerra y Rosas, 2015). Las especies de mayor importancia económica son *Bephratelloides cubensis* Ashmead. (Hymenoptera: Eurytomidae), *Oenomaus ortygnus* Cramer (Lepidoptera: Lycaenidae), *Cerconota anonella* Sepp. (Lepidoptera: Elachistidae) ocasionando la caída de botones florales, perdidas en producción, deformaciones de frutos, disminuyendo su vida de anaquel y valor comercial en la agroindustria (Hernández et al. 2015).

Oenomaus ortygnus se ha distribuido en diferentes zonas del país abarcando desde el Golfo de México, Océano Pacífico y Mar Caribe entre otros países (Faynel y Moser, 2008). En Yucatán el barrenador del fruto *Oenomaus ortygnus* Cramer está presente como plaga secundaria y actualmente ya es considerada como plaga primaria por no tener un manejo agronómico en las plantaciones comerciales y ser una especie poco estudiada.

Las técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) inician con la extracción de ADN y la obtención exitosa de estos productos que nos proporcionan resultados confiables y reproducibles esto depende, en gran medida en realizar una extracción de ADN de calidad. La extracción consiste en el aislamiento y purificación del ADN (Alejos et al. 2010).

Por otra parte, el uso y aplicación de la amplificación de genes permiten identificar y caracterizar especies de manera eficiente utilizando marcadores moleculares a través de la (PCR). El uso del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) ha sido utilizado como marcador molecular universal en trabajos entomológicos por ser independiente sin importar el estadio del insecto, al formar parte del ADN mitocondrial (mtADN) (Lunt, et al. 1996). El empleo de COI es

aceptado en investigaciones sobre diversidad genética, filogenia, análisis de fluctuaciones, grados de diversidad poblacional, entre otros (Folmer, et al. 1994).

Actualmente, la implementación de técnicas moleculares para la identificación de especies como plantas, hongos, bacterias, nematodos, virus e insecto es una herramienta complementaria para las caracterizaciones morfológicas, por esta razón, el objetivo de este trabajo consistió en la caracterización morfológica y molecularmente los adultos de *Oenomaus ortygnus* Cramer. de Yucatán, Campeche y Brasil.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Colecta de Botones florales

La etapa de estudio comprendido el en periodo de julio 2018 a septiembre 2019, colectando botones florales y flores abiertas de Guanábana *Annona muricata* L. en tres zonas productoras (Cuadro 5).

Cuadro 5. Ubicación de las tres huertas y números de flores colectadas en guanábana.

Huerta	País	Coordenadas	Fecha
Oxkutzcab, Yucatán	México	20° 15' 5.5379" N, 89° 28' 49.2956" W	23/07/2018
Sihochac, Campeche	México	29° 54.6004" N 90° 32' 58.9776 W	18/12/2018
Arapiraca, Alagoas	Brasil	9° 47' 55.1544" S 36° 36' 6.6841W	13/09/2019

El material biológico colectado se trasladó en el Laboratorio de Control Biológico de la Maestría en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. de México. Se colocaron los botones florales de guanábana en contenedores de plástico cubiertos con tela

y se confinaron en cámaras de crías estableciéndolo de la siguiente manera, 4 larvas en cada cámara de cría a una temperatura de 27° a 30° C. para que cumplieran su ciclo de vida y así obtener los adultos para la identificación morfológica. De igual manera el material colectado en Brasil fue trasladado en el Laboratorio de Pesquisa em Recursos Naturales (LPqRN) Instituto de Química y Biotecnología, Universidad Federal de Alagoas UFAL utilizando la misma metodología. Las larvas se preservaron en alcohol al 70 % con el etiquetado correspondiente al igual que los adultos fueron almacenados a -20° C, para su posterior uso en la extracción de ADN por el método CTAB.

4.2.2 Identificación morfológica del barrenador de la guanábana

La identificación morfológica se efectuó en el Laboratorio de Microscopia ubicado en el Centro de Ciencias Agrarias CECA/UFAL con ayuda de un microscopio trilocular estereoscópico Modelo OPZTS con cámara digital integrada y graduada a un campo de 2x a 3x. Se registro imágenes de la morfología externa de *Oenomaus ortygnus* Cramer en los diferentes estadios (larva, pupa y adulto).

La Identificación general de los estadios inmaduros, pupas y adultos se basó de acuerdo a las claves taxonómicas de Fennah (1937), Maddox (1969), Duarte et al. (2005), Faynel, (2006, 2008) y Faynel et al. (2012).

El material biológico colectado en Yucatán, Campeche y Brasil fueron etiquetados, indicando la fecha, lugar de colecta y resguardado en el refrigerador del laboratorio conservándolos a una temperatura de -70° C para su posterior utilidad. Durante la colecta del material biológico se utilizaron mariposas adultas para realizar la caracterización morfológica y molecular en el laboratorio de bacterias del departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo,

4.2.3 Identificación molecular del barrenador de la guanábana *Oenomaus ortygnus* Cramer

Para la identificación molecular de *Oenomaus ortygnus* se utilizaron nueve adultos: cuatro de Yucatán, tres de Campeche y dos de Brasil. Los adultos se obtuvieron de las cámaras de crías previamente etiquetadas y se almacenaron a -20° C para realizar la extracción de ADN por el método CTAB.

4.2.4 Extracción de ADN

Los adultos de *Oenomaus ortygnus* Cramer se hizo de manera individual y fueron separados por zona de colecta. La extracción se realizó siguiendo el protocolo de Doyle y Doyle (1990), el adulto completo, se colocó en un mortero de porcelana previamente enfriados en el refrigerador a -70°C y se macero con nitrógeno líquido. El macerado se agregó a los tubos Eppendorf de 1.5 ml, añadiendo de 500 µL de tampón CTAB 2% y se mezcló por inversión. Se incubó a baño maría a una temperatura de 65° C durante 25 min, y posteriormente se dejaron enfriar durante 4 min, seguidamente se agregaron 500 µL. de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1).

El macerado se mezcló por inversión durante 10 min, y se centrifugo a 5,000 rcf a temperatura ambiente durante 10 min, para separar la fase acuosa de la orgánica. Se recuperó 500 µL del sobrenadante para colocarlo en un nuevo tubo Eppendorf de 1.5 ml, y agregarle ½ del volumen recuperado de isopropanol (2-propanol). El tubo se mezcló por inversión y se dejó reposar por 10 min, para favorecer la precipitación de ADN. Se centrifugo a 5000 rfc durante 20 min, para obtener la pastilla de ADN y se decantó el sobrenadante. Se enjuagó con 500 µL, de alcohol al 70 % y se desprendió la pastilla del tubo para posteriormente centrifugar durante 3 min, a 12,000 rcf. Este proceso se realizó 3 veces con la finalidad de lavar la pastilla, se desechó el alcohol por decantación y dejaron secar los tubos toda la noche, mientras que al día siguiente se resuspendió la pastilla en 50 µL de agua libre de nucleasas, se conservó las muestras a -4° C.

Posteriormente es importante indicar la visualización del ADN por electroforesis y/o cuantificarlo por nanodrop.

4.2.5 Amplificación y secuenciación de ADN

La amplificación de la región COI del ADNmt se realizó en un termociclador T100™ Thermal Cycler BIO RAD®. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se hizo con los primers LCO1490 (5'GGTCAACAAATCATAAAGATA TTGG3'-) y HCO2198 (5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAA AATCA3'), los cuales amplifican aproximadamente 710 pares de bases (pb).

La reacción se efectuó en un volumen final de 25 µL que contenía: 2.5 µL de buffer de PCR (10X), 0.75 µL de MgCl₂ (50 mM), 0.5 µL de dNTPs mix (10 mM), 1 µL del cebador HCO, 1 µL del cebador LCO, 0.25 µL de Taq polimerasa, 2 µL del ADN (80 ng) y 17 µL de agua estéril libre de nucleasas. El programa de termociclaje consistió en las siguientes condiciones una etapa inicial de desnaturalización a 94°C por 1 min, cuatro ciclos (94° C a 30 S), Alineación (1.5 min a 45°C) y extensión (1 min a 72° C), la segunda fase fue de 35 ciclos (94° C a 30 s), alineamiento (51° C a 1.5 min) y extensión (1 min a 72° C) y una extensión final (5 min a 72° C) (Hebert et al. 2003). (Ruiz et al. 2017).

Finalmente se verificó la amplificación por electroforesis con agarosa al 2% (Ochoa et al., 2012). Posteriormente, los productos de PCR se enviaron a secuenciar a la empresa Macrogen.

Las secuencias resultantes, se compararon con las reportadas en la base de datos del banco de genes del NCBI (National Center for Biotechnology Information, 2019), mediante el programa BLAST (Altschu et al. 1990) para evaluar el porcentaje de similitud correspondiente con otras secuencias disponibles

El proceso bioinformático, se realizó en DNA Baser, la secuencia consenso se obtuvo mediante un método iterativo en MUSCLE (Robert, 2004) y se realizó el alineamiento local en Blast (Altschul et al. 1997).

4.2.6 Análisis filogenético.

La reconstrucción filogenética se infirió por el método de Máxima Verosimilitud por el modelo Tamura con 2 parámetros (Tamura Nei model, 1993) y 1000 repeticiones de Bootstrap (fgf), se alinearon con 37 secuencias disponibles del Blast: JX458722 (*O. cortica*), HQ966566 (*O. cortica*), HQ966565 (*O. cortica*), JX458721 (*O. gaia*), JX458719 (*O. gaia*), JX458720 (*O. gaia*), JX458736 (*O. morroensis*), HQ966548 (*O. ambiguus*), JX458731 (*O. ambiguus*), JX458734 (*O. ambiguus*), HQ966552 (*O. brulei*), HQ966554 (*O. brulei*), HQ966592 (*O. atena*), JX458735 (*O. moseri*), HQ966576 (*O. moseri*), HQ966564 (*O. cyanovenata*), HQ966563 (*O. cyanovenata*), JX458737 (*O. cyanovenata*), JX458728 (*O. cyanovenata*), HQ966547 (*O. magnus*), HQ966545 (*O. isabellae*), JX458725 (*O. poirieri*), JX458724 (*O. jauffreti*), HQ966549 (*O. jauffreti*), JX458727 (*O. jauffreti*), JX458732 (*O. jauffreti*), HQ966593 (*O. taua*), JX458739 (*O. taua*), JX458738 (*O. ortygnus*) México, JX458733 (*O.ortygnus*) Perú estos dos últimos se utilizaron para comprar las secuencias obtenidas del presente trabajo. Mientras que para el grupo externo se utilizaron dos familias diferentes siendo la primera familia Hesperidae con las siguientes accesiones: GU653485 (*Achilyodes pallida*), GU649813 (*Achilyodes busirus*), GU161290 (*Astrartes alardus*) HQ985599 (*Eurytides marcellus*), y para la segunda familia Papilionidae con las siguientes accesiones: MF547358 (*Papilio androgeus*), KP174095 (*Papilio multicaudata grandiosus*), KM215138 (*Papilio polytes*). Los análisis se realizaron en el programa MEGAX (Kumar et al., 2018).

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 Identificación morfológica del barrenador de la guanábana

La identificación morfológica de los diferentes estadios de *Oenomaus ortygnus* Cramer se llevó a cabo mediante las características morfológicas de la especie y en base a la literatura consultada.

4.3.2 Larva

En la Figura 8A se observa el cuerpo onisciforme, dorsalmente comprimido, ligeramente redondeado, cubierta de setas cortas y alargadas translúcidas de color marrón claro dando un aspecto aterciopelado a la larva, presentan una cabeza pequeña y tienen la capacidad de retracción hacia dentro del protórax, en la parte dorsal, poseen una placa pro torácica de forma romboidal dividida Figura 8B, la larva del estadio V presenta un órgano nectario en el séptimo segmento abdominal, lo cual es característico en la familia Lycaenidae, estos son órganos relacionados con la mirmecofilia y la asociación de hormigas esta información coincide con lo reportado por Coto y Saunders (2001), Duarte et al. (2005) y Hernández et al. (2013).

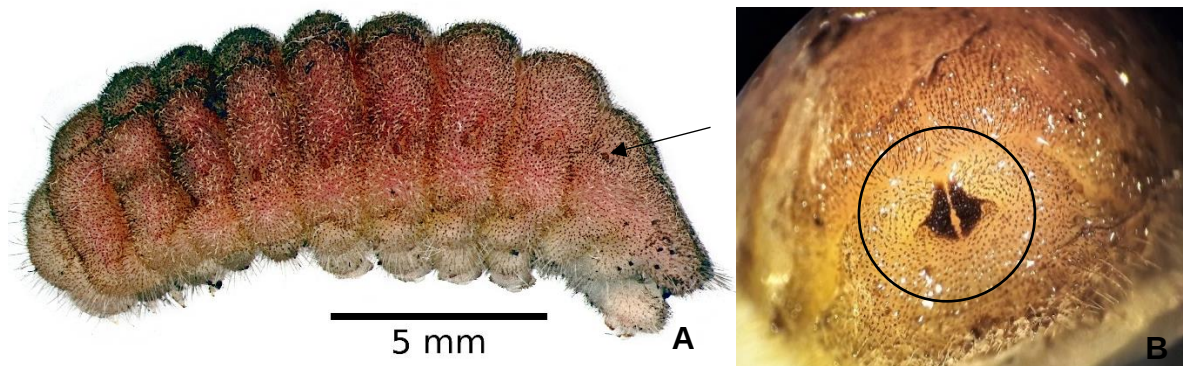


Figura 8. Larva de *Oenomaus ortygnus* Cramer. A) Larva y B) Placa torácica

4.3.3 Pupa

La pupa es del tipo obtecta y tiene la forma característica de los miembros de familia de los Lycaenidos presentan la cabeza y los apéndices hundidos en la parte ventral, Figura 9A y B, poseen un abdomen de aspecto más dilatado y compactadas que otras tal como menciona Duarte et al (2005). La superficie dorsal de la pupa es arqueada con una coloración castaño claro cubierta de cerdas Figura 9C, esta información coincide a lo reportado por Castañeda et al. (2011) y Hernández et al. (2013).

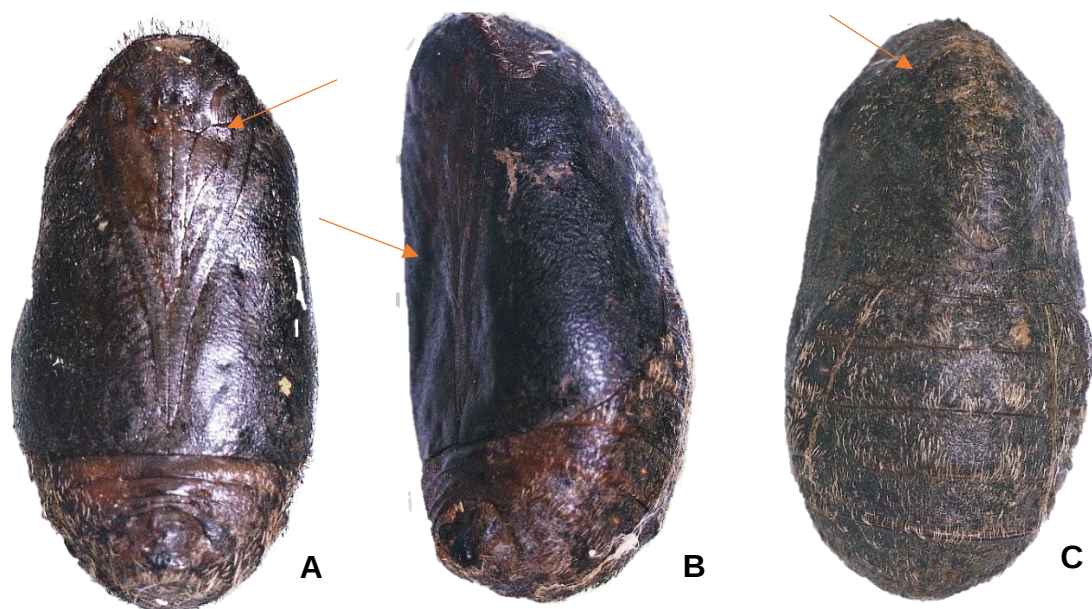


Figura 9. Pupa de *Oenomaus ortygnus* Cramer. A) Vista ventral, B) Vista dorsal Y C) Vista lateral

4.3.4 Dimorfismo sexual en adultos

El dimorfismo sexual es muy diverso dentro de la familia de Lycaenidos. comúnmente, las alas del adulto macho son más brillantes que las hembras. Sin embargo, en las hembras el color de las alas es menos brillante y opaco tienen bordes oscuros más anchos en el primer par de alas en comparación de los machos. En algunos taxones es difícil asociar sexos correctamente debido al dimorfismo relativamente extremo ya que presentan características similares y solo se pueden diferenciar mediante técnicas moleculares. El adulto macho es ligeramente más grande que la hembra, en el lado dorsal del primer par de alas presentan escamas modificadas (androconeas) o marcas sexuales de forma irregular en la superficie del ala anterior o en la parte superior del ala posterior estas se encuentran asociadas en las diferentes partes del cuerpo, el ángulo del ápice del ala es más puntiagudo con menor margen de color negro y una coloración azul turquesa en la parte dorsal Figura 11A. Así mismo los patrones de las alas del lado ventral son de café grisáceo, las alas posteriores del lado ventral presentan tres puntos negros Figura 11B. El cuerpo tiene una complexión robusta con ojos de color marrón, palpos blancos, abdomen amarillo

ventralmente cubiertas en gran parte por escamas azules, antenas capitadas con ápice de coloración amarilla y anillos concéntricos a lo largo de la antena. Esta descripción morfológica de esta especie coincide con lo reportado por Morton (1987), Pereira y Anjos (1998), Coto y Saunders (2001) y Faynel (2003).

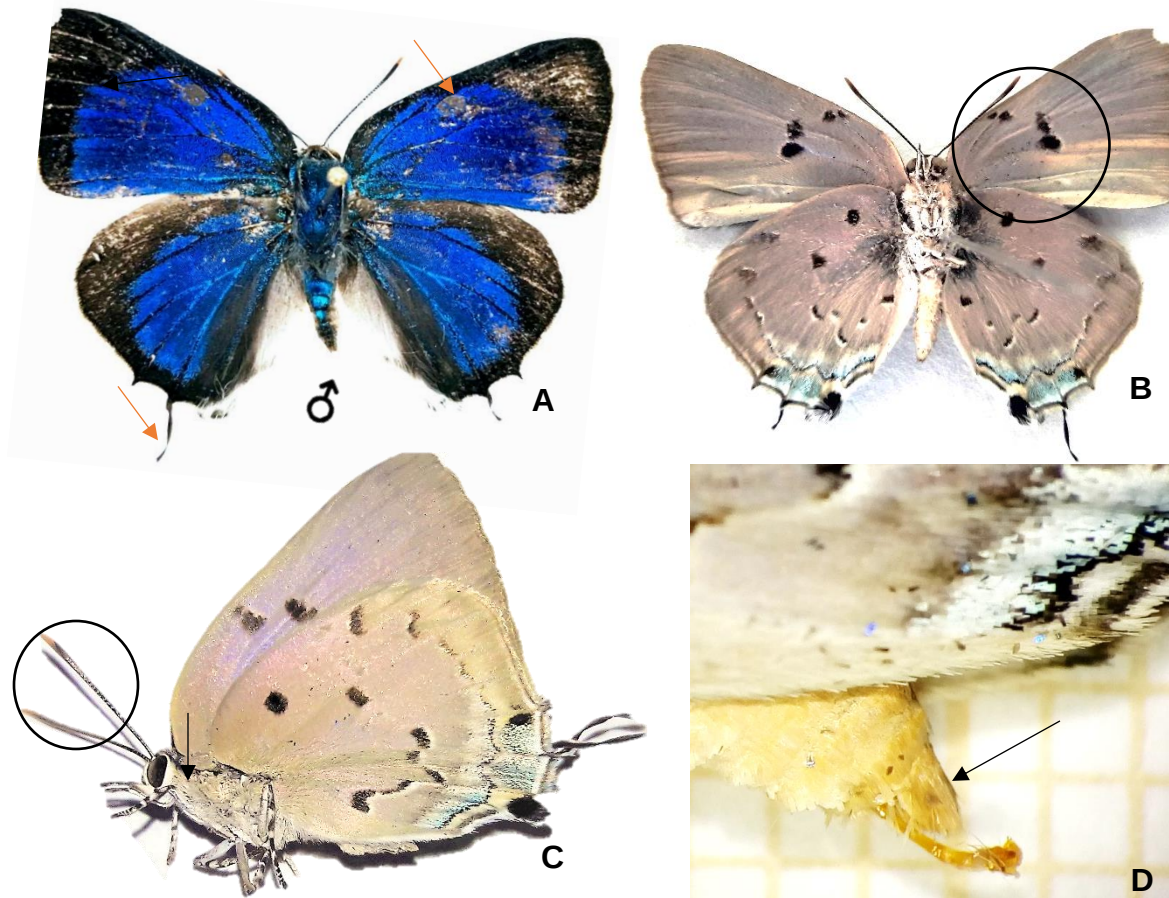


Figura 10. Adulto Macho de *Oenomaus ortygnus* Cramer. A) Vista Ventral B) Vista Ventral, C) Vista Lateral y D) coloración del abdomen

Por otra parte, el ápice del primer par de alas delanteras en las hembras es más semicircular que en el macho, con márgenes negros más pronunciados y difuso, una coloración azul menos brillante Figura 11A. Así también el primer par de las alas anteriores del lado ventral presentan cuatro puntos de tonalidad café obscuro Figura 11B. El cuerpo de la hembra es de complexión robusta al igual que la del macho, el abdomen tiene una coloración ceniza en la parte ventral Figura 11C y D, con antenas capitadas, el ápice de la antena es de coloración

amarilla más pronunciada con anillos concéntricos. Ambos sexos son reconocidos por su patrón de ala ventral, que es único del género *Oenomaus* estas características morfológicas coinciden con lo reportado por Coto y Saunders (2001) y Fanley (2003, 2006, 2012).

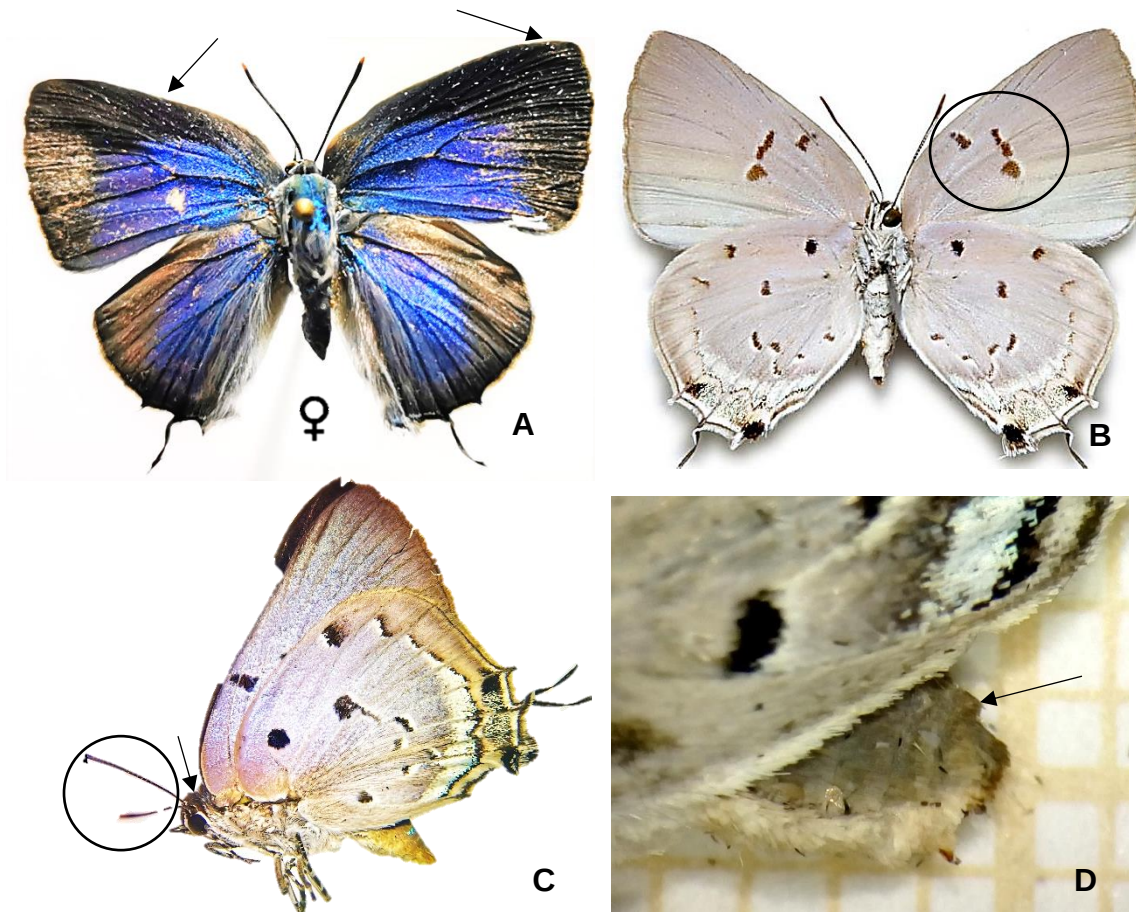


Figura 11. Adulto hembra de *Oenomaus ortygnus* Cramer. A) Vista dorsal B) Vista ventral, C) Vista lateral y D) Coloración del abdomen.

4.3.5. Identificación molecular.

Los productos de PCR que se analizaron fueron los correspondientes a 710 pares bases (pb) de la región COI del ADNmt tal como se indica en la Figura 12. En esta se muestran que las seis accesiones (1ABrasil, 2ABrasil, 1ACam, 2ACam, 1AYuc, 2AYuc) están alineadas al marcador de peso molecular. La secuencia del producto de PCR que se amplificó del gen COI a través de la extracción de ADN total de *Oenomaus ortygnus* Cramer. concuerdan con las registradas en el (GenBank, 2019). Al obtener una similitud del 99% (652 pb) con respecto a la accesión de México y del 97% para la de Perú (639 pb). Estas son las únicas secuencias registradas para esta especie tal como lo indican Faynel et al. (2012), al indicar una divergencia del 1.5% entre Perú (CF-LYC-147) y México (CF-LYC-146).

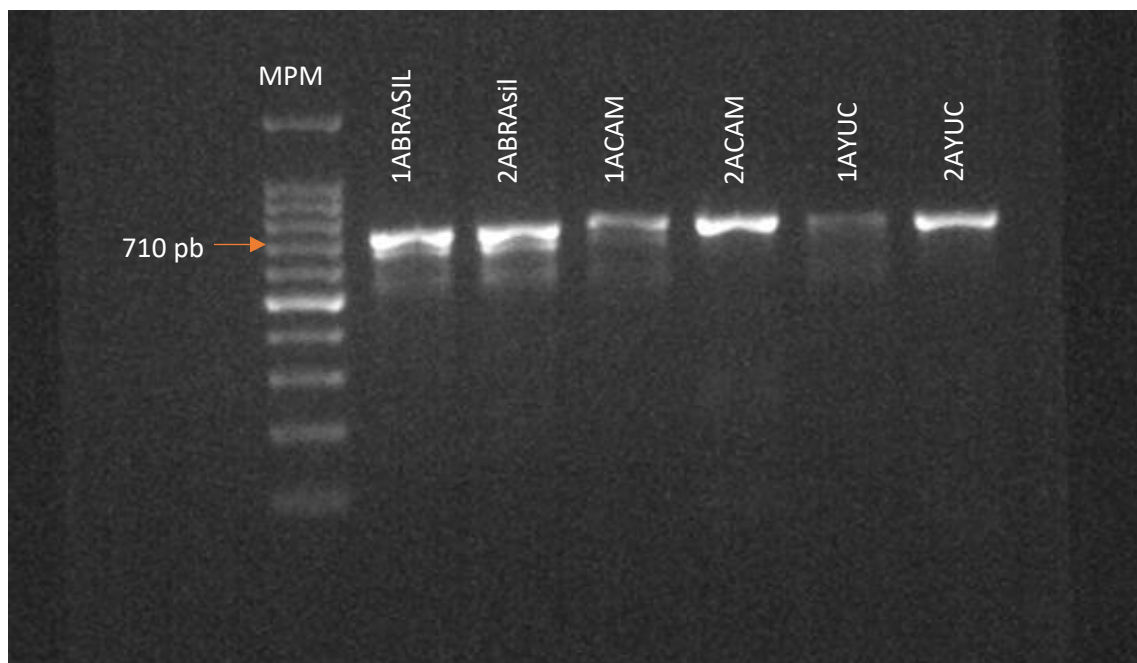


Figura 12. PCR amplificado de las seis accesiones de *Oenomaus ortygnus* Cramer mediante el gel de agarosa.

El complemento de las nueve amplificaciones del producto de PCR son las siguientes accesiones: LYucatan, PYucatan, 1AYucatan y 1ACampeche Figura 13.

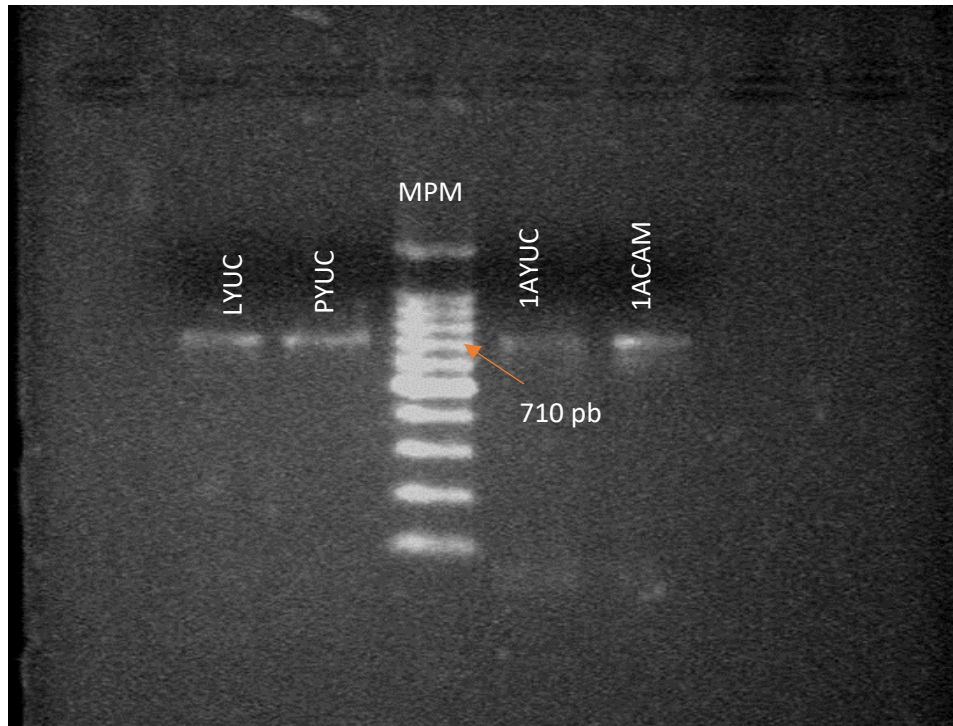


Figura 13. Amplificación de las accesiones LYucatan, PYucatan, 1AYucatan y 1ACampeche

Los resultados de la amplificación en la región del ADNmt de los insectos y la comparación en la base datos (GenBank, 2019) nos permite determinar un mejor diagnóstico molecular de esta especie. Sin embargo, los estudios filogenéticos nos proporcionan mayor confiabilidad. por lo que es importante indicar que el diagnóstico de diversas técnicas como la caracterización morfológica y molecular sirven para realizar la identificación de diversas especies plagas, tales como la amplificación de regiones del Citocromo Oxidasa Subunidad I COI ADNmt. La reconstrucción del análisis filogenético permitió agrupar a las accesiones de *Oenomas ortygnus* Cramer: PYucatan, LYucatan, 1AYucatan, 2AYucatan, 2ACampeche, 3ACampeche con la accesión reportada JX458738 *Oenomaus ortygnus* Cramer México, de igual manera la accesión JX458733 *Oenomaus*

ortygus Cramer Perú, (Faynel et al. 2012), se ajustaron a las accesiones 1ABrasil y 2ABrasil. Sin embargo, la accesión 1ACampeche, se encontró emparentada con el 71% a la accesión 1ABrasil, Figura 14. De igual manera Robbins, (2004) menciona que las características morfológicas que presentan nos ayudan para establecer enlaces filogenéticos entre especies y géneros.

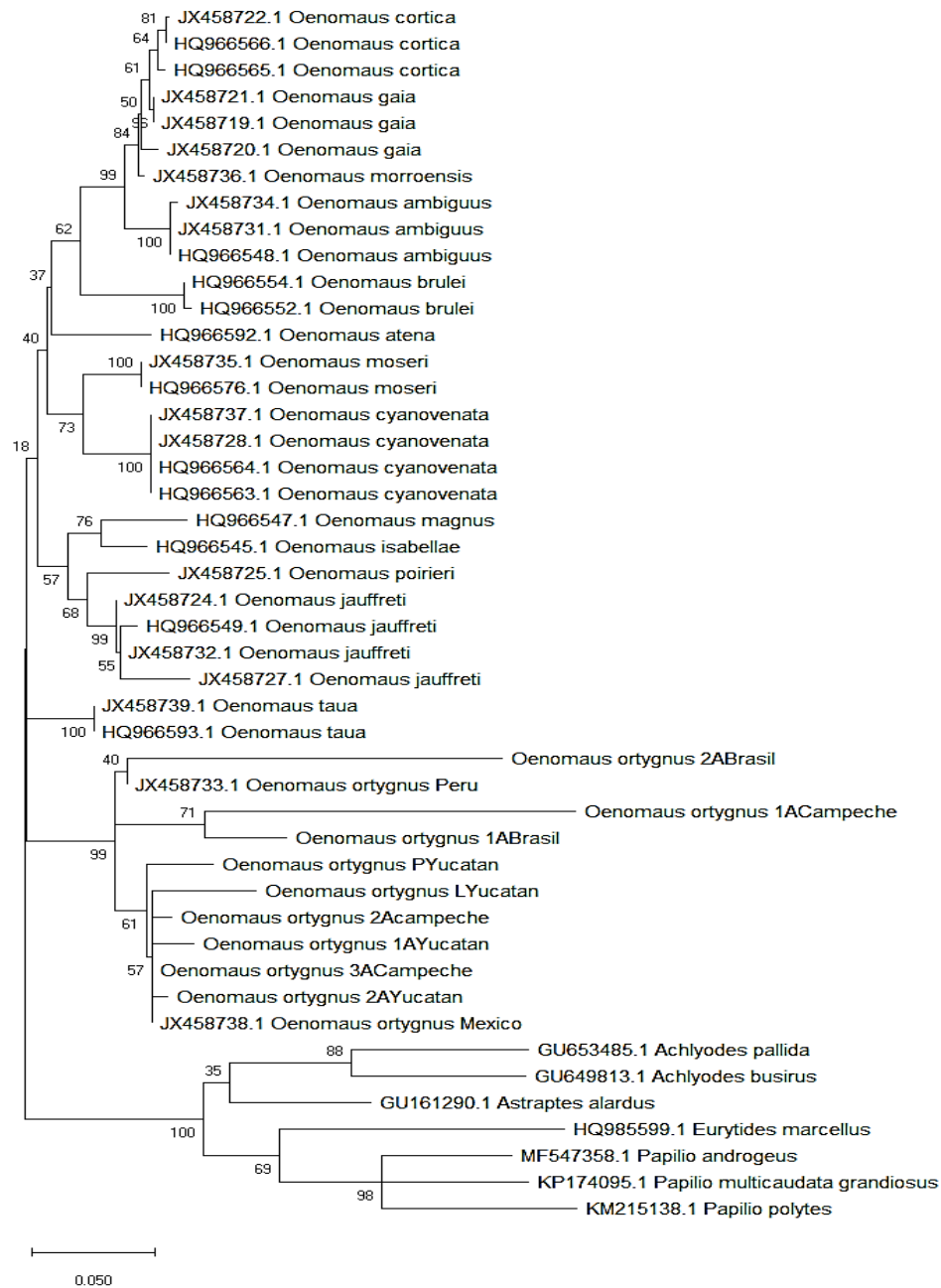


Figura 14. El análisis filogenético molecular del gen COI de *Oenomaus ortygus* Cramer. Método de Máxima Verosimilitud. El árbol de las secuencias consenso Bootstrap se infirió a 1000 repeticiones

4.4 CONCLUSIONES

La identificación del barrenador de la guanábana mediante aspectos morfológicos y moleculares coincide con la especie *Oenomaus ortygnus* Cramer plaga ampliamente distribuida y adaptada en las 12 entidades productivas en México y en otros países como Brasil.

La caracterización morfológica de (larva, pupa y adulto) de *Oenomaus ortygnus* Cramer sirvió de base para realizar el diagnóstico molecular de nueve accesiones de los adultos y se logró compararlos con el GenBank, 2019, el cual indicó que existe un porcentaje de similitud del 99% para la accesión de México (CF-LYC-146) y 97 % Perú (CF-LYC-147).

Mediante el análisis filogenético se comprobó la identificación de la especie *Oenomaus ortygnus* que está presente en tres zonas productoras, y están ubicadas geográficamente dos en México y una en Brasil.

4.5 LITERATURA CITADA

- Alejos-Velazquez, L. P., Aragón-Martínez, M. del C. y A. Cornejo-Romero. (2010). Extracción y purificación de ADN. Pp. 1–26. *In*: Cornejo-Romero, A., Serrato-Díaz, A., Rendón-Aguilar, B. y M. G. Rocha-Munive (Comps.). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y práctico. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales e Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.
- Altschul, S. F., Gish, W. W., Miller, E., Myers, W. and Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3): 403-410.
- Becerra, L.E.N. y Rosas, G.X. (2015). Manejo integral de plagas y enfermedades del guanábano. En: González-Esquinca, A.R., Luna-Cazáres, L.M., Gutiérrez-Jiménez, J., Schlie-Guzmán, M.A., Vidal-López, D.G. (Eds), Anonáceas: Plantas antiguas. Estudios recientes. Parte 2. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (Universidad Editora). pp. 173-192.
- Castañeda- Vildozola, A., C. Nava-Díaz, M. Duarte, O. Franco-Mora and L.M. Hernández-fuentes. (2011). New host plant records for *Oenomaus ortygnus* (Cramer) Lepidoptera: Lycaenidae) in Mexico. *Neotrop. Entomol.* 40(4): 512-514.
- Coto, D. A. y J. L. Saunders. (2001). Insectos plaga de la guanábana (*Annona muricata*) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas* 61:60-68.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. (1990). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19:11-15.
- Duarte, M., R. K. Robbins, and O. H. H. Mielke. (2005). Immature stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1877) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with notes on rearing detritivorous hairstreaks on artificial diet. *Zootaxa* 1063: 1–31.
- Fennah RG (1937) Lepidopterous pests of the sour-sop in Trinidad. (2) *Thecla ortygnus* Cramer. *Trop Agric* 14: 244-245.
- Faynel C, (2003). Cinq années d'observation sur les Theclinae de Guyane française (Lepidoptera, Lycaenidae). *Bulletin des Lepidopteristes Parisiens*, hors-serie: Lepidopteres de Guyane, P49-62.
- Faynel C (2006). Le genre *Oenomaus* Hübner, 1819, en Guyane Française (Lepidoptera, Lycaenidae). *Bull Soc Entomol Fr* 111: 137-156.
- Faynel C (2008). Le genre *Oenomaus* Hübner, 1819, en Guyane Française. 2e partie (Lepidoptera, Lycaenidae). *Bull Soc Entomol Fr* 113: 15-32.
- Faynel C, Moser A (2008). The neotropical genus *Oenomaus* Hübner with the description of eight new species belonging to the atena group (Lepidoptera, Lycaenidae). *Lambillionea*, 108(2): Supplément I, 36 pp

- Faynel, C., Busby, R. C., & Robbins, R. K. (2012). Review of the species level taxonomy of the neotropical butterfly genus *Oenomaus*. 45, 11–45. <https://doi.org/10.3897/zookeys.222.3375>
- Folmer, O., Black, W., Hoeh, R. and R. Vrijenhoek. 1(994). ADN primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marina Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299.
- Hernández, L. M., Gómez, R., & Agustín, J. A. (2013). Importancia, Plagas Insectiles Y Enfermedades Fungosas Del Cultivo Del Guanábano.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, and J. R. de Waard. (2003). Biological identification through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B*. 270: 313-321.
- Hernández FLM, Valdéz CJM, Urías LMA, Gómez JR. (2015). Identificación y fluctuación poblacional de *Godonta pyrgo* (Lepidoptera: Noctuidae) en *Annona muricata*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 1001–1012.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, and Tamura K (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* **35**:1547-1549.
- Lunt, D. H., Zhang, D. X., Szymura, J. M. and G. M. Hewitt. (1996). The insect Cytochrome Oxidase I gene: Evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology*, 5(3): 153–165.
- Morton J., (1987). - Soursop., p. 75-80. In: Fruits of warm climates. Miami, FL.
- NCBI. (National Center for Biotechnology Information). (2019). Gen Bank. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> Last checked: june 20th 2019.
- Pereira M.J.B. & Anjos N., (1998). - Ocorrência de *Cyclocephala* sp. (Coleóptera: Scarabaeidae) e *Tecla ortygnus* Cramer (Lepidoptera: Lycanidae) em flores de graviola (*Annona muricata* L.) no Estado de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro De Entomology, 17, 1998, Rio de Janeiro-RJ. Sociedade Brasileira de Entomología, 1998. v. 1, p. 123.
- Robert, C. E. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792-1797.
- Robbins RK (2004) Eumaeini. In: Lamas G (Ed) Checklist: Part 4A. Papilionoidea - Hesperioidea. In: Heppner JB (Ed) Atlas of Neotropical Lepidoptera Scientific Publishers, Gainesville
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2019). Consultado el 28-09-2019. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>
- Tamura, K. and Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial ADN in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.