



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**EFFECTO DE LA IRRADIACIÓN EN
PARÁMETROS DE CALIDAD Y
FERTILIDAD DE *Drosophila
suzukii* MATSUMURA (DIPTERA:
DROSOPHILIDAE)**

VÍCTOR MANUEL GUTIÉRREZ PALOMARES

T...E...S...I...S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

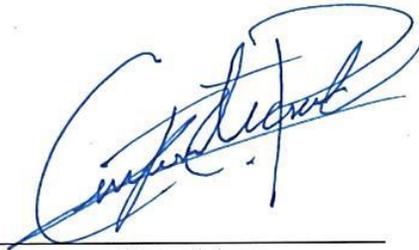
2019

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Víctor Manuel Gutiérrez Palomares, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Juan Cibrián Tovar, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Efecto de la irradiación en parámetros de calidad y fertilidad de *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae)

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 4 de julio de 2019



Firma del
Alumno (a)



Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Efecto de la irradiación en parámetros de calidad y fertilidad de *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae)** realizada por el alumno: **Víctor Manuel Gutiérrez Palomares** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

FITOSANIDAD
MAESTRO EN CIENCIAS
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

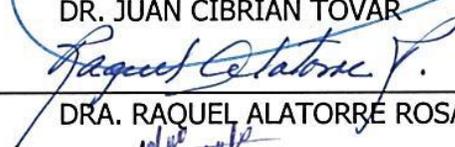
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



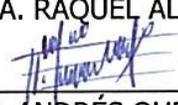
DR. JUAN CIBRIÁN TOVAR

ASESOR (A)



DRA. RAQUEL ALATORRE ROSAS

ASESOR (A)



DR. ANDRÉS QUEZADA SALINAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2019

EFFECTO DE LA IRRADIACIÓN EN PARÁMETROS DE CALIDAD Y FERTILIDAD DE

Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae)

Víctor Manuel Gutiérrez Palomares, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

La mosca del vinagre de alas manchadas (*Drosophila suzukii* Matsumura), es una plaga regulada para México, considerando el daño económico que causa en los diversos cultivos hospedantes. Las exigencias de los mercados nacionales e internacionales, en productos de exportación, son cada vez más altas y recomiendan el cumplimiento de medidas de mitigación de *D. suzukii* en campo que minimicen el uso de productos químicos. Por ello, es necesario evaluar medidas alternativas que sean amigables con el ambiente y que puedan usarse dentro de un Manejo Integrado de Plagas (MIP), tales como la Técnica del Insecto Estéril (TIE). En el presente estudio, se evaluó el efecto de la irradiación con Cobalto-60, sobre los parámetros de calidad (emergencia, longevidad y habilidad de vuelo) y de fertilidad en adultos de *D. suzukii*, emergidos de pupas de 5 días de edad criadas en dieta artificial; las dosis evaluadas fueron 0, 60, 70, 80, 90, 180 y 200 Gy ($Gy=1J*Kg^{-1}$). En los parámetros de calidad evaluados entre moscas irradiadas y no irradiadas No se observaron diferencias significativas. Las hembras de *D. suzukii* pre apareadas con machos irradiados y post apareadas con machos fértiles presentan una recuperación paulatina de la fertilidad. Se discuten posibles explicaciones fisiológicas del efecto de la irradiación en las variables de calidad y fertilidad evaluadas. Nuestros datos sugieren que es prometedor aplicar la TIE con *D. suzukii* como un componente dentro de un MIP.

Palabras clave: Mosca, Competitividad, TIE, MIP.

IRRADIATION EFFECT ON QUALITY AND FERTILITY PARAMETERS OF

Drosophila suzukii MATSUMURA (Diptera: Drosophilidae)

Víctor Manuel Gutiérrez Palomares, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

The spotted wing drosophila *Drosophila suzukii* Matsumura, is a regulated pest for Mexico, according to the economic damage that it causes in the different host crops. The demands of national and international markets, in export products, are increasingly high, and require compliance with mitigation measures in the field but minimizing the use of pesticides. Therefore, it is necessary to evaluate alternative measures that are friendly with the environment and be incorporated into an Integrated Pest Management (IPM) program, such as the Sterile Insect Technique (SIT). In this study, the effect of irradiation with Cobalt-60 was evaluated on the quality parameters (emergence, longevity and flight ability) and fertility in *D. suzukii* adults, emerged from 5 days old pupae reared on artificial diet. The evaluated doses were 0, 60, 70, 80, 90, 180, and 200 Gy. No significant differences were observed on the quality parameters evaluated between irradiated and non-irradiated flies. Females of *D. suzukii* confined with irradiated males and post-confined with fertile males show a gradual fertility recovery. Some physiological aspect may explain the effect of irradiation on quality and fertility parameters of *D. suzukii*. Our data suggest that it is promising to apply the SIT with *D. suzukii* as a component within an IPM.

Key words: Fly, Competitiveness, SIT, IPM.

Dedico esta tesis a:

- ✓ Mis Padres Leticia Palomares Bravo y José Manuel Gutiérrez Ruelas por darme todas las herramientas necesarias para cumplir mis metas en la vida;
- ✓ Mi esposa Isabel Díaz Nieves por el amor y ser un gran apoyo en mi vida;
- ✓ Mi hijo Fernando Manuel Gutiérrez Díaz con todo el amor de padre;
- ✓ Mi hermana Deyanira Gutiérrez Palomares y sobrino Jesús Emiliano Gutiérrez Palomares con todo cariño;
- ✓ La familia Díaz Nieves por todo su apoyo;

Agradezco a:

- ✓ Los integrantes de mi consejo particular por todo el apoyo en la revisión y aportaciones a la presente investigación;
- ✓ Al Dr. Héctor González Hernandez por la revisión del documento.
- ✓ Francisco Javier Trujillo Arriaga, Director en Jefe del SENASICA, José Abel López Buenfil, Director del CNRF del SENASICA y Claudio Chavarín Palacio de la UTC del SENASICA, por las facilidades otorgadas para llevar a cabo la presente investigación;
- ✓ A la Agencia Internacional de Energía Atómica por el financiamiento de la presente investigación mediante contrato: 22152;
- ✓ A Miguel Irán Alcérreca Sánchez del Departamento del Irradiador Gamma del Instituto de Investigaciones Nucleares (ININ) de la SENER por las facilidades brindadas para la irradiación del material;
- ✓ Al Colegio de Postgraduados por todo el apoyo recibido como estudiante de maestría.

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1.- Taxonomía de <i>Drosophila suzukii</i>	5
2.2.- Morfología	5
2.3.- Biología	6
2.4.- Daños.....	7
2.5.- Hospedantes	7
2.6.- Distribución	9
2.8.- Técnica del Insecto Estéril (TIE)	9
2.9.- Objetivo General:	18
2.10.- Hipótesis de trabajo:	19
3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1.- Obtención de especímenes de <i>D. suzukii</i>	20
3.2.- Irradiación de pupas de <i>D. suzukii</i>	22
3.3.- Tiempo de emergencia y longevidad	24
3.4.- Habilidad de vuelo.....	26
3.5.- Fertilidad	28
3.6.- Análisis Estadístico.	29
4.- RESULTADOS.....	31
4.1.- Tiempo de Emergencia y longevidad.	31
4.2.- Habilidad de vuelo.....	34
4.3.- Fertilidad de la hembra de <i>D. suzukii</i>	35
5.- DISCUSIÓN	39
6.- LITERATURA CITADA.....	45

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.- Superficie (ha), producción (ton) y valor de la producción en el año 2018, de los hospedantes de <i>Drosophila suzukii</i> en México.	8
Cuadro 2 Media del tiempo de longevidad en horas y en días de adultos de <i>Drosophila suzukii</i> en condiciones de agua y alimento.	31
Cuadro 3. Media de adultos emergidos y longevidad de adultos de <i>Drosophila suzukii</i> emergidos de pupas de 5 días de edad irradiadas a diferentes dosis con Cobalto-60.....	34
Cuadro 4. Media de adultos voladores de <i>Drosophila suzukii</i> emergidos de pupas de 5 días de edad irradiadas a diferentes dosis con Cobalto-60.....	35

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Producción (ton) de los hospedantes de *Drosophila suzukii* en México, durante el periodo 2008-2017. Fuente: SIAP-SADER, 2019..... 9
- Figura 2.** Dispositivos empleados para la cría de *Drosophila suzukii* en dieta artificial modificada de Schlesener et al., (2017). Créditos: UTC-CNRF, 2018. ... 21
- Figura 3.** Pupas de *Drosophila suzukii* en cajas Petri con papel humedecido para su transporte al ININ. Créditos: UTC-CNRF, 2018..... 22
- Figura 4.** Irradiador gamma LGI-01, Transelektro (ININ-SENER). Créditos UTC-CNRF, 2018. 23
- Figura 5.** Cajas de Petri para la evaluación de longevidad en condiciones de agua y alimento. Créditos; UTC-CNRF, 2018 25
- Figura 6.** Rejilla rejilux de $\frac{3}{4}$ con 100 pozos para las pruebas de emergencia y longevidad. Créditos; UTC-CNRF, 2018. 26
- Figura 7.** Tubos de PVC negros para la evaluación de la habilidad de vuelo. Créditos; UTC-CNRF, 2019..... 27
- Figura 8.** Clasificación de moscas de *Drosophila suzukii*, con base en los resultados obtenidos en la prueba de habilidad de vuelo. Créditos: UTC-CNRF, 2019. 28
- Figura 9.** Parejas de *Drosophila suzukii* confinados en viales de plástico con dieta artificial. Créditos: UTC-CNRF, 2019. 29
- Figura 10.** Media de pupas producidas por hembras fértiles y vírgenes de *Drosophila suzukii* apareadas con machos irradiados (0, 60, 70, 80, 90, 180 y 200 Gy) en el periodo 1 (a) y post apareadas con machos fértiles durante el Periodo 2 (b), Periodo 3 (c), y Periodo 4 (d). Las letras iguales en la parte superior de las barras de cada gráfico no presentan diferencia estadística significativa (TUKEY P < 0.05). 38

1.- INTRODUCCIÓN

Drosophila suzukii Matsumura (Diptera: Drosophilidae), comúnmente referida como “mosca del vinagre de alas manchadas” y en inglés se conoce como “Spotted Wing *Drosophila* (SWD)” es un insecto plaga polífago nativo del suroeste de Asia (Cini *et al.*, 2012). En los últimos años se reporta como una plaga agrícola invasiva en Norte América, América del Sur y Europa (Walsh *et al.*, 2011; Depra *et al.*, 2014). Esta especie afecta los programas de manejo integrado de plagas establecidos en los cultivos hospedantes y requiere de esfuerzo y financiamiento para minimizar su efecto negativo (Asplen *et al.*, 2015).

Algunos de los hospedantes reportados son: zarzamora, arándano, cereza, uva, durazno, frambuesa y fresa (Bellamy *et al.*, 2013), todos los cuales se presentan en México. Con base en las variables bioclimáticas de temperatura y precipitación de las regiones geográficas donde estos cultivos, *D. suzukii*, tiene un amplio potencial de distribución, principalmente en la zona Centro y Oeste de México (Castro-Sosa *et al.*, 2017).

Los reportes indican que hasta el 2018, *D. suzukii* se encontraba presente en nueve entidades de México (Michoacán, Jalisco, Baja California, Aguascalientes, Guanajuato, Estado de México, Querétaro, Coahuila y Veracruz); sin embargo, en las zonas donde aún no está presente, es de suma importancia implementar medidas de manejo para evitar su establecimiento (Lasa y Tadeo, 2015; SEGOB, 2015; García-Ávila *et al.*, 2016; SENASICA, 2019).

Drosophila suzukii, es una plaga de importancia con características biológicas y de dispersión excepcionales, que contribuyen a su establecimiento y persistencia en diferentes áreas geográficas. Este hecho, combinado con su comportamiento polífago (Nikolouli *et al.*, 2017), sugiere la necesidad de incorporar diferentes estrategias de manejo (Young *et al.*, 2018).

Dentro de los programas de control químico para *D. suzukii*, se incluye el uso de insecticidas de los grupos piretroides, organofosforados y espinosinas (Haviland y Beers 2012; Van Timmeren e Isaac 2013). No obstante, lo corto del ciclo de vida y alta fecundidad de *D. suzukii*, así como a las limitadas opciones de control químico en las principales regiones productoras de frutillas, representa un reto para el manejo de la resistencia, por lo que surge la necesidad de incorporar un enfoque no-químico dentro de un MIP, especialmente en producciones orgánicas (Van Timmeren e Isaac 2013; Asplen *et al.*, 2015).

En este sentido, el desarrollo de alternativas al control químico, tales como la TIE, para el manejo de *D. suzukii*, como un componente de un enfoque MIP, se espera que éste contribuya significativamente para el manejo de poblaciones, especialmente en invernadero y otras áreas confinadas (Nikolouli *et al.*, 2017). Algunos estudios se han realizado para incorporar esta tecnología para el manejo de *D. suzukii* (Lanouette *et al.*, 2017; Nikolouli *et al.*, 2017; Krüger *et al.*, 2018a; Krüger *et al.*, 2018b).

La técnica del insecto estéril (TIE), es el enfoque más prometedor y sustentable para el control de las poblaciones de *D. suzukii*, que puede reducir el número de descendientes en las poblaciones de este insecto plaga, incluso durante la fase de maduración y de cosecha tardía del cultivo, cuando los insecticidas químicos tradicionales son menos efectivos (Schetelig *et al.*, 2018) debido al corto tiempo de oviposición de huevos de *D. suzukii* y por la afectación de insectos benéficos (Haviland y Beers, 2012). De esta forma, la implementación de la TIE contra *D. suzukii* presenta beneficios potenciales en términos de proveer alternativas en las estrategias de manejo (Krüger *et al.*, 2018a).

Los Programas TIE (Knipling, 1955) necesitan asegurar que, los machos estériles una vez en el campo, competirán de manera efectiva con los machos silvestres, que copularán con la hembra silvestre y transferirán de manera exitosa su esperma, con lo cual se podrán reducir las poblaciones de *D. suzukii* en las áreas objetivo, al reducir la producción de descendientes (Lanouette *et al.*, 2017; Nikolouli *et al.*, 2017). La competencia del macho por la hembra debe ser constante, debido a que una hembra apareada previamente con un macho estéril, podría recuperar la fertilidad después de reaparearse con machos fértiles (Krüger *et al.*, 2018a).

El efecto de la irradiación en *D. suzukii* ha sido evaluado por diversos autores (Follet *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016; Lanouette *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2018; Krüger *et al.*, 2018a; Krüger *et al.*, 2018b). En hembras adultas, emergidas de pupas de *D. suzukii*, tratadas a diferentes dosis de irradiación, Lanouette *et al.*, (2017), reportaron una

eclosión de huevos del 4% a partir de hembras fértiles apareadas con machos irradiados a 120 Gy; los rangos de emergencia, porcentaje de moscas deformes y curvas de sobrevivencia, no se vieron afectadas a las dosis evaluadas. La irradiación con rayos X en pupas de *D. sukii* a 150 Gy, ocasionó el 100% de esterilidad en el adulto (Kim *et al.*, 2016), por su parte, Krüger *et al.*, (2018a), obtuvieron una esterilidad del macho de 99.67%, a 200 Gy y no detectaron evidencia significativa de que la dosis de irradiación afectara los porcentajes de emergencia, habilidad de vuelo y proporción sexual. Por lo anterior, la dosis óptima de irradiación para implementarse en un programa TIE, es un paso crucial que requiere una evaluación cuidadosa bajo condiciones de laboratorio (Lanouette *et al.*, 2017).

El objetivo del presente estudio fue evaluar los parámetros de calidad tales como la emergencia, longevidad, habilidad de vuelo y fertilidad de adultos de *D. sukii*, emergidos de pupas de 5 días de edad, irradiadas con Cobalto-60, en las condiciones del Valle Central de México.

2.- REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Taxonomía de *Drosophila suzukii*

Dominio: Eukaryota

Reino: Metazoa

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Uniramia

Clase: Insecta

Orden: Diptera

Familia: Drosophilidae

Género: *Drosophila*

Especie: *Drosophila suzukii* Matsumura (CABI, 2019)

2.2.- Morfología

Los huevos son semitransparentes de color blanco y brillante, con una transparencia que se incrementa hasta que la larva desarrollada esta visible; la larva es de un color blanco, con sus órganos internos visibles y aparato bucal negro; la pupa es amarilla gris, con pupario suave, que posteriormente se torna de color café; la longitud total del adulto es de 2-3 mm, con ojos rojos, el tórax es café pálido o café amarillento, en el abdomen presenta líneas negras y los machos presentan una mancha negra distinguible cerca del margen de cada ala (Kanzawa, 1939).

Las características morfológicas son compartidas con más de 100 especies (Escudero-Colomar, 2014). Sin embargo, Miller *et al.*, (2017), elaboraron una clave para identificar las moscas del género *Drosophila* presentes en Norte América, en la cual mencionan las características siguientes: los machos de *Drosophila suzukii*; 2-4 terguitos amarillentos, con una línea obscura que no se interrumpe en las bandas posteriores; terguitos 5 y 6, completamente oscuros o amarillentos; el tarso presenta un peine en el primer y segundo tarsomero anterior, el peine del primer tarsomero anterior está compuesto de 2-3 dientes; el ala puede o no presentar un oscurecimiento en las venas R2+3 y R4+5. La hembra presenta terguitos amarillentos con una banda oscura que no se ve interrumpida en la banda posterior, ala hialina y presenta un largo, oscuro y aserrado ovipositor.

2.3.- Biología

El rango más alto de reproducción intrínseca y de incremento poblacional de *D. suzukii* se presenta a una temperatura de 22°C. Las temperaturas para que se lleve a cabo el desarrollo son 7.2°C como mínima, 28.1°C como óptimo y 42.1°C como máxima (Tochen *et al.*, 2014).

La oviposición se lleva a cabo principalmente en los frutos al inicio del cambio de coloración de la fruta y son pocos los huevos ovipositados en frutos inmaduros (Lee *et al.*, 2011). En promedio cada hembra oviposita 384 huevos, con un promedio entre 7-16

al día. El huevo eclosiona dentro del fruto y después de 2 a 72 horas emerge la larva, ésta pasa por 3 instares y después de un periodo de 3 a 13 días, pasa al estado de pupa, la cual se puede encontrar en el fruto o en el suelo y después de un periodo de 3 y 15 días, emerge el adulto. De esta forma, el ciclo de vida de *D. suzukii* se completa entre 21 y 25 días a temperaturas de 15°C y entre 9-11 días a temperaturas de 25°C (Kanzawa, 1939; Walsh *et al.*, 2011). En México, el ciclo de vida de *D. suzukii* dura entre 11.05 - 21.33 días de acuerdo al hospedante; 1.96-5.33 dura el huevo, 4.26-8.00 la larva y 4.38-8.00 la pupa, a una temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y $40 \pm 5\%$ de humedad relativa (Gonzalez-Cabrera *et al.*, 2018).

2.4.- Daños

Los síntomas característicos del daño ocasionado por *D. suzukii* en los frutos hospedantes debido al proceso de alimentación, se manifiestan como un cambio a color café, también se presenta ablandamiento y hundimiento en ciertas áreas, lo que afecta su comercialización y crea la oportunidad para el desarrollo de plagas secundarias, tales como otras drosophilas y de infección por bacterias y hongos fitopatógenos (Walsh *et al.*, 2011).

2.5.- Hospedantes

Algunos de los hospedantes reportados son la zarzamora (*Rubus* spp.), arándano (*Vaccinium* spp.), cereza (*Prunus avium*), vid (*Vitis vinifera*), durazno (*P. persica*), frambuesa (*Rubus* spp.) y fresa (*Fragaria* spp.) (Bellamy *et al.*, 2013). Los cuales,

cuentan con su conjunto con una superficie sembrada de 101,984.04 hectáreas con una producción de 1,665,476.58 toneladas lo que representa un valor de 38,472,631,980 de pesos (Cuadro 1), asimismo, durante los últimos 10 años se presentó un incremento en la producción del conjunto de estos cultivos de 799,279.57 toneladas en el 2007 a 1,665,476.58 en el 2017 (Fig. 1).

Cuadro 1.- Superficie (ha), producción (ton) y valor de la producción en el año 2018, de los hospedantes de *Drosophila suzukii* en México.

Hospedante	Superficie sembrada (ha)	Producción (ton)	Valor de la Producción (Miles de pesos)
arándano	3,642.45	36,699.70	2,150,199.07
cereza	31.0	72.22	4,930.54
durazno	31,281.22	163,795.96	1,340,831.81
frambuesa	6,649.40	120,184.24	4,496,484.53
fresa	13,850.78	658,435.89	12,642,379.86
vid	33,713.64	415,889.20	7,279,736.80
zarzamora	12815.55	270,399.37	10,558,069.37
Total	101,984.04	1,665,476.58	38,472,631.98

Fuente: SIAP-SADER, 2019 Datos del ciclo anual 2017.

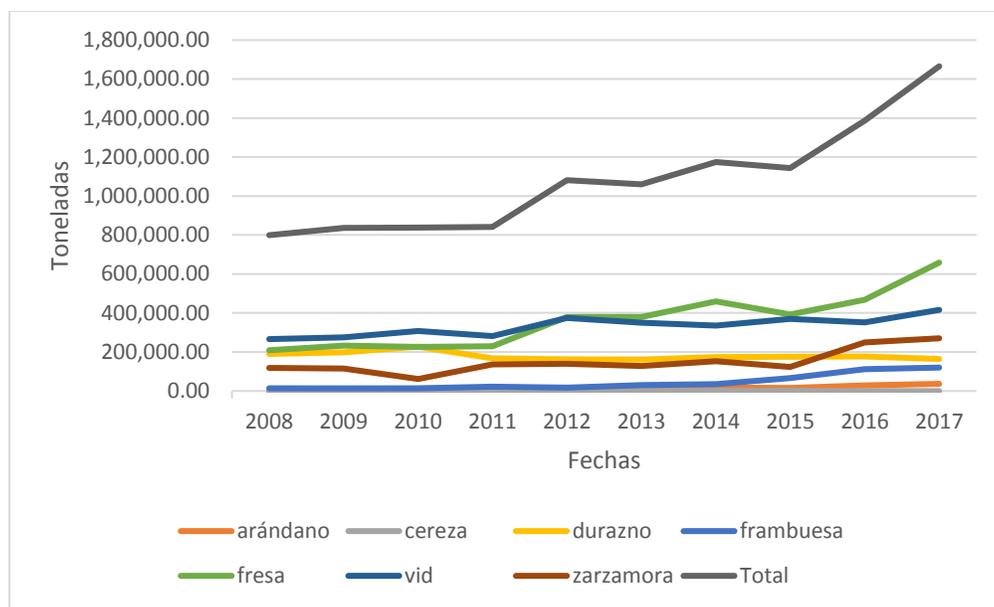


Figura 1. Producción (ton) de los hospedantes de *Drosophila sukuzii* en México, durante el periodo 2008-2017. Fuente: SIAP-SADER, 2019.

2.6.- Distribución

De acuerdo con Asplen *et al.*, (2015), *D. sukuzii* se presenta en Asia, Europa y América, continentes donde se le considera la principal plaga insectil en frutillas y frutos de hueso.

2.8.- Técnica del Insecto Estéril (TIE)

Knipling y su equipo (1985), explotaron el descubrimiento de H. J. Muller de que la radiación ionizante puede inducir mutaciones letales dominantes y después de la Segunda Guerra Mundial, este enfoque se aplicó para erradicar al gusano barrenador *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) en los Estados Unidos de América, México y Centroamérica (Vargas-Teran *et al.*, 2005).

A partir del éxito con *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel), se han montado programas muy efectivos que integran la TIE contra varias especies de moscas de la fruta, algunas especies de moscas tse tse *Glossina spp.*, gusano rosado del algodón *Pectinophora gossypiella* (Saunders) y la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* (L.) (Klassen y Curtis, 2005).

En Países Bajos, el gusano de la cebolla *Delia antiqua* (Meigen) ha sido suprimido desde 1981 mediante la TIE, en la década de 1970, se realizó investigación sobre la TIE del mosquito (*Anopheles spp.*, *Culex spp.* y *Aedes spp.*), contra el picudo *Anthonomus grandis* Boheman y la palomilla gitana *Lymantria dispar* (L.), en proceso de desarrollo para el gusano de la papa *Cylas formicarius* (F.) y *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire), la falsa palomilla *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick), la palomilla *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller), la palomilla del nopal *Cactoblastis cactorum* (Berg), el gusano barrenador *Chrysomya bezziana* (Villeneuve), además de *Glossina spp.*, otras especies de moscas de la fruta de los géneros *Anastrepha* y *Bactrocera*, así como de otros insectos plaga (Klassen y Curtis, 2005).

2.8.1. Situación de la TIE en México

La TIE se aplica en México desde 1979, para el control de la mosca del mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) (Enkerlin, 2005); en 1994 inició su aplicación contra la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew) (Reyes *et al.*, 2000) y en el 2001 se implementó contra la mosca del mango *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Artiaga *et al.*, 2004).

En México, la implementación de la TIE contra moscas de la fruta nativas, se lleva a cabo mediante la producción de 175 millones/semana de *Anastrepha ludens* y 40 millones/semana de *A. obliqua*, en la Planta Moscafrut, localizada en Metapa de Domínguez, Chiapas (Gutiérrez, 2010).

Establecer un programa de manejo integrado de moscas de la fruta bajo el concepto de “Áreas amplias”, donde se integre la Técnica del Insecto estéril, es un pilar fundamental para alcanzar el reconocimiento de áreas libres que permitan la exportación de productos frutícolas sin restricciones cuarentenarias (Gutiérrez, 2010).

2.8.2.- Radiación

La materia está constituida por átomos, conformados por un núcleo compuesto de protones, con carga positiva y neutrones sin carga alguna. El núcleo atómico está a su vez, rodeado por capas de electrones con carga negativa, en cantidad que equilibra la carga positiva del núcleo. En función del balance en el número de protones y neutrones, que un núcleo atómico contiene, existen átomos inestables que emiten espontáneamente partículas cargadas (partículas alfa y beta), neutras (neutrones) o fotones de alta energía (rayos X y gamma), a fin de transformarse en un ente más estable. A esta transformación espontánea de algunos átomos (Uranio-238, Uranio-239, Plutonio, Polonio, Radio, Torio, Radón, Protactinio, Carbono-14, Cobalto-60, Yodo-131, Hidrógeno-3, etc.), se le conoce como radiactividad y a las partículas o rayos emitidos, radiaciones (IAEA, 2004).

La radiación es una forma de manifestación de la energía que se transmite a través del espacio en forma de partículas u ondas electromagnéticas (como la luz, el calor, las microondas, los rayos X y los rayos gamma). Cuando la radiación tiene la energía suficiente para provocar cambios en los átomos de la materia con que interacciona, se llama radiación ionizante (Rangel 2019). La ionización del tejido vegetal en algunos casos y de acuerdo a la dosis ocasiona cambios químicos que se reflejan en efectos biológicos dañinos al organismo (IAEA, 2004).

2.8.3.- Principios

De acuerdo a Liedo *et al.*, (2010) la TIE está basada en la regulación de la cantidad de radiación sobre pupas de moscas de la fruta y de otras especies de insectos objetivos para lograr la producción de insectos estériles, de una gran cantidad de especie objetivo, en plantas de cría masiva, utilizando dietas artificiales. Los insectos producidos, son esterilizados mediante radiaciones ionizantes. Inicialmente se utilizaron rayos-X, posteriormente se utilizaron radiaciones gamma a partir de Cobalto 60 o Cesio 137, por representar estas fuentes, un menor riesgo en la operación y mayor efectividad en la esterilización (Liedo *et al.*, 2010).

2.8.4.- Modo de acción de la TIE

Los insectos estériles son liberados en el mismo ambiente donde se localiza la población plaga (Liedo *et al.*, 2010). Se debe liberar un número de insectos estériles lo

suficientemente grande que asegure que la mayoría de los individuos de la población silvestre se apareará con los insectos estériles, reduciendo así, la producción de progenie. Generalmente es necesario hacer liberaciones continuas del mismo número de insectos estériles, de tal manera que la relación de estériles a silvestres, vaya aumentando en las generaciones subsecuentes. Conforme la población silvestre va decreciendo, resulta cada vez menos probable que se realicen apareamientos entre individuos silvestres, con lo que se puede controlar efectivamente a la plaga (Liedo *et al.*, 2010).

Para su correcta aplicación, resulta sumamente importante entender que este método de control opera en una relación denso-dependiente inversa, a diferencia de la gran mayoría de otros métodos de control que operan en una relación denso-dependiente. Es decir, en la TIE, en la medida en que disminuye la densidad de la población, aumenta su eficiencia, mientras que en otros métodos de control, como el control químico y el biológico, en la medida en que disminuye la densidad, también disminuye la eficiencia (Liedo *et al.*, 2010).

2.8.5.-Calidad de los insectos

De acuerdo con lo mencionado por Enkerlin (2005), la TIE permite tener una relación costo-supresión efectivo, prevención y erradicación de la plaga objetivo. En este sentido, la meta más importante en la aplicación de esta técnica es producir y liberar

suficientes adultos estériles de óptima calidad, para competir con los adultos silvestres y lograr suprimir o llegar a erradicar las poblaciones de la plaga (Domínguez *et al.*, 2010).

Uno de los factores que influyen en la calidad del insecto utilizado en la TIE es la calidad de los ingredientes en la dieta larvaria (Domínguez *et al.*, 2010). Un segundo factor es la dosis de radiación, misma que tiene un efecto significativo en el comportamiento sexual del espécimen tratado, como lo menciona Orozco-Davila *et al.*, (2015) en el macho de moscas de la fruta *A. ludens*, donde también llega a afectar su capacidad de apareamiento, misma que resulta inversamente proporcional a la dosis de radiación.

La radiación, es usualmente el último procedimiento al que es sometido el insecto antes de su liberación en campo y es importante que éste sea aplicado de una forma que minimice los efectos detrimentales en la competitividad del insecto (Robinson, 2005). En este sentido, para el factor de afectación por radiación, se han hecho estudios en dípteros esterilizados mediante radiación, con la finalidad de medir los aspectos de competitividad. Meriem *et al.*, (2011), encontraron que para *Ceratitis capitata*, la dosis de radiación tiene una relación lineal con la competitividad y la fertilidad. Kraaijeveld y Chapman (2004) registraron un menor número de cortejos y apareamientos, así como una significativa disminución de la receptibilidad de la hembra hacia machos estériles, en comparación con los machos fértiles, lo que representa un problema significativo para los programas de TIE. Por lo anterior se han desarrollado cepas genéticas como la VIENNA-8, misma que en la generación F10 ha resultado ser igual de competitiva que

un espécimen silvestre, con el beneficio potencial para incorporar cepas novedosas que hagan más eficiente a la TIE (Rempoulakis *et al.*, 2016).

Estudios realizados por Rull *et al.*, (2007) en la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew), reportaron una inducción de esterilidad de más del 95% a dosis de 40, 60 y 80Gy.

Para el caso de *Anastrepha obliqua* (Macquart), Toledo *et al.*, (2004) obtuvieron índices de esterilidad en machos irradiados a 25Gy superiores al 98.2%, la eclosión de los huevos fue inhibida en machos irradiados a dosis menores de 20Gy apareados con hembras fértiles. Además observaron que a dosis mayores a los 25Gy, hay una tendencia a la baja en la habilidad de vuelo y un incremento en la mortalidad, la inducción de esterilidad fue dos veces mayor en machos irradiados a 40Gy, en comparación con 80Gy, cuando se utilizó una relación de 3:1:1 macho estéril, macho fértil, hembra fértil.

El término “Control de Calidad” en una cría masiva se refiere a la capacidad de criar y liberar masivamente insectos estériles capaces de competir sexualmente con individuos silvestres de la misma especie (Boller *et al.*, 1981).

El objetivo principal del control de calidad es detectar cualquier cambio significativo en los insectos criados, dar un diagnóstico para que el proceso de producción corrija y asegure que los machos estériles interactúen exitosamente con las hembras de las poblaciones silvestres (FAO/IAEA/USDA 2003).

Para ello, debe establecerse una serie de procedimientos metódicos de medición continua, no solamente del producto final, si no para cada una de las etapas del proceso de producción del insecto, para determinar la etapa precisa o los factores que influyen sobre la calidad del insecto producido (Caceres *et al.*, 2007).

Con base en lo descrito por Hernández *et al.*, (2010), dentro de las etapas del proceso de control de calidad se encuentra la evaluación post-irradiación, los parámetros evaluados son los siguientes:

a) Habilidad de vuelo. Determina el porcentaje de emergencia de moscas voladoras y el índice de vuelo, este último valor, indica qué porcentaje de las moscas emergidas son aptas para volar y que tienen posibilidades de competir en el campo. Adultos no voladores y su deformidad, reflejan problemas de manejo en la pupa.

b) Longevidad sin agua y sin alimento. Determina el tiempo promedio de vida del adulto de laboratorio, que puede permanecer sin agua y sin alimento, además de estimar las reservas alimenticias con que cuenta el insecto antes de ser liberado y por ende, la calidad nutrimental del alimento larvario en la dieta.

c) Longevidad con agua y sin alimento. Estima el tiempo que puede sobrevivir el adulto liberado en el campo, suponiendo la obtención de agua. También, funciona como un indicador del mejor tiempo de liberaciones dentro de una misma zona.

d) Proporción sexual. Señala el número de machos y de hembras que se producen en la cría masiva, para estimar la cantidad de machos que son liberados en el campo y conocer la cantidad de hembras que están ovipositando en las jaulas de la colonia.

e) Propensión a la cópula. Determina la capacidad y velocidad de apareamiento de las moscas producidas en el laboratorio de cría masiva, bajo condiciones controladas. Actualmente, es un indicador de la adaptación de la cepa a copular en condiciones de cría masiva.

f) Dosimetría biológica. Señala el nivel de esterilidad inducido por el macho estéril en la hembra fértil.

2.8.6.- Antecedentes de la irradiación en *D. suzukii*

Los primeros estudios del efecto de la irradiación en *D. suzukii* fue bajo el enfoque como tratamiento cuarentenario, donde Follet *et al.*, (2014), encontraron que una dosis de radiación con rayos X de 80 Gy a la pupa, previene de manera exitosa la reproducción del adulto de *D. suzukii* (no presentó sobrevivientes en el estado adulto F1) y concluyeron que este tratamiento es recomendable para su implementación como tratamiento cuarentenario al reducir costos, disminuir o eliminar los efectos adversos de la radiación en la calidad del fruto. Hallman *et al.*, (2016), mencionan que los efectos de la irradiación varían en función de la fuente (nuclear o electromagnética), en una misma especie de insecto plaga.

Dentro de los primeros estudios para incorporar la técnica de insecto estéril en *D. suzukii* como herramienta de manejo, Lanouette *et al.*, (2017) obtuvieron un rango de emergencia del 88.1%, moscas con deformidad de 4% y las curvas de sobrevivencia no se vieron afectadas por la radiación a diferentes dosis de Co-60. Durante el apareo de machos estériles con hembras fértiles, obtuvieron una reducción del 82.6 a 4% en la

eclosión de huevos. Asimismo, concluyen que los datos antes mencionados, son un primer antecedente para la incorporación de la TIE en *D. suzukii*. Krüger *et al.*, (2018a) no encontraron evidencias que los porcentajes de emergencia, habilidad de vuelo y proporción sexual se vieran afectados por efectos de la irradiación a 0, 75, 150 y 200 Gy.

Por todo lo anterior, antes de implementar la TIE, es crucial llevar a cabo más pruebas complementarias, tales como el efecto de la esterilidad en el comportamiento del apareamiento, pruebas en jaulas de campo o invernadero (Krüger *et al.*, 2018a).

2.9.- Objetivo General:

Conocer el efecto de la irradiación sobre parámetros de calidad y fertilidad de adultos de *Drosophila suzukii*

2.9.1- Objetivos específicos:

1. Conocer el efecto de la irradiación sobre el porcentaje emergencia de adultos de *Drosophila suzukii*.
2. Conocer el efecto de la irradiación sobre la longevidad de adultos de *Drosophila suzukii*.
3. Conocer el efecto de la irradiación sobre la habilidad de vuelo de *Drosophila suzukii*.
4. Conocer el efecto de la irradiación sobre la fertilidad de *Drosophila suzukii*.

2.10.- Hipótesis de trabajo:

1. La dosis creciente de irradiación Gamma sobre pupas de *Drosophila suzukii* no ocasiona cambios medibles, sobre las variables de calidad.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Obtención de especímenes de *D. suzukii*.

Los especímenes de *D. suzukii* utilizados en este estudio se obtuvieron de la colonia del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA, en Tecomán, Colima, México y cultivada posteriormente en la Unidad de Tratamientos Cuarentenarios (UTC), del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria del SENASICA, en Tecámac, Estado de México, México. La cría se basó en una dieta artificial modificada de la reportada por Schlesener *et al.*, (2017), la cual incluye harina de maíz (80 g), levadura de cerveza (60 g), azúcar (100 g), agua purificada (1000 mL), agar (5 g), ácido cítrico (3 g), metilparabeno (1 g) y etanol al 99% (10 mL). Durante 24 h se introdujeron 2 cajas Petri de plástico con dieta en jaulas entomológicas de madera cubiertas con tela de organza de 30X30X30, con adultos de *D. suzukii*, posteriormente estas cajas Petri se transfirieron a recipientes de plástico de 1000 mL de capacidad, con tapadera perforada con un orificio de 1 x 1 cm cubierto con tela de organza; estos recipientes se colocaron en la cámara de cría para que los insectos completaran su ciclo biológico hasta obtener pupas, a una temperatura de 22°C ± 3°C y 45% de humedad relativa (HR), con un fotoperiodo de 12:12 h (Luz:Oscuridad) (Figura 2).

En este experimento, se decidió trabajar con pupas de 5 días de edad, para contar con el tiempo de llevar el material a irradiar al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares ININ ubicado en la Carretera México Toluca-La Marquesa s/n, Ocoyoacac,

Estado de México. C.P. 52750 y regresarlo a la UTC en Tecamac, para continuar con los experimentos. La recolecta de pupas se realizó el día previo al evento de irradiación, mediante el lavado y tamizado de la dieta, las pupas fueron distribuidas por tratamiento con base en las dosis de irradiación, en cajas Petri de plástico con una toalla de papel humedecido con agua purificada colocada en la base de la caja, para evitar deshidratación de las pupas, finalmente las cajas fueron selladas del borde con plástico adherible (Figura 3).



Figura 2. Dispositivos empleados para la cría de *Drosophila suzukii* en dieta artificial modificada de Schlesener *et al.*, (2017). Créditos: UTC-CNRF, 2018.



Figura 3. Pupas de *Drosophila suzukii* en cajas Petri con papel humedecido para su transporte al ININ. Créditos: UTC-CNRF, 2018.

Se constató que los especímenes de la cría fueran de *D. suzukii*, mediante la recolecta de adultos en alcohol al 70%, los cuales fueron enviados al laboratorio de Entomología y Acarología y el de Biología Molecular del CNRF, para su identificación morfológica y molecular, respectivamente. La identificación morfológica se basó en las características de la genitalia descritas por Hsu (1949). La identificación molecular se realizó a partir de 12 muestras (seis machos y seis hembras) mediante el método descrito por Doyle y Doyle (1987).

3.2.- Irradiación de pupas de *D. suzukii*.

Las cajas Petri, con pupas de *D. suzukii*, fueron tratadas con un irradiador LGI-01, Transelektro (Figura 4) a una razón de dosis de 749.24 Gy/h, del Departamento del

Irradiador Gamma del Instituto de Investigaciones Nucleares (ININ), ubicado en Ocoyoacac, Estado de México. Las pupas testigo (0 Gy) no recibieron tratamiento, pero también fueron trasladadas al ININ, esto con el fin de uniformizar el efecto del traslado sobre todos los especímenes.

Durante el periodo de abril de 2018, a enero de 2019 se realizaron diferentes repeticiones que permitieron evaluar el efecto de la irradiación, de la forma siguiente: tres eventos de irradiación se llevaron a cabo para evaluar los parámetros de emergencia y longevidad con 2 réplicas de 100 pupas cada una por tratamiento; cuatro eventos de irradiación para el parámetro de recuperación de la fertilidad con 4 réplicas de dos pupas cada una por tratamiento y dos para determinar la habilidad de vuelo con dos réplicas de 100 pupas cada una por tratamiento. Los tratamientos de irradiación fueron de 0, 60, 70, 80, 90, 180 y 200 Gy.



Figura 4. Irradiador gamma LGI-01, Transelektro (ININ-SENER). Créditos UTC-CNRF, 2018.

3.3.- Tiempo de emergencia y longevidad

3.3.1.- Pupas no irradiadas con o sin agua y alimento

Un total de 180 pupas de *D. suzukii* no recibieron irradiación (testigos), las cuales se distribuyeron en tres tratamientos, cada uno con 20 pupas y con tres réplicas; además, esto mismo se repitió con una población diferente de *D. suzukii* en otro tiempo. Las pupas se depositaron en cajas de Petri de vidrio de 100X20 mm, con una toalla sanitaria en el fondo. A las cajas del tratamiento 1 se les adicionaron 50 g de dieta artificial + agua, ésta se proporcionó mediante el humedecimiento de la toalla sanitaria con 3 mL de agua purificada; a las cajas del tratamiento 2, únicamente se les adicionó agua y a las del tratamiento 3 no se les adicionó ni dieta ni agua (Figura 5). Cada 24 h, a las 10:00 am se realizó el conteo de moscas vivas y de moscas muertas, hasta que se registró el 100 % de mortalidad de todas las moscas. Los cálculos de tiempo de emergencia (TE) y longevidad de adultos, se realizaron con base en lo señalado en el Manual de Control de Calidad de Moscas de la Fruta Estériles del género *Anastrepha* (SENASICA, 2012).



Figura 5. Cajas de Petri para la evaluación de longevidad en condiciones de agua y alimento. Créditos; UTC-CNRF, 2018

3.3.1.- Pupas Irradiadas en condiciones sin agua ni alimento

Un total de 1,200 pupas de 5 días de edad de *D. suzukii* fueron irradiadas por separado con los diferentes tratamientos y en tres eventos más 200 pupas sin irradiar. Las pupas fueron separadas por tratamiento a (60, 70, 80, 90, 180 y 200 Gy) en rejillas rejilux de $\frac{3}{4}$ con 100 divisiones y dos rejillas por tratamiento, a éstas se les colocaron dos láminas de acrílico transparente, mismas que fueron selladas con plástico adherente Reynolds® (Figura 6), las cuales se mantuvieron en la cámara de cría a 22°C y 45% de HR. Cada 24 horas, a las 09:00 am, se contabilizó el número de adultos emergidos, número de moscas vivas, número de moscas muertas y sexo. Los cálculos de tiempo de emergencia (TE) y longevidad de los adultos, se realizaron con base en lo señalado en el Manual de Control de Calidad de Moscas de la Fruta Estériles del género *Anastrepha* (SENASICA, 2012).



Figura 6. Rejilla rejilux de $\frac{3}{4}$ con 100 pozos para las pruebas de emergencia y longevidad. Créditos; UTC-CNRF, 2018.

3.4.- Habilidad de vuelo

Un total de 1,200 pupas fueron irradiadas con los diferentes tratamientos (60, 70, 80, 90, 180 y 200 Gy) en 2 eventos más 200 del control; 100 pupas fueron depositadas en el interior de tubos negros de PVC (9 cm de diámetro x 10 cm de altura), con base de acrílico sellada con pegamento UHU®, se adicionó talco blanco industrial inodoro Reaxsol® en la pared interna de los mismos, para evitar que las moscas escaparan caminando (Figura 7). Los tubos fueron colocados en el cuarto de la UTC, a temperatura ambiente 22°C y 45% HR para evaluar la habilidad de vuelo con base en el número de adultos que logren escapar del tubo hasta que se observara el 100% de la mortalidad de los especímenes. Se colocaron 2 trampas cebadas con vinagre de manzana en el cuarto donde se realizó la prueba de habilidad de vuelo para capturar a las moscas que escaparon del tubo y evitar que regresarán a los tubos para morir.



Figura 7. Tubos de PVC negros para la evaluación de la habilidad de vuelo. Créditos; UTC-CNRF, 2019.

Los parámetros registrados fueron: número de pupas no emergidas, número de moscas con emergencia incompleta, número de moscas deformes y número de moscas no voladoras (Figura 8). El índice de vuelo se calculó con base en el Manual de Control de Calidad de Moscas de la Fruta Estériles del género *Anastrepha* (SENASICA, 2012) y del “Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass reared tephritid fruit flies” (FAO/IAEA/ USDA, 2003). Estos parámetros se calcularon con las ecuaciones siguientes:

$\% \text{ de emergencia} = (100) - (\text{Número de pupas no emergidas} + \text{número de pupas medio emergidas}).$

$\% \text{ de moscas voladoras} = (\% \text{ de emergencia}) - (\text{Moscas deformes} + \text{Moscas no voladoras}).$

$\text{Índice de vuelo} = (\% \text{ voladoras} / \% \text{ de emergencia}) * 100$



Figura 8. Clasificación de moscas de *Drosophila suzukii*, con base en los resultados obtenidos en la prueba de habilidad de vuelo. Créditos: UTC-CNRF, 2019.

3.5.- Fertilidad

Un total de 24 pupas de 5 días de edad irradiadas a (60, 70, 80, 90, 180 y 200) más 4 pupas control, se colocaron individualmente en viales plásticos de 40 mL, con 13 mL de dieta artificial. Cada 24 h se revisaron estos viales hasta terminada la emergencia de adultos vírgenes. Los machos se separaron de los viales de cada tratamiento de irradiación mediante la observación de la mancha en las alas. Asimismo, se realizó el sexado de hembras y machos vírgenes no irradiados provenientes del testigo. En el día 4 después de emergidos los adultos, tiempo en el cual presentan su desarrollo sexual completo (Revadi *et al.*, 2015), se distribuyó una pareja de macho irradiado y hembra fértil en 4 viales por tratamiento (0, 60, 70, 80, 90, 180 y 200) (Figura 9). A las 48 h (periodo 1) se removi6 únicamente el macho irradiado, posteriormente machos fértiles

vírgenes, fueron confinados con la hembra del periodo 1 en un nuevo vial con dieta artificial y el vial correspondiente al primer periodo se ubicó en la cámara de cría para observar el posible desarrollo de la F1. Durante 3 periodos más de 48 horas cada uno, se realizó el cambio de viales a cada una de las parejas de hembra fértil y macho fértil, el procedimiento se repitió 4 veces en diferente tiempo y con poblaciones nuevas de *D. suzukii*.

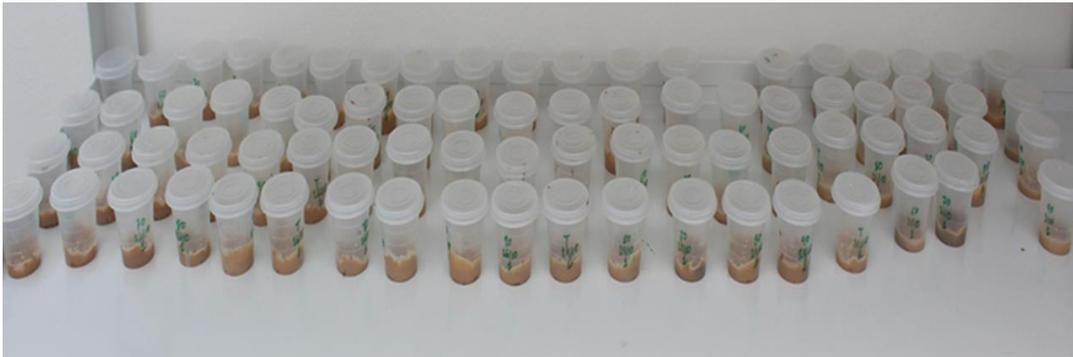


Figura 9. Parejas de *Drosophila suzukii* confinados en viales de plástico con dieta artificial. Créditos: UTC-CNRF, 2019.

3.6.- Análisis Estadístico.

A los datos de cada uno de los parámetros evaluados se les aplicaron pruebas de normalidad mediante PROC UNIVARIATE Normaltest (SAS, 2009).

Los datos de los parámetros de calidad (emergencia, longevidad y habilidad de vuelo) y de fertilidad de los distintos tratamientos se sometieron a un análisis de varianza mediante la prueba de *F* (Fisher PROC GLM) (SAS, 2009). Cuando existieron diferencias

entre los tratamientos se realizó la comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) para diferenciar la magnitud del posible efecto de los tratamientos de irradiación.

4.- RESULTADOS

4.1.- Tiempo de Emergencia y longevidad.

4.1.1.- Pupas no irradiadas y en condiciones de agua y alimento

Se observó diferencia estadística significativa de todos los tratamientos ($F_{2,15} = 169.54$, $P = < 0.0001$) entre las moscas de *D. suzukii* que fueron alimentadas con agua y alimento con una longevidad de 6.6146 días (158.750 horas), las que fueron alimentadas con sólo agua presentaron una longevidad de 2.8889 días (69.333 horas) y a las que no se les proporcionó agua y alimento con una longevidad de 1.3056 días (31.33 horas). (Cuadro 2).

Cuadro 2 Media del tiempo de longevidad en horas y en días de adultos de *Drosophila suzukii* en condiciones de agua y alimento.

Tratamiento	N (replicas)	TL* (días)	TL* (horas)
Agua y Alimento	6	6.6146a	158.750a
Agua	6	2.8889b	69.333b
Sin agua ni alimento	6	1.3056c	31.333c

TL= Tiempo de longevidad.

4.1.2.- Pupas irradiadas y en condiciones sin agua ni alimento

En las diferentes dosis de irradiación sobre pupas de *D. sukii*, no se observaron diferencias estadísticas significativas, sobre porcentajes de emergencia ($F_{8,12} = 1.55$, $P = 0.2433$) donde se obtuvieron unas medias para los porcentajes de 74% de emergencia para el testigo (sin irradiar), 60.667% para las irradiadas a 60Gy, 66.667% para 70 Gy, 69.333% en 80Gy, 69% en 90 Gy, 56.667% en 180 Gy y 53.667% en 200 Gy.

El porcentaje de machos no presentó diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{8,12} = 0.30$, $P = 0.9242$) con unas medias para los porcentajes de 36% de emergencia para el testigo (sin irradiar), 28.33% para las irradiadas a 60Gy, 31.67% para 70 Gy, 33.33% en 80Gy, 32.33% en 90 Gy, 29.67% en 180 Gy y 23% en 200 Gy.

El porcentaje de hembras no presentó diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{8,12} = 0.65$, $P = 0.6891$) con unas medias para los porcentajes de 38% de emergencia para el testigo (sin irradiar), 32.667% para las irradiadas a 60Gy, 35.333% para 70 Gy, 36% en 80Gy, 36.667% en 90 Gy, 29.667% en 180 Gy y 30.667% en 200 Gy.

La relación macho/hembra no presentó diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{8,12} = 0.23$, $P = 0.9599$) con unas medias para los porcentajes de 1.1322 % de emergencia para el testigo (sin irradiar), 0.9549 % para las irradiadas a 60Gy,

0.9458 % para 70 Gy, 1.3686 % en 80Gy, 1.0839 % en 90 Gy, 0.9297 % en 180 Gy y 0.7899% en 200 Gy.

El tiempo de emergencia no presentó diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{8,12} = 1.20$, $P = 0.3719$) con unas medias para los porcentajes de 93.367% de emergencia para el testigo (sin irradiar), 97.450% para las irradiadas a 60Gy, 95.717% para 70Gy, 84.117% en 80Gy, 83.667% en 90Gy, 81.233% en 180Gy y 82.333% en 200Gy.

El tiempo de longevidad no presentó diferencias significativas ($F_{8,12} = 0.24$, $P = 0.9544$) con unas medias para los porcentajes de 49.65% de emergencia para el testigo (sin irradiar), 44.75% para las irradiadas a 60Gy, 45.95% para 70Gy, 49.80% en 80Gy, 51.53% en 90Gy, 40.22% en 180Gy y 42.46% en 200Gy (Cuadro 3).

Cuadro 3. Media de adultos emergidos y longevidad de adultos de *Drosophila suzukii* emergidos de pupas de 5 días de edad irradiadas a diferentes dosis con Cobalto-60.

Dosis (Gy)	N	Adultos	Machos	Hembras	Relación	TE* (h)	TL* (h)
0	6	74.00a	36.00a	38.000a	1.1322a	93.367a	49.65a
60	6	60.667a	28.33a	32.667a	0.9549a	97.450a	44.75a
70	6	66.667a	31.67a	35.333a	0.9458a	95.717a	45.95a
80	6	69.333a	33.33a	36.000a	1.3686a	84.117a	49.80a
90	6	69.000a	32.33a	36.667a	1.0839a	83.667a	51.53a
180	6	56.667a	29.67a	29.667a	0.9297a	81.233a	40.22a
200	6	53.667a	23.00a	30.667a	0.7899a	82.333a	42.46a

Promedios de la misma columna con la misma letra no son diferentes estadísticamente Tukey ($P \leq 0.05$). *TE= Tiempo de emergencia y TL= Longevidad

4.2.- Habilidad de vuelo.

En el porcentaje de moscas voladoras emergidas de pupas irradiadas con respecto a los tratamientos no se observaron diferencias significativas ($F_{6,14} = 2.05$, $P = 0.1258$). Las con unas medias para los porcentajes de moscas voladoras fueron de 54.30% de emergencia para el testigo (sin irradiar), 53.20% para las irradiadas a 60Gy, 56.86% para 70Gy, 47.21% en 80Gy, 44.04% en 90Gy, 41.77% en 180Gy y 36.00% en 200Gy (Cuadro 4).

Cuadro 4. Media de adultos voladores de *Drosophila suzukii* emergidos de pupas de 5 días de edad irradiadas a diferentes dosis con Cobalto-60.

Dosis (Gy)	N	Moscas voladoras (%)
0	4	54.30a
60	4	53.20a
70	4	56.86a
80	4	47.21a
90	4	44.04a
180	4	41.77a
200	4	36.00a

Promedios de la misma columna con la misma letra no son diferentes estadísticamente TUKEY ($P \leq 0.05$).

4.3.- Fertilidad de la hembra de *D. suzukii*.

Las hembras fértiles y vírgenes de *D. suzukii* que fueron confinadas con machos irradiados y vírgenes, mostraron diferencia significativa en el número de pupas producidas ($F_{9,17} = 9.72$, $P < 0.0001$) durante las primeras 48 horas correspondientes al periodo 1 donde las medias de producción de pupas fueron para el tratamiento 1 (hembras fértiles y vírgenes confinadas con machos no irradiados y vírgenes) de 10.670, para el tratamiento 2 (hembras fértiles y vírgenes confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes) de 1.583, para el tratamiento 3 (hembras fértiles y vírgenes confinadas

con machos irradiados a 70 Gy y vírgenes) de 0.313, para el tratamiento 4 (hembras fértiles y vírgenes confinadas con machos irradiados a 80 Gy y vírgenes) de 1.083, para el tratamiento 5 (hembras fértiles y vírgenes confinadas con machos irradiados a 90 Gy y vírgenes) de 1.045, para el tratamiento 6 (hembras fértiles y vírgenes confinadas con machos irradiados a 180 Gy y vírgenes) de 0 y para el tratamiento 7 (hembras fértiles y vírgenes confinadas con machos irradiados a 200 Gy y vírgenes) de 0 (Figura 10a)

En el periodo 2 donde la hembra del periodo 1 se confinó durante 48 horas con machos fértiles y vírgenes para posibles re-apareamientos, se observaron diferencias significativas en el número de pupas producidas entre las hembras provenientes de los tratamientos del periodo 1 y el testigo ($F_{9,17} = 5.91$, $P < 0.0017$), donde las medias de producción de pupas fueron para el tratamiento 1 (hembras pre-confinadas con machos no irradiados y vírgenes en el periodo 1) de 20.991, para el tratamiento 2 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 9.188, para el tratamiento 3 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 70 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 4.708, para el tratamiento 4 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 80 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 6.833, para el tratamiento 5 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 90 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 3.663, para el tratamiento 6 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 180 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 1.5 y para el tratamiento 7 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 2.5 (Figura 10b)

En el periodo 3 donde se confinaron en viales nuevos las parejas del periodo 2 no se observaron diferencias significativas en el número de pupas producidas ($F_{9,17} = 2.06$, $P = 0.1134$) donde las medias de producción de pupas fueron para el tratamiento 1 (hembras pre-confinadas con machos no irradiados y vírgenes en el periodo 1) de 19.286, para el tratamiento 2 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 7.5, para el tratamiento 3 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 70 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 7.396, para el tratamiento 4 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 80 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 7.292, para el tratamiento 5 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 90 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 9.116, para el tratamiento 6 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 180 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 7.375 y para el tratamiento 7 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 5.5 (Figura 10c)

En el periodo 4 donde se confinaron en viales nuevos las parejas del periodo 3 no se observaron diferencias significativas en el número de pupas producidas ($F_{9,17} = 0.89$, $P = 0.5251$) entre el número de pupas producidas por las hembras del experimento donde las medias de producción de pupas fueron para el tratamiento 1 (hembras pre-confinadas con machos no irradiados y vírgenes en el periodo 1) de 16.938, para el tratamiento 2 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 8.958, para el tratamiento 3 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 70 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 11.063, para el tratamiento 4 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 80 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 8.813, para el tratamiento 5

(hembras pre-confinadas con machos irradiados a 90 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 12.045, para el tratamiento 6 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 180 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 8.375 y para el tratamiento 7 (hembras pre-confinadas con machos irradiados a 60 Gy y vírgenes en el periodo 1) de 8 (Figura 10d).

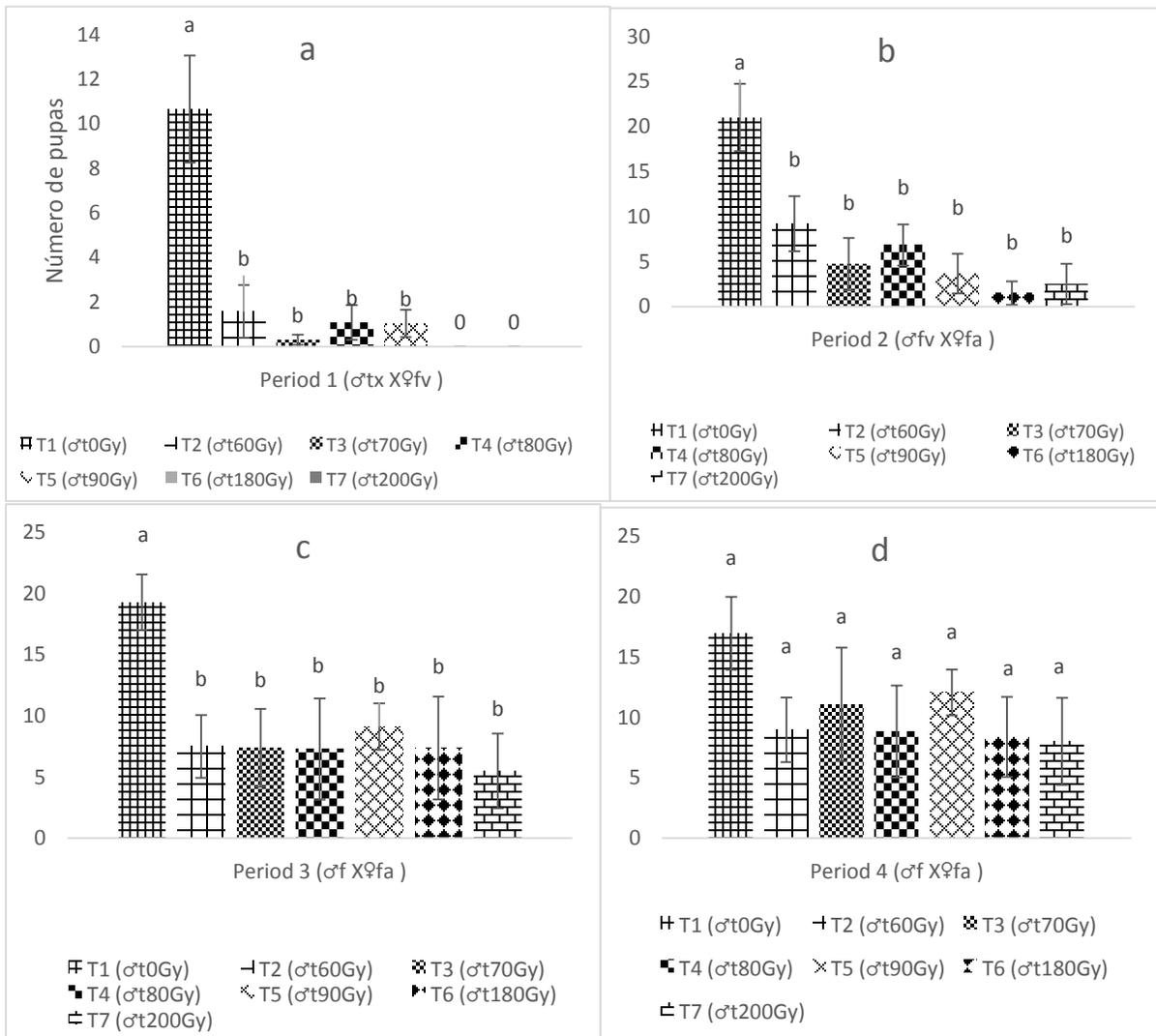


Figura 10. Media de pupas producidas por hembras fértiles y vírgenes de *Drosophila suzukii* apareadas con machos irradiados (0, 60, 70, 80, 90, 180 y 200 Gy) en el periodo 1 (a) y post apareadas con machos fértiles durante el Periodo 2 (b), Periodo 3 (c), y Periodo 4 (d). Las letras iguales en la parte superior de las barras de cada gráfico no presentan diferencia estadística significativa (TUKEY $P < 0.05$).

5.- DISCUSIÓN

Dentro de los parámetros de calidad evaluados, como el porcentaje de emergencia y proporción sexual, no se observaron diferencias significativas que indiquen un efecto de la irradiación sobre estos parámetros, lo cual coincide con lo reportado por Krüger *et al.*, (2018a) y Lanouette *et al.*, (2017). Sin embargo, el porcentaje de emergencia fue menor al reportado por estos autores, lo cual puede relacionarse con la edad de la pupa, ya que en el presente estudio, la irradiación se llevó a cabo entre las 48 y 72 h antes de la emergencia del adulto, pupas más jóvenes que las usadas por Krüger *et al.*, (2018a) y Lanouette *et al.*, (2017), que realizaron la irradiación entre las 12 y 48 h antes de la emergencia. Lo cual influye en la programación de los tiempos del proceso para la TIE, desde que el material es irradiado, hasta que es trasladado a su etapa final, previa a la liberación.

En el experimento realizado en condiciones de agua y alimento (sin irradiar) para los adultos emergidos de pupas tratadas, se observó que esto tiene un impacto positivo en la longevidad de las moscas, de tal forma que el 50% de la población emergida, registró una longevidad de 6.6 días en comparación con las que sólo fueron alimentadas con agua, que registraron una longevidad de 2.88 días y 1.30 días sin agua ni alimento. Lo anterior coincidió con los resultados obtenidos por Lanouette *et al.*, (2017) donde el 50% de la población de *D. sukuzii* irradiada murió en un lapso entre 5 y 10 días. Se observó que la longevidad del 100% de la población emergida de *D. sukuzii* en condiciones de agua y alimento fue de 13 días, lo cual difiere con lo reportado por

Lanouette *et al.*, (2017), quienes obtuvieron una longevidad de hasta 36 días en condiciones de agua y alimento, lo cual se pudo deber a que en el presente experimento, la población evaluada fue el doble de la que usaron los autores antes mencionados y que tuvieron condiciones de mayor confinamiento, lo que pudo resultar en una mortalidad más rápida de las moscas a causa del estrés por espacio.

En el presente estudio, la emergencia del adulto inició después de 7 días de formada la pupa, de tal forma que la irradiación se llevó a cabo entre 48 y 72 h, antes de la emergencia del adulto (pupa de 5 días de edad), lo cual no afectó de manera significativa el tiempo de emergencia, ni la longevidad bajo condiciones de inanición; los resultados coinciden con lo reportado con Krüger *et al.*, (2018a), donde el porcentaje de moscas vivas después de 48 h, no varió entre los tratamientos.

Los resultados obtenidos demuestran que los adultos de *D. sukii* emergidos de pupas irradiadas, tardan en morir 47.92 h (1.9 días) sin agua y sin alimento. En este sentido, para poder aplicar la TIE, será necesario contar en los sitios de liberación con centros de empaque que cuenten con las condiciones adecuadas para el manejo del material biológico, como áreas de recepción, empaque y emergencia de material estéril; materiales como contenedores para emergencia y maduración de insectos estériles, dietas; así como dispositivos de liberación manual o mecánica, procedimientos básicos para llevar a buen término las tareas que se deben desarrollar en el empaque de insectos estériles previo a su liberación en campo (Zavala *et al.*, 2010), de tal forma que alcancen el 100% de su madurez sexual (3.5 días) antes de ser liberadas (Revadi *et al.*, 2015).

En este sentido, la ventaja de alimentar a los adultos emergidos permitirá liberarlos con el 100% de madurez sexual, con lo que tendrán una mejor calidad para competir con los adultos silvestres y lograr suprimir o erradicar poblaciones de la plaga (Domínguez *et al.*, 2010).

Adicionalmente, es necesario establecer parámetros de emergencia específicos para *D. sukii*, puesto que difieren de los establecidos para las moscas del género *Anastrepha*, donde el porcentaje de emergencia aceptable es del 71.2%, al día 6 de emergido el adulto (SENASICA, 2012).

Las dosis de irradiación aplicadas a *D. sukii* no tuvieron efectos aparentes en el índice de moscas voladoras, no obstante, los porcentajes de moscas voladoras para 200 Gy (36.00%), fueron menores a los obtenidos por Krüger *et al.*, (2018a) (\approx 57%), lo cual puede ser atribuible a la edad en la que la pupa fue sometida al proceso de irradiación, asimismo, a pesar de que no se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de moscas voladoras, se observó una disminución de un 16% en las moscas irradiadas a 200 Gy, con respecto al control, lo cual fue similar al estudio realizado por Krüger *et al.*, (2018a), donde reportaron un 14%; lo cual se pudo ser debido a los factores de manejo de la pupa durante el transporte al irradiador, como lo mencionan Orozco-Davila *et al.*, (2017), para el caso de *Anastrepha*, donde algunos parámetros de calidad se ven afectados por el manejo que se le da a la pupa. Para el género *Anastrepha*, se considera un porcentaje de moscas voladoras aceptable entre el 79 y 80% (SENASICA 2012) lo cual es un 43% mayor al obtenido en el presente estudio con moscas de 200 Gy.

En el Periodo 1, donde la hembra virgen y fértil, se confinó con machos irradiados y vírgenes, se observó una inducción de la esterilidad con diferencia significativa respecto al testigo, con un patrón creciente a medida que se incrementó la dosis a 180 y 200Gy se observó una inducción de esterilidad del 100%, lo cual coincide con lo reportado por Krüger *et al.*, (2018a), donde a 200 Gy observaron una inducción de esterilidad del 99.67%. En el periodo 2, se observó una recuperación de la fertilidad, sin embargo, ésta mostró diferencia significativa con respecto al testigo; mientras que, en los periodos 3 y 4, la recuperación de la fertilidad no mostró diferencia significativa con respecto al testigo. Los resultados obtenidos en el presente estudio, concuerdan con lo reportado por Lee *et al.*, (2003), en el que las hembras de *Ceratitis capitata*, cuando después de apareados con machos irradiados, recuperaron la fertilidad cuando se aparearon con machos silvestres. La creciente recuperación de la fertilidad de la hembra se puede deber a lo reportado por Krüger *et al.*, (2018b), donde demostraron que los re apareamientos de las hembras de *D. suzukii* varían entre el 0 y 34% y el número de hembras que se aparean disminuyen conforme se incrementan el número de re apareamientos. Otra explicación para los resultados obtenidos en la paulatina recuperación de la fertilidad, es la posible interacción que se lleva a cabo entre el esperma del macho irradiado y el del macho fértil dentro de la espermateca, la cual por su morfología, permite el almacenamiento de una mayor cantidad de esperma (Rossi-Stacconi *et al.*, 2016).

Por lo anterior, la liberación de machos de *D. suzukii* estériles se tendrá que hacer bajo un enfoque de “áreas amplias” para evitar que hembras grávidas puedan dispersarse de las áreas no tratadas a las tratadas y las liberaciones deben llevarse a cabo, cuando las poblaciones silvestres sean extremadamente bajas, con el objeto de alcanzar una proporción estéril: fértil adecuada, con el fin de que la técnica resulte económicamente factible (Knipling, 1979).

Por otro lado, es necesario realizar evaluaciones sobre la dinámica poblacional de *D. suzukii* en los sitios productores de frutillas en México, con la finalidad de establecer índices de MTD, como los que se han establecido para moscas de la fruta del género *Anastrepha* en la NOM-023-FITO-1995 (SAGAR, 1999) y de esta manera, tener una referencia sobre el momento oportuno para iniciar con las liberaciones de insectos estériles. Asimismo, las poblaciones silvestres deben ser reducidas por otros métodos antes de iniciar las liberaciones (Knipling, 1979).

Establecer un programa de manejo integrado bajo el concepto “Áreas amplias”, donde se integre la TIE, sería un pilar fundamental para alcanzar áreas libres de plagas. Sin embargo, es conveniente mencionar que lograr un área libre, es solo el primer paso. Lo más difícil es conservarla (Gutiérrez, 2010).

En el presente estudio se demostró que las dosis de irradiación evaluadas no tienen efecto significativo sobre los parámetros de calidad de *D. suzukii*.

Con base en los resultados del presente estudio, es prometedor la implementación de la TIE en el manejo de *D. suzukii*, dentro de un programa de manejo integrado, sin embargo, es recomendable desarrollar líneas de investigación como procedimiento para cría masiva, evaluar los proceso de empaque y envío, métodos de sexado, estrategias de liberación, densidades de liberación, transferencia de esperma de machos irradiados y evaluaciones preliminares en condiciones confinadas.

Las hembras de *D. suzukii* son completamente estériles cuando se irradian a 75Gy, no obstante, la presente investigación se enfocó en el efecto de las radiaciones en los machos con base en lo mencionado por Knipling (1955), donde la efectividad de la técnica de insecto estéril está basada en la eficiencia de los machos estériles para transferir su esperma letal a las hembras silvestres en una población.

México tiene el antecedente del uso exitoso de la TIE en la mosca del mediterraneo (*Ceratitis capitata*) y con mosca de la fruta nativas como *Anastrepha ludens* y *A. obliqua* (Gutiérrez *et al.*, 2013; Enkerlin *et al.*, 2015), con lo cual se justifica la incorporación de esta técnica para el manejo de plagas de interés para el Gobierno de México. De acuerdo con las publicaciones revisadas, este trabajo es el primer estudio sobre el efecto de la irradiación sobre pupas de *D. suzukii* en México.

6.- LITERATURA CITADA

- Artiaga, T., E. Hernandez, J. Domínguez-Gordillo, D. S. Moreno, and D. Orozco-Davila. 2004. Mass production of *Anastrepha obliqua* at the moscafrut fruit fly facility, Mexico. En Barnes, B.N. (ed.), Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. Isteg Scientific Publications, Irene, South Africa: 389-392.
- Asplen, M. K., G. Anfora, A. Biondi, D. Choi, D. Chu, K. M. Daane, P. Gibert, A. P. Gutierrez, K. A. Hoelmer, W. D. Hutchison, R. Isaacs, Z. Jiang, Z. Kárpáti, M. T. Kimura, M. Pascual, C. R. Philips, C. Plantamp, L. Ponti, G. Véték, H. Vogt, V. M. Walton, Y. Yu, L. Zappalà, N. Desneux. 2015. Invasion biology of spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. J Pest Sci 88: 469–494. <http://doi.org/10.1007/s10340-015-0681-z>.
- Bellamy, D., E., M. S. Sisterson, and S. S. Walse. 2013. Quantifying host potentials: indexing postharvest fresh fruits for spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*. Plos one 8: e61227. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061227>.
- Boller, E., F., B. I. Katsoyannos, U. Remund, and D. L. Chambers. 1981. Measuring, monitoring and improving the quality of mass-reared Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* Wied. The rapid quality system for early warning. J. Appl. Entomol. 92: 67-83.
- CAB. 2019. Crop Protection Compendium. CAB International. United Kindom. En línea: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/109283>, consultado el 25 de abril de 2019.
- Caceres, C., D. Mcinnis, T. Shelly, E. Jang, A. Robinson, and J. Hendrichs. 2007. Quality management systems for fruit fly (Diptera: Tephritidae) sterile insect technique. Fla. Entomol. 90: 1-9.
- Castro-Sosa, M. Castillo-Peralta., A. I. Monterroso-Rivas., J. D. Gomez-Diaz, E. Flores Gonzalez, and A. Rebollar-Alviter. 2017. Potential Distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Relation to Alternate Hosts in Mexico. Fla Entomol. 100: 787-794. <https://doi.org/10.1653/024.100.0403>.
- Cini, A., C. Loratti, and G. Anfora. 2012. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. Bull Insectol. 65: 149–160.
- Depra, M., J. L. Poppe., H. J. Schmitz, D. C. DeToni, and L. S. Valente. 2014. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. J. Pest. Sci. 87: 379–383.
- Domínguez J., J. Toledo, E. Hernández. 2010. Métodos de colonización y cría masiva, *In* Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. Montoya P, Toledo J y Hernández E (eds.) Talleres de S y G editores, Distrito Federal, México pp. 259–276.
- Doyle. J. J., J. L. Doyle 1987. A rapid dna isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19:11-15 pp.
- Enkerlin. W., R. 2005. Impact of fruit fly control programmes using the sterile insect technique. *In*: Sterile Insect Technique. Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A. (eds) Springer, Dordrecht: 651-676.
- Enkerlin, W., J. M. Gutierrez-Ruelas, A. V. Cortes, E. C. Roldan, D. Midgarden, E. Lira, F. J. T. Arriaga. 2015. Area Freedom in Mexico from Mediterranean fruit fly

- (Diptera: Tephritidae): A Review of over 30 years of a successful containment Program Using an Integrated area-wide sit Approach. Fla. Entomol., 98: 665–681. doi:10.1653/024.098.0242.
- Escudero-Colomar, L. A. 2014. *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) una nueva plaga de frutales que se está extendiendo mundialmente. Distribución, biología y ecología. Revta. Agron. N. O. Argent. 34: 13-19).
- FAO/IAEA/USDA. Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency/U.S. Department of Agriculture. 2003. Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass-reared tephritid fruit flies, version 5.0. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria.
- Follett, P. A., S. Allison, and DK. Princes. 2014. Postharvest irradiation treatment for quarantine control of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Fresh Commodities. J. Econ. Entomol. Jun 2014, 107: 964-969; DOI: 10.1603/EC14006.
- García-Ávila, C. J., D. Bravo-Pérez, I. Ruiz-Galván, G. Romero-Gómez., A. Quezada-Salinas., S. Hernández-Pablo, J. A. López-Buenfil, J. G. Florencio- Anastasio, R. González-Gómez, y N. Acevedo Reyes. 2016. Presencia de la mosca del vinagre de las alas manchadas *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) en México. Entomología mexicana, 3: 354–360. <https://doi.org/10.1002/ece3.3849>.
- Gonzalez-Cabrera, J., M. D. García-Cancino, G. Moreno-Carrillo, J. A. Sánchez-Gonzalez, H. C. Arredondo-Bernal. 2018. Fresh banana as an alternative host for mass rearing *Drosophila suzukii* Bullet. of Insectol. 71: 65-70,
- Gutiérrez R., J. M. 2010. El Programa Moscas de la Fruta en México, En Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. Montoya P, Toledo J y Hernández E (eds.) Talleres de S y G Editores G editores, Distrito Federal, México pp. 3–10.
- Gutiérrez R., J. M., G. Santiago M., A. Villaseñor C., W. R. Enkerlin H., F. Hernández L. 2013. Los Programas de moscas de la fruta en México. Su historia reciente. Talleres de S y G Editores. México, D.F., México. pp. 89.
- Hallman, G. J., Y. M. Henon, A. G. Parker, and C. M. Blackburn. 2016. Phytosanitary irradiation: an overview. Fla. Entomol. 99: 1-13.
- Haviland, D. R., and E. H. Beers. 2012. Chemical control programs for *Drosophila suzukii* that comply with international limitations on pesticide residues for exported sweet cherries. J. Integr. Pest Manag., 3: F1–F6. <https://doi.org/10.1603/IPM11034>
- Hernández M. R., D. Orozco, J. L. Quintero, y J. Domínguez. 2010. Control de calidad en la cría masiva. In Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. Montoya P., Toledo J. y Hernández E. (eds.), Talleres de S y G Editores G editores, Distrito Federal, México pp. 277–290.
- Hsu, T., C. 1949. The external genital apparatus of male Drosophilidae in relation to systematics. Texas Publications 4920: 80-142.
- IAEA. 2004 Radiation and matter, In Chapter 3. Radiation, people and environment. IAEA, in line: <https://www.iaea.org/sites/default/files/radiation0204.pdf>.
- Kanzawa, T. 1939. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Yamanashi Kofu Agricultural Experiment Station. In Reviews of Applied Entomology 29: 622.

- Kim, J., J. Kim, and C. G. Park. 2016. X-Ray radiation and developmental inhibition of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae). *Int. J. Radiat. Biol.* 92: 849–854. <https://doi.org/10.1080/09553002.2016.1230236>.
- Kim, J., J. Kim, Y. L. Yeon, and C. G. Park. 2018. Developmental inhibition of *Drosophila suzukii* by ionizing radiation. *Entomol. Res.*, 48: 331–338. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12283>.
- Klassen, W., and C. F. Curtis. 2005. History of sterile insect technique. In *Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*, Cap. 1: 3–36 Dyck V., A., Hendrichs J., and Robinson A., S., (eds.), IAEA. Springer. Printed in the Netherlands.
- Knipling, E. F. 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *J. Econ. Entomol.* 48: 459–462.
- Knipling, E. F. 1979. *The Basic principles of insect population suppression and management*. United States Department of Agriculture, Washington, D.C. pp. 315-484.
- Knipling, E. F. 1985. Sterile insect technique as a screwworm control measure. The concept and its development. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America* 62: 8–11.
- Kraaijeveld, K., and T. Chapman. 2004. Effects of male sterility on female remating in the mediterranean fruitfly, *Ceratitis capitata*. *Proc Biol Sci.* 271: S209–S211.
- Krüger, A. P., D. C. H. Schlesener, L. N. Martins, J. Wollmann, M. Deprá, and F. R. M. Garcia. 2018a. Effects of irradiation dose on sterility induction and quality parameters of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), *J. Econ. Entomol.* 111: 741–746. <https://doi.org/10.1093/jee/tox349>.
- Krüger, A. P., D. C. H. Schlesener, L. N. Martins, J. Wollmann, M. Deprá, and F. R. M. Garcia. 2018b. Radiation effects on *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) reproductive behavior. *J. Appl. Entomol.* 143: 88-94. <https://doi.org/10.1111/jen.12563>.
- Lasa, R., and E. Tadeo. 2015. Invasive drosophilid pests *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) in Veracruz, México. *Fla. Entomol.* 98: 987-988.
- Lanouette, G., J. Brodeur, F. Fournier, V. Martel, M. Vreysen, and C. Cáceres. 2017. The sterile insect technique for the management of the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*: Establishing the optimum irradiation dose. *Plos one* 12: e0180821. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180821>.
- Lee, J. C., D.J. Bruck, H. Curry, D. Edwards, D. R. Haviland, R. A. Van Steenwyk, and B. M. Yorgey. 2011. The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Pest Manag. Sci.*, 67: 1358-1367. doi:10.1002/ps.2225.
- Lee, S. G. S. D. McCombs, and S. H. Saul. 2003. Sperm precedence of irradiated Mediterranean fruit fly males (Diptera: Tephritidae). *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* 36: 47–59.
- Liedo P., W. Enkerlin, J. Hendrichs. 2010. Fundamentos de la técnica del insecto estéril, In *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. Montoya P., Toledo J y Hernández E (eds.). Talleres de S y G Editores G editores, Distrito Federal, México pp. 243–256.

- Meriem, M. G., A. Parker, S. Fadhl, H. Hemdane, A. Raies., and C. Chevrier. 2011. Fitness and reproductive potential of irradiated mass-reared mediterranean fruit fly males *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae): lowering radiation doses. *Fla. Entomol.* 94:1042-1050.
- Miller, M. E., S. A. Marshall, and D. A. Grimaldi. 2017. A Review of the species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) and Genera of *Drosophilidae* of Northeastern North America. *Can. J. Arthropod. Identif.* 31: 1-282. doi:10.3752/cjai.2017.31.
- Nikolouli K., H. Colinet, D. Renault, T. Enriquez, L. Mouton, P. Gibert, F. Sassu, C. Cáceres, C. Stauffer, R. Pereira, and K. Bourtzis. 2017. Sterile insect technique and Wolbachia symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 91: 489-503. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0944-y>.
- Orozco-Davila, D., M. L. Adriano-Anaya, L. Quintero-Fong, and M. Salvador-Figueroa. 2015. Sterility and sexual competitiveness of Tapachula-7 *Anastrepha ludens* males irradiated at different doses. *Plos One* 10: e0135759.
- Orozco-Davila, D., L. Quintero, E. Hernández, E. Solís, T. Artiaga, R. Hernández, C. Ortega, and P. Montoya. 2017. Mass rearing and sterile insect releases for the control of *Anastrepha* spp. pests in Mexico – A review. *Entomol. Exp. Appl.*, 164: 176-187. doi:10.1111/eea.12581
- Rangel U., W. 2019. Aplicación de la irradiación gamma. En línea: <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/Aplicacion%20de%20la%20irradiacion.pdf>, consultado el 11 de abril de 2019.
- Rempoulakis, P., G. Taret, I. U. Haq, V. Wornayporn, S. Ahmad, U. S. Tomas, T. Dammalage, K. Gembinsky, G. Franz, C. Caceres and M. J. V. Vreysen. 2016. Evaluation of quality production parameters and mating behavior of novel genetic sexing strains of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Plos One* 11: e0157679. doi:10.1371/journal.pone.0157679.
- Revadi, S., S. Lebreton, P. Witzgall, G. Anfora, T. Dekker, and P. G. Becher. 2015. Sexual behavior of *Drosophila suzukii*. *Insects* 6: 183–196. <https://doi.org/10.3390/insects6010183>.
- Reyes, J., G. Santiago, and P. Hernandez P. 2000. The Mexican fruit fly eradication programme. *In Area-Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests* Tan, K.H. (ed.), Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang: 377-380.
- Robinson, A. S. 2005. Genetic basis of the sterile insect technique. *In Sterile Insect Technique*. Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A. (eds) Springer, Dordrecht: 95-114.
- Rossi-Stacconi, M. V., R. Kaur, V. Mazzoni, L. Ometto, A. Grassi, A. Gottardello, O. Rota-Stabelli and G. Anfora. 2016. Multiple lines of evidence for reproductive winter diapause in the invasive pest *Drosophila suzukii*: useful clues for control strategies. *J. Pest Sci.* 89: 689-700 <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0753-8>.
- Rull, J., F. Diaz-Fleischer, and J. Arredondo. 2007. Irradiation of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) Revisited: Optimizing Sterility Induction, *J. Econ. Entomol.* Volume 100, Pages 1153–1159, <https://doi.org/10.1093/jee/100.4.1153>.
- SAGAR. 1999. Norma Oficial Mexicana-023-FITO-1995. Por la que se establece la Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta. Secretaría de Agricultura,

- Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR). Diario Oficial de la Federación: 1:18. En línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/202043/NOM-023-FITO-1995_110299.pdf, consultado el 18 de junio de 2019.
- SAS. 2009. SAS user's guide: statistics, versions 9.0. SAS Institute, Cary, NC. USA.
- Schetelig, M. F., K-Z Lee, S. Otto, L. Talmann, J. Stökl, T. Degenkolb, A. Vilcinskis, R. Halitschke. 2018. Environmentally sustainable pest control options for *Drosophila suzukii*. J Appl Entomol.; 142: 3– 17. <https://doi.org/10.1111/jen.12469>
- Schlesener, D. C., H., J. Wollmann, A. P. Krüger, L. N. Martins, F. C. S. Geisler, and F. R. M. Garcia. 2017. Rearing method for *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) on artificial culture media. Dros. Inf. Serv., 100: 185-189. <http://www.ou.edu/journals/dis/DIS100/Technique/Schlesener%20et%20al%20185.pdf>.
- SEGOB. 2015. Acuerdo por el que se declara como zona libre de la mosca del vinagre de las alas manchadas (*Drosophila suzukii* Matsumura), a los municipios de Caborca, Carbó, Empalme, Guaymas, Hermosillo, Pitiquito y San Miguel de Horcasitas del Estado de Sonora. Secretaria de Gobernación (SEGOB). En línea: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5382977&fecha=23/02/2015 consultado el 19 de febrero de 2019.
- SENASICA. 2019. Mosca del vinagre de alas manchadas (*Drosophila suzukii*) Matsumura. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)-Dirección General de Sanidad Vegetal - Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. Con la colaboración del Centro Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria (LaNREF) Cd. de México, Última Actualización: agosto, Ficha técnica No. 7: 21. En línea: <http://sinavef.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Fichas%20tecnicas/Ficha%20T%C3%A9cnica%20Mosca%20del%20vinagre%20de%20alas%20manchadas.pdf> 8 de (último acceso 11 de abril de 2019).
- SENASICA. 2012. Manual de Control de Calidad de Moscas de la Fruta Estériles. Dirección General de Sanidad Vegetal – Dirección de Moscas de la Fruta. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). México, D.F. clave: MT-DMF-9, En línea: <http://publico.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=10106&IdUrl=44778&objeto=Documento&IdObjetoBase=10106&down=true> (último acceso el 13 de noviembre de 2018).
- SIAP-SADER. 2019. Cierre de producción agrícola por cultivo. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). En línea: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> Consultado el 29 de abril de 2019.
- Tochen, S., D. T. Dalton, N. Wiman, C. Hamm, P. W. Shearer, and V. M. Walton. 2014. Temperature-related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. Environ. Entomol. 43: 501-510.
- Toledo, J., J. Rull, A. Oropeza, E. Hernández, and P. Liedo. 2004. Irradiation of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) revisited: optimizing sterility induction, J. Econ. Entomol. 97: 383–389, <https://doi.org/10.1093/jee/97.2.383>

- Van Timmeren, S., and R. Isaacs, 2013. Control of Spotted Wing Drosophila, *Drosophila suzukii*, by specific insecticides and by conventional and organic crop protection programs. *Crop protection* 54: 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.08.003>.
- Vargas-Teran, M., H. C. Hofman, and N. E. Tweddle. 2005. Impact of screwworm eradication programmes using the sterile insect technique. In *Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*, Cap. 7.1 3–36 Dyck V., A., Hendrichs J., and Robinson A., S., (eds.), IAEA. Springer. Printed in the Netherlands.
- Walsh, D. B., M. P. Bolda, R. E. Goodnow, A. J. Dreves, J. Lee, D. J. Bruck, V. M. Walton, S. D. O'Neal, and F. G. Zalom. 2011. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *J. Integr. Pest Manag.* 2: G1-G7. doi:10:1603/ ipm10010.
- Young, Y., N. Buckiewicz, and T. A. F. Long, 2018. Nutritional geometry and fitness consequences in *Drosophila suzukii*, the Spotted-Wing Drosophila. *Ecol. Evol.* 8: 2842-2851. <https://doi.org/10.1002/ece3.3849>.
- Zavala J. L., E. Hernández, y P. Montoya. 2010. Empaque y liberación de moscas estériles. Su historia reciente. *In Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo*. Montoya P. Toledo J. y Hernández E. (eds.) Talleres de S y G Editores. México, D.F., México. pp. 319-330.