



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CAMPECHE

**POSTGRADO DE BIOPROSPECCIÓN Y SUSTENTABILIDAD
AGRÍCOLA EN EL TRÓPICO**

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE PROTEÍNAS DEL EXTRACTO DE GLÁNDULAS SALIVALES (EGS) DE TABÁNIDOS

VÍCTOR ÁNGEL AQUINO LUNA

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

MAESTRO EN CIENCIAS

SIHOCHAC, CHAMPOTÓN, CAMPECHE, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE PROTEÍNAS DEL EXTRACTO DE GLÁNDULAS SALIVALES (EGS) DE TABÁNIDOS**, realizada por el estudiante: **VÍCTOR ÁNGEL AQUINO LUNA**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
BIOPROSPECCIÓN Y SUSTENTABILIDAD AGRÍCOLA EN EL TRÓPICO**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:

Dra. Itzel López Rosas

ASESORA INTERNA:

Dra. Eliana Josefina Noguera Savelli

ASESOR EXTERNO:

M.C. Jorge Valdez Carrasco

Sihochac, Champotón, Campeche, México, diciembre 2022.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO DE GLÁNDULAS SALIVALES DE TABÁNIDOS

Víctor Ángel Aquino Luna, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

Los tabánidos son dípteros hematófagos considerados como una de las mayores plagas que afectan al ser humano y a los animales, ya que son vectores mecánicos de patógenos. En el mundo existen cerca 4290 especies, 207 se han registrado para México y 29 especies para la península de Yucatán, de las cuales en ninguna se han realizado análisis moleculares del extracto de las glándulas salivales. En el presente trabajo se colectaron organismos con redes tipo Malaise en dos sitios de vegetación conservada en el estado de Campeche. Los ejemplares se identificaron mediante la guía de Ibáñez-Bernal (1992). Para el análisis de proteínas se disectaron las especies *Tabanus haemagogus* y *Leucotabanus itzarum*, se extrajeron las glándulas salivales y se obtuvieron las proteínas del extracto salival. Las proteínas fueron cuantificadas y analizadas por electroforesis SDS-PAGE, y utilizadas para los ensayos de actividad proteolítica, amilolítica y antimicrobiana.

Se obtuvieron un total de 5532 ejemplares distribuidos en nueve especies diferentes, las más dominantes en cada sitio de muestreo fueron *Tabanus haemagogus* y *Diachlorus ferrugatus*. El análisis electroforético de las proteínas de *T. haemagogus* y *L. itzarum* mostró la expresión diferente, entre especies. En los análisis de actividad biológica se determinó la presencia de serín proteasas y amilasas. La actividad antimicrobiana indicó la presencia de compuestos activos antimicrobianos en el extracto salival.

Los resultados indican un amplio repertorio de proteínas en el extracto de las glándulas salivales (EGS) de *T. haemagogus* y *L. itzarum*, que se sugiere están relacionadas con la alimentación.

Palabras clave: Diversidad, abundancia, perfiles proteicos, zimograma, actividad antimicrobiana, *Tabanus haemagogus*, *Diachlorus ferrugatus*, *Leucotabanus itzarum*.

ISOLATION AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF PROTEINS FROM SALIVARY GLANDS EXTRACTS (SGE) OF TABANIDS

Víctor Ángel Aquino Luna, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

ABSTRACT

Tabanids are hematophagous dipteran considered as one of main pest that affects humans and animals, because they are mechanical vectors of pathogens agents. In the world there are about 4290 species, in Mexico 207 species have been recorded and 29 species are reported for Yucatan Peninsula, in which none of them have been realized molecular analyzes from the salivary glands extract. In the current study organisms were collected with Malaise traps in two sites with preserved vegetations in the Campeche state. The specimens were identified with Ibáñez-Bernal (1992) guide. For the protein's analyzes were dissected specimens of *Tabanus haemagogus* y *Leucotabanus itzarum*, the salivary glands were extracted and were obtain proteins from salivary extract. The proteins were quantified and analyzed by SDS-PAGE; the proteins obtained were used in proteolytic, amylolytic and antimicrobial activity assays.

Collected 5532 specimens belonging to nine different species, the most dominant in every collecting site was *Diachlorus ferrugatus* and *Tabanus haemagogus*. Protein electrophoretic analysis of *T. haemagogus* y *L. itzarum* showed a differential expression between species. The analyses of biologic activity determined the presence of serin proteases and amylases. The antimicrobial activity tested indicates the presence of antimicrobial active compounds in the salivary extract.

The results indicate a wide repertoire of proteins in the salivary gland extract (SGE) of *T. haemagogus* and *L. itzarum* suggesting are related with physiological feeding process.

Keywords: Diversity, abundance, protein profile, zymogram, antimicrobial activity, *Tabanus haemagogus*, *Diachlorus ferrugatus*, *Leucotabanus itzarum*.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el otorgamiento de la beca para estudios de posgrado (Num. 7491059), durante el período enero 2021 a diciembre 2022.

Al Colegio de Postgraduados, en especial al Campus Campeche cuyas instalaciones y planta académica contribuyeron a mi formación como Maestro en Ciencias.

Al financiamiento obtenido a través de los Apoyos para Actividades Académicas (AAA) durante los años 2021 y 2022, a los cuales tuve acceso como estudiante del Posgrado en Bioprospección y Sustentabilidad Agrícola en el Trópico (BIOSAT).

Al financiamiento otorgado para el Apoyo para Actividades Académicas durante el período 2020-2022.

A mi consejo particular, a la Dra. Eliana Noguera Savelli, Asesora interna; al M.C. Jorge Valdez Carrasco, Asesor externo; y a la Dra. Itzel López Rosas, Consejera particular; quienes desde sus diferentes expertices asesoraron y guiaron el proyecto para que pudiera realizarse y culminarse con éxito.

Al Dr. Israel Castillo Juárez, sinodal interno, por su revisión y comentarios a la tesis.

Al Dr. Sergio Ibáñez Bernal del Instituto de Ecología (INECOL) quien apoyó para la identificación de las especies de tabánidos y asesoramiento en morfología y anatomía de insectos; así como el apoyo para la realización de una estancia de investigación en el Laboratorio de Sistemática y Ecología de Insectos con Interés Médico Veterinario que se encuentra a su cargo.

Al Biól. Jonathan Pacheco, quien gestionó el acceso para la realización del proyecto en el UMA Nohan, así mismo, el apoyo y asesoramiento durante las salidas de campo realizadas.

A la Mtra. Greta Saito quien me apoyó y orientó durante mi estancia en el INECOL.

A la Biól. Teresa Suárez, que junto con las doctorantes Juana Duran y Yeraldi Guillen,

hicieron que la estancia fuera mucho más productiva y gratificante.

Al Dr. Yuri Peña y a la Mtra. Natalia Labrin del ECOSUR por sus atenciones y apoyo para la continuación del trabajo experimental y académico durante el cierre de las instalaciones del COLPOS.

Al Dr. José Luis Villalpando, por el apoyo, las enseñanzas y motivación a seguir adelante a lo largo de todo el posgrado.

A los estudiantes que han estado dentro de nuestro grupo de trabajo dirigidos por la Dra. Itzel, como lo es la futura Biól. Naomi Ramos, a quien tuve la oportunidad de enseñarle varias herramientas para trabajo en campo y reforzar conocimientos de entomología; al estudiante Luis Ángel Maas, quien me apoyó en diversas actividades de campo y con quien pasé gran parte del tiempo de trabajo en el laboratorio; y al Biol. Ambrosio Chimal, que de igual manera tuvo un gran apoyo en actividades de campo y acompañamiento en diversas actividades de retribución social dentro del posgrado.

A mis padres y hermanos, pilares fundamentales de mi vida, que, con su apoyo, enseñanzas y motivación, logré llegar hasta este punto.

A mis compañeros del posgrado, con los que compartí muchas experiencias a lo largo de estos dos años y me ayudaron a crecer, tanto personal como profesionalmente.

Y, por último, a todas aquellas personas que contribuyeron en algún aspecto para realización de este trabajo y culminación de mis estudios: al personal de campo, técnico y administrativo del COLPOS Campeche; y una mención especial a la familia del señor Guillermo Zetina, por el acceso a realizar unas colectas en su rancho.

El presente trabajo se desarrolló en el marco del Proyecto Cátedras CONACyT 1016 “Desarrollo de la Genómica para la Innovación, Bioprospección y Sustentabilidad en el Trópico”.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
ABREVIATURAS.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	3
2.1. General	3
2.2. Específicos.....	3
2.3. Justificación	3
2.4. Hipótesis biológica	4
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	5
3.1. Antecedentes específicos	5
3.2. Clasificación Taxonómica	10
3.3. Ciclo de vida y reproducción	11
3.4. Morfología	11
3.4.1. Huevos.....	11
3.4.2. Larvas	12
3.4.2.1. Cabeza	12
3.4.2.2. Tórax y abdomen.....	16
3.4.3. Pupa	16
3.4.3.1. Cabeza	16
3.4.3.2. Tórax	16
3.4.3.3. Abdomen	17
3.4.4. Adultos.....	17
3.4.4.1. Cabeza	18
3.4.4.2. Tórax	19
3.4.4.3. Abdomen	19
3.5. Aparato Bucal Cortador-Lamedor	19

3.6. Glándulas Salivales de los Insectos Hematófagos	22
3.7. Componentes salivales	23
3.7.1. Enzimas	24
3.7.2. Moléculas antagonistas de receptores.....	25
3.7.3. Vasodilatadores	26
3.7.4. Kratagonistas	26
3.7.5. Inhibidores de proteasas.....	27
3.7.6. Moléculas inmunosupresoras e inmunomoduladores	27
3.7.7. Rol de la sangre.....	28
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
4.1. Área de estudio	29
4.2. Método de captura	31
4.3. Identificación taxonómica de los tabánidos.....	33
4.4. Identificación de fauna y vegetación.	33
4.5. Análisis bioestadístico.....	33
4.5.1. Construcción de base datos	33
4.5.2. Construcción de Curva de Acumulación de Especies.....	34
4.5.3. Diversidad y Abundancia	34
4.5.3.1. Abundancia Relativa.....	34
4.5.3.2. Diversidad y dominancia de Simpson.....	34
4.5.3.3. Diversidad de Shannon-Wiener (α)	35
4.5.3.4. Diversidad ponderada y diferencia de varianzas	35
4.5.3.5. Prueba T de Hutchenson.....	35
4.5.3.6. Equidad de Pielou (J)	36
4.5.3.7. Diversidad Beta (β).....	36
4.5.3.8. Densidad Aparente de Tabánidos (ADT).....	37
4.6. Obtención de proteínas.....	37
4.6.1. Extracción de proteínas a partir de EGS.....	37
4.6.2. Cuantificación de proteínas	38
4.6.3. Electroforesis SDS en geles de poliacrilamida.....	38
4.7. Caracterización de la actividad biológica	39

4.7.1. Zimografía: actividad proteolítica	39
4.7.2. Inhibición de la actividad proteolítica	39
4.7.3. Zimografía: actividad amilolítica.....	39
4.7.4. Análisis densitométrico	40
4.7.5. Actividad antimicrobiana (AMB).....	40
4.7.5.1. Construcción de la curva de McFarland	40
4.7.5.2. Crecimiento de bacterias <i>Escherichia coli</i> BL21 y preparación del inóculo	42
4.7.5.3. Preparación de compuestos activos antimicrobianos (CAA) de EGS y la solución del antibiótico.	43
4.7.5.4. Ensayo antimicrobiano en placas de micro-dilución.	43
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
5.1. Capturas de tabánidos en los sitios de muestreo	45
5.2. Identificación y caracterización morfológica de las especies de tabánidos capturados	46
5.2.1. Género <i>Chrysops</i>	46
5.2.1.1. <i>Chrysops variegatus</i> (Degeer, 1776).....	46
5.2.2. Género <i>Diachlorus</i>	48
5.2.2.1. <i>Diachlorus ferrugatus</i> (Fabricius, 1805).....	48
5.2.3. Género <i>Leucotabanus</i>	52
5.2.3.1 <i>Leucotabanus itzarum</i> (Bequaert, 1931).....	52
5.2.4. Género <i>Tabanus</i>	54
5.2.4.1. <i>Tabanus colombensis</i> (Macquart, 1846).....	54
5.2.4.2. <i>Tabanus commixtus</i> (Walker, 1980)	58
5.2.4.3. <i>Tabanus haemagogus</i> (Willinston, 1901)	61
5.2.4.4. <i>Tabanus oculus</i> (Walker, 1848).....	64
5.2.4.5. <i>Tabanus vittiger</i> var. <i>guatemalanus</i> (Hine, 1906)	69
5.2.4.6. <i>Tabanus yucatanus</i> (Townsend, 1897).....	72
5.3. Análisis Bioestadístico	74
5.3.1. Capturas de tabánidos por trampa.....	74
5.3.2. Captura de tabánidos por mes.....	75

5.3.3. Curva de acumulación de especies	77
5.3.4. Diversidad de tabánidos	84
5.4. Cuantificación de las proteínas del EGS	86
5.5. Determinación del perfil proteico.....	87
5.6. Caracterización de la actividad biológica	89
5.6.1. Actividad proteolítica del EGS	89
5.6.2. Actividad amilolítica del EGS	93
5.6.3. Caracterización de la actividad antimicrobiana del EGS.....	96
VI. CONCLUSIONES	99
VII. RECOMENDACIONES.....	100
VIII. LITERATURA CITADA	101
ANEXOS	112

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Especies de insectos donde se ha caracterizado el secretoma salival	8
Cuadro 2. Relación de la preparación de soluciones para la composición de la turbidez en la construcción de la curva de McFarland	42
Cuadro 3. Especies de tabánidos colectados en dos zonas de vegetación conservada del estado de Campeche	45
Cuadro 4. Relación de especies y número de organismos capturados por trampa; Abundancia Relativa (%) y Densidad Aparente de Tabánidos (ADT)	81
Cuadro 5. Parámetros ecológicos: Riqueza específica (S), Diversidad (H' , λ), Equidad de Pielou (J), Recambio de especies (β).....	85
Cuadro 6. Cuantificaciones de proteínas de los EGS por UV a 595 nm	87
Cuadro 7. Porcentajes de inhibición (%) de crecimiento bacteriano usando CAA del EGS de tabánidos	96
Cuadro 8. Efecto del CAA sobre las lecturas de las absorbancias del crecimiento <i>E. coli</i> BL21.	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de los tabánidos.....	13
Figura 2. Anatomía externa de la larva de tabánido.....	13
Figura 3. Vista general de la capsula cefálica de la larva de tabánido	15
Figura 4. Morfología de la pupa de los tabánidos	18
Figura 5. Aparato Bucal cortador-lamedor de los tabánidos	21
Figura 6. Zona 1: la Unidad de Manejo Ambiental Nohan, Carmen, Campeche	30
Figura 7. Zona 2: Fragmento del selva del Colegio de Postgraduados Campus Campeche, Champotón, Campeche	30
Figura 8. Esquema de ubicación de las trampas por transectos.....	32
Figura 9. Estructura de la trampa de intercepción de vuelo de tipo Malaise para la captura de tabánidos.....	32
Figura 10. Curva estándar en la escala de McFarland.....	41
Figura 11. Diseño experimental del ensayo antimicrobiano	44
Figura 12. <i>Chrysops variegatus</i> ♀ (Deegeer, 1776).....	48
Figura 13. <i>Diachlorus ferrugatus</i> ♀ (Fabricius, 1805).....	51
Figura 14. <i>Leucotabanus itzarum</i> ♀ (Bequaert, 1931)	54
Figura 15. <i>Tabanus colombensis</i> ♀ (Macquart, 1846)	56
Figura 16. <i>Tabanus colombensis</i> ♂ (Macquart, 1846)	58
Figura 17. <i>Tabanus commixtus</i> ♀ (Macquart, 1846)	61
Figura 18. <i>Tabanus haemagogus</i> ♀ (Willinston, 1901)	64
Figura 19. <i>Tabanus oculus</i> ♀ (Walker, 1848).....	67
Figura 20. <i>Tabanus oculus</i> ♂ (Walker, 1848).....	69
Figura 21. <i>Tabanus vittiger guatemalanus</i> ♀ (Hine, 1906).....	71
Figura 22. <i>T. yucatanus</i> (Walker, 1848)	74
Figura 23. Relación de tabánidos capturados por trampa en la UMA Nohan.....	75
Figura 24. Relación de tabánidos capturados por trampa en la Selva COLPOS Cam.....	75
Figura 25. Relación de tabánidos capturados por mes en la UMA Nohan.....	77
Figura 26. Relación de tabánidos capturados por mes en la Selva COLPOS Cam (Z2).....	77

Figura 27. Curva de acumulación de especies de la UMA Nohan (Z1).....	79
Figura 28. Curva de acumulación de especies de la Selva COLPOS Cam	80
Figura 29. Perfil proteico del extracto de glándulas salivales (EGS) de tabánidos.	88
Figura 30. Actividad proteolítica del extracto de glándulas salivales (EGS) de tabánidos.....	90
Figura 30. Inhibición de la actividad proteolítica del EGS de <i>T. haemagogus</i>	92
Figura 31. . Inhibición de la actividad proteolítica del EGS de <i>L. itzarum</i>	93
Figura 32. Perfil amilolítico del EGS de tabánidos	95
Figura 33. Análisis densitométrico de la actividad amilolítica del EGS de tabánidos.....	95

ABREVIATURAS

°C: grados centígrados

μL: microlitro

μM: micromolar

2X: 2 veces concentrado

AgNO₃: Nitrato de plata

BSA: Albúmina de suero bovino

BaCl₂: Cloruro de bario

CAA: Componente activo antimicrobiano

Ca⁺: Iones de Calcio

CaCl₂: Cloruro de Calcio

CH₃COOH: Ácido Acético Glacial

CO₂: Dióxido de Carbono

DTT: Ditioneitol

EGS: Extracto de Glándulas Salivales

h: horas

H⁺: Iones Hidruro

H₂O: Agua

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

HCl: Ácido clorhídrico

HPLC: High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta

Eficiencia)

K^+ : Iones de Potasio

kDa: Kilodaltones

$KHPO_4$: Fosfato dipotásico

L: Litro

M: molar

mg: miligramos

mL: mililitro

mm: milímetros

mM: milimolar

msnm: metros sobre nivel del mar

Na_2CO_3 : Carbonato de sodio

$Na_2S_2O_3$: Tiosulfato de Sodio

NaCl: Cloruro de Sodio

$NaHPO_4$: Fosfato disódico

nm: nanómetros

PAGE: Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Electroforesis en geles de poliacrilamida)

PBS: Phosphate Buffer Solution (Solución Salina de Fosfatos)

pH: potencial de hidrógeno

PSA: Persulfato de Amonio

rpm: revoluciones por minuto

SDS-PAGE: Polyacrylamide Gel Electrophoresis Sodium Dodecyl Sulfate
(Electroforesis en Geles de Poliacrilamida con Dodecil Sulfato de Sodio)

SDS: Dodecil Sulfato de Sodio

TCA: Trichloroacetic Acid (Ácido Tricloroacético)

TEMED: Tetrametiletilendiamina

Tritón X100: Detergente tensioactivo 100 veces concentrado

UV: Luz Ultravioleta

V (electricidad): voltaje

V/V: Volumen/Volumen

V: volumen

ZnCl₂: Cloruro de Zinc

β-mercaptoetanol: 2-mercaptoetanol

I. INTRODUCCIÓN

Los tabánidos son un grupo de dípteros que presentan hábito hematófago que comúnmente son conocidos como “tábanos” (Service, 2008; Sullivan, 2021). Se encuentran presentes en todos los continentes (a excepción de la Antártida) especialmente en zonas templadas y tropicales (Rodrigues-Ronald et al., 2017). En el mundo existen cerca de 4,500 especies de tabánidos identificadas y clasificadas (Sanal-Demirci et al., 2021). En México existen alrededor de 208 especies de tabánidos, pertenecientes a 31 géneros descritos (Ibáñez-Bernal, 2017).

Son insectos que se encuentran comúnmente en zonas con vegetación abundante, cuerpos de agua circundantes y presencia de presas potenciales, tal es el caso de vertebrados superiores; por lo que suelen encontrarse en selvas bajas inundables, zonas de manglar, pastizales y zonas cercanas a poblados rurales (Martin-Park, et al., 2018).

Los adultos se alimentan de néctar y extractos vegetales de plantas, sin embargo, las hembras presentan el hábito hematófago, con la cual obtienen una fuente de proteínas exógena que le permita madurar los huevos y completar el ciclo oogénico (Karolyi et al., 2014). Su ciclo de vida consiste en una metamorfosis de tipo holometábola cuyo desarrollo es a través de las fases de larva, pupa e imago (Hill & MacDonald, 2019).

Por otro lado, los tabánidos son considerados como vectores mecánicos de diferentes agentes patógenos asociados a enfermedades que afectan tanto a las personas como a los animales. En el caso de los de animales de producción, se le asocia a grandes pérdidas económicas para el sector ganadero y pecuario (Sullivan, 2021). Así mismo, son considerados como una de las plagas más recurrentes en sitios rurales, al ser insectos molestos, impertinentes y con mordeduras dolorosas (Changbunjong et al., 2021).

El estudio del extracto salival de los tabánidos ha tomado relevancia considerando los múltiples casos de anafilaxia producidos por su mordedura (Hemmer et al., 1998), por lo que son de interés para la descripción del cuadro clínico y el tratamiento. Por otro lado, la composición química de los extractos salivales de los tabánidos ha sido

escasamente abordado en otros países, puesto que, ante la gran cantidad de especies clasificadas, solo unas cuantas han sido analizadas, identificando y caracterizando funcionalmente proteínas y péptidos a partir del EGS (Xu et al., 2008).

Entre las moléculas que se han podido identificar se encuentran, inhibidores de la función plaquetaria, péptidos que suprimen la respuesta inmunológica, inhibidores de enzimas con actividad anticoagulante, proteasas con actividad fibrinogenolítica; péptidos antimicrobianos, péptidos vasodilatadores, moléculas alergénicas y proteínas asociadas a detoxificación como las metalotioneínas (Xu et al., 2008). Lo anterior, aunado al concepto de autores como Ribeiro & Francischetti, (2003), ha generado un puntual interés en su potencial biotecnológico.

Con la presencia de 208 especies identificadas en México, el panorama es muy amplio a los estudios moleculares del secretoma salival de los tabánidos, dado que hasta el momento solo se han realizado estudios faunísticos. Es por ello, que el presente trabajo propone el modelo de bioprospección con tabánidos, para la identificación y caracterización de proteínas presentes en el extracto de glándulas salivales y determinar su potencial aplicación biotecnológica.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. General

Determinar la composición proteica del extracto de glándulas salivales (EGS) de tabánidos en dos sitios de vegetación conservada de Campeche.

2.2. Específicos

1. Determinar la diversidad y abundancia de tabánidos colectados en dos sitios de vegetación conservada del estado de Campeche.
2. Analizar y comparar el perfil proteico del extracto de glándulas salivales de tabánidos (EGS).
3. Caracterizar la actividad funcional de extracto de glándulas salivales (EGS).

2.3. Justificación

Los tabánidos son un grupo de dípteros que comúnmente se asocian a la transmisión de agentes patógenos que afectan tanto a humanos como a animales. Además, son considerados como importantes polinizadores de varias plantas angiospermas garantizando su reproducción sexual y permanencia en los ecosistemas.

Recientemente, ha llamado la atención los múltiples casos de anafilaxia inducidos por su mordedura. También, en los análisis moleculares del sialoma en especies de géneros como *Tabanus* e *Haematopota*, se ha identificado péptidos y proteínas anticoagulantes, vasodilatadores, inhibidores de proteasas, péptidos inmunosupresores, péptidos antimicrobianos, entre otros. Por consiguiente, al analizar las proteínas han concluido que existen diferencias en cuanto a composición química del sialoma entre las diferentes especies; destacando que podría tratarse de isoformas moleculares o moléculas completamente diferentes.

México cuenta con un total de 208 especies identificadas y clasificadas, y en el caso específico de la península de Yucatán cuenta con 29 especies en las que no se ha analizado la composición molecular. De tal manera que, el aislamiento de las proteínas

presentes en el extracto de glándulas salivales (EGS), así como la obtención de perfiles proteicos y el análisis de algunas de las actividades biológicas de las proteínas, permitirá dar un primer acercamiento a la determinación de la composición química del sialoma de algunas de las especies de tabánidos presentes en el estado de Campeche.

Asimismo, la identificación de una actividad biológica permitiría determinar el papel funcional dentro de los procesos fisiológicos del insecto e indagar sobre la posible respuesta asociada que tienen en los hospederos. Finalmente, también se podrá proponer alguna posible aplicación biotecnológica en las diferentes industrias, tal es el caso de la farmacéutica, la alimenticia, la cosmética, por mencionar algunas. Con todo lo anterior, es que se propone como modelo de bioprospección a los tabánidos.

2.4. Hipótesis biológica

La diversidad de tabánidos presente en los sitios de estudio estará relacionada con el tipo de vegetación presente en cada área, incluyendo los factores bióticos y abióticos.

Las proteínas identificadas a partir del sialoma de las especies de tabánidos presentarán diferencias en cuanto a su composición proteica en comparación con sialomas caracterizados en otras especies.

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

3.1. Antecedentes específicos

Los tabánidos son un grupo de dípteros con aporte en estudios faunísticos, sin embargo, la mayoría de ellos va dirigido hacia la medicina humana y veterinaria, principalmente debido a la capacidad de transmitir agentes patógenos a través de su mordedura. Entre los agentes patógenos se encuentran nemátodos, protozoarios, bacterias y virus, asociados a enfermedades como la tripanosomiasis, parasitosis, tularemia, ántrax, entre otras (Foil, 1989; Burger & Thompson, 1981; Baldacchino et al., 2014; Taioe et al., 2017; Kobayashi et al., 2021).

Dentro de los primeros trabajos con tabánidos se puede mencionar el de Khan (1951) que realizó una descripción sobre sus aspectos biológicos, señalando las afectaciones socioeconómicas y entendiendo al grupo como una plaga que afectaba principalmente al ganado. Por su parte, Teskey (1969) describió mediante una serie de diagnosis los géneros *Merycomya*, *Tabanus*, *Atylotus* e *Hybomitra*; donde detalló sus aspectos biológicos y la interacción con sus hábitats. Por otro lado, Andreeva (1988) describió la morfología de los estadios larvales de las especies *Tabanus sabuletorum*, *T. tergestinus*, *T. autumnalis*, *T. armeniacus* y *T. cordiger* donde comparó las diferentes adaptaciones morfológicas y fisiológicas que presentaban ante hábitats terrestres o acuáticos. Finalmente, McElligott (1992) realizó un estudio faunístico en la región subártica de Canadá; donde mediante una serie de colectas identificó 17 especies de tabánidos a partir de larvas, pupas y adultos; con ello describió el ciclo de vida de los tabánidos, así como las diagnosis correspondientes a especies de los géneros *Chrysops*, *Hybomitra* y *Atylotus*.

Con respecto a México, la mayoría de los estudios se han enfocado en conocer su distribución y abundancia. Destaca el de Bequaert (1931), cuyas colectas realizadas entre 1929 y 1930 indicaron la presencia de 14 especies de tabánidos en la península de Yucatán, destacando los géneros *Chrysops*, *Esenbeckia* y *Tabanus*.

Mas tarde, Ibáñez-Bernal (1989) llevó a cabo un estudio faunístico de dípteros en la Reserva de la Biósfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, en donde documentó la presencia

de 18 especies de tabánidos, perteneciente a los géneros *Chrysops*, *Scione*, *Stenotabanus*, *Catachlorops*, *Leucotabanus* y *Tabanus*. Derivado de ese trabajo, describió por primera vez a la especie *Stenotabanus (Aegyalomyia) indotatus* (Ibáñez-Bernal, 1991). Posteriormente, realizó descripciones morfológicas con lo cual propuso una clave de identificación para las especies previamente reportadas (Ibáñez-Bernal, 1992).

En relación con lo anterior, autores como Manrique-Saide et al., (2001) reportaron por primera vez la presencia de las especies *Lepiselaga crassipes*, *Phaenotabanus longiappendiculatus* y *Tabanus pungens* en la península de Yucatán; así como también, reportaron la presencia de *Chrysops varians* en México. Posteriormente, Manrique-Saide et al., (2012) estimaron la diversidad y abundancia de la tabanofauna del área natural protegida de Balam K'aax, donde reportaron la presencia de siete especies de tabánidos, siendo los géneros *Chrysops*, *Leucotabanus* y *Tabanus* lo más representativos. Prosiguiendo con la secuencia cronológica, Martin-Park et al., (2018) realizaron un estudio faunístico de la reserva estatal "El Palmar" en el estado de Yucatán, donde destacaron la presencia de seis especies de tabánidos distribuidas en los géneros *Diachlorus*, *Leucotabanus*, *Stenotabanus* y *Tabanus*. Así mismo, Martin-Park et al., (2018) estimaron la diversidad y abundancia de dípteros en áreas naturales protegidas del estado de Yucatán (Reserva Estatal Dzilam, el Parque Nacional Dzibilchaltún, el Parque Estatal Lagunas de Yalahau, la Reserva Estatal el Palmar, el Parque Estatal el Kabah y el parque de San Juan Bautista Tabi y Anexa Sacnité) donde identificaron 16 especies de tabánidos, correlacionando los parámetros de diversidad y abundancia con las temporalidades climáticas.

En última estancia, Navarrete-Carballo et al., (2021) realizaron una serie de colectas para determinar la diversidad de dípteros hematófagos presentes en un fragmento de vegetación conservada asociado a la zona arqueológica de X'cambó donde identificaron la presencia de cinco especies pertenecientes a los géneros *Diachlorus* y *Tabanus*.

Para el estado de Campeche, Bequaert (1931) y Manrique-Saide et al., (2001) hacen mención de ejemplares colectados en algunas localidades del estado de Campeche,

destacando algunos poblados cercanos a la Reserva de Calakmul. El trabajo realizado por Aquino-Luna (2020) reportó la presencia de siete especies de tabánidos en un fragmento de selva subperennifolia dentro del Colegio de Postgraduados Campus Campeche, en el municipio de Champotón.

Recapitulando, los tabánidos se alimentan de néctar y extractos de plantas, así como también de líquido sanguíneo que obtienen de sus presas potenciales, tal es el caso de vertebrados como los mamíferos, aves, e incluso reptiles (Ferreira et al., 2002). Considerando que los tabánidos presentan hábitos hematófagos, se le asocia la presencia de moléculas secretadas por las glándulas salivales para coadyuvar al proceso fisiológico de alimentación. En 1995, Ribeiro realizó una revisión bibliográfica sobre los mecanismos de alimentación de los insectos, donde concluyó que la secreción de moléculas específicas de las glándulas salivales está asociado al hábito alimenticio. Posteriormente, Ribeiro & Francischetti (2003) describió los mecanismos de alimentación de los insectos hematófagos en las que detalló las diversas estrategias que utilizan para alimentarse. También, describió algunas de las moléculas involucradas en el proceso, así como sus posibles mecanismos de acción.

Con respecto a la composición proteica de la secreción salival de los insectos hematófagos, se han descrito diferentes grupos taxonómicos, específicamente aquellos de importancia médica y veterinaria (Cuadro 1).

Considerando lo anterior (Ribeiro & Arcà, 2009) realizaron una serie de propuestas sobre el potencial uso farmacológico de las macromoléculas secretadas por las glándulas salivales, especialmente las proteínas, tal es el caso de vasodilatadores, enzimas proteolíticas, apirinas y anticoagulantes.

Para el caso de la familia Tabanidae, se identificaron reacciones anafilácticas a causa de su mordedura, lo que indicaba la presencia de moléculas secretadas por las glándulas salivales que actuaban como posibles alérgenos (Maat-Bleeker & Bronswijk, 1995). Ante tales conjeturas, Hemmer et al., (1998) identificaron y caracterizaron el primer alérgeno secretado por las glándulas salivales de los tabánidos (proteínas de unión a la IgE de 68 kDa) mediante ensayos serológicos. Consecuentemente, Quercia

et al., (2005) analizaron algunos casos clínicos de anafilaxis inducida por la mordedura del tabánido *Hippobosca equina* donde identificaron la sintomatología y lo compararon con los cuadros clínicos provocados por picaduras de abejas, avispas u hormigas. Posteriormente, Quercia et al., (2008) implementaron el término “síndrome de alergia por picadura de tabánidos”.

Cuadro 1. Especies de insectos donde se ha caracterizado el secretoma salival.

Especie	Orden: Familia	Secretoma salival	Autor
<i>Aedes albopictus</i>	(Diptera: Culicidae)	150 proteínas	(Arcà et al., 2007)
<i>Triatoma infestans</i>	(Hemiptera: Reduviidae)	645 proteínas	(Assumpção et al., 2008)
<i>Glossina morsitans</i>	(Diptera: Glossinidae)	250 proteínas	(Alves-Silva et al., 2010)
<i>Cimex lectularius</i>	(Hemiptera: Cimicidae)	100 proteínas	(Francischetti et al., 2010)
<i>Panstrongylus megistrus</i>	(Hemiptera: Reduviidae)	159 proteínas	(Bussacos et al., 2011)
<i>Rhodnius neglectus</i>	(Hemiptera: Reduviidae)	636 proteínas	(Santiago et al., 2016)
<i>Simulium nigrogilvum</i>	(Diptera: Simulidae)	56 proteínas	(Hempolchom et al., 2019)
<i>Simulium nodosum</i>	(Diptera: Simulidae)	41 proteínas	

En relación con lo anterior, Veraldi & Esposito (2017) describieron las lesiones cutáneas y afecciones causadas por la mordedura del tabánido *Tabanus bovinus*, con la cual describieron el cuadro clínico asociado. Finalmente, Whyte et al., (2020) realizaron una compilación de reportes de casos sobre alergias causadas por mordeduras de tabánidos, donde las especies que mencionan como causantes de los

cuadros clínicos, pertenecen a los géneros *Tabanus*, *Haematopota* y *Chrysops*.

Con respecto al sialoma de los tabánidos, Kazimírová et al., (2001) realizaron una evaluación del extracto de las glándulas salivales de las especies *Tabanus autumnalis*, *Hybomitra muehlfeldi*, *Haematopota pluvialis* y *Heptatoma pellucens* mediante una separación cromatográfica de alta eficiencia (HPLC), donde identificaron compuestos de naturaleza proteica con actividad anticoagulante. Consecuentemente, Kazimírová et al., (2002) analizaron especies de los géneros *Atylotus* y *Chrysops* donde también identificaron proteínas con actividad anticoagulante. Evaluaron los parámetros de la cascada de coagulación concluyendo que los extractos presentaban diferencias, por lo que infirieron que se podría tratar de proteínas diferentes.

Por consiguiente, Rajska et al., (2003) identificaron actividad vasodilatadora a partir del contenido proteico presente en la secreción salival de *Hybomitra bimaculata*, *H. ciureai*, *Tabanus bromius*, *T. glaucopsis* y *Chrysops relictus*. También, realizaron una cinética de la actividad vasodilatadora encontrando diferencias del contenido proteico de la secreción salival entre las especies. Con los resultados anteriores, Takáč et al., (2006) identificaron y sintetizaron un péptido con actividad vasodilatadora aislado a partir de la secreción salival de la especie *H. bimaculata*; posteriormente, se aisló e identificó el péptido “inmunorregulina HA” de la especie *Hybomitra atriperoides*, cuya función es la capacidad de regular la producción de citocinas proinflamatorias (Yan et al., 2008). Posteriormente, Xu et al., (2008) analizaron el sialoma (conjunto de proteínas secretadas por las glándulas salivales) de la especie *Tabanus yao*; así mismo, realizaron un análisis transcriptómico, bioinformático y en algunos casos, un análisis funcional, con la cual identificaron familias de péptidos y proteínas con actividad hemostática, inmunorreguladora, vasodilatadora, anticoagulante y antimicrobiana.

En relación con lo anterior, Ma et al., (2009) identificaron proteínas con actividad inhibidora de trombosis a partir de la especie *T. yao*. Zhao et al., (2009), por su parte, identificaron péptidos con actividad inmunorreguladora en la especie *T. pleskei*. Zhang et al., (2014) aislaron a “vasotab TY”, un péptido con fuerte actividad inhibidora de trombosis. Finalmente, Wei et al., (2015) identificaron un péptido con actividad antiinflamatoria, al que denominaron “cecropin TY”; además, indagaron sobre su

posible actividad antimicrobiana debido a la similitud de las secuencias de aminoácidos en comparación con otros péptidos antimicrobianos.

Un primer trabajo a mencionar acerca de la caracterización del sialoma sería el realizado por Kumar (1970) quien identificó actividad proteolítica en el fluido salival de las especies *Helopetis corbisieri* (Hemiptera: Miridae) y *Bryocoropsis laticollis* (Hemiptera: Lygaeidae) en las diferentes fases de desarrollo; concluyendo que la cantidad de proteasas varía en cada etapa de desarrollo de los insectos. Por otra parte, Laurema et al., (1985) caracterizaron la actividad enzimática de las proteínas del tejido glandular salival, donde identificaron actividad de poligalacturonasas, amilasas, proteasas, fosfatasas, trealosas, invertasas y fenoxidasas.

En el caso específico de los insectos hematófagos, Amino et al., (2001) caracterizaron a partir de la saliva de la especie *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) una proteína con actividad analgésica, anticoagulante y vasodilatadora; que fue clasificada como una serín proteasa. Consecuentemente, Amino et al., (2002) identificaron la proteína con actividad lítica, infiriendo que lisaban las membranas celulares.

En el mismo sentido, Angulo-Valadez et al., (2007) identificaron y caracterizaron mediante zimografías algunas de las enzimas hidrolíticas presentes en el fluido salival de la especie *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae); identificando actividad de enzimas como ácido fosfatasas, fosfohidrolasas, esterasas, lipasas, leucin arilamidadasas, glucosidasas, acetil-glucosaminidasas y proteasas.

3.2. Clasificación Taxonómica

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Diptera

Suborden: Brachycera

Familia: Tabanidae (Latrielle,1802)

La familia Tabanidae incluye alrededor de 4500 especies identificadas y clasificadas en todo el mundo (Sanal-Demirci et al., 2021). En México se han registrado un total de 208 especies válidas pertenecientes a 31 géneros descritos distribuidos en tres subfamilias (Pangoniinae, Chrysopsinae y Tabaninae) (Ibáñez-Bernal, 2017); en el caso de la península de Yucatán se han registrado cerca de 29 especies distribuidas en nueve géneros (Ibáñez-Bernal, 2017).

3.3. Ciclo de vida y reproducción

El ciclo de vida de los tabánidos consiste en una metamorfosis de tipo holometábola, es decir, que se desarrollan a través de los estadios de larva, pupa e imago, completando un ciclo por año; sin embargo, se tienen reportes de especies que requieren de dos a tres años para el desarrollo de un individuo (McElligott, 1992; (Hill & MacDonald, 2019).

Las hembras depositan de 100-1000 huevecillos en una sola oviposición. Los huevecillos eclosionan de manera simultánea entre 2-3 días posteriores. El desarrollo de la larva consiste en una serie de estadios que varían dependiendo de la especie del tabánido. Usualmente se presentan de 6-12 estadios larvales y generalmente se desarrollan en un periodo de 2-4 semanas. El estadio de pupa consiste en el encapsulamiento del individuo en una crisálida formada por una serie de secreciones del tegumento, que dura entre 2-3 semanas y finaliza con la eclosión del organismo adulto (McElligott, 1992; Hill & MacDonald, 2019; Mullens, 2019; Squitier, 2021) (Figura 1).

3.4. Morfología

3.4.1. Huevos

Los huevos presentan una forma cilíndrica de aproximadamente 1 a 2.5 mm de longitud. Son ovipositados en una masa de huevos compacta o multiescalonada, la cual es colocada en diferentes sustratos como vegetación emergente, hojas y ramas secas, depósitos de agua o suelos húmedos (Figura 1 B). Presentan una consistencia cremosa con coloraciones blanquecinas, gris oscuro e incluso negros (Hill &

MacDonald, 2019).

3.4.2. Larvas

3.4.2.1. Cabeza

Las larvas presentan una estructura corporal cilíndrica, elongada y fusiforme, con ambos extremos en forma de punta y una longitud de 12-60 mm; sin embargo, se presentan especies que superan estas características (Figura 1 C). Presentan coloraciones blancas, café oscuro e incluso pardos con alta presencia de espinas sensoriales a lo largo de todo el cuerpo que varían en tamaño y forma. Los patrones de pubescencia se incluyen como una característica morfológica distintiva entre las diferentes especies rango (Teskey, 1969; Andreeva, 1989; Hill & MacDonald, 2019). Presentan una estructura corporal compuesta por una cápsula cefálica, tres segmentos torácicos, ocho segmentos abdominales y una estructura respiratoria denominada “espina sifonal” o “sifón” (*siph*) (Andreeva, 1989) (Figura 2).



Figura 1. Ciclo de vida de los tabánidos. Panel A) Adulto o Imago. Panel B) Huevo. Panel C) Larva. Panel D) Pupa. (Modificado de Hill & MacDonald, 2019).

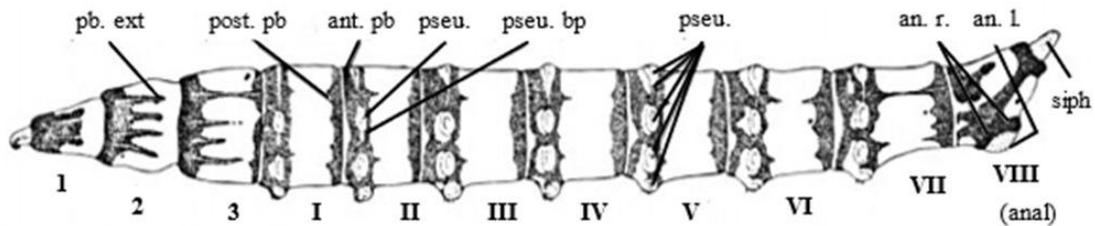


Figura 2. Anatomía externa de la larva de tabánido. Terminología: pb. ext, pubescencia externa; post. pb, pubescencia posterior; ant. pb, pubescencia anterior; pseu., pseudópodos; pseu. bp, pubescencia pseudopodial; an. r., cresta postanal; an. l., lóbulo postanal; siph, sifón respiratorio; (1-3), segmentos torácicos; (I-VII), segmentos abdominales; (VIII), segmento anal (Teskey, 1969).

La cápsula cefálica se encuentra esclerotizada y es capaz de retraerse completamente dentro de los segmentos torácicos y puede rotar 180°.

Presenta coloración amarilla, café oscuro o pardo. Está compuesta por un epicráneo; un par de brazos tentoriales que se unen anterior y posteriormente a la zona dorsal del epicráneo (Figura 3).

Presenta los apéndices cefálicos que constituyen las piezas bucales, las antenas y cepillo cefálico (*b*) que se articulan en la parte anterior del epicráneo y los brazos tentoriales. Del epicráneo surge una prolongación media, curvada hacia abajo y lateralmente compactada que conforma el cípeo (*cly*) y la zona posterior del labro (*labr*). El labro se recurva y continúa de manera interna formando el cibario. En las zonas laterales paralelas al cípeo se conforman los escleritos que dan lugar al aparato mandibular-maxilar; este consta de una mandíbula (*Md*) en forma de hoz, la lacinia y el cepillo cefálico. La lacinia consiste en un esclerito delgado y afilado que presenta una forma cóncava y se articula directamente al esclerito basal mientras que las mandíbulas y el cepillo cefálico se conectan a través de escleritos intermedios. El cepillo cefálico se encuentra sostenido por el integumento y se encuentra unido al vértice de una barra esclerotizada en forma de mazo que se inserta de manera lateral al esclerito basal. La función del cepillo cefálico no está totalmente clara, sin embargo, se especula que pueda funcionar como un ancla al momento de que la larva se alimenta de sus presas; incrustándose completamente dentro del cuerpo de estas (Lane, 1975; Andreeva, 1989; Mullens, 2002).

Cada mandíbula se encuentra atravesada por un canal central con una abertura en la superficie dorsal de su ápice. Estos no tienen conexión con el tracto digestivo, pero parecen estar conectadas con un par de glándulas que secretan veneno. El tejido glandular secreta un conjunto de enzimas paralíticas que son inyectadas a través de las mandíbulas, lo cual parece inmovilizar a sus presas (Lane, 1975).

Las antenas son los apéndices cefálicos considerados como una de las principales características diagnósticas. Se encuentran localizadas justo debajo del cepillo cefálico

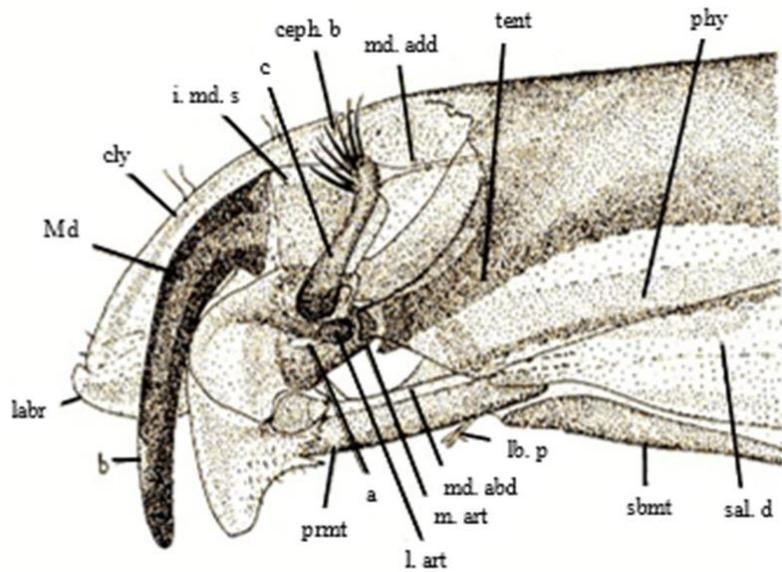


Figura 3. Vista general de la capsula cefálica de la larva de tabánido. Terminología: b, ápice de la mandíbula; labr, labro; Md, mandíbula; cly, clípeo; i. md. s, esclerito mandibular intermedio c, barra esclerotizada en forma de mazo; ceph. b, cepillo cefálico; md. add, músculo abductor del cepillo cefálico; tent, tentorio; phy, faringe; prmt, prementum; a, cóndilo posterior; l. art, pared lateral del epicráneo; m. art, proyección del brazo tentorial; md. abd, apodema abductor; lb. p, palpos labiales; sbmt, submentum; sal. d, bomba salival (Teskey, 1969).

y se encuentran divididos en tres segmentos. Justo debajo de las antenas se encuentran los palpos maxilares que también se encuentra dividido en tres segmentos (Teskey, 1969; Lane, 1975).

El labio (*lb. p.*) y la hipofaringe (*phy*) se encuentran de manera ventral en la cápsula cefálica. El labio consiste en dos zonas, la primera es una estructura en forma de escudo denominada submentum (*sbmt*) y la otra consiste en un par de glosas cónicas que proyectan desde su base a los palpos maxilares, y se denomina prementum (*prmt*). De manera dorsal, el prementum tiene una forma de abrevadero y a través de este discurre el ducto salival (Teskey, 1969; Lane, 1975).

La hipofaringe se encuentra en la zona basal de la cavidad oral y esta se conecta con el ducto salival; donde, mediante movimientos de contracción y relajación de los músculos labiales y labrales se abre el cibario eficazmente (Teskey, 1969; Lane, 1975;

Andreeva, 1989). El ducto salival se dirige hacia la bomba salival (*sal. d.*); y su contracción, junto con el cierre de la válvula anterior del conducto salival, propicia la elongación y retracción de las glándulas salivales. Por otro lado, el cierre de la válvula posterior y la elasticidad de las paredes de la bomba, da como resultado la eyección de la saliva dentro del cibario (Teskey, 1969).

3.4.2.2. Tórax y abdomen

La anatomía corporal se encuentra dividida en segmentos que presentan surcos longitudinales, los cuales marcan la inserción de los músculos transversales. Estos surcos se proyectan de manera dorso, ventrolateral y medioventralmente en el protórax. Los tres segmentos torácicos (1-3) no presentan apéndices, mientras que del primer segmento al séptimo segmento abdominal presentan de tres a cuatro pseudópodos (*pseu*). El último segmento abdominal es el “segmento anal” (*VII*), el cual presenta un par de apéndices: el tubérculo anal y la espina sifonal. Los pseudópodos varían en tamaño, pero los que presenta el primer segmento son los más cortos, ya que se apoyan de un conjunto de espinas para la locomoción. El segmento anal es el segmento más conspicuo en cuanto a forma y proyecciones, por lo que es utilizada como característica diagnóstica (Figura 2) (Teskey, 1969; Lane, 1975).

3.4.3. Pupa

Son de gran tamaño, con un tamaño de cuatro a cinco veces el diámetro. Presenta una forma obtusa, es decir, son arqueadas en la zona dorsal y recurvadas en la zona ventral (Figura 1 D).

3.4.3.1. Cabeza

La cabeza se encuentra totalmente fusionada con el tórax y solo se diferencia por una sutura cefálica. Presentan una serie de vainas de la cual procederán a formar las piezas bucales y las antenas (Figura 4) (Teskey, 1969; (Lane, 1975).

3.4.3.2. Tórax

El tórax está compuesto por solo dos segmentos visibles, ya que el protórax

aparentemente se encuentra fusionado con la cabeza. El mesonoto presenta una serie de espiráculos en los márgenes anterolaterales, cuya distancia entre ellos es una característica diagnóstica entre especies. El metanoto es la única sección visible del último segmento torácico, donde se encuentran fusionadas las vainas que dan lugar a las alas y las patas torácicas (Teskey, 1969; Lane, 1975).

3.4.3.3. Abdomen

El abdomen comprende ocho segmentos abdominales, todos están subdivididos en tergo, esterno y pleura, a excepción del último y el primer segmento. La sección pleural de los primero siete segmentos presente espiráculos que se encuentran en tubérculos truncados cortos. Posee una serie de setas pleurales y tergaes en el primer segmento, mientras que el resto de los segmentos posee una serie de espinas en su lugar. El octavo segmento, el segmento anal, termina en un aster de pares dorsales, laterales y ventrales de tubérculos puntiagudos esclerotizados (Teskey, 1969; Lane, 1975).

3.4.4. Adultos

Los adultos presentan un cuerpo robusto que alcanza una longitud de 25-30 mm, dependiendo de la especie (Inostroza-Infante, 2013) (Figura 1 A).

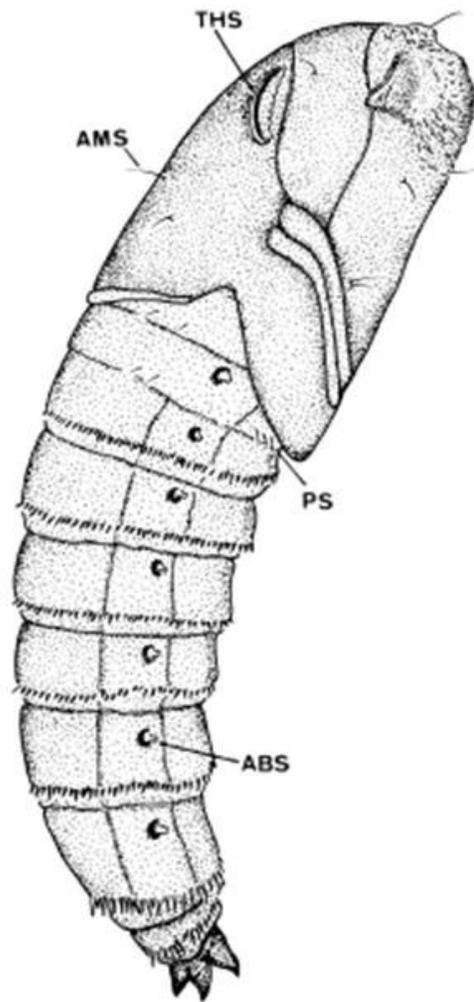


Figura 4. Morfología de la pupa de los tabánidos. Terminología: ABS, espiráculo abdominal; AMS, seta anterior mesonotal; PS, seta pleural; THS, espiráculo torácico (González, 2004).

3.4.4.1. Cabeza

Poseen una cabeza grande en comparación con el resto del cuerpo. Presentan un par de antenas extendidas en dirección al prorecto y están compuestas de cuatro a ocho segmentos distinguibles. Presenta un par de ojos compuestos de gran tamaño en proporción con la cabeza que se extienden por ambas zonas dorsolaterales; están compuestos por una serie de unidades estructurales denominadas omatidios y dependiendo de la coloración, les permite presentar una serie de patrones de bandas distintivas entre especies (Mullens, 2002). La posición de los ojos es un carácter

morfológico sexual, debido a que las hembras presentan una intercepción que separa por completo los ojos, lo que se le denomina arreglo “dicóptico”; mientras que los machos carecen de dicha intercepción y los ojos se conectan por la zona superior de los ojos, indicando un arreglo “holóptico” (Inostroza-Infante, 2013).

3.4.4.2. Tórax

El tórax es robusto y consiste en tres segmentos: protórax, mesotórax y metatórax. De manera interna presentan una serie de músculos que sostienen eficazmente la estructura corporal y dependiendo de la zona se les denomina: tergo, pleura y esternón. Poseen un par de alas membranosas que miden entre 6-25 mm de largo con una venación completa, estas presentan una serie de oscurecimientos y sedas que le confieren características morfológicas distintivas; así mismo, presentan un par de alas modificadas denominadas halterios, cuya función es la estabilidad durante el vuelo. Presentan tres patas constituidas por segmentos como: coxa, trocánter, fémur, tibia y tarso; cuya función principal es la locomoción (Mullens, 2002; Mullens, 2019).

3.4.4.3. Abdomen

El abdomen presenta un total de 11 segmentos, de los cuales solo siete son distinguibles; el resto se encuentran modificados, dando lugar a la genitalia. De forma similar al tórax, se encuentra compuesto por el arreglo muscular de tergo, pleura y esterno. Cada segmento abdominal presenta orificios denominados espiráculos, cuya cavidad interna es el sitio donde se realiza el intercambio de gases para la respiración. La genitalia contempla los últimos segmentos abdominales modificados, destacando la ausencia de espiráculos. En el caso de los machos, se le denominan *hipopigium* al conjunto de estructuras que componen la genitalia masculina; en el caso de las hembras, recibe el nombre de *ovipositor* (Mullens, 2019).

3.5. Aparato Bucal Cortador-Lamedor

Los tabánidos presentan un arreglo de las piezas bucales similar a muchos dípteros (Bonhag, 1951). Las hembras son las únicas que presentan el hábito hematófago, por lo que poseen una serie de piezas hausteladas y esclerotizadas que le permiten

desgarrar el tegumento y acceder al líquido sanguíneo (Figura 5 A); por otra parte, los machos se alimentan de néctar y extractos de plantas, por lo presentan piezas subdesarrolladas o ausentes (Stoffolano & Yin, 1983; Karolyi et al., 2014).

El labro es una estructura que cubre las otras piezas bucales de corte; es una estructura larga y esclerotizada en la parte frontal, mientras que en las zonas laterales es membranosa (Figura 5 A, 5 B y 5 C). Forma un canal profundo que sirve como un conducto alimentario que cubre las demás estructuras en la zona frontal; posee una serie de órganos sensoriales en el ápice. El labro (*Lr*) al retraerse encierra al canal y el ducto salival en una unidad funcional en la zona anterior de las estructuras de corte que pueden liberarse mediante una serie de músculos. El labro se une al triángulo que se forma en la zona media de la cabeza en donde se extiende un par de lóbulos sensoriales que son utilizados para localizar las zonas de alimentación (Bonhag, 1951; Krenn & Aspöck, 2012; Karolyi et al., 2014).

Las mandíbulas (*Ma*) son un par de órganos esclerotizados altamente filosos que presentan aserramientos a lo largo de su contorno asemejando pequeños dientes (Figura 5 A, 5 B y 5 C); éstas funcionan como navajas que son capaces de cortar el tejido cutáneo y acceder al líquido sanguíneo y provocar una considerable herida. En el caso de los machos, las mandíbulas se encuentran ausentes, siendo esta la principal diferencia en cuanto al hábito hematófago de las hembras (Karolyi et al., 2014).

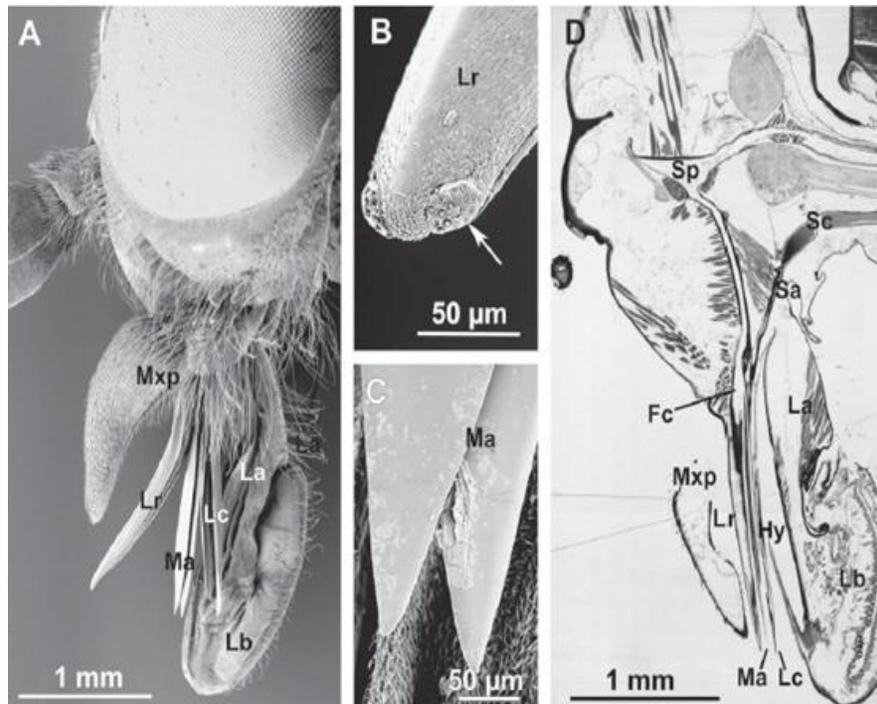


Figura 5. Aparato Bucal cortador-lamedor de los tabánidos. Panel A) Piezas bucales: Palpos maxilares (Mxp); Labro (Lr); Mandíbulas (Ma); Lacinias (Lc); Labio (La); Labela (Lb). Panel B) Vista a microscopio del ápice del labro, observando órganos sensoriales. Panel C) Vista a microscopio de las mandíbulas, observando los contornos dentados. Panel D) Estructura interna del aparato bucal: (Hy) Hipofaringe; (Fc) Canal alimentario; (Sa) Cibario; (Sp) Canal de succión; (Sc) Canal salival (Krenn & Aspöck, 2012).

Las maxilas están compuestas por dos estructuras, las lacinias (*Lc*) y los palpos maxilares (*Mxp*) (Figura 5 A y 5 D). Las lacinias yacen posteriormente a la hipofaringe (*Hy*) y forman estiletes delgados que contienen finos dientes en el ápice que le permite anclarse al tejido cutáneo mientras la sangre es ingerida (Figura 5 A y 5 D). Las lacinias pueden prolongarse o retraerse al momento de comenzar la alimentación. Por otro lado, los palpos maxilares se localizan en la zona adyacente de las lacinias y son estructuras elongadas cuya superficie está cubierta por una serie de sedas sensoriales (Bonhag, 1951; Karolyi et al., 2014).

La hipofaringe forma un estilete delgado y plano que se encuentra en la zona posterior a las mandíbulas (Figura 5 D). Esta estructura conduce al canal salival (*Sa*) cuya entrada y salida se encuentra en el ápice. La hipofaringe se elonga a través de la

cabeza por la cual da lugar al cibario (*Sa*) y se conecta de manera directa con la bomba de succión (*Sc*) y la bomba salival (*Sc*). Esta última es la encargada de eyectar una serie de sustancias que le ayudan en el proceso de alimentación (Krenn & Aspöck, 2012; Karolyi et al., 2014).

El labio (*La*) está compuesto por dos estructuras, el tallo basal y la labela (*Lb*). El tallo basal es una estructura membranosa con una serie de espinas incrustadas y pequeñas zonas esclerotizadas (Figura 2A y 2B). La labela es una estructura larga y ancha en forma de disco que se divide perfectamente en dos secciones; y cuya función es sujetar el sustrato y capturar el líquido sanguíneo. En la superficie de cada sección presentan una serie de diminutos canales denominadas pseudotráqueas, cuya función es incierta, aunque podría estar relacionada con el filtrado de alimento (Lawson, 1983; (Krenn & Aspöck, 2012).

3.6. Glándulas Salivales de los Insectos Hematófagos

Las glándulas salivales se encuentran asociadas al aparato bucal, cuya función es la secreción de componentes químicos que son mezclados con los alimentos para coadyuvar a la ingestión inicial. Existen cuatro tipos de pares de glándulas asociados con la cavidad oral y se pueden diferenciar dependiendo de la zona en la que se encuentren: glándulas mandibulares, maxilares, hipofaringeales y labiales (Walker, 2009). La presencia o ausencia de los pares de glándulas comúnmente se encuentra asociado a los estadios de desarrollo que cumplen funciones variadas e incluso no secretorias (Walker, 2009).

En el caso de los dípteros, las glándulas salivales presentes son las labiales. Se presentan en par y están conectadas mediante un solo ducto a la cavidad oral. A pesar de que se originan del segmento labial, éstas se encuentran conectadas de manera directa a la hipofaringe y se extienden de manera interna en el tórax llegando hasta el primer segmento abdominal. Se encuentran suspendidas en el hemocele y están embebidas por la hemolinfa (Oschman & Berridge, 1970; Walker, 2009).

Presentan dos regiones: una secretora y una de reabsorción. La región secretora se encarga de producir la saliva, cuyo componente principal es agua. El agua es obtenida

de la hemolinfa y transportada activamente mediante los iones de sodio y potasio a través de los canales iónicos del lumen glandular. Las células responsables del transporte y almacenamiento del agua se caracterizan por tener grandes depósitos en la membrana celular y en las microvellosidades de las zonas adyacentes con otras células, de tal manera que aumentan considerablemente los espacios extracelulares para el almacenamiento (Walker, 2009). Por otro lado, las células presentan abundantes mitocondrias las cuales proveen la energía necesaria para la realización del transporte activo a través de las bombas. Así mismo, presentan células especializadas que sintetizan proteínas, principalmente enzimas digestivas, y otros componentes orgánicos; las células se caracterizan principalmente por la presencia de retículos endoplásmicos extensivos, los aparatos de Golgies y gran cantidad de gránulos secretores que sintetizan y transportan internamente las secreciones (Walker, 2009). Cabe mencionar, que ciertos componentes salivales no son secretados directamente por el tejido glandular, si no producidos en otras regiones del cuerpo y son transportados a través de la hemolinfa (Walker, 2009).

La región de reabsorción se encarga de volver a tomar los iones de sodio y potasio provenientes de la saliva a través de las bombas de transporte activo y transportarlas a la hemolinfa. La finalidad es poder reciclar los iones dejando la saliva como un medio hipotónico en comparación con la hemolinfa. Las células presentan pliegues que incrementan la superficie celular; estos pliegues tienden a cerrarse por completo, por lo que facilitan el movimiento de iones reduciendo el gradiente osmótico, lo cual incentiva a las células a perder agua. De igual manera, las células presentan abundantes mitocondrias, con las que producen la energía necesaria para el transporte activo de los iones de la saliva a la hemolinfa (Walker, 2009).

3.7. Componentes salivales

La saliva de los insectos hematófagos está constituida por una serie de compuestos químicos que cumplen una determinada función durante el proceso de succión de la sangre, principalmente, las que coadyuvan para suprimir la respuesta hemostática, la inflamatoria y la inmunitaria (Ribeiro & Arcà, 2009).

3.7.1. Enzimas

Las enzimas salivales permiten que se realice con mayor eficiencia la hematofagia, ya que son las encargadas de degradar los productos finales de la cascada de la coagulación, la vasodilatación de la zona de alimentación para acceder a una mayor cantidad de líquido sanguíneo; y por consiguiente, la inhibición de las respuestas hemostática e inflamatoria por parte de los hospedero (Ribeiro, 1995; Arcà et al., 2007; Ribeiro & Arcà, 2009).

Una de las enzimas más características son las apirinas; son un conjunto de enzimas que pertenecen químicamente a la familia de las 5'-nucleotidasas, su función principal es hidrolizar los nucleótidos energéticos ATP y ADP hasta la unidad AMP. Estos nucleótidos se encargan de activar los comportamientos de defensa de los hospederos, dado que principalmente estimula la segregación de plaquetas, la producción de moléculas precursoras de la cascada de coagulación, la inducción a la respuesta inmunitaria y la respuesta nerviosa del dolor (Valenzuela et al., 2001). Por otro lado, el catabolismo de los nucleótidos conlleva a sintetizar adenosina e inositol, dos moléculas consideradas como potentes vasodilatadores y liberadores de gránulos de mastocitos (Ribeiro, 1995; Ribeiro & Francischetti, 2003; Ribeiro & Arcà, 2009).

Por otro lado, las peroxididasas son un grupo de enzimas que actúan como poderosos vasodilatadores, ya que inhiben la acción fisiológica de las catecolaminas, las cuales ayudan a mantener cerrados los vasos capilares (Ribeiro, 1995). Con la presencia del peróxido de hidrógeno, las peroxididasas son capaces de degradar la serotonina (5-HT), inhibiendo la acción de este neurotransmisor asociado a la respuesta nerviosa al dolor (Ribeiro & Arcà, 2009).

Otro grupo de enzimas son el grupo de las fosfolipasas FAP (Factor Activador de Plaquetas). Su función está asociada a la inducción de los efectos proinflamatorios; ya que estimulan la producción de ácido araquidónico (AA) y lisofosfatidil colina (LPC), los cuales intervienen en la síntesis de las prostaglandinas PGD_2 , uno de los potentes vasodilatadores e inhibidores de la agregación plaquetaria. Otra función es la capacidad de lisar los eritrocitos, por lo que le atribuye la actividad

hemolítica (Ribeiro, 1995; Ribeiro & Francischetti, 2003; Ribeiro & Arcà, 2009).

En el caso de las hidrolasas, en su mayoría se clasifican como serín proteasas, cuya función se encuentra asociadas a la activación de plasminógenos, los cuales son precursores de enzimas proteolíticas que tienen alta especificidad por la fibrina. Esto último le confiere una fuerte actividad anticoagulante. Otro grupo de serín proteasas presentan actividad elastasa, la cual son capaces de degradar fibras elásticas de la piel con la finalidad de sensibilizar la zona de alimentación y estimular el flujo sanguíneo para poder acceder a una mayor cantidad de sangre durante la alimentación (Ribeiro, 1995; Ribeiro & Arcà, 2009).

Las hialuronidasas son las encargadas de degradar el ácido hialurónico, degenerando los componentes de las matrices extracelulares y favoreciendo la difusión del contenido salival en el interior del tegumento (Ribeiro, 1995). Las endonucleasas son capaces de reducir la viscosidad de la piel al degradar el ADN que se liberó a causa de las células lisadas, además de que pueden sintetizar nucleótidos activos que estimulan la respuesta fisiológica del hospedador (Ribeiro & Arcà, 2009). Las peptidasas actúan en la degradación de la bradicinina y en la activación de las anafilotoxinas, las cuales están asociadas a la respuesta inmunológica de hipersensibilidad (Ribeiro & Arcà, 2009).

Finalmente, las pirofosfatasas son las encargadas de la degradación de polifosfatos que segregan las plaquetas, con el cual se activa el sistema de coagulación (Francischetti et al., 2010).

3.7.2. Moléculas antagonistas de receptores

Son un grupo de moléculas con actividad antagonista; se encargan de inhibir de manera competitiva los receptores de las membranas celulares responsables del inicio de las respuestas fisiológicas de los hospederos. Las desintegrinas son péptidos que contienen un motivo RGD (Arg-Gly-Asp, RGD) que les permite tener afinidad por las proteínas que integran el fibrinógeno; dando como resultado la inhibición de la agregación plaquetaria (Ribeiro & Francischetti, 2003).

3.7.3. Vasodilatadores

Son un grupo de moléculas que inhiben el proceso de vasoconstricción, uno de los principales mecanismos por el cual se inicia el proceso de la hemostasis y respuesta inflamatoria. Los mamíferos presentan de manera fisiológica algunas moléculas vasodilatadoras como las prostaglandinas, quienes intervienen en procesos de contracción vascular que produce la serotonina (5-TH) y los tromboxanos (TXA₂) derivado de respuestas ambientales, desarrollo embrionario o traumatismos (Bender et al., 2013).

En el caso de los insectos hematófagos, se han encontrado pequeñas moléculas como óxido nítrico (NO), el cual es acarreado por nitroforinas, un grupo de proteínas que pertenecen a la familia de las lidocaínas (Ribeiro & Arcà, 2009).

La adenosina y las proteínas K⁺ estimulantes están catalogadas como potentes vasodilatadores en los insectos hematófagos; esta última se encarga de estimular los canales de potasio para la producción de ADP y receptores PACAP (Polipéptido Ciclasa Activadores de Adenilatos Pituitario) que actúan como vasodilatadores o inhibidores de plaquetas (Ribeiro & Arcà, 2009).

Finalmente, los insectos poseen un grupo de prostaglandinas que actúan sobre los receptores y estimulan la vasodilatación fisiológica, la cual desencadena algunas respuestas agresivas, tal es el caso de la liberación de histaminas activas que conlleva a la inflamación no controlada (Díaz-Martín, 2014).

3.7.4. Kratagonistas

Son un grupo de pequeñas proteínas que tienen afinidad por moléculas pequeñas como la serotonina (5-TH), iones de hidruro (H⁺), norepinefrina (NE) ADP, Tromboxanos (TXA₂), leucotrienos B₄ (LTB₄) y cisteín leucotrienos, que actúan como moléculas agonistas en los receptores de la superficie celular y cuya función es el inicio de las complejas respuestas fisiológicas: hemostática, inflamatoria e inmunitaria (Díaz-Martín, 2014).

3.7.5. Inhibidores de proteasas

La coagulación y la cascada de complemento representan un complejo sistema de macromoléculas que en sus extremos poseen pequeñas moléculas precursoras de proteasas o moléculas proteolíticas, con el cual ejercen efectos moduladores sobre las trombinas y los complejos líticos del sistema de complemento. De manera fisiológica, los hospederos poseen algunas de estas enzimas como un mecanismo de regulación; debido principalmente, a que la acción de una enzima estimula a otra, y esta a su vez estimula a otra, con la cual se mantiene un ciclo. Por la cual, la acción inoportuna de los inhibidores de proteasas puede establecer un complejo bloqueo bioquímico ante la respuestas hemostática, inflamatoria e inmunitaria (Ribeiro & Arcà, 2009).

Algunos insectos poseen antitrombinas de la familia proteica Kunitz que actúan como antiplaquetarios y anticoagulantes. También las nitroforinas que actúan como kratagonistas de la serotonina, histamina, iones de hidrógeno. Finalmente, las proteasas de los diversos factores de coagulación I-XII con sus variantes (Xa-XIIb), actuando principalmente como precursores de la respuesta de la cascada de la coagulación (Ribeiro & Arcà, 2009).

3.7.6. Moléculas inmunosupresoras e inmunomoduladores

Los insectos hematófagos presentan moléculas que son capaces de evadir o minorizar la respuesta inmunológica de los hospedadores. Actúan de forma conjunta desde las fases iniciales del procesamiento y la presentación antigénica hasta las fases efectoras finales.

Para impedir que sus moléculas salivales sean detectadas como antígenos por el hospedero, recurren al mimetismo molecular, ejemplo de ello es el caso de las prostaglandinas de los insectos, cuya estructura es similar a la de los mamíferos hospederos y pueden pasar desapercibidos.

Otra estrategia es la evasión de la activación de células dendríticas y la presentación de antígenos, debido principalmente a que algunas moléculas son capaces de inhibir la acción de citocinas y co-estimulantes.

Finalmente, el bloqueo de anticuerpos específicos, ya que se unen a las inmunoglobulinas en la región fracción constante (Fc) por lo que no son capaces de detectar el antígeno y, por ende, no iniciar la respuesta inmunitaria.

3.7.7. Rol de la sangre

Los insectos hematófagos pueden dividirse en tres grupos: 1) insectos en donde solo en su estadio larval se alimentan de sangre; 2) insectos que se alimentan de sangre durante todo su ciclo de vida; y 3) insectos que solo se alimentan de sangre en su estado adulto. El tercer grupo está subdividido en tres subgrupos: (i) insectos adultos que son obligatoriamente hematófagos; (ii) insectos adultos que son opcionalmente hematófagos; (iii) insectos adultos en las que solo las hembras opcionalmente se alimentan de sangre, mientras que los machos no. Los tabánidos se encuentran categorizados en este último subgrupo (Díaz-Martín, 2014).

Las hembras se alimentan de animales vertebrados, principalmente mamíferos homeotermos, con el principal objetivo de obtener una fuente proteica exógena para la maduración de sus órganos reproductivos y completar el ciclo oogénico. Además, son capaces metabolizar el fluido sanguíneo para la obtención de energía para volar y realizar actividades fisiológicas (Inostroza-Infante, 2013).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

Los individuos fueron colectados en dos zonas de vegetación conservada del estado de Campeche: 1) la Unidad de Manejo Ambiental (UMA) Nohan, ubicada en el km 90 carretera Champotón-Carmen en el Municipio de Carmen, Campeche; en las coordenadas 19° 01' 58" latitud Norte y 91° 04' 03" latitud Oeste. (Figura 6); 2) y en un fragmento de selva en el Colegio de Postgraduados Campus Campeche ubicado en el kilómetro 17.5 de la Carretera Federal Haltunchén-Edzná en el Municipio de Champotón, Campeche, ubicado en las coordenadas 19° 29' 55" latitud Norte y 90° 32' 45" latitud Oeste (Figura 7).

La UMA Nohan cuenta con un clima cálido subhúmedo (Aw1), según la clasificación de Köpen; con temperatura media anual que oscila entre los 18-22 °C. La precipitación del mes más seco es menor de 60 mm con el mayor índice pluvial en verano. (Reyes-Gomez & Vásquez-Lule, 2009). La zona de manglar de la UMA Nohan forma parte del área prioritaria de vegetación de manglar (APCVM) Sabancuy-Chen Kan (Noguera-Savelli et al., 2021); cuya vegetación está compuesta principalmente por manglar, sin embargo se puede encontrar pastizal halófilo, pastizal inducido, sabana, selva mediana subcaducifolia, selva mediana subperennifolia y tular; el suelo está conformado por gleysol, regosol, histosol, solonchak, rendzina y vertisol (Reyes-Gomez, 2009). El sitio se encuentra circundado por el estero de Sabancuy, la laguna el Tunal y con una serie de sistema estuarinos con subsistemas intermareales de humedales arbóreos (Reyes-Gomez & Vásquez-Lule, 2009).

El fragmento de selva del Colegio de Postgraduados Campus Campeche (Selva COLPOS Cam) se presenta un clima predominante cálido subhúmedo, según la clasificación de Köpen; se presenta un alto régimen de precipitaciones, cuya media anual varía en los 800-1200 mm durante los meses de mayo-octubre (Mejenes-López & Vallarino-Moncada, 2016).

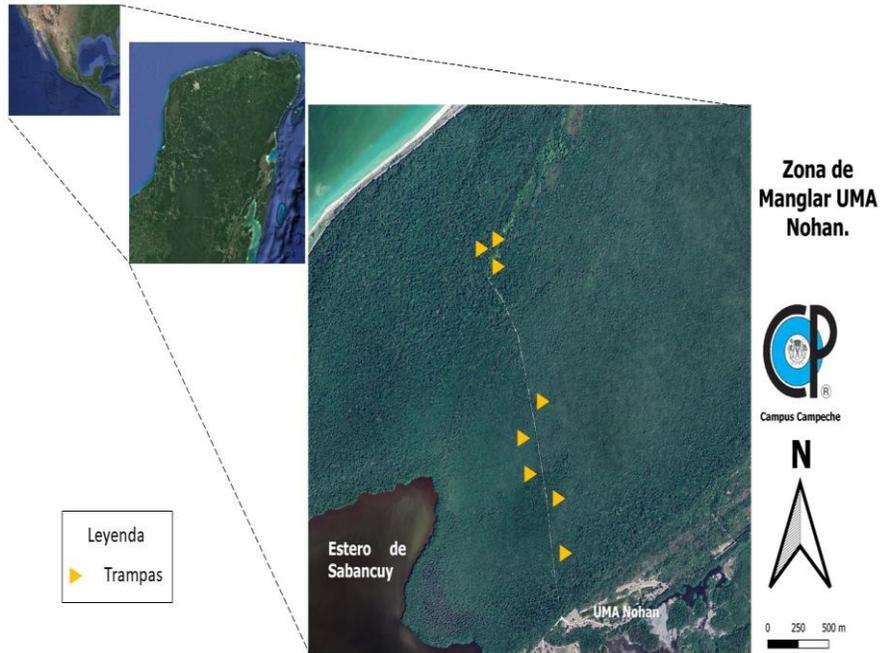


Figura 6. Zona 1: la Unidad de Manejo Ambiental Nohan, Carmen, Campeche (Google Earth, 2022).

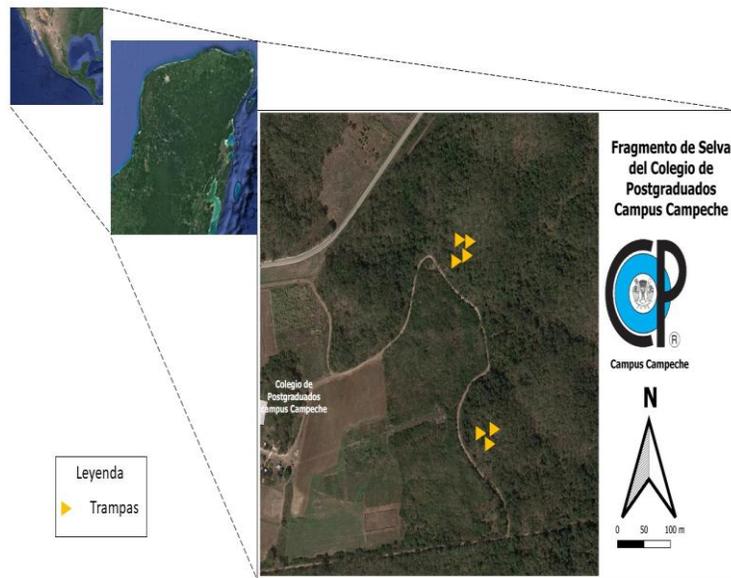


Figura 7. Zona 2: Fragmento del selva del Colegio de Postgraduados Campus Campeche, Champotón, Campeche (Google Earth, 2022).

La temperatura anual medial fluctúa entre los 25-26 °C, oscilando en una mínima de 15-19 °C durante el mes de enero y una máxima de 33-36 °C durante los meses de

mayo-junio (Granados et al., 2014). El suelo está conformado principalmente por litosoles de textura media; cuya vegetación predominante es la selva mediana subperennifolia (Mejenes-López & Vallarino-Moncada, 2016).

Con la finalidad de realizar un análisis comparativo del perfil de proteínas del EGS de la especie más dominante, se realizó un muestreo de ejemplares en dos zonas con vegetación distinta, tal es el caso de un sitio con vegetación secundaria ubicado en Lerma, Campeche y un bosque de selva mediana subperennifolia en el ejido de Miguel Colorado, Escárcega, Campeche.

4.2. Método de captura

El trabajo de campo fue realizado en durante el periodo comprendido entre los meses de junio-septiembre del 2021, lo que corresponde al periodo de lluvias en la península de Yucatán (Martin-Park et al., 2018). La metodología implementada fue la ubicación de trampas por transecto (Figura 8 A).

En la UMA Nohan fueron colocadas ocho trampas a lo largo del camino que atraviesa la zona de manglar; este funge como la entrada principal de la carretera Champotón-Carmen hacia el rancho (Figura 8 A). Por otro lado, se colocaron siete trampas en dos transectos, alternando cuatro y tres trampas, respectivamente (Figura 8 B).

La captura de los organismos se realizó mediante el uso de trampas de intercepción de vuelo de tipo Malaise (Figura 9 A); es una trampa no selectiva diseñada para la intercepción de organismos voladores (Ibáñez-Bernal, 1989).

Su diseño consistió en una malla estructurada en forma de cubo (Figura 9 A); en una de las esquinas se condicionó un recipiente con etanol al 70 % para que los organismos capturados sean preservados (Figura 9 B); así mismo, se le colocó una solución atrayente preparada con agua destilada, levadura casera y azúcar, produciendo CO₂ mediante una reacción de fermentación (Figura 9 C).

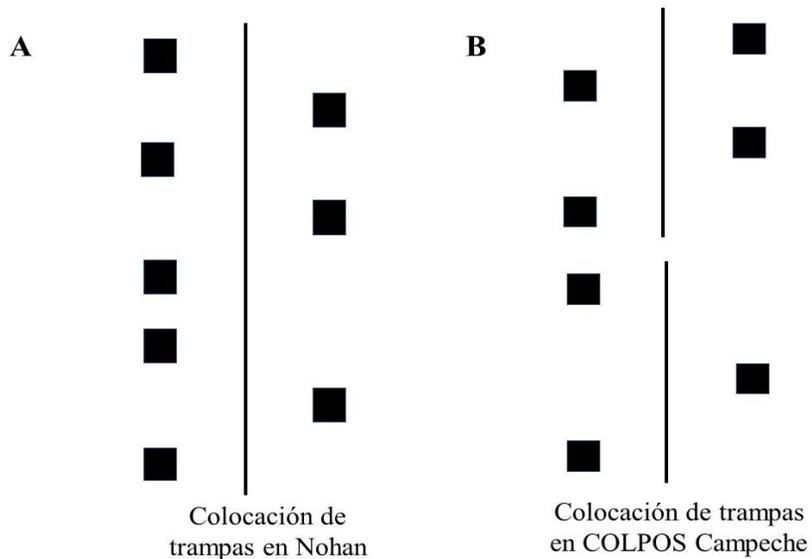


Figura 8. Esquema de ubicación de las trampas por transectos. Panel A) Ubicación de las trampas en la UMA Nohan. Panel B) Ubicación de las trampas en el fragmento de selva del Colegio de Postgraduados Campus Campeche.



Figura 9. Estructura de la trampa de intercepción de vuelo de tipo Malaise para la captura de tabánidos. Panel A) Montaje de la trampa. Panel B) Colocación del frasco con etanol al 70 % para la preservación de los organismos. Panel C) Colocación de la solución atrayente.

Se realizaron un total de 21 salidas de campo durante los meses de junio, julio, agosto

y septiembre del año 2021, correspondiente al periodo de lluvias en la península de Yucatán. Fueron realizadas nueve salidas para la UMA Nohan y 12 salidas para la Selva COLPOS Cam.

4.3. Identificación taxonómica de los tabánidos

Los organismos colectados fueron resguardados en frascos de vidrio con etanol al 70%; posteriormente se transportaron al área de Proteómica del laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional del Colegio de Postgraduados Campus Campeche. Para la identificación de los ejemplares, se utilizó la clave de identificación de tabánidos propuesta por Ibáñez-Bernal (1992) mediante la observación y discriminación de sus caracteres morfológicos a través de un microscopio estereoscopio.

4.4. Identificación de fauna y vegetación.

Se identificó la vegetación aledaña que se encontraba en cada sitio de colocación de la trampa; esto se realizó mediante la consulta directa con un experto en botánica, tal es el caso de la Dra. Eliana Noguera Savelli y la consulta con manuales de identificación como el de Cetzal-Ix et al., (2019).

Por otro lado, se realizó la identificación de la fauna para determinar presas potenciales de los tabánidos. Se determinó mediante la consulta directa con el Biól. Jonathan Pizano, especialista en fauna silvestre, así como el Biól. Loren Vásquez, quien tiene experiencia en la identificación de aves. Así mismo, la consulta de manuales de identificación, tal es el caso Díaz-Gamboa et al., (2020) para la identificación de reptiles.

4.5. Análisis bioestadístico

4.5.1. Construcción de base datos

Se registraron las especies de tabánidos en una hoja de cálculo en el programa de Microsoft Excel 2019. Se consideró el nombre de las especies identificadas, la cantidad de individuos capturados por fecha de colecta, el tipo de vegetación circundante en cada una de las trampas y su respectiva georreferenciación.

4.5.2. Construcción de Curva de Acumulación de Especies

Se realizó la construcción de una curva de acumulación de especies considerando la presencia y ausencia de los individuos con respecto a la unidades de esfuerzo de muestreo, es decir, cada salida de campo (Moreno, 2001).

4.5.3. Diversidad y Abundancia

4.5.3.1. Abundancia Relativa

Con la cantidad de especies capturadas y registradas, se obtuvo la riqueza específica (Moreno, 2001).

$$S = N^{\circ} \text{ de especies totales}$$

Por otro lado, se calculó la abundancia relativa (C. Moreno, 2001), para identificar el porcentaje de cada especie con respecto al total de individuos colectados en cada sitio.

$$\text{Abundancia relativa} = \frac{\text{Número de organismos colectados}}{\text{Número total de organismo}} * 100$$

Para calcular la abundancia de cada sitio de muestreo con respecto a la cantidad de organismos colectados (Moreno, 2001), se calculó el índice de Margalef:

$$D_{mg} = \frac{S - 1}{\ln N}$$

S = Número de especies.

N = Total de organismos colectados.

4.5.3.2. Diversidad y dominancia de Simpson

Para determinar la diversidad de cada sitio con respecto a la cantidad de especies presente y sus respectivas abundancias (Moreno, 2001), se calculó el índice de diversidad y dominancia de Simpson:

$$\lambda = 1 - \sum_{i=1}^S f_i^2$$

f_i = frecuencia registrada de la especie i .

4.5.3.3. Diversidad de Shannon-Wiener (α)

Para determinar la diversidad de cada sitio de muestreo con respecto a la uniformidad de los datos de las especies y la aleatoriedad del grupo (Moreno, 2001), se calculó el índice de Shannon-Wiener:

$$H' = - \sum f_i \ln f_i$$

N = Total de organismos colectados.

f_i = Frecuencia registrada para la especie i .

4.5.3.4. Diversidad ponderada y diferencia de varianzas

Se calculó el índice de diversidad ponderado en función de cada especie, con la finalidad de estandarizar el valor para poder realizar una prueba de comparación.

$$H_p = \frac{(N \log N) - (\sum f_i \log f_i)}{N}$$

Se realizó el cálculo de la varianza del índice de diversidad ponderado para determinar el grado de dispersión de sus datos.

$$\text{Var} = \frac{[\sum f_i \log f_i - (\sum f_i \log f_i)^2] / N}{N^2}$$

Se calculó la diferencia de varianzas, para determinar el grado de homocedasticidad.

$$D_{\text{var}} = \sqrt{\text{var}_1 + \text{var}_2}$$

Var_1 = variación presente en la zona 1

Var_2 = variación presente en la zona 2

4.5.3.5. Prueba T de Hutchenson

Se realizó una prueba t de Student para comparar la diversidad de ambos sitios

(Moreno, 2001) y observar si presentan diferencias estadísticamente significativas:

$$t = \frac{Hp_1 - Hp_2}{D_{var}}$$

Hp_1 = Diversidad ponderada de la zona 1.

Hp_2 = Diversidad ponderada de la zona 2

D var = Raíz de la suma de diversidad de varianzas.

Ho = La diversidad de la zona 1 no varía significativamente con respecto a la zona 2 ($Z1=Z2$).

Ha = La diversidad de la zona 1 varía significativamente con respecto a la zona 2 ($Z1 \neq Z2$).

Se calcularon los grados de libertad, con los cual nos permitió discriminar entre nuestra prueba de hipótesis.

$$g.l = \frac{(var_1 + var_2)}{\left(\frac{var_1^2}{N_1}\right) + \left(\frac{var_2^2}{N_2}\right)}$$

4.5.3.6. Equidad de Pielou (J)

Para determinar si los sitios de muestreo son similares, en cuanto a cantidad de especies presentes o ausentes (Moreno, 2001), se calculó el índice de similitud de Jaccard:

$$J = \frac{H'}{H'_{max}}$$

H' = Diversidad del sitio

H'_{max} = Diversidad máxima esperada del sitio.

4.5.3.7. Diversidad Beta (β)

Para determinar el recambio de especies presente en cada uno de los sitios (Moreno,

2001), se calculó el índice de diversidad beta:

$$\beta = \frac{S}{\alpha - 1}$$

S = Riqueza acumulada (diversidad gamma)

α = Numero promedio de especies (diversidad alfa)

4.5.3.8. Densidad Aparente de Tabánidos (ADT)

Para determinar la eficiencia de las trampas con respecto a las capturas totales de tabánidos en relación con la unidad de esfuerzo de muestreo (Prisca et al., 2021), se calculó la densidad aparente de tabánidos (ADT):

$$ADT = \frac{\text{N}^\circ \text{ de tabanidos}}{\text{N}^\circ \text{ de trampas} \times \text{Unidad de esfuerzo de muestreo}}$$

4.6. Obtención de proteínas

4.6.1. Extracción de proteínas a partir de EGS

Con los organismos ya identificados, se seleccionaron los ejemplares más abundantes y se realizó la disección de 100 ejemplares hembras donde se extrajeron las glándulas salivales. Para la obtención del extracto de glándulas salivales (EGS), se realizó el procedimiento modificado de Rajská et al., (2003). Las glándulas salivales fueron colocadas en tubos cónicos de 1.5 mL con 100 μ l de solución salina de fosfatos (PBS) (15 mM de KH_2PO_4 , 20 mM Na_2HPO_4 , 130 mM NaCl, 2.7 mM KCl, pH 7.2) y se homogeneizaron con ayuda de un agitador vórtex. Los tubos se sometieron a un ciclo de centrifugación en condiciones de 12 800 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Finalmente, se recuperó el sobrenadante y se colocó en un tubo cónico nuevo, donde se le vertió ácido tricloro acético (TCA) como agente de precipitación en una proporción de 25 % volumen/volumen (V/V); se dejó precipitando 4 °C.

Para la recuperación de las proteínas precipitadas en TCA, se siguió la metodología modificada de Fujita et al., (2010). Las muestras se sometieron a centrifugación en condiciones de 12 800 rpm durante 5 minutos a 4 °C para la obtención de una pastilla.

La pastilla se lavó con una solución de lavado (acetona fría y ditioneitol, DTT) y se sometió a una centrifugación en condiciones de 12 800 rpm durante 5 minutos a 4 °C; se realizaron dos lavados con solución de acetona/DTT con un ciclo de centrifugación intermedio en condiciones de 13,000 rpm durante 5 minutos a 4 °C.

Posteriormente, las muestras se colocaron en una placa de calentamiento a 95 °C durante 45 segundos para evaporar los restos de acetona. Las proteínas fueron resuspendidas en solución de Dodecil Sulfato Sódico (SDS) y Tris-base y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

4.6.2. Cuantificación de proteínas

Para determinar la cantidad de proteínas presentes en los extractos se realizó el protocolo descrito por Bradford (1976). Se tomó el reactivo de Bradford de la marca BioRad realizando una dilución (1:4) con agua ultrapura.

Se realizó la construcción de la curva estándar con la proteína de suero bovino albúmina (BSA) considerando un gradiente de concentración de 0, 2.5, 5, 7.5 y 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Las soluciones preparadas fueron colocadas en una placa de 96 pozos y se le adicionaron 200 μL de reactivo de Bradford diluido. Cada pozo fue homogenizado y se dejó incubando a temperatura ambiente durante 5 min. Posteriormente, se realizó la lectura de la absorbancia a una longitud de 595 nm utilizando el espectrofotómetro (Victor™ X5). Los datos obtenidos fueron analizados por el software Workout2.5 donde mediante una regresión lineal se obtuvieron los valores de la pendiente (m) y ordenada al origen (b). Posteriormente, se siguió el procedimiento anterior, pero ahora con las muestras problema, donde al obtener el valor de la absorbancia se extrapolaron los valores para la obtención de la concentración de proteínas en cada muestra. Se utilizó como blanco la solución de resuspensión de proteínas (100 mM Tris-HCl pH 9.5, 1 % SDS).

4.6.3. Electroforesis SDS en geles de poliacrilamida

La separación de proteínas se realizó mediante una electroforesis de geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) al 12 %. Las muestras fueron preparadas en concentración

1:1 V/V con Buffer de carga 2X (0.5 M Tris-HCl, pH 6.8; 50 % Glicerol; 1 % Azul de Bromofenol; 10 % SDS; β -mercaptoetanol), donde se cargaron 10 μ L por pozo. Las muestras se corrieron a 80 V durante 40 minutos y posteriormente a 100 V durante 2 horas. Los geles obtenidos se tiñeron con solución de nitrato de plata (AgNO_3) y se revelaron con solución de formalina al 0.04 % y carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 2 %; la reacción de revelado se detuvo con solución de ácido acético al 5 % y el gel fue resguardado en solución de ácido acético al 1 % a 4 °C.

4.7. Caracterización de la actividad biológica

4.7.1. Zimografía: actividad proteolítica

Para determinar el perfil de actividad proteolítica se realizó la técnica de zimografía. Se utilizaron geles de acrilamida (12 %) co-polimerizados con gelatina (colágeno) al 0.32 %. Las muestras de proteínas se prepararon en concentración 1:1 V/V con buffer 2X PAGE en condiciones nativas; se cargaron 2 μ L por pozo. Las condiciones de corrida electroforética fueron 80 V durante 20 min y 100 V durante 120 min. Los geles se colocaron en una solución de lavado (50 mM Tris-HCl pH 7.5, 2.5 % Tritón X100) durante 30 min en dos ocasiones. Posteriormente, los geles se embebieron en solución de activación (50 mM Tris-HCl, 5 mM CaCl_2 , 1 mM ZnCl_2) durante 5 horas a temperatura de 37 °C y 4 °C. Finalmente, los geles se tiñeron con solución de azul de Coomassie y se contrastaron con solución desteñidora (50 % agua, 40 % metanol y 10 % ácido acético glacial). Las imágenes fueron obtenidas utilizando una cámara fotográfica profesional.

4.7.2. Inhibición de la actividad proteolítica

Las proteínas obtenidas fueron sometidas al efecto de inhibidores de proteasas. Los inhibidores específicos utilizados fueron 20 μ M N-[N-(1-3-trans-carboxiirano-2-carbonilo)-L-leucil]-agmatina (E-64); 200 μ M N- α -p-tosil-L-lisina clorometil hidrocloreto cetona (TLCK); 10 μ M (dinitrilo de etileno) ácido tetracético (EDTA); 1x coctel de inhibidores ©PROMEGA.

4.7.3. Zimografía: actividad amilolítica

Se determinó la actividad amilolítica mediante la técnica de zimografía. Se utilizaron geles de poliacrilamida (12 %) co-polimerizados con almidón al 1 %. Las muestras de las proteínas se prepararon en concentración 1:1 V/V con buffer de carga 2x PAGE en condiciones nativas; posteriormente se cargaron 2 μ L por pozo. Las condiciones de corrida fueron 80 V durante 20 min y 100 V durante 120 min hasta que la frente corrida llegara al final. El gel obtenido se colocó en una solución de lavado (50 mM Tris-HCl pH 7.5, 2.5% Tritón X100) durante una hora. Posteriormente, el gel fue embebido en solución de activación (50 mM Tri-HCl, 5 mM CaCl_2 , 5 mM ZnCl_2), el cual se incubó duran una hora a 37 °C (Andrades & Contreras, 2017). Finalmente, el gel obtenido fue teñido con una solución de Lugol (KI , I_2) al 3 % y desteñido con agua destilada. Se obtuvieron las imágenes mediante una cámara fotográfica profesional.

4.7.4. Análisis densitométrico

Los resultados fueron analizados mediante un análisis densitométrico mediante el programa Image J versión 1.8.0. Se cuantificaron los pixeles de las bandas correspondientes a la actividad proteolítica y amilolítica y se registraron en una hoja de cálculo de Excel para posteriormente ser analizados mediante una prueba T de Student.

4.7.5. Actividad antimicrobiana (AMB)

Para determinar la actividad antimicrobiana (AMB) se realizó un ensayo de inhibición del crecimiento bacteriano en placas de micro-dilución, de acuerdo con la metodología modificada de Sultanbawa et al., (2009).

4.7.5.1. Construcción de la curva de McFarland

Para la construcción de la escala McFarland, se utilizó ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 0.36 M y cloruro de bario (BaCl_2) al 0.048 M. De acuerdo con el principio teórico de la reacción, este indica que al combinar los reactivos se forma un precipitado de sulfato de bario (BaSO_4), con la turbidez similar a la de un cultivo bacteriano (Universidad de Antioquia, 2009).

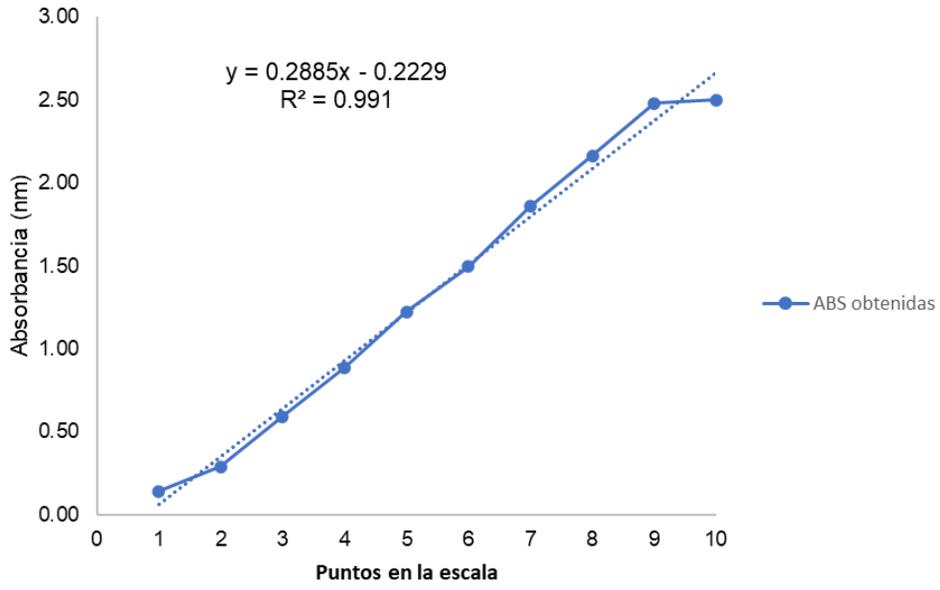


Figura 10. Curva estándar en la escala de McFarland (Universidad de Antioquia, 2009).

Cuadro 2. Relación de la preparación de soluciones para la composición de la turbidez en la construcción de la curva de McFarland (Universidad de Antioquia, 2009).

Escala de McFarland	BaCl ₂ 0.048M (mL)	H ₂ SO ₄ 0.36 M (mL)	Volumen Final (mL)	N.º de células
0.5	0.05	9.95	10	1.5 x 10 ⁸
1	0.1	9.9	10	3 x 10 ⁸
2	0.2	9.8	10	6 x 10 ⁸
3	0.3	9.7	10	9 x 10 ⁸
4	0.4	9.6	10	12 x 10 ⁸
5	0.5	9.5	10	15 x 10 ⁸
6	0.6	9.4	10	18 x 10 ⁸
7	0.7	9.3	10	21 x 10 ⁸
8	0.8	9.2	10	24 x 10 ⁸
9	0.9	9,1	10	27 x 10 ⁸
10	1	9	10	30 x 10 ⁸

Se prepararon la serie de diluciones (10 mL) de acuerdo con el cuadro 2. Se midió la absorbancia a 600 nm por triplicado en el espectrofotómetro SPECTRONIC™ 200 de la marca Thermo Scientific™. De acuerdo con las absorbancias obtenidas, se graficaron para la obtención de una ecuación regresión lineal (Figura 10) (Zapata & Ramírez-Arcos, 2015).

4.7.5.2. Crecimiento de bacterias *Escherichia coli* BL21 y preparación del inóculo

Como organismos a analizar para la AMB se utilizó una cepa de *E. coli* BL21 utilizadas en laboratorio para transformación genética. El medio de cultivo empleado fue Luria Bertani (Anexo 1), donde se reactivó una alícuota (150 µL) en un 10 mL de medio. Se

creció a 220 rpm, a 37 °C durante 6 horas.

Posteriormente, se tomó una muestra del medio de cultivo para la medición de la absorbancia (600 nm) en el espectrofotómetro. Con la absorbancia obtenida, se extrapoló en la curva estándar de McFarland para el cálculo de la concentración de bacterias. Finalmente, se preparó una suspensión de células ajustada a 0.5 en la escala de McFarland (Universidad de Antioquia, 2009) para la preparación del inóculo bacteriano a usar.

4.7.5.3. Preparación de compuestos activos antimicrobianos (CAA) de EGS y la solución del antibiótico.

De acuerdo con las cuantificaciones de los extractos proteicos realizadas previamente, se prepararon soluciones de trabajo con concentraciones conocidas de 2, 4 y 8 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$.

Por otro lado, se realizó el mismo procedimiento a partir del antibiótico de uso comercial de ampicilina, cuyas soluciones de trabajo fueron similares a las del antimicrobiano (De Boer et al., 2015).

4.7.5.4. Ensayo antimicrobiano en placas de micro-dilución.

Se utilizaron placas de cultivo de 96 pozos en condiciones de esterilidad. Se utilizó medio LB como medio de cultivo, la suspensión de bacterias *E. coli* ajustada a 0.5 en la escala de McFarland, donde en los primeros dos pozos se colocó el medio sin y con inóculo respectivamente (control técnico y control positivo a crecimiento). En el siguiente pozo fue colocado medio LB con su respectivo inóculo, al cual se le adicionó como efecto placebo agua ultrapura (control negativo antimicrobiano).

En los siguientes tres pozos se colocó el medio con su respectivo inóculo y la serie de diluciones de los CAA del EGS de menor a mayor concentración. En los último tres pozos se colocó el medio con su inóculo y la serie de concentraciones del antibiótico (control positivo a inhibición). Se realizaron 3 réplicas técnicas por cada uno de los pozos y dos réplicas biológicas ($n = 6$) (Figura 11).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A											
B											
C											
D											
E											
F											
G											
H											


Control de esterilidad


Control de crecimiento (+)


Control de inhibición (-)


CAA EGS 2 µg, 4 µg, 8 µg


Ampicilina 2 µg, 4 µg, 8 µg

Figura 11. Diseño experimental del ensayo antimicrobiano.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Capturas de tabánidos en los sitios de muestreo

De acuerdo con los datos obtenidos, durante los cuatro meses de colecta de capturaron en ambos sitios un total de 5532 ejemplares, identificando dos subfamilias, tres tribus, cuatro géneros y nueve especies (Cuadro 3).

Cuadro 3. Especies de tabánidos colectados en dos zonas de vegetación conservada del estado de Campeche.

Subfamilia	Tribu	Género	Especie	Z1	Z2	Total
Chrysopsinae	Chrysopsini	<i>Chrysops</i>	<i>C. variegatus</i>	1	-	1
	Diachlorini	<i>Diachlorus</i>	<i>D. ferrugatus</i>	2263	22	2285
Tabaninae		<i>Leucotabanus</i>	<i>L. itzarum</i>	-	35	35
			<i>T. commixtus</i>	1	4	5
		<i>T. colombensis</i>	3	94	97	
		Tabanini	<i>T. haemagogus</i>	-	2292	2292
	<i>Tabanus</i>	<i>T. oculus</i>	6	132	138	
		<i>T. vittiger guatemalanus</i>	-	5	5	
		<i>T. yucatanus</i>	-	44	44	
2 subfamilias	3 tribus	4 géneros	9 especies	2274	3258	5532

Leyenda: N es el total de tabánidos colectados, mientras que Z1 = Nohan y Z2 = Selva COLPOS Cam, hacen referencia a las zonas en donde fueron colectados los tabánidos.

De acuerdo con lo anterior, en el bosque de manglar de la UMA Nohan se registró un total de cinco especies (S), lo que representa el 17.24 % del total de especies registradas para la península de Yucatán (Manrique-Saide et al., 2001). Por otra parte, en la Selva COLPOS Cam se registró un total de ocho especies, evidenciando el 27.59 % del total de las especies registradas para la península de Yucatán (Manrique-Saide et al., 2001). Considerando el muestreo global, se obtuvo un total de 9 especies, lo cual representa el 31.03 % del total de especies registradas para la península de Yucatán (Manrique-Saide et., 2001).

5.2. Identificación y caracterización morfológica de las especies de tabánidos capturados

5.2.1. Género *Chrysops*

5.2.1.1. *Chrysops variegatus* (Degeer, 1776)

Material examinado. 1 ♀. México, Campeche, Carmen, Sabancuy, UMA Nohan (19° 01' 55" N, 91° 05' 37" NO), 06-VII-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra. Presentan una longitud corporal de 7.0-7-9 mm; el cuerpo presenta tonalidades que varían entre color amarillo y café pardo, sin embargo, la especie puede distinguirse fácilmente por la presencia de un par de manchas o líneas alargadas, en el tercer y cuarto terguito que convergen para unirse al mismo nivel en el segundo terguito, dejando entre ellas un área amarilla de tamaño variable al nivel del tercer y cuarto terguito; el quinto, sexto y séptimo terguito presentan una tonalidad más oscura que los anteriores terguitos, por lo cual se puede notar como si las líneas negras se difuminaran entre estos (Figura 12 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

El tórax presenta una tonalidad de color amarillo con presencia de tres bandas transversales color café pardo oscuro sin tomentosidad; la banda media es delgada en la zona anterior, ensanchándose en la zona posterior; el escutelo es de color amarillo brillante similar al tórax, con una mancha central contrastante de color amarillo más claro; las pleuras presentan cierto grado de tomentosidad (Figura 12 A) (Ibáñez-Bernal,

1989; 1992).

Los halterios presentan una coloración amarillo claro similar al del abdomen; las alas membranosas presentan una mancha café pardo oscuro que se extiende en el eje transversal, tocando tanto su margen posterior como el anterior; dicha mancha presenta dos áreas hialinas, una ubicada en la celda cubital (CuA_1) que se forma por una pequeña bifurcación de la mancha oscura, y la otra se encuentra en la zona central de la celda media discal (dm); en la zona apical del ala presenta una mancha un poco más difuminada de color café pardo que se une prácticamente con la mancha oscura transversal en el margen posterior del ala; presencia de sedas oscuras contrastantes a lo largo de la basicosta, la vena costal y la vena radial (Figura 12 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Las antenas son largas y delgadas con la presencia de siete segmentos distinguibles. El escapo es delgado y largo, de color amarillo con la presencia de sedas contrastantes color pardo; el pedicelo presenta casi la misma longitud que el escapo, es de color amarillo con la presencia de sedas color pardo; el flagelo es delgado, donde el flagelómero basal es color amarillo-pardo oscureciéndose paulatinamente hasta su extremo; los cuatro últimos flagelómeros son más pequeños que el flagelómero basal y con una coloración pardo oscuro (Figura 12) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Cabeza dicóptica con un par de ojos compuestos que presentan bandas iridiscentes (Figura 12 B); la zona del vértice presenta el tubérculo ocelar como una protuberancia con los ocelos funcionales antepuestos en el mismo de color amarillo pardo; presencia de sedas color amarillo en las áreas del vértice, la frente, el subcallo y las genas, sin embargo, estas últimas presentan también zonas glabras (Figura 12 B) (Ibáñez-Bernal, 1989, 1992).

Distribución. De acuerdo con Ibáñez-Bernal (1989) su distribución se encuentra a lo largo de toda la región neotropical, desde Chile y el norte de Argentina hasta el sur de México, donde Bequaert (1931) indicó registros en los estados de Veracruz y Tabasco. En el caso de la península de Yucatán, Ibáñez-Bernal (1989) registra por primera vez la presencia de esta especie en la reserva de la Biósfera de Sian Ka'an en Quintana Roo;

más tarde Manrique-Saide (2001, 2012) reportaron su presencia en los estados de Campeche y Yucatán.

Comentarios. De acuerdo con las aseveraciones de Ibáñez-Bernal (1989) se considera como la única especie americana que presenta una mancha hialina en la celda M2, por lo que difícilmente podría ser confundida, sin embargo, considerando su amplia distribución, no se descarta la presencia de variedades. Se considera que la mayor actividad de los adultos de esta especie se encuentra entre los meses de febrero, marzo y abril (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992), restringiéndose a la temporada de nortes y secas; sin embargo, de acuerdo con las colectas realizadas, el ejemplar fue capturado en el mes de julio.

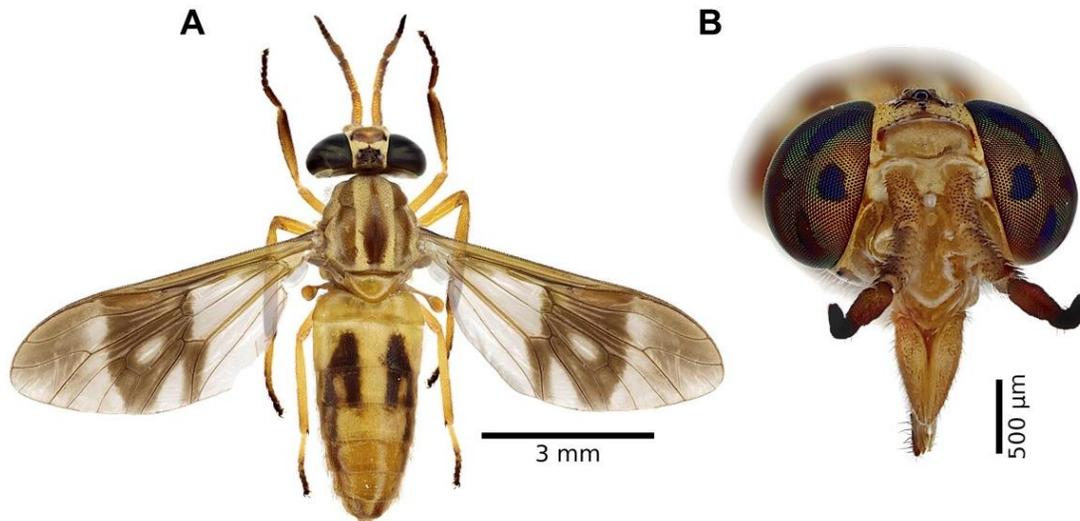


Figura 12. *Chrysops variegatus* ♀ (Deegeer, 1776). Panel A) Tórax color pardo con presencia de tres bandas distinguibles; abdomen con un par de manchas negras paralelas; alas hialinas con una mancha transversal. Panel B) Ojos con patrón de manchas color verde iridiscente.

5.2.2. Género *Diachlorus*

5.2.2.1. *Diachlorus ferrugatus* (Fabricius, 1805)

Material examinado. 2 ♀. México, Campeche, Carmen, Sabancuy, UMA Nohan (19° 01' 55" N, 91° 05' 37" NO), 06-VII-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus

Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Material examinado. 1 ♀. México, Campeche, Carmen, Sabancuy, UMA Nohan (19° 01' 55" N, 91° 05' 37" NO), 06-VII-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra. Presentan una longitud corporal de 7-10 mm. El cuerpo presenta una tonalidad predominantemente amarilla. El abdomen presenta una banda media central compuesta por sedas amarillas, mientras las zonas laterales a esta presentan sedas negras.

El abdomen presenta un color amarillo, abarcando del primer al quinto terguito; en el caso del sexto y séptimo tergitos, solo las zonas medias presentan un color amarillo, ya que las zonas laterales de estos son de color negro (Figura 13 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

El tórax es de color amarillo, con la presencia de tegumento color pardo-oscuro revestido con sedosidad de color amarillo en la zona central. Las zonas pleurales del mesonoto y el metanoto con tegumento color amarillo revestido con sedas color amarillo. El escutelo es de color amarillo, con una mancha color pardo en la zona central y revestido con sedas color amarillo en las zonas marginales del mismo (Figura 11 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Los halterios son de color amarillo, contrastando ligeramente con la coloración del abdomen. Las alas membranosas presentan una serie de manchas oscuras; una de ellas se encuentra en la zona apical de las celdas radiales 1 (r1) y 3 (r3) una mancha color pardo oscuro, que se difumina en la celda radial 4 (r4) y se extiende hasta la ramificación de las venas R4 y R5; otra de las manchas oscuras se encuentra centrada en la vena transversal radial media (rm) que se extienda de manera difuminada a las celda basal media (bm) y la celda radial 5 (r5); y la otra mancha se encuentra en la zona basal del pterostigma, abarcando la zona media de la celda radial 1 (r1). La celda costal (c), la zona superior de la celda radial 1 (r1), parte de la celda radial basal (br) y la parte distal del pterostigma de color amarillento. Presentan una basicosta totalmente desnuda; la vena costal, la vena radial 1 (R1) y la vena cubital anterior 2 (CuA2)

presentan una serie de sedas color oscuro con una apariencia y densidad superior a las que presenta la vena cubital anterior 2 (Figura 13 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Presentan un par de antenas color amarillo rojizo con siete segmentos distinguibles; el escapo es largo de color amarillo con la presencia de sedas amarillo claro en su mitad basal y sedas color negro en la mitad distal; el pedicelo es de color amarillo con sedas amarillas brillantes en la parte inferior y sedas oscuras en las zonas laterales y margen superior del mismo; presenta una protuberancia poco marcada con presencia de algunas sedas oscuras en su zona apical. El flagelo presenta una coloración amarilla, que se va tornando rojiza, sin embargo, presenta las mismas sedas amarillo brillante a lo largo de todo este. Los últimos flagelómeros presentan una tonalidad rojiza que se oscurecen por completo en el otro extremo, cuyas sedas se oscurecen paulatinamente (Figura 13 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Cabeza dicóptica con un par de ojos compuestos que presentan un patrón de bandas iridiscentes; dicho patrón está conformado por tres bandas verticales color verde sobre un fondo oscurecido; las bandas se conectan a la misma altura en tres distintos puntos asemejando un patrón espejo; la posición de ambas bandas centrales asemeja la forma de un ancla (Figura 13 B). La zona del tubérculo ocelar se proyecta como una protuberancia con los ocelos funcionales antepuestos de color amarillo pardo. Toda la superficie de la cara con presencia de tomento amarillo; presenta vestigios de ocelos de color oscuro; la frente presenta un callo frontal con forma ovalada de color oscuro que extiende por casi toda la frente y presentan algunas sedas de color amarillo. La zona del subcallo se encuentra revestido de tomentosidad amarillo brillante, ligeramente más claro que la zona de la frente y las genas; estas últimas presenta sedas de color oscuro (Figura 13 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Distribución. De acuerdo con Ibáñez-Bernal (1989, 1992) indica que su distribución abarca desde el Sureste de los Estados Unidos, incluyendo zonas como New Jersey, Florida y Texas; así mismo se extiende por las Islas Bahamas, México y Centroamérica (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992). En México, se colectaron ejemplares en los estados de Tabasco y la Península de Yucatán (Manrique-Saide, 2001; 2012). Específicamente

Bequaert (1931) registró capturas en la Reserva de la Biosfera de Calakmul, en el estado de Campeche; en Celestún, Ria Lagartos, la reserva del Dzilam, por mencionar algunos sitios de colecta en el estado de Yucatán; y en la reserva de la Biosfera de Sian Ka'an y en la zonas aledañas de Cancún. Mas tarde, Manrique-Saide (2001; 2012) reportaría su presencia en diversas localidades en los tres estados de la Península de Yucatán. Con el presente estudio, se suman la UMA Nohan, Carmen, Campeche y el fragmento de Selva COLPOS Campeche, Champotón, Campeche, como registros de colecta.

Comentarios. De acuerdo con las aseveraciones de Ibáñez-Bernal (1989; 1992) indica que solo esta especie del género *Diachlorus* se extiende hasta la región Neártica, mientras que el resto solo se encuentra en Sudamérica. Por esta razón, solo *D. ferrugatus* es la única especie de este género que ha sido registrada en México (Ibáñez-Bernal, 1989; Manrique-Saide et al., 2001; 2012). Considerada como una de las principales especies antropófilas de esta familia, parasitando principalmente en zonas donde existen asentamientos humanos (Fairchild et al., 2011). En este estudio, esta especie fue encontrada en un fragmento de selva mediana subperennifolia y en un bosque de manglar, donde se ha observado su presencia a lo largo de todo el año.

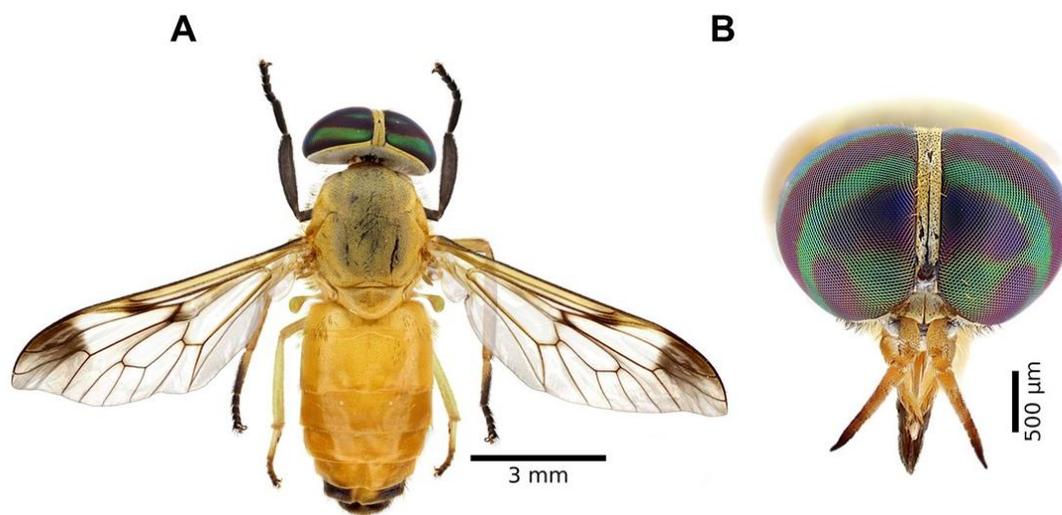


Figura 13. *Diachlorus ferrugatus* ♀ (Fabricius, 1805). Panel A) Tórax y abdomen de color amarillo, con sedas oscuras definiendo bandas transversales; alas con patrón de manchas oscuras en la zona del ápice. Panel B) Ojos con patrón de bandas color verde iridiscente.

5.2.3. Género *Leucotabanus*

5.2.3.1 *Leucotabanus itzarum* (Bequaert, 1931)

Material examinado: 2 ♀. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra. Presenta una longitud corporal de 9.8-10.2 mm por lo que son ejemplares de tamaño pequeño que se caracterizan por la presencia de sedas color amarillo en el escudo y el escutelo. El abdomen es de color pardo oscuro, con los terguitos recubiertos por sedas de color oscuro, salvo el margen lateral del terguito I, los márgenes posterior y lateral del terguito II y la mayor parte del terguito IV donde presentan sedas de color amarillo claro o blancas (Figura 14 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

EL tórax presenta una tonalidad de color pardo, con tomentosidad color amarillo y sedas color amarillo claro. El escudo, el escutelo y las zonas laterales de las pleuras se encuentra densamente revestidos por sedas color amarillo claro (Figura 14 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Los halterios presentan una tonalidad pardo oscuro que contrastan ligeramente con la tonalidad del abdomen. Las alas membranosas son hialinas, sin la presencia de manchas u oscurecimientos. La zona proximal de la vena costal (C) con una tonalidad amarillenta al igual que la zona basal del pterostigma. La zona proximal de la vena subcostal (Sc); la zona proximal de la vena radial $_{2+3}$ (R_{2+3}) a la altura de la celda basal radial (br) y parte de la celda r_{2+3} (r_{2+3}); y la zona proximal de la vena cubital anterior 2 (CuA_2), con la presencia de ligeros aclaramientos color amarillo. Presencia de la fusión terminal de la segunda vena cubital anterior y la vena anal, formando CuA_{2+2A} ; y ausencia de apéndices en la vena radial 4 (R_4) (Figura 14 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Las antenas presentan una tonalidad que va de una tonalidad ámbar cambiando paulatinamente hacia su otro extremo en una coloración pardo rojizo; el escapo y el

pedicelo es de color ámbar donde presentan tomentosidad color amarillo claro en la zona basal y sedas color oscuro en la zona proximal; el flagelo es de color pardo rojizo con presencia de sedas oscuras en la placa basal donde esta última presenta una protuberancia en forma obtusa, el resto de los flagelómeros está conformado por la presencia de cuatro anillos color rojizo con presencia de sedas color amarillo (Figura 14 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Cabeza dicóptica con presencia de un par de ojos compuestos con color monocromático oscuro, sin presencia de bandas. La zona del vértice presenta una combinación de sedas negras y amarillas; el tubérculo es pequeño y bien marcado con presencia de ocelos vestigiales. La frente es angosta con tegumento pardo brillante con la presencia de un callo frontal de forma clavada de color pardo oscuro separado del margen de la frente. EL subcallo y el rostro están revestidos por tomentosidad amarillo claro, y la zona de las genas revestidas con sedas color oscuro (Figura 14 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Distribución. Su distribución se establece solo en México, en los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo, donde Ibáñez-Bernal (1989) lo registra en la reserva de la Biósfera de Sian Ka'an, en el estado de Quintana Roo y Manrique-Saide et al., (2001; 2012) registraron su presencia en localidades del estado de Yucatán como Celestún y Xmatkuil y la reserva de Calakmul en el estado de Campeche.

Comentarios. Esta especie es considerada como endémica de México, por lo que su distribución solo abarca la península de Yucatán (Ibáñez-Bernal, 1989). Inicialmente fue clasificada dentro del género *Tabanus*, donde posteriormente fue descrito el género *Leucotabanus* (Bequaert, 1931). En este estudio, los ejemplares fueron colectados en un fragmento de selva mediana subperennifolia, principalmente en los meses de julio y agosto.

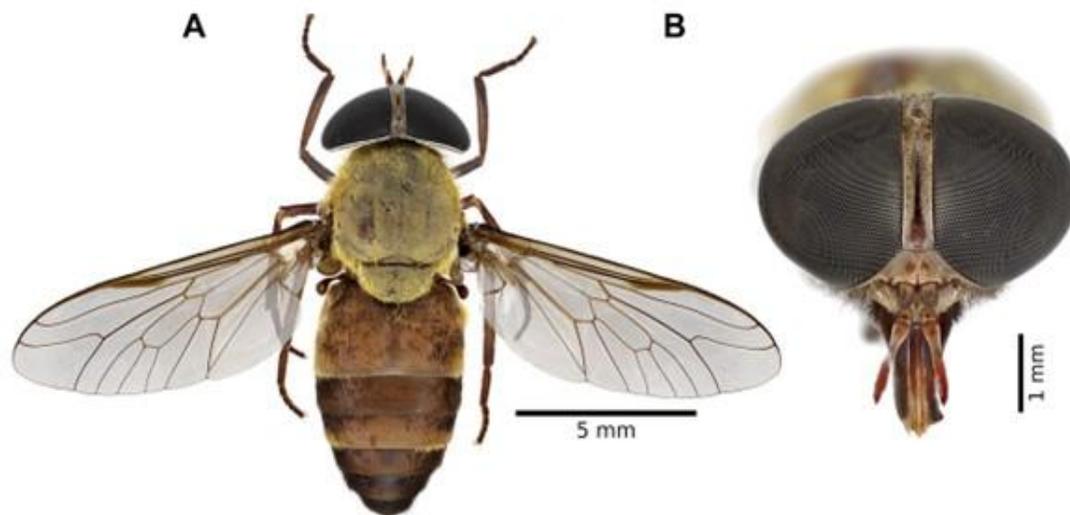


Figura 14. *Leucotabanus itzarum* ♀ (Bequaert, 1931). Panel A) Tórax con sedas amarillas y abdomen pardo con los terguitos I, III y IV definidas por sedas amarillas; alas hialinas sin patrón de manchas u oscurecimientos. B) Ojos monocromáticos sin patrón de bandas iridiscentes.

5.2.4. Género *Tabanus*

5.2.4.1. *Tabanus colombensis* (Macquart, 1846)

Material examinado. 1 ♀, 1 ♂. México, Campeche, Carmen, Sabancuy, UMA Nohan (19° 01' 55" N, 91° 05' 37" NO), 06-VII-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra. Presentan una longitud corporal de 9.6-11.2 mm considerados como insectos de tamaño regular (Ibáñez-Bernal, 1989); el cuerpo generalmente es de color pardo oscuro. El abdomen presenta una tonalidad pardo oscuro con la presencia de tres franjas distinguibles compuestas por sedas de color amarillo claro. La franja central se extiende hasta el terguito VI, mientras que las franjas laterales solo alcanzan el terguito V; todas estas franjas con sus márgenes regulares tan anchos como el espacio que las separa. Todos los esternitos presentan

tomentosidad que va de color blanco a grisáceo sobre un fondo pardo claro y la presencia de sedas amarillas. En los esternitos I y II, se presentan un conjunto de sedas oscuras en los márgenes de la franja central que se extienden hasta el terguito III (Figura 15) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

El tórax es de color pardo oscuro; el escudo y la zona del escutelo presentan el tegumento color pardo oscuro con la presencia de tomentosidad amarillo claro con presencia de sedas color amarillas y negras, predominando las primeras e incluso rodeando los márgenes del escutelo. La zona de las pleuras presenta sedas de color blanco e incluso grisáceo (Figura 15 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Los halterios son de color pardo oscuro, ligeramente contrastante en las zonas apicales con el resto del cuerpo. Las alas membranosas completamente hialinas sin la presencia de manchas u oscurecimientos, salvo el pterostigma de color amarillo. Presencia de la fusión terminal de las venas cubital anterior y anal (CuA_{2+2A}); y ausencia del apéndice de la vena radial 4 (R4). Basicosta con presencia de sedas en cantidad y disposición similar a la vena costal. La vena R1 y la región media de la vena subcostal a la altura de la celda costal (c) con presencia de sedas color oscuro (Figura A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Las antenas son de color rojizo. El escapo es de color amarillo con la presencia de sedas color oscuro; el pedicelo es de color rojizo con los márgenes posteriores laterales con presencia de sedas color oscuro. El flagelo es de color rojizo que se oscurece paulatinamente en su otro extremo. La placa basal del flagelo es de color rojiza y presenta una protuberancia dorsal en forma de triángulo si se coloca en vista lateral; a lo largo de la placa basal se encuentra revestido de tomentosidad amarillo claro con presencia de sedas cortas y gruesas de color oscuro en la zona apical de la protuberancia. El resto de los flagelómeros con forma de anillo de color pardo oscuro revestidos de sedas amarillas claras esparcidas (Figura 15 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Cabeza dicóptica con un par de ojos compuestos con presencia de un patrón de bandas iridiscente. Dicho patrón se compone por tres bandas horizontales de mismo

grosor; la banda inferior se recurva hacia arriba en su extremo lateral sin tocar las bandas superiores; estas dos últimas se fusionan externamente dejando la forma de dos triángulos cuyas bases tocan la zona frontocular. La zona del vértice se encuentra revestido de tomentosidad blanco-grisáceo con sedas color oscuro, sin tubérculo ocelar y sin vestigios de ocelos. La frente no es completamente paralela, se va adelgazando ligeramente en la zona basal donde presenta un callo frontal con forma ovoide o subcuadrado separado de los márgenes laterales de los ojos. El callo frontal presenta una extensión media en forma de aguja separada, que se extiende hasta la zona de los triángulos formados por el patrón de bandas. El subcallo presenta tomentosidad pardo amarillo. Presenta un conjunto de sedas blancas grisáceas en la zona del rostro, a excepción de un grupo de sedas oscuras que se encuentran en la gena cerca de la inserción de las antenas (Figura 15 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

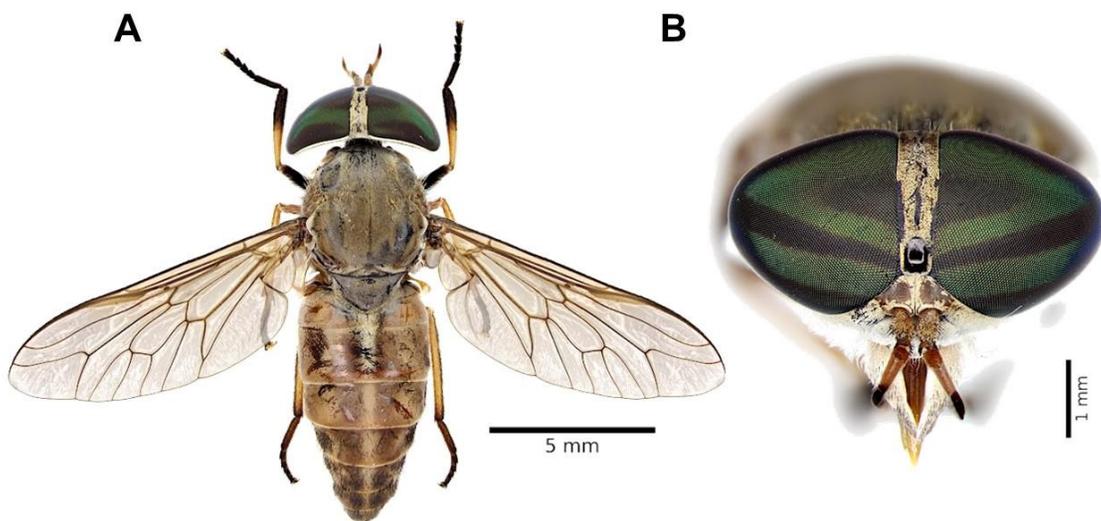


Figura 15. *Tabanus colombensis* ♀ (Macquart, 1846). Panel A) Abdomen con tres líneas distinguibles de sedas amarillas; alas hialinas sin oscurecimientos. Panel B) Ojos con conformación dicóptica con patrón de bandas iridiscentes.

Descripción morfológica del macho. Las características morfológicas del macho varían ampliamente en relación con la hembra, desde características tan puntuales como la conformación estructural de los ojos, por mencionar algunas (Figura 16) (Ibáñez-

Bernal, 1989).

El tórax presenta es de color oscuro, incluyendo la zona del escudo y el escutelo; e incluso presenta una mancha del mismo color que abarca los primeros dos terguitos; presencia de sedas oscurecidas con sedas amarillas esparcidas. Halterios oscurecidos con las zonas apicales amarillo claro; y las alas membranosas similares a las de la hembra (Figura 16 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Antenas de color amarillo claro en la zona basal que se va tornado rojizo y oscuro paulatinamente hacia el extremo distal. El escapo y el pedicelo de color amarillo claro con sedas engrosadas color oscuro. La placa basal del flagelo es de color rojizo con sedas oscuras en la zona apical de la protuberancia. Los anillos que forman el resto de los flagelómeros se encuentran más oscurecidos que la placa basal (Figura 16 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

La cabeza de tipo holóptica con dos ojos compuestos sin el espacio de la frente dividiendo. Se pueden distinguir dos áreas de acuerdo con la conformación de las facetas, una monocromática y la otra con tonalidades iridiscentes. Vértice reducido con presencia de sedas color negro. Ausencia por completo del callo frontal y el callo medio. El subcallo presenta tomentosidad color amarillo; y el rostro presenta sedas color blanco y unas pocas sedas oscuras en la zona de inserción de las antenas (Figura 16 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Distribución. Su distribución es amplia y abarca desde el norte de Brasil hasta Texas en los Estados Unidos de América (Ibáñez-Bernal, 1989). En México ha sido registrada en los estados de Veracruz, Campeche, Yucatán y Quintana Roo (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992; Manrique-Saide et al., 2001; 2012).

Comentarios. Esta especie es considerada como parte de los *Tabanus trivittatus*, aquellos donde presentan tres franjas en el abdomen con diversas variaciones, por lo que se puede confundir con otras especies dentro de este grupo (Carmo & Henriques, 2019). A diferencia de las hembras, los machos no presentan hábito hematófago y suelen tener actividad de tipo crepuscular donde buscan alimento o forman enjambres para la búsqueda de las hembras (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992). Los caracteres

morfológicos del macho varían en consideración a los de la hembra, debido principalmente a que las claves de identificación existentes se han basado principalmente en la morfología de las hembras (Ibáñez-Bernal, comunicación personal, junio de 2022).

De acuerdo con las consideraciones de Ibáñez-Bernal (1989) indica que su picos de abundancias son en el mes de mayo y aparentemente activa a lo largo del año. En este estudio, fueron capturados algunos ejemplares, tanto en el fragmento de selva de COLPOS Campeche como en el bosque de manglar.

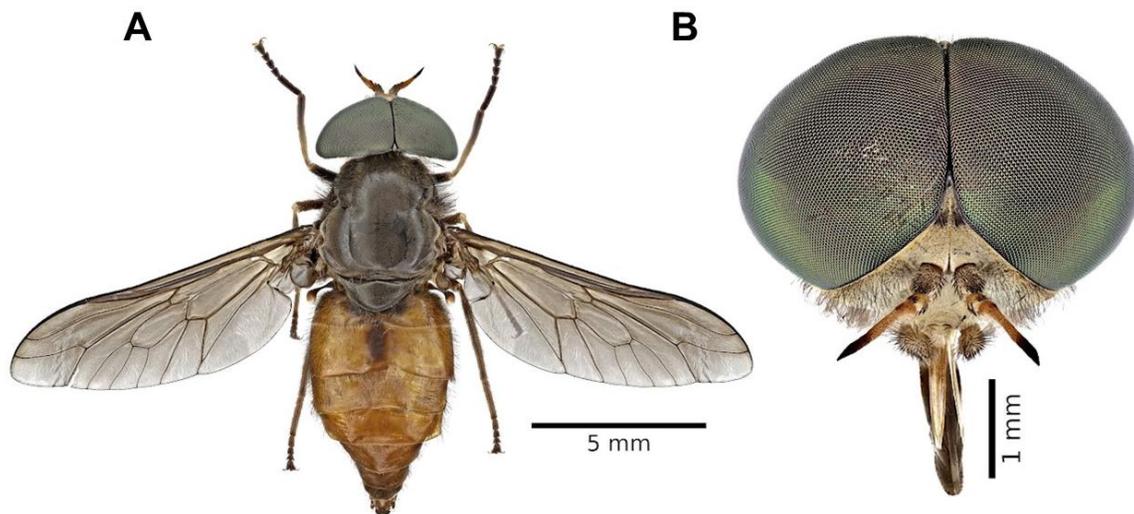


Figura 16. *Tabanus colombensis* ♂ (Macquart, 1846). Panel A) Abdomen con tres líneas distinguibles de sedas amarillas; alas hialinas sin oscurecimientos. Panel B) Ojos con conformación holóptica con un patrón medio de bandas iridiscentes.

5.2.4.2. *Tabanus commixtus* (Walker, 1980)

Material examinado: 2 ♀. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra. Presenta una longitud corporal de 9.4-13.2 mm; el cuerpo presenta una tonalidad pardo oscuro y es considerada como una de las especies del grupo de los *trivitatus* por la presencia de las franjas en el abdomen (Carmo & Henriques, 2019). El abdomen es de color pardo donde se pueden diferenciar los últimos esternitos ya que se oscurecen paulatinamente; presentan tres franjas compuestas por tegumento y sedas color amarillo claro, cuya franja central está compuesta por una serie de triángulos amarillos interconectados a lo largo de los terguitos I-VI; en el caso específico de los terguitos I y II, la serie de triángulos se encuentran sobre manchas tegumentarias negras; las franjas dorsolaterales están en posición oblicua y no se conectan uniformemente (Figura 17) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

El tórax es de color pardo oscuro, con tomento amarillo y con la presencia de sedas color amarillo y negras entremezcladas, dándole una apariencia metálica con el reflejo de la luz. Las pleuras presentan tomento blanco grisáceo con sedas blancas, salvo algunas sedas negras entremezcladas en la zona del mesoanepisternón (Figura 17 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Los halterios son de color amarillo claro, contrastando con el resto del tórax y abdomen. Las alas hialinas con ligeros oscurecimientos en la ramificación de las venas R_4+R_5 y el pterostigma color amarillo; ausencia del apéndice de la vena R_4 . Basicosta con sedas color oscuro en disposición y cantidad similar a la vena costal (Figura 17 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

Las antenas son de color rojizo. El escapo es de color amarillo con la presencia de sedas color oscuro y es casi tan ancho como la placa basal de flagelo. El pedicelo es muy pequeño, es de color rojizo y con presencia de sedas en sus márgenes apicales. El flagelo es rojizo revestido con tomento rojizo y amarillo entremezclado, la protuberancia dorsal de la placa basal está bien marcada y forma un ángulo recto, mientras que el margen inferior consiguiente presente una angulación con el cual le da una apariencia de “cuarto de luna”. Los anillos flagelares son de color pardo oscuro revestidos de tomento del mismo color (Figura 17 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1992).

La cabeza es dicóptica con presencia de un patrón de bandas iridiscentes. Dicho patrón está compuesto por tres bandas horizontales iridiscentes sobre un fondo oscuro; las banda media e inferior se encuentran recurvadas hacia arriba en su extremo lateral, donde la banda inferior toca ligeramente a la media. La banda media y superior se encuentran fusionadas o parcialmente fusionadas y formando un triángulo oscuro, cuya base se encuentra en la región fronto-ocular. El vértice y la frente presentan tomento pardo amarillo y sedas oscuras. Los márgenes de la frente son paralelos, pero ligeramente convergentes en la mitad inferior. El callo frontal presenta una forma ovoidal de color pardo oscuro separado de los márgenes laterales; el callo medio en forma de quilla y se encuentra separada de la callosidad frontal. Subcallo revestido con tomento amarillo ligeramente más claro que el que presente la frente. Rostro con la presencia de tomento y sedas blancos, exceptuando la zona superior de las genas donde se observa tomento amarillo y sedas oscuras.

Distribución. Su distribución abarca desde el sureste de México hasta Venezuela y Trinidad (Ibáñez-Bernal, 1989). En México ha sido reportada en la península de Yucatán; fue registrada por primera vez en Chichen Itzá, Yucatán por Bequaert en 1931, donde más tarde se registró su presencia en la reserva de la biósfera de Sian Ka'an Trinidad (Ibáñez-Bernal, 1989) y en varios sitios de Campeche y Yucatán (Manrique-Saide et al., 2001; 2012). Con las colectas realizadas en este estudio, se suma la UMA Nohan y el Colegio de Postgraduados campus Campeche como nuevos registros de colecta.

Comentarios. Esta especie fue registrada por Bequaert (1931), y la identificó bajo el nombre de *T. maya*, más tarde sería registrada como *T. commixtus* derivado de las colectas realizadas por (Ibáñez-Bernal, 1989) en la reserva de la biósfera de Sian Ka'an, Quintana Roo. Esta especie suele confundirse mucho con *T. colombensis* y *T. vittiger* var. *guatemalanus*; sin embargo, se logra diferenciar de *T. colombensis* por la irregularidad que presentan las franjas dorsolaterales y la mancha oscura del tegumento en los primeros dos terguitos. En comparación con *T. vittiger* var. *guatemalanus* se logra diferenciar por la extensión de la callosidad media, donde esta última se conecta con el callo frontal, mientras que *T. commixtus* no es el caso. De

acuerdo con las aseveraciones de Ibáñez-Bernal (1989) sus mayores abundancias se presentan en el mes de mayo; en el presente estudio, se registraron pocos ejemplares en los meses de julio y agosto respectivamente.

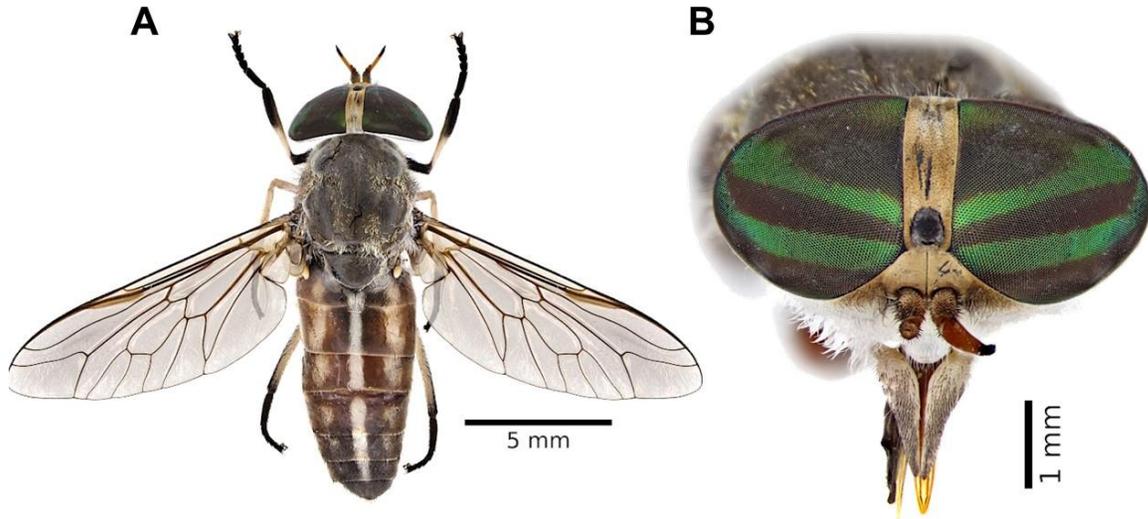


Figura 17. *Tabanus commixtus* ♀ (Macquart, 1846). Panel A) Abdomen con tres líneas distinguibles, una central y dos franjas dorsolaterales irregulares; alas hialinas. Panel B) Ojos con conformación dicóptica con un patrón de bandas iridiscentes.

5.2.4.3. *Tabanus haemagogus* (Willinston, 1901)

Material examinado: 2 ♀. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra: Presenta una longitud corporal de 10-15 mm; el cuerpo presenta una coloración que va desde el pardo oscuro, pardo claro e incluso rojizo. Por la presencia de franjas medias compuestas por triángulos interconectados en el abdomen es considerada dentro del grupo de los *trivittatus* (Carmo & Henriques, 2019) (Figura 18) El abdomen está compuesto por siete segmentos visibles con

integumento color pardo y sedas oscuras; cada división de los esternitos presenta márgenes horizontales de tegumento blanco con la presencia de algunas sedas color amarillo. La franja central está compuesta por una serie de triángulos interconectados donde se observa tegumento color blanco que contrasta con el resto del abdomen, además de presentar sedas color amarillo. No presenta franjas laterales, sin embargo, en el tegumento se pueden apreciar un ligero contraste que aparentemente las delimita (Figura 18 A) (Ibáñez-Bernal, comunicación personal, junio de 2022).

El tórax presenta tegumento color pardo oscuro con líneas oscuras apenas insinuadas; presentan polinosidad grisácea y un revestimiento de sedas color amarillo claro. La zona de las pleuras presenta polinosidad blanco y revestimiento de sedas color blanco entremezcladas con sedas color oscuro (Ibáñez-Bernal, comunicación personal, junio de 2022).

Los halterios son de color amarillo pardo, similar al abdomen. Las alas membranosas son fumosas, dejando las zonas centrales de las celdas un poco más claras. La celda subcostal (Sc) presenta una coloración amarillenta y el pterostigma color pardo oscuro. Basicosta con sedad en disposición y cantidad similar a la vena costal y aparentemente, a la vena subcostal (Ibáñez-Bernal, comunicación personal, junio de 2022).

Las antenas son de color rojizo. Inicialmente, el escapo presenta una coloración amarilla con la presencia de sedas oscuras dispersas, sin embargo, se conglomeran más en los márgenes distales. El pedicelo es de color pardo, con un revestimiento de sedas color oscuro en sus márgenes apicales. El flagelo es color castaño rojizo que paulatinamente se va oscureciendo al otro extremo. La placa basal del flagelo presente tegumento rojizo con polinosidad blanca; la protuberancia dorsal presenta una forma cóncava y un revestimiento de sedas negras en la zona apical; el resto de los flagelómeros son de color oscuro revestidos de tomento en color similar (Ibáñez-Bernal, comunicación personal, junio de 2022).

Cabeza dicóptica con un par de ojos compuestos de coloración monocromática verde iridiscente sin patrón de bandas. Zona del vértice con tegumento pardo-oscuro, con

polinosidad amarillo claro y sedas dispersas color oscuro recubriendo ocelos vestigiales. La zona de la frente con polinosidad amarillo claro y la presencia de un callo frontal con forma ovoide de color castaño y presenta irregularidades en la zona del margen basal. La zona del subcallo y las genas se encuentra revestido con polinosidad amarillo claro sin contraste aparente; sin embargo, en la zona de las genas se encuentra revestido por sedas color claro (Ibáñez-Bernal, comunicación personal, junio de 2022).

Distribución: La distribución conocida de *T. haemagogus* es desde el sureste de México y Guatemala (Bequaert, 1931). En México, se han registrado su presencia en los estados de Tabasco; en varias localidades del estado de Yucatán siendo la más destacada la reserva de Celestún; en el estado de Quintana Roo, únicamente se han registrado colecta de algunos ejemplares en la reserva del Edén (Manrique-Saide et al., 2001; 2012). De acuerdo con los registros de colecta consultados y con el presente estudio, se reporta por primera vez la presencia de *T. haemagogus* en el estado de Campeche, adicionando como sitio de colecta al Colegio de Postgraduados Campus Campeche.

Comentarios: Dicha especie fue identificada por primera vez por Willinston, 1901, con el nombre de *T. filiulus*, más tarde sería actualizada a *T. haemagogus* (Bequaert, 1931). De acuerdo con las aseveraciones de Ibáñez-Bernal (2022), los ejemplares revisados con anterioridad presentaban una coloración más rojiza por lo que su identificación puede confundirse con ejemplares del género *Philipotabanus*, sin embargo, aparentemente presentan un rango de tonalidades desde pardo, pardo oscuro, castaño, castaño rojizo y rojizo; además de la presencia del tubérculo ocelar completamente vestigial. Se considera a *T. haemagogus* como una de las especies más abundantes en la península de Yucatán, donde sus poblaciones abundan mayormente en la época de lluvias; suelen volar en cualquier hora del día, desde el alba hasta el ocaso y entre sus presas potenciales se encuentran principalmente mamíferos, donde suelen atacar animales domésticos e incluso el ser humano (Bequaert, 1931; Ibáñez-Bernal, 2022).

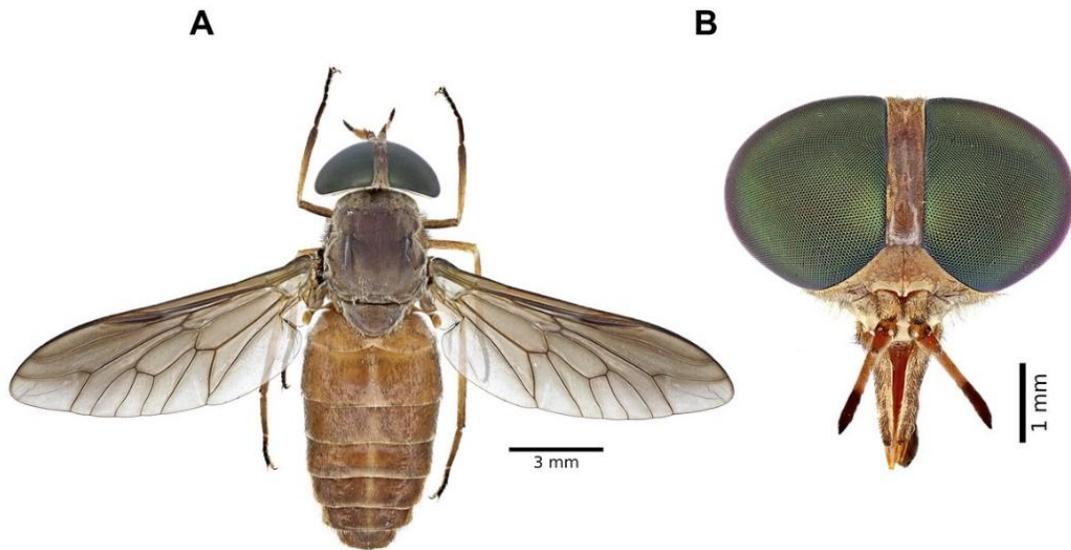


Figura 18. *Tabanus haemagogus* ♀ (Willinston, 1901). Panel A) Línea abdominal compuestas por triángulos con sedas amarillas; alas con oscurecimientos apicales. Panel B) Ojos color verde iridiscente sin patrón de bandas visible.

5.2.4.4. *Tabanus oculus* (Walker, 1848)

Material examinado. 1 ♀. 1 ♂. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra. Considera como un organismo de mayor tamaño, presente una longitud corporal de 13.6-16 mm. El cuerpo es en general color pardo claro, siendo más oscuro el tórax del abdomen, además de la presencia de un círculo oscuro en la zona del escutelo y parte prescutelar del mesonoto (Ibáñez-Bernal, 1989). El abdomen presenta tegumento color pardo rojizo, con los terguitos recubiertos con sedas color oscuro, exceptuando el margen posterior de cada esclerito que presenta tegumento un poco más claro recubierto con sedas blanco amarillentas. Esta

última zona se va extendiendo a lo ancho dorsalmente, con lo que forma aparentemente triángulos discretos. Las sedas blanco amarillentas se vuelven más abundantes en los esternitos V-VII (Figura 19 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

El tórax presenta tegumento pardo-oscuro y algunas zonas con tomento blanco-grisáceo que están recubiertas con sedas negras entremezcladas con amarillas, siendo las primeras más escasas. La zona del escutelo y parte prescutelar del mesonoto presenta un círculo de tomento oscuro con sedas oscuras, delimitado por un anillo de tomento blanco y sedas blanco-amarillas. La zona de las pleuras presenta tomentosidad blanco revestida con sedas negras y blanco-amarillas dispersas (Figura 19 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Los halterios son de color pardo claro, contrastando con la coloración del tórax, pero no del abdomen. Las alas membranosas presentan una tonalidad amarillenta, principalmente en las celdas costal y subcostal (c, sc), las celdas basales 1 y 2 (b_1 , b_2); y las zonas proximales de la celda anal (a), la celda marginal 1 (m_1) y las celdas radiales 1 y 2 (r_1 , r_2). Casi en todas las venas se observan contornos más oscuros que el resto de la membrana del ala, exceptuando la vena radial 5 (R_5), la vena marginal 1 (M_1) y su ramificación R_5+M_1 ; de igual manera, las terminaciones de las venas marginal 2 y 3 (R_2 , R_3), la vena cubital anterior (CuA_1) y en la respectiva ramificación $A+CuA_2$, la cual está presente. Presencia de un apéndice largo en la vena radial 4 (R_4). El pterostigma es de color amarillo y se encuentra bien diferenciado. La basicosta con recubierta de sedas en disposición y cantidad similares a la vena costal y aparentemente a la vena subcostal y radial 1 (R_1) (Figura 19 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Antenas de color pardo rojizas, donde el escapo presenta un tegumento pardo-claro se encuentra muy desarrollado en la parte dorsal y se encuentra recubierta por sedas color negro. El pedicelo es pequeño en comparación con el escapo, siendo un poco más oscuro en la coloración del tegumento y recubierta con sedas negras en los márgenes apicales. La placa basal del flagelo presenta tegumento pardo-rojizo, con escasa sedas negras en la protuberancia dorsal. Los anillos flagelares presentan tegumento de color pardo-oscuro que contrastan con el resto del tegumento de la

antena (Figura 19 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Cabeza dicóptica con la presencia de un par de ojos compuestos con un patrón de bandas color verde iridiscente. Dicho patrón está compuesto por tres bandas horizontales sobre un fondo púrpura que contrastan con franjas oscuras. Las bandas inferiores se recurvan hacia su extremo lateral sin tocarse entre sí; mientras que la banda superior aparentemente no; la banda central se observa un poco más delgada en la zona proximal con respecto a la frente; las bandas se conectan externamente por la frente dando la apariencia de un patrón espejo entre los ojos. La zona vértice sin tomento, recubierto con sedas negras; la zona del tubérculo ocelar con tomentosidad amarilla clara, con ausencia de ocelos o aparentemente vestigiales. La frente es angosta y convergente hacia su base, aparentemente con tegumento oscuro recubierto con tomento amarillo; el callo frontal presenta una forma de quilla, con una coloración oscura, aunque en otras diagnosis mencionan que puede ser pardo brillante (Ibáñez-Bernal, 1989); su zona basal cubre por completo el ancho de la frente y se va estrechando paulatinamente hacia la parte superior. El callo medio de la misma coloración, con forma de aguja, conectándose con el callo frontal y extendiéndose aparentemente hasta el tubérculo ocelar. El subcallo, las genas y el resto del rostro con tomentosidad blanco amarillento; las genas presentan sedas blancas entremezcladas con sedas un poco más oscuras (Figura 19 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Descripción del macho: Las características morfológicas del macho son similares a los de la hembra. Cuerpo de tamaño considerablemente grande, similar al de la hembra; con una coloración pardo claro en el abdomen y tórax pardo oscuro. Los terguitos presentan tegumento color pardo-rojizo con sedas negras; similar a la hembra, los márgenes posteriores de cada terguito con presencia de sedas amarillas (Figura 20 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

El tórax con tegumento pardo-claro, con zonas con tomento amarillo oscuro y grisáceo cubierta de sedas negras entremezcladas con amarillas. La zona del escutelo con el círculo con tomento negro y recubierto con sedas negras; delimitado por el anillo de tomento blanco amarillento y sedas del mismo color amarillas (Figura 20 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

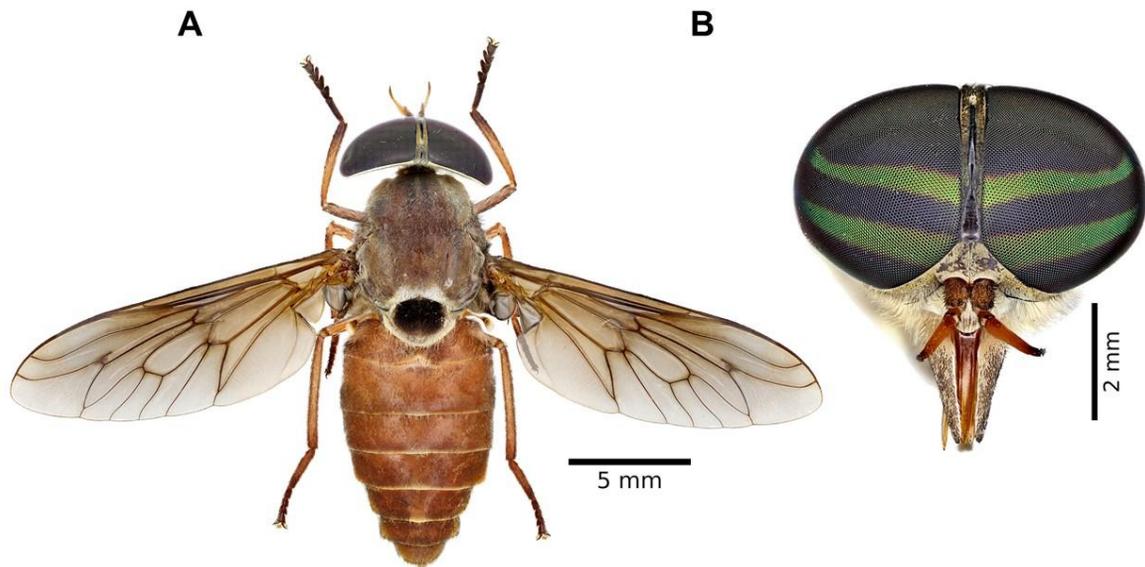


Figura 19. *Tabanus oculus* ♀ (Walker, 1848) Panel A) Mesonoto y zona prescutelar con un círculo color negro. Panel B) Ojos con patrón de bandas color verde iridiscente.

Los halterios se observan un poco más oscurecidos, sin embargo, no varían significativamente entre machos y hembras. Las alas membranosas con tonalidad amarillentas, las venas oscurecidas y la presencia del apéndice en la vena radial 4 (R4) y la vena fusionada anal-caudal anterior 2 (A+CuA₂) amarillas (Figura 20 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Antenas con el escapo y el pedicelo con tegumento pardo-rojizo y recubierto por sedas oscuras; se observa una conglomeración de sedas oscuras en los márgenes posteriores en ambos artejos. La placa basal del flagelo con tegumento pardo que se va oscureciendo hacia el otro extremo de los anillos flagelares; se observan sedas oscuras en la zona apical de la protuberancia dorsal de la placa basal amarillas (Figura 20 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Cabeza holóptica, donde no se observa la frente ni el callo frontal. Se pueden distinguir dos áreas debido al tamaño de las facetas oculares; en la zona inferior se notan dos bandas horizontales de color iridiscente sobre fondo púrpura que se recurvan hacia su extremo lateral; en la superior se distingue una fovea ocular muy pronunciada sin patrón de bandas. El vértice es muy reducido recubierto por escasas sedas amarillo claro. Subcallo, el resto del rostro y las genas con tomentosidad amarillo claro; en la zona de las genas con presencia de sedas color crema amarillas (Figura 20 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Distribución: La distribución de esta especie se concentra en Centroamérica, desde Panamá hasta el Noreste de México; específicamente los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo y Yucatán, estados que conforman la península de Yucatán (Bequaert, 1931; Ibáñez-Bernal, 1989; Manrique-Saide et al., 2001).

Comentarios: La presencia del círculo negro en el escutelo es una característica muy distintiva de esta especie en la península de Yucatán, ya que algunas otras especies del género *Tabanus* presentan dicho círculo, sin embargo, no se han registrado su presencia en México (Ibáñez-Bernal, 1989; Veroy et al., 2022). A diferencia de las hembras, no existe una clave de identificación para los machos de las especies; debido a que las claves existentes se basan en caracteres propiamente de las hembras, como lo es el callo frontal y el patrón de bandas en los ojos (Ibáñez-Bernal, 1989; 2022).

Se considera que su pico de abundancia se encuentra en el mes de mayo-junio, correspondiente a la temporada de lluvias en la región, sin embargo, se presenta a lo largo de todo el año (Ibáñez-Bernal, 1989). Es una de las especies de mayor tamaño en la península de Yucatán, y suelo observar que se alimenta de mamíferos grandes, como es el caso de equinos y bovinos, sin embargo, se ha documentado que atacan también a los humanos.

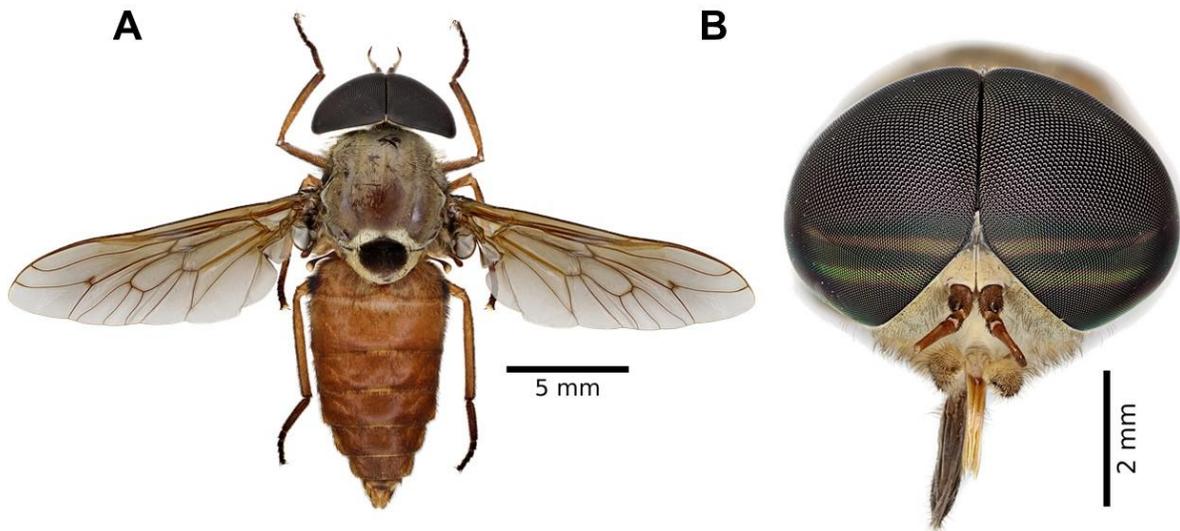


Figura 20. *Tabanus oculus* ♂ (Walker, 1848) Panel A) Mesonoto y zona prescutelar con un círculo color negro. Panel B) Ojos holópticos con fóvea ocular pronunciada.

5.2.4.5. *Tabanus vittiger* var. *guatemalanus* (Hine, 1906)

Material examinado. 1 ♀. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra: Presenta una longitud corporal de 12.4 mm. Su coloración es parda en general, siendo más oscuro el tórax. El abdomen presenta tegumento pardo claro revestido con sedas negras entremezcladas con sedas amarillas. Presenta tres franjas; la franja central se compone de una serie de triángulos interconectados con tomento claro y revestido de sedas amarillas; las franjas laterales se componen de manchas aparentemente regulares, de igual manera con tomento y sedas amarillas. Los terguitos V-VII aparentemente con el tegumento más oscurecido amarillas (Figura 21 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

El tórax con tomento oscuro revestido con sedas negras y amarillas entremezcladas; además, se puede notar una franja de tomento amarillo con sedas amarillas delimitando la zona prescutelar del escutelo. Las pleuras con sedas tomento pardo

claro con revestimiento de sedas blancas y oscuras amarillas (Figura 21 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Los halterios con una coloración similar al tórax. Las alas membranosas son hialinas, sin ningún oscurecimiento aparente. El pterostigma se encuentra bien marcado con una coloración pardo oscuro. Apéndice de la vena R_4 ausente y presencia de la vena fusionada $A+CuA_2$ amarillas (Figura 21 A) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Antenas con una coloración pardo rojizo. El pedicelo con escaso tomento amarillo claro y recubierto por una gran cantidad de sedas color negro, siendo un poco más largas en la zona ventral y en la zona de los márgenes apicales. El pedicelo es pequeño con sedas negras predominando el su margen apical. La placa basal del flagelo con tegumento de color pardo que se va oscureciendo hacia el extremo de los anillos flagelares; la protuberancia dorsal poco pronunciada formando un ángulo obtuso y aparentemente sin sedas negras. Los anillos flagelares casi del mismo tamaño que la placa basal y presentan tegumento oscuro amarillas (Figura 21 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Cabeza dicóptica con un par de ojos compuestos con patrón de bandas visible. Dicho patrón de bandas está compuesto por tres bandas horizontales de color verde iridiscente sobre fondo púrpura que contrastan sobre franjas oscuras. La banda inferior se recurva hacia su extremo lateral sin tocar alguna de la superiores; la banda media se recurva hacia su extremo lateral uniéndose con la superior dando la apariencia de un triángulo difuminado color oscuro. La zona del vértice se encuentra recubierta por tomento amarillo claro y sedas color oscuro, tubérculo ocelar ausente o restos vestigiales. Callo frontal con forma ovoide de color oscuro que se encuentra separado de los márgenes del ojo; cuya extensión dorsal, formada con el callo medio, extendiéndose hasta la mitad de la frente. El subcallo y el resto del rostro también se encuentran recubiertos por tomentosidad amarillo claro; mientras que el frontoclípeo y las genas se encuentra revestidas por tomento y sedas color blanco.

Distribución: La distribución de esta subespecie abarca desde Florida, en los Estados Unidos, hasta Brasil; indicando otros registros en Bahamas, las Islas Caimán, Jamaica,

Puerto Rico, las Islas Galápagos (Fairchild, 1983; Ibáñez-Bernal, 1989; Manrique-Saide et al., 2001). En México, se ha reportado su presencia en varias localidades de Yucatán, destacando la reserva de Celestún, la reserva del Dzilam y Ria Lagartos; en Quintana Roo, Ibáñez-Bernal (1989) reporta su presencia en la reserva de la Biósfera de Sian Ka'an; en el estado de Campeche, se ha reportado su presencia en la reserva de Calakmul (Manrique-Saide et al., 2001). En el presente estudio, se adiciona al Colegio de Postgraduados Campus Campeche como nuevo sitio de colecta para esta especie.

Comentarios: Es considerada como parte del complejo de especies *trivittatus*, aquellos que presenta tres bandas longitudinales en el dorso del abdomen. Se logra distinguir del resto de las especies por el escutelo pardo rojizo y la forma del callo frontal; de igual manera se considera la coloración de las patas, sin embargo, aún existe mucha variabilidad con respecto a esta última característica.

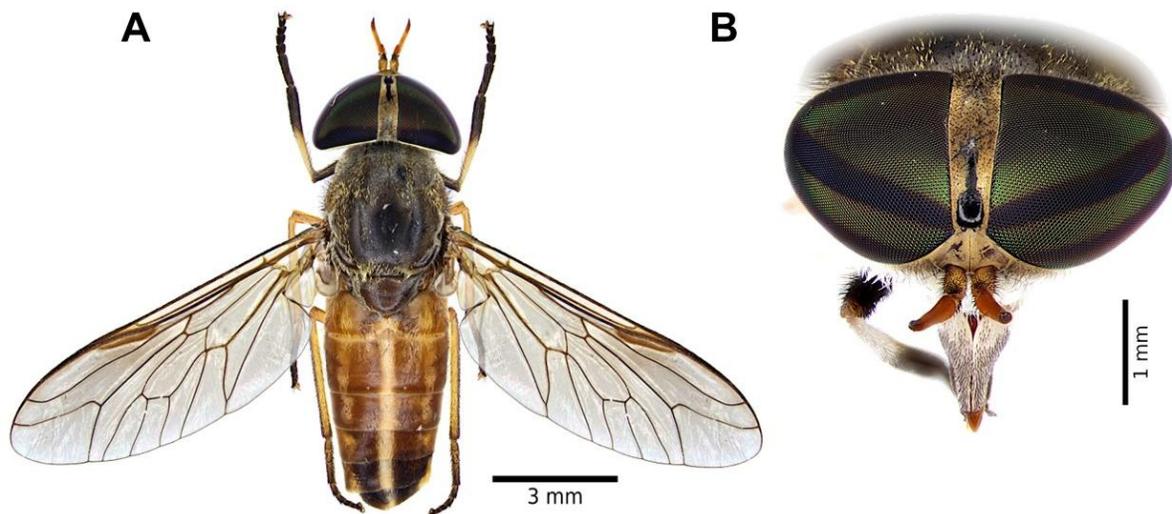


Figura 21. *Tabanus vittiger guatemalanus* ♀ (Hine, 1906) Panel A) Abdomen con tres franjas; tórax oscuro; alas hialinas. Panel B) Ojos dicópticos con patrón de band verde iridiscente.

5.2.4.6. *Tabanus yucatanus* (Townsend, 1897)

Material examinado. 1 ♀. México, Campeche, Champotón, Sihochac, Colegio de Postgraduados Campus Campeche (19° 29' 96" N, 90° 32' 38" O), 10-VI-2021, Aquino-Luna, Trampa Malaise, IEXA, Xalapa, Ver.

Descripción morfológica de la hembra: Son organismos pequeños que presentan una longitud corporal de 9-12 mm. Las características en general son similares a las de *T. commixtus* (Ibáñez-Bernal, 1989). El abdomen presenta tegumento pardo claro que se va oscureciendo a partir de los terguitos V-VII, además de estar recubiertos por sedas oscuras. Presenta tres franjas longitudinales, una central y dos laterales, que presentan un tegumento más claro y compuesta por sedas amarillo claro; las bandas laterales aparentemente muestran uniformidad, como es el caso de *T. commixtus* (Figura 22 B) (Ibáñez-Bernal, 1989).

El tórax presenta tegumento color pardo con un ligero contraste en la parte distal del escutelo; se encuentra revestido con sedas oscuras entremezcladas con sedas blancas. La zona de las pleuras con tomento blanco recubierto con sedas blancas entremezcladas con sedas negras (Figura 22 B) (Ibáñez-Bernal, 1989).

Los halterios son de color pardo, sin un contraste significativo con el abdomen y el tórax. Las alas membranosas son hialinas sin manchas u oscurecimientos. El pterostigma es de color pardo y el apéndice de la vena R₄ se encuentra ausente. La basicosta presenta sedas color oscuro en cantidad y disposición similar a la vena costal; la vena subcostal (Sc) y la vena radial 1 (R₁) con revestida con sedas oscuras (Figura 22 B) (Ibáñez-Bernal, 1989).

Las antenas son color pardo claro. El escapo presenta tomento amarillo claro recubierto por sedas color oscuro, conglomerándose en la zona del margen apical. En el caso del escapo, este es pequeño de color pardo claro con presencia de sedas en los márgenes apicales. La placa basal del flagelo presenta tegumento color pardo-rojizo con tomentosidad amarillo claro; la proyección de la protuberancia dorsal forma un ángulo obtuso, con presencia de sedas en su zona apical. Los anillos flagelares son de color más oscuro en comparación con la placa basal, con aparente tomentosidad pardo

oscuro (Figura 22 B) (Ibáñez-Bernal, 1989).

Cabeza dicóptica con un patrón de bandas visible. El patrón se compone por dos bandas longitudinales color verde iridiscente en la parte media del ojo. La banda inferior se recurva hacia su extremo lateral sin tocar el margen del ojo; y con una dirección ascendente hacia la banda superior, pero sin tocarla. La banda superior tampoco toca el margen del ojo. Vértice con aparente tomentosidad amarillo claro, revestido con sedas de color oscuro dispersas; tubérculo ocelar ausente o con restos vestigiales. La frente es angosta y ligeramente convergente hacia su base. El callo frontal presenta una coloración parda y una forma elíptica o sub-rectangular; la zona basal no toca los márgenes del ojo y se va estrechando paulatinamente hacia la zona superior. El callo medio interconectado con el callo frontal y se extiende hasta la zona cercana al tubérculo ocelar. La zona del subcallo, el rostro y las genas presentan tomentosidad de color crema; además de que las genas está recubiertas con sedas del mismo color (Figura 22 B) (Ibáñez-Bernal, 1989; 1991).

Distribución: Esta especie se distribuye principalmente en Centroamérica, siendo registrada su presencia desde el Sureste de México, Guatemala, Honduras, El Salvador, Costa Rica y Nicaragua (Ibáñez-Bernal, 1989; Manrique-Saide et al., 2001). En México, ha sido registrada en los estados de Chiapas y la península de Yucatán (Manrique-Saide, et al., 2001). Específicamente, en el estado de Yucatán se colectaron ejemplares en la zona arqueológica de Chichen Itzá, la reserva de Celestún y poblados cercanos a la ciudad de Mérida; en el estado de Quintana Roo, se colectaron ejemplares en la Reserva de la Biósfera de Sian Ka'an (Bequaert, 1931); y en el estado de Campeche, se han colectado ejemplares dentro de la reserva de Calakmul y poblados aledaños (Manrique-Saide et al., 2001).

Comentarios: Esta especie también pertenece al complejo de especies *trivittatus* por la presencia de las tres franjas en el abdomen. Por su similitud con respecto a sus características morfológicas, suele confundirse con *T. commixtus*, sin embargo, esta se diferencia por el flagelo antenal más corto, la placa basal del flagelo sin forma de media luna y la presencia de solo dos bandas longitudinales en el ojo (Bequaert, 1931; Ibáñez-Bernal, 1989).

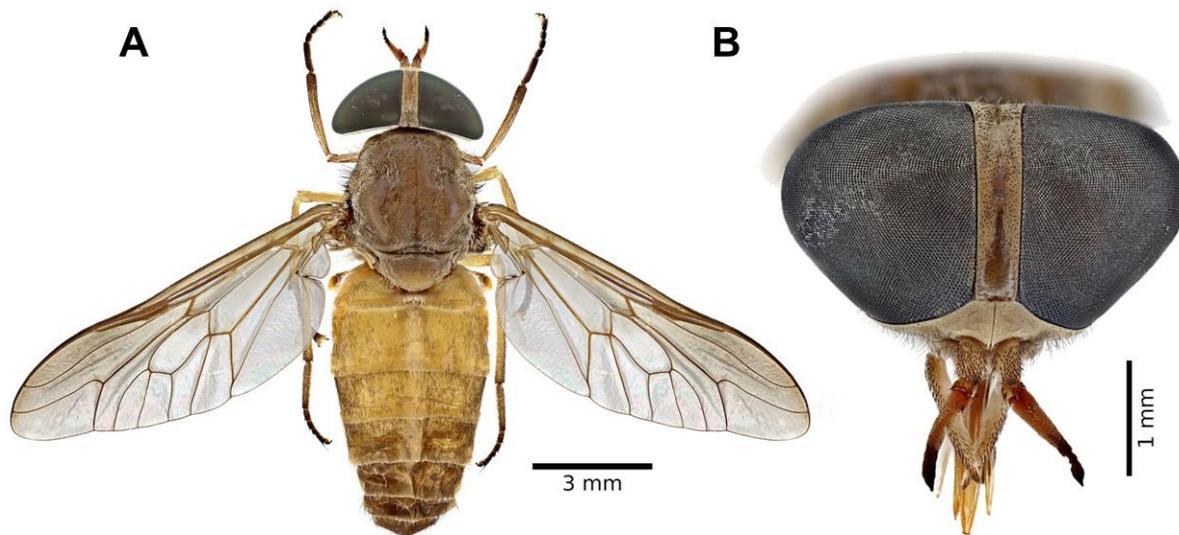


Figura 22. *T. yucatanus* (Walker, 1848) Panel A) Abdomen con tres franjas distinguibles en el abdomen. Panel B) Cabeza dicóptica con patrón de bandas color verde iridiscente.

5.3. Análisis Bioestadístico

5.3.1. Capturas de tabánidos por trampa

En el caso de la zona 1 (UMA Nohan, Z1) se capturaron un total de 2274 tabánidos; donde de acuerdo con el total de capturas registradas, la trampa T3 (n = 632, 27.79 %) y la trampa T4 (n=616, 27.08%) fueron las responsables de la mayor cantidad de ejemplares capturados (Figura 23). Esto corresponde a lo que indicaba Iv et al., (2002) donde menciona que los tabánidos batan sus alas a velocidades de hasta 3.13 m/s, por lo que en zonas con vegetación muy densa son más precavidos en el vuelo tratando de no colisionar con los obstáculos; por otro lado Ibáñez-Bernal (2022), lo refuerza con la idea de la colocación de trampas en zonas con claros aumentada considerablemente las posibilidades de que los tabánidos sean interceptados por las trampas.

Por otro lado, en la zona 2 (Selva COLPOS Cam, Z2) se capturaron un total de 3258; de acuerdo con el número de individuos capturados, las trampas T2 (n = 1217, 37.35 %) y T3 (n = 1031, 31.65 %) colocadas en sitios abiertos dentro de la selva, fueron las

que tuvieron una mayor cantidad de tabánidos capturados (Figura 24).

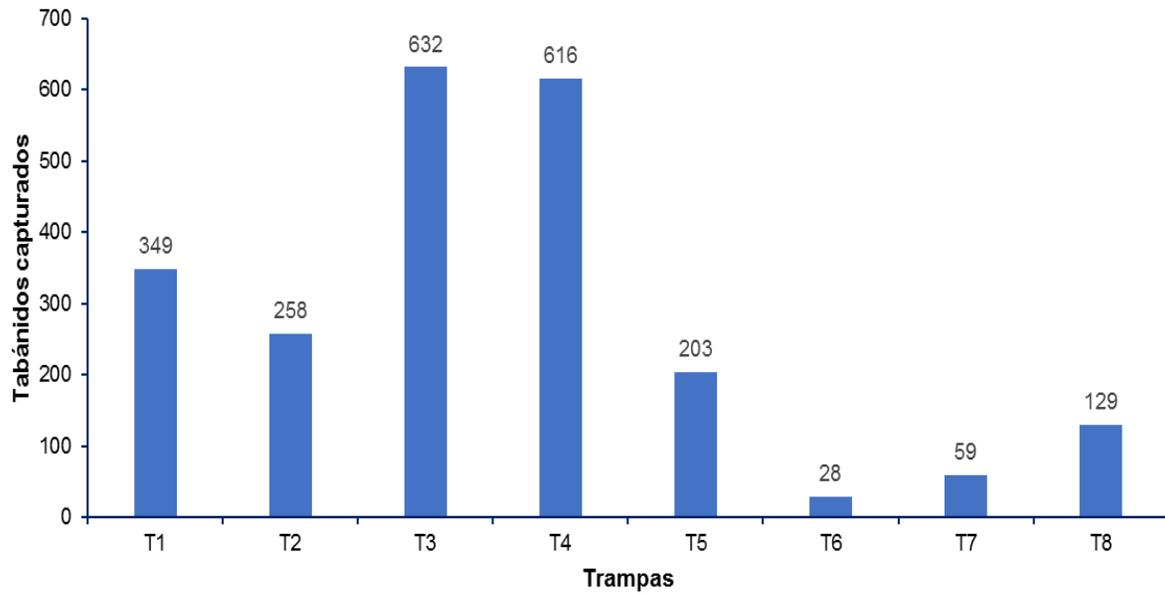


Figura 23. Relación de tabánidos capturados por trampa en la UMA Nohan.

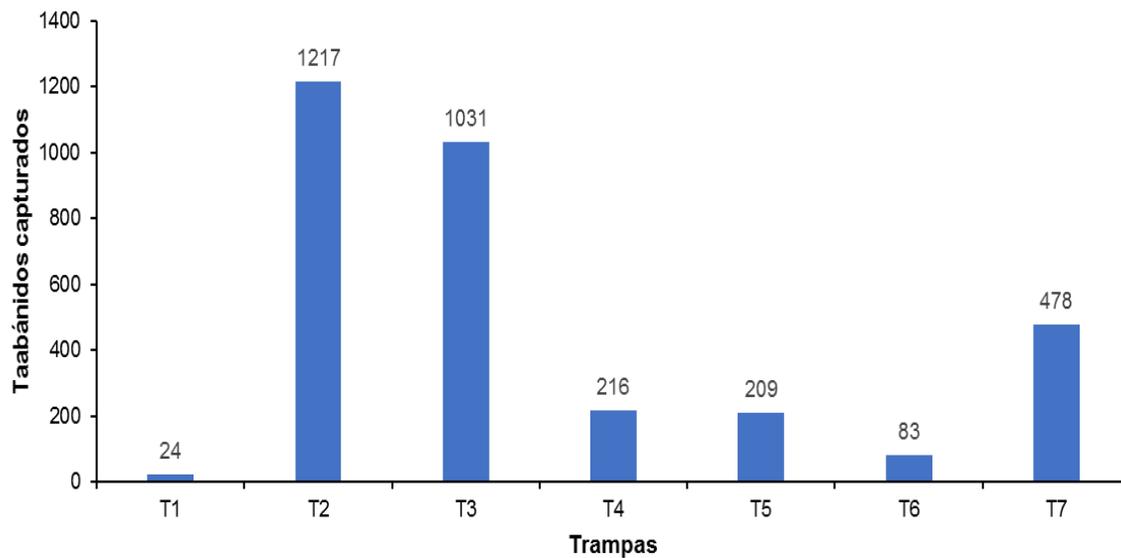


Figura 24. Relación de tabánidos capturados por trampa en la Selva COLPOS Cam.

5.3.2. Captura de tabánidos por mes

Correspondiente a las capturas por mes, la UMA Nohan (Z1) tuvo una mayor cantidad

de tabánidos capturados en el mes de agosto ($n = 899$), mientras que el mes con la menor cantidad de ejemplares capturados fue julio ($n = 159$) (Figura 25).

En el caso de la Selva COLPOS Cam (Z2), se registró una mayor cantidad de tabánidos capturados en el mes de julio ($n = 1567$), mientras que el mes con el menor número de ejemplares capturados fue el mes de agosto ($n=72$) (Figura 26).

Correspondiente a lo anterior, el muestreo fue realizado en los meses de junio-septiembre, lo cual corresponde al periodo de lluvias en la península de Yucatán (Martin-Park et al., 2018). Navarrete-Carballo et al., (2021) menciona que los meses de julio y agosto son aquellos cuyos picos de precipitación y temperaturas son los más altos de todo el año; y de acuerdo con los trabajos faunísticos realizados por Manrique-Saide et al., (2012) y Martin-Park et al., (2018) cuyos resultados arrojan que sus mayores abundancias de tabánidos se correlacionan con estos dos factores ambientales.

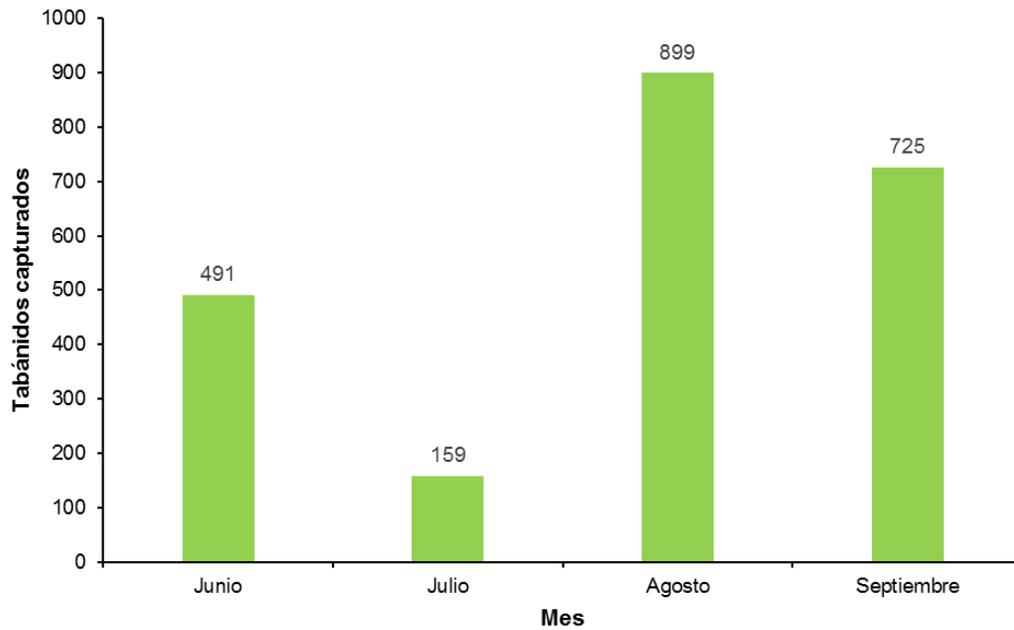


Figura 25. Relación de tabánidos capturados por mes en la UMA Nohan (Z1).

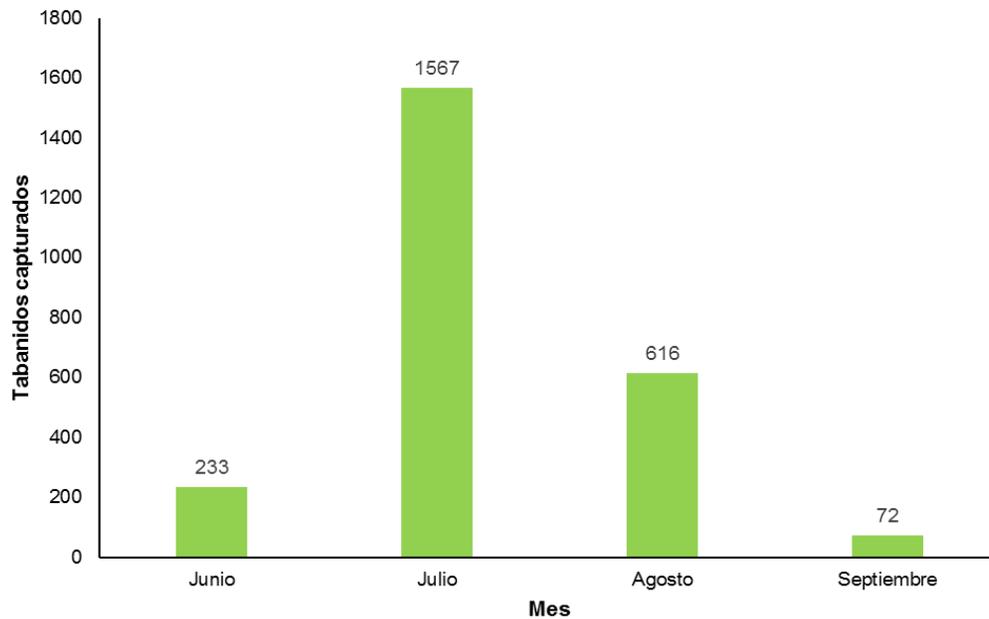


Figura 26. Relación de tabánidos capturados por mes en la Selva COLPOS Cam (Z2).

5.3.3. Curva de acumulación de especies

En la UMA Nohan (Z1) se registraron un total de cinco especies (S) (Figura 27), siendo *D. ferrugatus* la especie con el mayor número de ejemplares colectados (99.51 %, ADT

= 28.2875), seguida por *T. oculus* y *T. colombensis* (Cuadro 4).

Considerando la heterogeneidad en cuanto a clima, fisiografía, tipos de vegetación y uso de suelo (Martin-Park, et al., 2018); la zona de manglar presenta una menor diversidad en cuanto a vegetación forestal, siendo dominada principalmente por las cuatro especies de manglar y una gran cantidad de especies de plantas epífitas (Noguera-Savelli et al., 2021). Observando la vegetación cercana a las trampas, se puede mencionar especies como *Dalbergia glabra*, *Metopium brownei*, *Hampea trilobata*, *Bonellia macrocarpa*, *Sabal mexicana*; especies de epífitas como *Myrmecophila sp*, *Tillandsia sp*, *Conocarpus erectus* y *Brassavola nodosa* subsp. *nodosa*; helechos como *Acrostichum aureum* y las especies de manglar *Rizophora mangle*, *Conocarpus erectus* y *Laguncularia racemosa*; representando una importante fuente de alimento para los tabánidos. En cuanto al hábito hematófago, se observó la presencia de aves de familias como Picidae, Psittacidae, Tyrannidae, Icteridae, Ardeidae, entre otras (Gallardo et al., 2018); especies de reptiles como *Rhinoclemmys areolata* y *Crocodylus moreletti* (Díaz-Gamboa et al., 2020); algunos mamíferos observados como *Nasua narica*; además de especies que se crían dentro del rancho presente en las adyacencias del fragmento de Manglar, tal es el caso de especies silvestres como *Pecari tajacu* y especies de producción animal, como lo son las aves de corral, ganado bovino y porcino. El personal del rancho que labora, el personal de hotel y las personas que visitan el mismo, puede formar parte de la alimentación de los tabánidos. La especie *D. ferrugatus* fue la especie abundante, debido a que representó más del 99 % del total de ejemplares capturados. *Diachlorus ferrugatus* es una de las especies más conocidas por la población, siendo encontrada principalmente en zonas de vegetación secundaria cercanas a asentamiento humanos (Whyte et al., 2020).

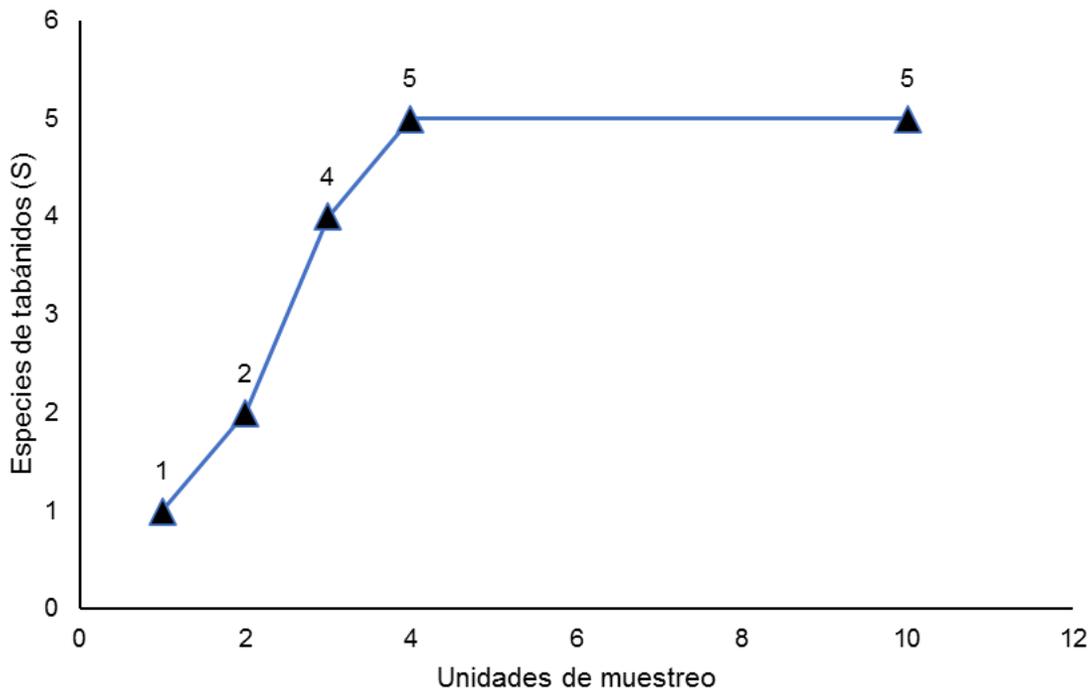


Figura 27. Curva de acumulación de especies de la UMA Nohan (Z1).

El ciclo de vida de esta especie es corto en comparación con otras especies, por lo que explica su presencia a lo largo de todo el año (Squitier, 2021); y tomando en cuenta la alta cantidad de zonas inundables, humedad y alta incidencia de luz solar, propicia un excelente reservorio para la oviposición (Hribar et al., 2003). A pesar de que la abundancia de *D. ferrugatus* es alta, se proyecta abundancias aún superiores, debido a que la zona alberga una gran cantidad de peces, anfibios, aves; donde los tabánidos son elementos funcionales de las cadenas tróficas, ya sea en estado larval o en su estado adulto (Yeo et al., 2021).

En el caso de la Selva COLPOS Cam (Z2), se registró un total de ocho especies (S) (Figura 28), siendo la especie *T. haemagogus* la más abundante (89.69 %, ADT = 34.786), seguida por *T. oculus* y *T. colombensis* (Cuadro 4).

Considerando la riqueza específica (S) de la Selva COLPOS Cam, se obtuvieron mayor cantidad de especies a comparación de Nohan; esto cobra relevancia considerando que la Selva COLPOS Cam es una selva mediana subperennifolia y dado que las selvas tropicales subperennifolias se les ha asociado la presencia de una alta cantidad

de especies tanto vegetales como animales (Cetzal-Ix et al., 2019). Considerando la composición de la Selva COLPOS Cam, se pudieron observar especies vegetales cercanas a las trampas, tal es el caso de: *Bursera simaruba*, *Lysiloma latisiliquum*, *Simarouba glauca*, *Bauhinia divaricata*, *Metopium brownei*, *Tabebuia rosea* y *Sabal mexicana*, entre otras. Estas especies al ser consideradas de importancia apícola presentan floraciones atractivas para muchos insectos, y por consiguiente, también para los tabánidos (Castillo Cázares et al., 2016; Garza-González & Canto, 2020).

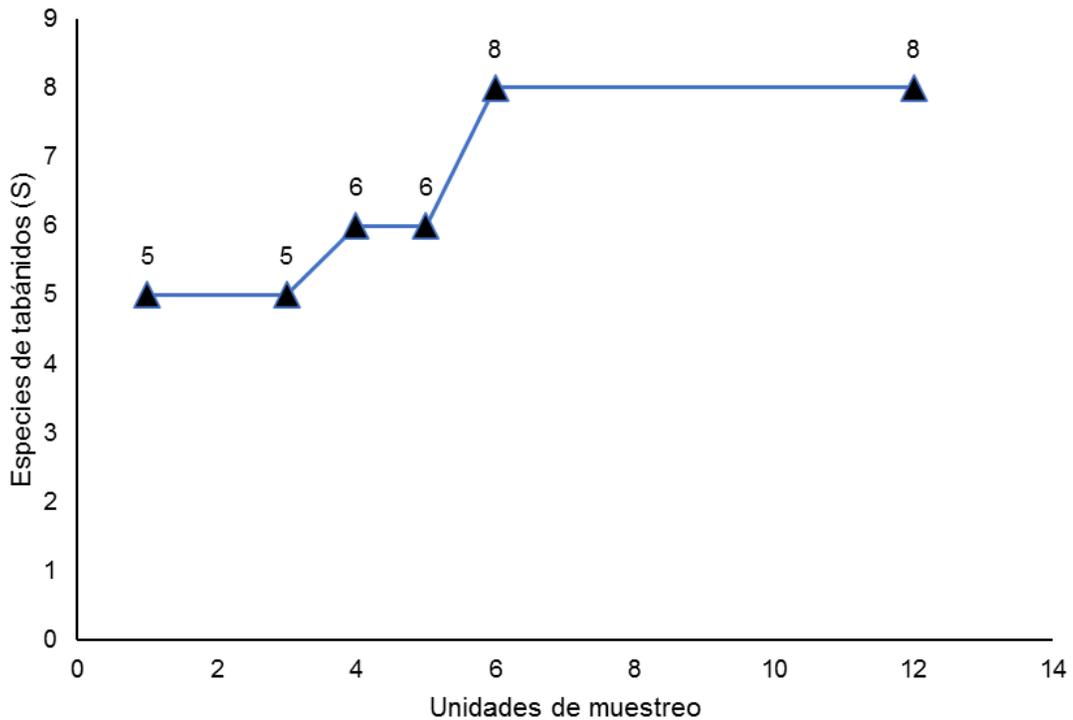


Figura 28. Curva de acumulación de especies de la Selva COLPOS Cam.

Cuadro 4. Relación de especies y número de organismos capturados por trampa; Abundancia Relativa (%) y Densidad Aparente de Tabánidos (ADT).

Especie	Nohan										Selva COLPOS Cam								
	Trampas								Abun. Rel. (%)	ADT	Trampas							Abun. Rel. (%)	ADT
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8			T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		
<i>C. variegatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0.0125	0	0	0	0	0	0	0	-	-
<i>D. ferrugatus</i>	348	258	626	613	202	28	59	129	99.51	28.2875	0	9	6	5	1	2	0	0.68	0.262
<i>L. itzarum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	4	16	11	3	0	0	1	1.07	0.417
<i>T. commixtus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0.04	0.0125	0	2	0	0	0	0	2	0.12	0.048
<i>T. colombensis</i>	0	0	2	0	1	0	0	0	0.13	0.0375	1	0	3	2	0	0	1	2.89	1.119
<i>T. haemagogus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	17	1113	892	191	203	46	459	89.69	34.786
<i>T. oculus</i>	0	0	4	2	0	0	0	0	0.075	0.075	2	23	78	14	4	4	7	4.05	1.571
<i>T. vittiger guatemalanus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	1	0	0	0	0	4	0.15	0.06

Especie	Nohan								Selva COLPOS Cam										
	Trampas								Abun. Rel. (%)	ADT	Trampas							Abun. Rel. (%)	ADT
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8			T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7		
<i>T. yucatanus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	7	1	1	1	31	4	1.35	0.524	

En cuanto al hábito hematófago que presentan las hembras, dentro de la Selva COLPOS Cam se ha observado la presencia reptiles como *Ctenosaura pectinata* e *Iguana iguana* pertenecientes a la familia Iguanidae; especies de Viperidae y Colubridae; especies de Lacertidae; diversas aves que pertenecen a familias como Columbidae, Picidae, Psittacidae, Tyrannidae, Icteridae, por mencionar algunas (Flota-Bañuelos, 2016; Vasquez-May, 2018); y mamíferos como *Odocoileus virginianus*, *Nasua narica*, *Pecari tajacu*, *Sciurus yucatanensis*, *Sylvilagus floridanus*, algunas especies de Quirópteros, entre otros (Mejenes-López & Vallarino-Moncada, 2016; Flota-Bañuelos, 2016). Así mismo, el colegio cuenta con un establo con bovinos considerados como posibles presas potenciales (Sullivan, 2021); al igual que el personal que asiste a actividades a la institución.

La especie más abundante en la Selva COLPOS Cam fue *T. haemagogus* considerando la alta cantidad de ejemplares capturados durante los muestreos siendo el 89.69 % del total de ejemplares recolectados. Esta especie tiene una distribución conocida para: de Tabasco, Yucatán y Quintana Roo; hasta Guatemala (Manrique-Saide et al., 2001). Muy poco se sabe de los aspectos biológicos de esta especie, salvo que se ha colectado en sitios con vegetación de selva baja y mediana subperennifolia (Bequaert, 1931; Manrique-Saide et al., 2001; 2012). En conversación personal con el Dr. Sergio Ibáñez-Bernal (2022), indica que es una especie que requiere una revisión taxonómica debido a la poca información existente sobre sus características morfológicas, ya que pudiera confundirse con muchas otras especies del complejo taxonómico *Tabanus*.

Como resultado de la revisión detallada de las características morfológicas de los ejemplares capturados, la revisión de literatura especializada y la consulta con el Dr. Sergio Ibáñez Bernal, se reporta por primera vez la especie *Tabanus haemagogus* para el estado de Campeche, recolectado en el fragmento de selva subperennifolia aledaño a las instalaciones del Colegio de Posgraduados Campus Campeche; y con ejemplares depositados en la colección IEXA, perteneciente al Instituto de Ecología A.C. en Xalapa, Veracruz.

La curva de acumulación de especies nos indica la cantidad de especies que se van

incorporando conforme las unidades de muestreo se van realizando (Moreno, 2001). Al observar la curva de Nohan, se pudo observar que solo una especie fue capturada en los primeros muestreos, indicando una alta presencia de esta especie; conforme avanzaron los muestreos se fueron incorporando paulatinamente más especies, llegando al pico más alto y estabilizándose a la mitad del esfuerzo de muestreo realizado. Por otro lado, de acuerdo con la curva de acumulación de especies de la Selva COLPOS Cam se obtuvo un total de cinco especies en los primeros muestreos, aumentando paulatinamente hasta alcanzar su pico más alto y estabilizándose la curva alrededor de la mitad del muestreo realizado.

Conforme aumenta el esfuerzo de muestreo, también aumenta la posibilidad de la incorporación de más especies en el estudio. Por otro lado, las altas abundancias y un alto índice de rarefacción determinan influyen en la captura de una mayor cantidad de especies (Moreno, 2001). Manrique-Saide et al., (2012) refuerza la idea de lo anterior descrito, sin embargo, menciona que puede existir una relación entre la cantidad existente de especies de tabánidos con la vegetación y fuentes alimento, lo que pudiera relacionarse con los resultados obtenidos, donde la Selva COLPOS Cam por la cantidad de vegetación y presas potenciales existentes, fue donde se registró una mayor cantidad de especies.

5.3.4. Diversidad de tabánidos

De acuerdo con el índice de diversidad alfa de Shannon-Wiener (H'), la UMA de Nohan tuvo un valor de 0.036, mientras que la Selva COLPOS Cam tuvo un valor de 0.488; indicando que este último es un sitio más diverso. El índice de diversidad de Shannon presenta una escala de 0-5, donde los valores más altos indican una alta diversidad; este índice uniformiza la cantidad de especies que existen independientemente de sus abundancias, por lo que todos los individuos tienen la misma probabilidad de ser elegidos en una determinada muestra.

Por otro lado, de acuerdo con el índice de diversidad y dominancia de Simpson (λ) indica que Nohan es más diverso que la Selva COLPOS Cam. La escala que presenta este índice es de 0-1, en donde los valores cercanos a 0 indican una alta diversidad;

este índice toma en cuenta las abundancias de cada especie, ya que las especies con mucha población de individuos en un determinado sitio tienen una mayor posibilidad de ser muestreados.

Se realizó una comparación entre los sitios de muestreo mediante una prueba t , concluyendo que se presentan diferencias estadísticamente significativas ($t = -114.15$, $t_0 = 1.96$, $p < 0.05$) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Parámetros ecológicos: Riqueza específica (S), Diversidad (H' , λ), Equidad de Pielou (J), Recambio de especies (β).

	UMA Nohan	Selva COLPOS Cam
S	5	8
H'	0.036	0.488
λ	0.009	0.193
J	0.007	0.0610
B		0.230

De acuerdo con el índice de equidad de Pielou, un modelo matemático que nos permite medir una proporción de la diversidad que se observa con respecto a la máxima diversidad esperada; considera una escala de 0-0.1, donde 0 indica que sus poblaciones no presentan las mismas abundancias, y en el caso de 0.1, este indica que todas las poblaciones son equitativamente abundantes (Moreno, 2001). De acuerdo con los valores calculados, la UMA Nohan obtuvo un valor de 0.007, que, dentro de la escala, se considera que sus poblaciones no presentan las mismas abundancias. Esto refuerza la idea de una especie dominante, tal es el caso de *D. ferrugatus* donde al presentarse una alta abundancia de esta especie, aumentó considerablemente las probabilidades de capturas de esta.

En el caso de la Selva COLPOS Cam, se obtuvo un valor de 0.0610, que, dentro de los valores de la escala, y en comparación con el valor obtenido en Nohan, indica que sus poblaciones son un poco más equitativas, sin embargo, se mantiene un valor bajo. Similar a la UMA Nohan, se indica la presencia de una especie dominante, tal es caso de *T. haemagogus* cuyas poblaciones fueron muy abundantes, aumentando considerablemente las probabilidades de capturarla.

De acuerdo con el recambio de especies o también denominada diversidad (β), parámetro que considera el grado de recambio de especies que pudieran presentarse en ambos sitios a través de gradientes ambientales (Moreno, 2001). No se menciona una escala específica, sin embargo, entre más alto sea el valor de la diversidad β , menor será el total de especies que podrían compartirse (Moreno, 2001). Considerando un valor obtenido de 0.230, se indica que existe un recambio de especies categorizado como “medio” en donde se plantea que existen especies compartidas y que tienen la capacidad de colonizar ambos ecosistemas a pesar del gradiente ambiental presente. Entre las especies que estos sitios se comparten son *D. ferrugatus*, *T. commixtus*, *T. colombensis* y *T. oculus*, especies que ha reportado en diferentes ecosistemas de la península de Yucatán (Manrique-Saide et al., 2012).

Esto concuerda con los parámetros de diversidad y equidad calculados, debido a que entre mayor cantidad de especies haya en un sitio con altas abundancias, mayor es la probabilidad de que puedan colonizar otros sitios circundantes, e incluso sitios no tan cercanos y con un gradiente ambiental totalmente diferente (Sonco-Suri, 2013).

5.4. Cuantificación de las proteínas del EGS

Se cuantificó la concentración de los EGS de las especies *T. haemagogus* y *L. itzarum* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Cuantificaciones de proteínas de los EGS por UV a 595 nm.

Especie	Concentración
<i>T. haemagogus</i> COLPOS	2.23 µg/µL
<i>T. haemagogus</i> Lerma	2.46 µg/µL
<i>T. haemagogus</i> Ejido Miguel Colorado	1.45 µg/µL
<i>L. itzarum</i>	2.12 µg/µL

5.5. Determinación del perfil proteico

Se obtuvo el perfil proteico de las especies *T. haemagogus* y *L. itzarum* en un gel de bis-acrilamida al 12 %. El perfil muestra la presencia de proteínas del extracto de glándulas salivales con pesos moleculares que van desde los 25-250 kDa. (Figura 28).

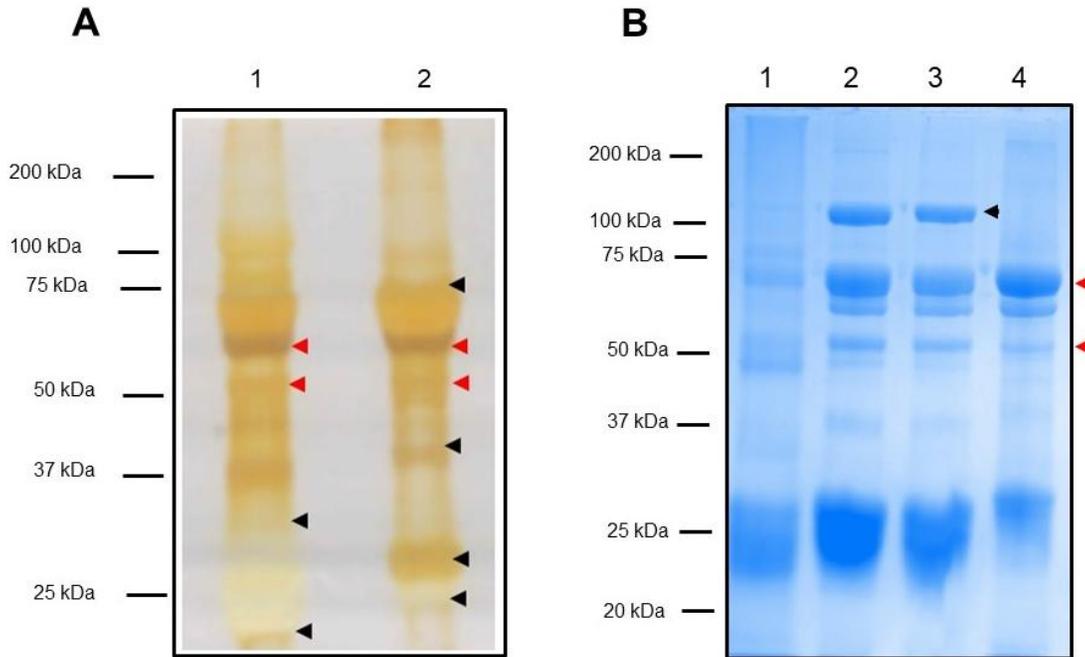


Figura 29. Perfil proteico del extracto de glándulas salivales (EGS) de tabánidos. Panel A) Tinción con nitrato de plata. Carril 1, proteínas del EGS de *T. haemagogus* colectados en COLPOS Cam. Carril 2, proteínas del EGS de *L. itzarum* colectados en COLPOS Cam. Panel B) Tinción con azul de Coomassie. Carril 1, proteínas del EGS de *T. haemagogus* colectados en COLPOS. Carril 2, proteínas del EGS de *T. haemagogus* colectados en Lerma, Campeche. Carril 3, proteínas del EGS de *T. haemagogus* colectados en el ejido Miguel Colorado, Campeche. Carril 4, proteínas de *L. itzarum* colectados en COLPOS Campeche. Con las cabezas de flechas de color negro se señala la presencia de proteínas diferentes entre los perfiles. Con las fechas de color rojo se señala proteínas similares.

De las dos especies analizadas, en el perfil teñido con nitrato de plata *T. haemagogus* y *L. itzarum* mostraron bandas de abundante intensidad. En el caso *T. haemagogus* se pueden observar dos bandas diferentes de bajo peso molecular (>37 kDa); en el caso de *L. itzarum*, se pueden observar al menos cuatro bandas diferentes que se encuentra en un rango de 25-75 kDa. Por otro lado, se pueden observar dos bandas en cada especie analizada que podrían ser similares debido a su tamaño e intensidad.

Por otro lado, en el perfil teñido con azul de Coomassie se cargó una concentración de 10 µg por pozo de cada especie analizada. Destaca la especie *T. haemagogus* cuyos

ejemplares colectados en diferentes sitios se logran observar diferencias en cuanto al patrón de bandas. Esto obedece al hecho de la existencia de un proteoma dinámico que se ve influenciado por acciones externas, tal es el caso de factores ambientales, el tipo de alimentación, entre otros (Hempolchom et al., 2019).

De acuerdo con el perfil proteico obtenido, el patrón de bandas obtenido puede ser comparable con los resultados obtenidos por Kazimírová et al., (2002) y Takáč et al., (2006) donde analizaron géneros como *Chrysops*, *Atylotus*, *Haematopota* y *Tabanus*; sin embargo, el presente trabajo anexa como primer análisis molecular al género *Leucotabanus*.

Se analizaron las especies *T. haemagogus* y *L. itzarum* donde se pueden observar proteínas con expresión diferente. En el caso de *L. itzarum* se pueden observar bandas que en el patrón que presenta *T. haemagogus* están ausentes, lo que refuerza la idea que indicaba Kazimírová et al., (2001) y Kazimírová et al., (2002) sobre una expresión diferencial entre distintas especies.

Los distintos pesos moleculares indican la presencia de diferentes proteínas, por lo que se pueden hacer comparaciones e inferencias de las posibles proteínas existentes con base en dicho dato. El protocolo de Kazimirova et al., (2002) fue una metodología adecuada para poder trabajar con una cantidad menor de ejemplares; además de que previamente fue estandarizado por Aquino-Luna, (2020) acoplando metodología de Rajská et al., (2003) y Fujita et al., (2010) para una correcta extracción de proteínas.

5.6. Caracterización de la actividad biológica

5.6.1. Actividad proteolítica del EGS

Se determinó la actividad proteolítica del EGS de las especies *T. haemagogus* y *L. itzarum*, mediante un gel zimograma al 12 %, considerando un periodo de activación de cinco horas a una temperatura de 37°C y 4 °C.

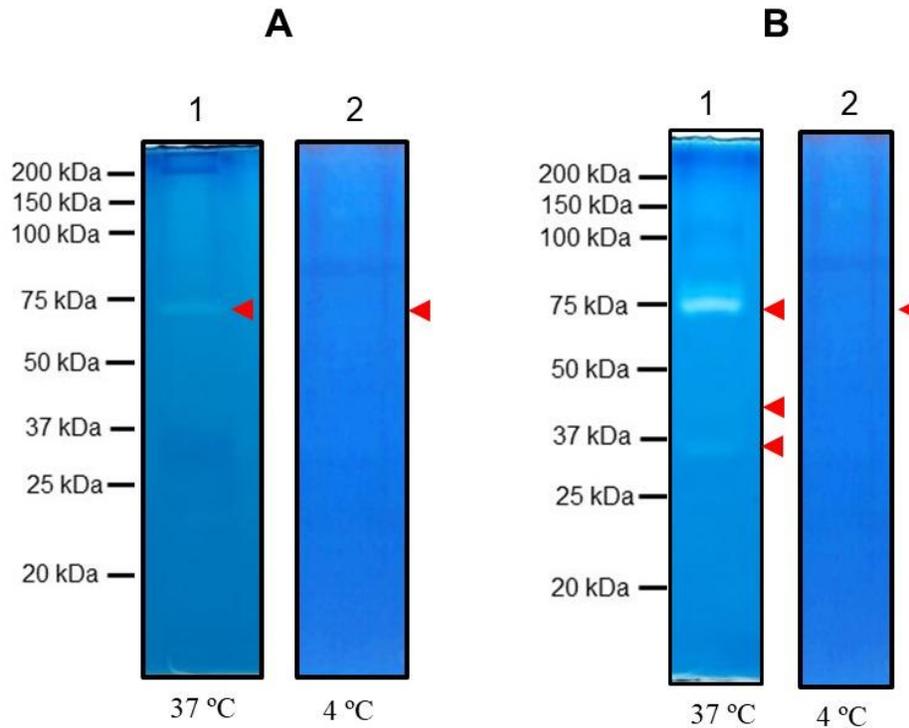


Figura 30. Actividad proteolítica del extracto de glándulas salivales (EGS) de tabánidos. Panel A) Actividad proteolítica del EGS de *T. haemagogus*. Carril 1, actividad a 37 °C. Carril 2, actividad a 4 °C. Panel B) Actividad proteolítica del EGS de *L. itzarum*. Carril 1, activación a 37°C. Carril 2, activación a 4 °C. Con las cabezas de flechas se señalan la actividad enzimática de proteasas.

De acuerdo con la figura 29, los EGS de *T. haemagogus* y *L. itzarum* presentaron actividad proteolítica evidenciados por la presencia de halos blancos que contrastan en el gel teñido con la solución de Coomassie. En el panel A (carril 1) se puede observar la actividad de una banda en la especie de *T. haemagogus*, cuyo peso molecular se encuentra alrededor de los 75 kDa, cuya actividad fue mayor a una temperatura de 37 °C con un tiempo de activación de cinco horas, contrastando con la temperatura de 4 °C cuya actividad fue nula (carril 2). Por otro lado, en el panel B se muestra la actividad proteolítica de *L. itzarum* evidenciada por la presencia de tres bandas traslucidas con peso molecular en un rango de 25-75 kDa, manteniéndolas mismas condiciones de temperatura y tiempo de incubación. Ambas especies presentaron una banda con un peso similar (<75 kDa), sin embargo, *L. itzarum* presentó un par de bandas con peso

molecular inferior a los 50 kDa; lo que refuerza la idea de una expresión diferencial del secretoma salival de estas dos especies.

De forma contrastante, en el panel B, donde se mantuvieron las mismas condiciones de temperatura y tiempo de incubación, se obtuvo actividad de tres proteasas presentes en el EGS de *L. itzarum*. A diferencia de *T. haemagogus*, la especie *L. itzarum* presentó un par de proteasas de peso molecular inferior a los 50 kDa; lo que refuerza la idea de la expresión diferente de las proteínas del EGS de estas dos especies.

Con respecto a los ensayos de inhibición realizados, E-64, EDTA y el coctel de inhibidores mostraron no tener ningún efecto. A diferencia de lo anterior, la actividad proteolítica del EGS de *T. haemagogus* y *L. itzarum* fueron inhibidos por TLCK a una concentración 200 μ M (Figura 30 A y 31 A). De acuerdo con el análisis densitométrico, la actividad proteolítica de *T. haemagogus* fue inhibida en un 90 % con un valor de confianza (p) de 0.029 (Figura 30 B); por otro lado, la actividad de *L. itzarum* se redujo hasta en un 98 % con un valor de confianza (p) del 0.01 (Figura 31).

Considerando el sustrato específico utilizado en los zimogramas, se indica la presencia de colagenasas, sin embargo, el tipo de inhibidor utilizado permitió poder clasificarlas como serín proteasas. La mayoría de las serín proteasas identificadas han sido principalmente a partir de organismos con hábitos hematófagos ya que tienen un rol esencial en la cascada de coagulación, especialmente en el sistema fibrinogenolítico y calicreína-cinina (Chmelař et al., 2017). Dentro de las funciones biológicas que presentan las serín proteasas se pueden encontrar como enzimas hidrolíticas, segregadores de la función plaquetaria, proteínas con actividad antitrombótica y vasodilatadora (Ribeiro & Arcà, 2009; Díaz Martín, 2014).

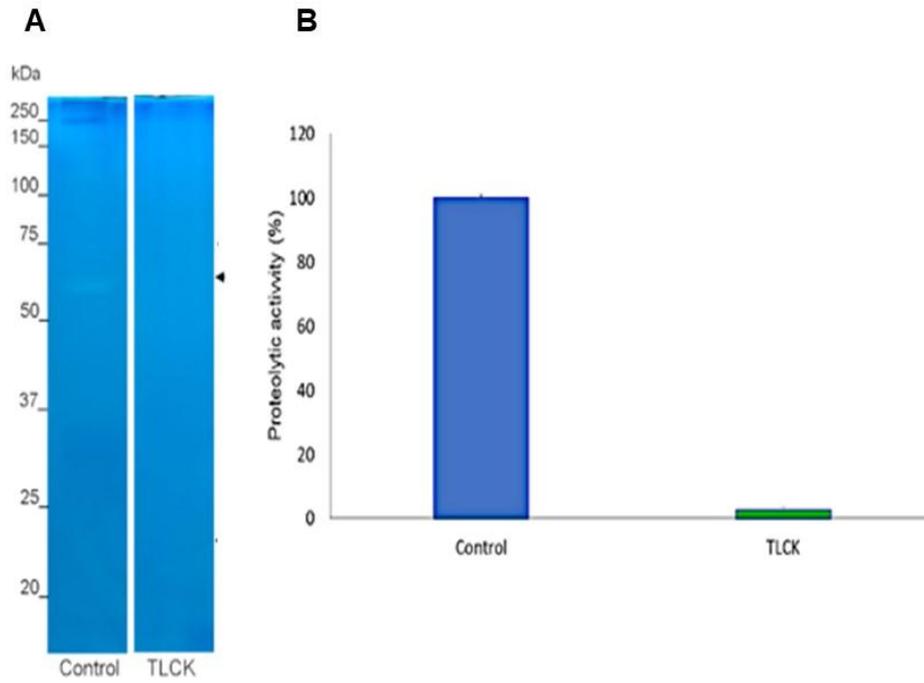


Figura 30. Inhibición de la actividad proteolítica del EGS de *T. haemagogus*. Panel A) Inhibición de la actividad proteolítica con TLCK. Panel B) Análisis densitométrico de la actividad proteolítica.

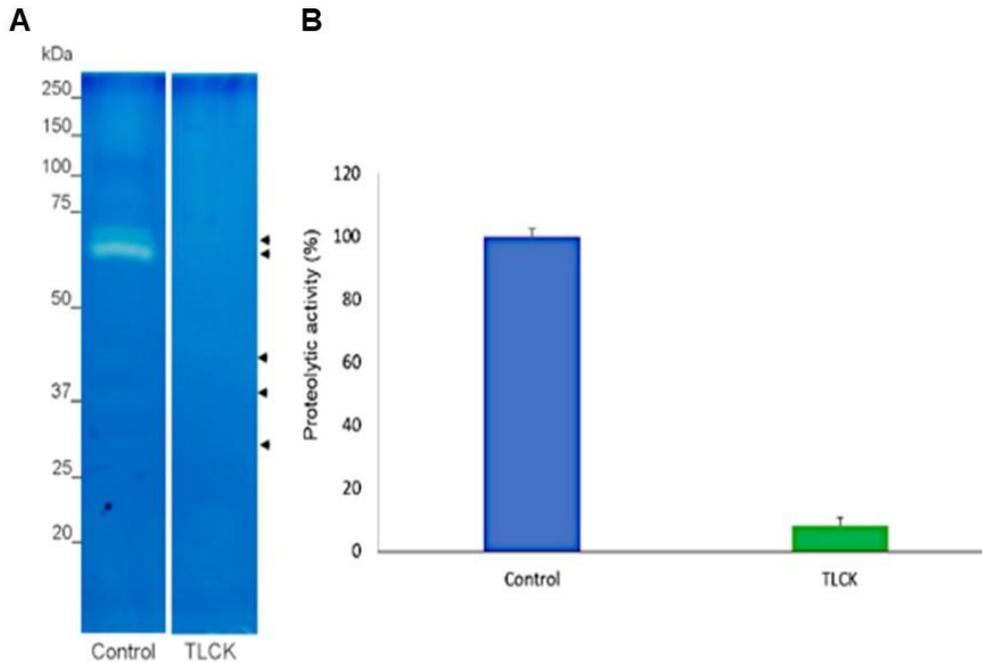


Figura 31. . Inhibición de la actividad proteolítica del EGS de *L. itzarum*. Panel A) Inhibición de la actividad proteolítica con TLCK. Panel B) Análisis densitométrico de la actividad proteolítica.

El hábito hematófago y la batería de proteínas asociadas indica un mecanismo evolucionado que permite aprovechar las proteínas del fluido sanguíneo para la obtención de energía, y en caso de insectos hematófagos, permite la maduración de las genitales y con ello la formación y puesta de huevos (Ribeiro & Francischetti, 2003; Ribeiro & Arcà, 2009; Krenn & Aspöck, 2012).

5.6.2. Actividad amilolítica del EGS

Se determinó el perfil amilolítico del EGS de las especies de *T. haemagogus* y *L. itzarum* mediante un gel zimograma al 12 % co-polimerizado con almidón, considerando un periodo de incubación de una hora a 37 °C (Figura 32).

De acuerdo con el perfil obtenido, *T. haemagogus* presenta cuatro bandas en un rango de 20-150 kDa que evidencia la actividad amilolítica (carril 1); de acuerdo con el análisis densitométrico, las bandas observadas de >150kDa, <50KDa, >20KDa, y 20 kDa, correspondían a ~10, ~5, ~75 y ~7 % de la actividad amilolítica observada (Figura

33 A). Por otro lado, *L. itzarum* solo presentó dos bandas con un peso molecular en un rango de >20 y <75 kDa (carril 2); cuyos porcentajes de actividad amilolítica determinados por el análisis densitométrico fueron ~80 y 20 %, respectivamente (Figura 33 B).

La alimentación de los tabánidos incluye también polen, néctar y extractos de plantas por lo que su repertorio de proteínas presente en el fluido salival debe ayudarles a poder digerir grandes polímeros como lo es el almidón, uno de los componentes principales de tejidos vegetales (Inostroza-Infante, 2013).

Leucotabanus itzarum, a diferencia de *T. haemagogus*, solo se observaron un par de bandas, que solo coinciden con la de menor peso molecular. Sin embargo, se ha descrito que *L. itzarum* tiene preferencia por el hábito hematófago, por lo que suele encontrarse en sitios cercanos asentamientos humanos o con mamíferos domésticos (Ibáñez-Bernal, 1989). Por otro lado, *T. haemagogus* se considera con preferencia en sitios de vegetación densa, condicionando su alimentación, mayormente de origen vegetal; sin embargo, también se ha observado el hábito hematófago (Ibáñez-Bernal, 2022).

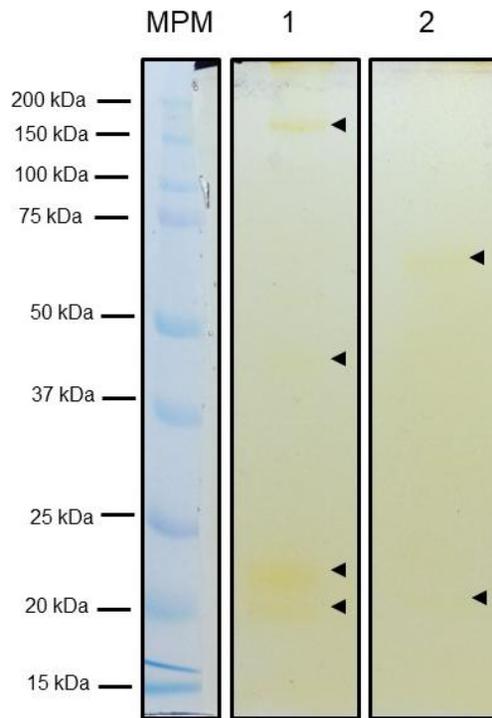


Figura 32. Perfil amilolítico del EGS de tabánidos. Carril 1, actividad de amilasas presentes en *T. haemagogus*. Carril 2, actividad de amilasas presentes en *L. itzarum*. Las cabezas de flecha indican las amilasas presentes en el EGS.

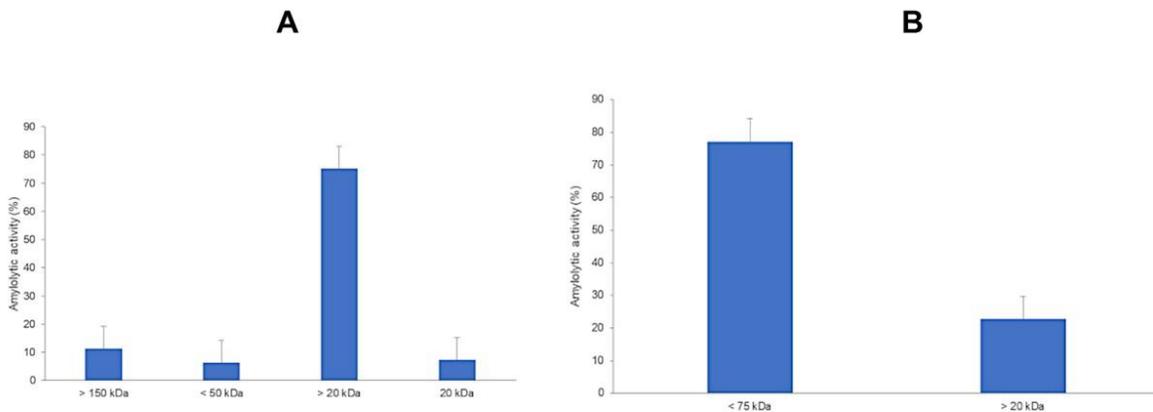


Figura 33. Análisis densitométrico de la actividad amilolítica del EGS de tabánidos. Panel A) Densitometría de la actividad amilolítica del EGS de *T. haemagogus*. Panel B) Densitometría de la actividad amilolítica de *L. itzarum*.

5.6.3. Caracterización de la actividad antimicrobiana del EGS.

De acuerdo con los resultados del ensayo de inhibición de crecimiento bacteriano evaluado en el EGS de *T. haemagogus*, se determinó la presencia de compuestos con actividad antimicrobiana (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentajes de inhibición (%) de crecimiento bacteriano usando CAA del EGS de tabánidos.

Tratamientos	% de inhibición		
	12 h	14 h	16 h
CAA Th 2 µg	20.49	21.0	24.7
CAA Th 4 µg	23.50	24.82	33.45
CAA Th 8 µg	32.95	32.04	41.69
Amp 2 µg	59.51	64.77	71.94
Amp 4 µg	54.48	60.69	69.44
Amp 8 µg	47.07	56.44	66.72

De acuerdo con los resultados, los porcentajes de inhibición del EGS indican un posible comportamiento de concentración-respuesta condicionado por el tiempo de exposición al compuesto antimicrobiano. El antibiótico de uso comercial muestra una mayor eficiencia en comparación con el EGS de *T. haemagogus*; sin embargo, se tiene que considerar que se evaluó un extracto proteico compuesto por proteínas con diversas funciones, independientemente de proteínas y péptidos antimicrobianos, por lo que aislar y evaluar los CAA permitiría determinar la mejor dosis a utilizar de compuesto activo (De Boer et al., 2015).

Al realizar una comparación de medias de Tukey entre los diferentes tratamientos evaluados, se obtuvo lo siguiente:

Cuadro 8. Efecto del CAA sobre las lecturas de las absorbancias del crecimiento *E. coli* BL21.

Tratamientos	Tiempo de exposición		
	12 h	14 h	16 h
Control de esterilidad (-)	0.086401d	0.08832c	0.08593c
Control de crecimiento (+)	0.206352a	0.2284a	0.27331a
Placebo (-)	0.202917a	0.22753a	0.27164a
CAA Th 2 µg	0.172625b	0.18681b	0.21096b
CAA Th 4 µg	0.167348b	0.18113b	0.19993b
CAA Th 8 µg	0.160084b	0.17419b	0.18977b
Amp 2 µg	0.088792cd	0.08749c	0.08369c
Amp 4 µg	0.094773cd	0.0932c	0.08958c
Amp 8 µg	0.114323d	0.11004c	0.10513c
EE	0.0065579	0.0079211	0.0105163

Leyenda: Valores categorizados con una letra distinta indican diferencias significativas entre los tratamientos; CAA Th, compuesto activo antimicrobiano de *T. haemagogus*; Amp, ampicilina; EE, error estándar.

De acuerdo con lo anterior, el análisis de inhibición del crecimiento bacteriano de los CAA del EGS de *T. haemagogus* sugiere que el tratamiento a una concentración de 2 µg es el mejor, en comparación con el resto de concentraciones utilizadas, dando una posible aproximación a la mínima concentración inhibitoria (MIC) que puede tener el extracto (De Boer et al., 2015).

Xu et al., (2008) y Wu et al., (2015) describieron la presencia de péptidos con actividad antimicrobiana, tal es el caso de defensina TY y Cecropina TY, ambos péptidos caracterizados a partir de la especie *Tabanus yao*. Esto se puede correlacionar con nuestros resultados, debido a que la especie analizada están emparentados taxonómicamente a nivel género, sin embargo, son especies de distintos continentes

que no tienen contacto alguno.

Según Ribeiro & Arcà, (2009), los insectos hematófagos poseen una gran cantidad de enzimas que actúan sobre muchos sustratos, especializadas en la inhibición de las respuestas hemostática, inflamatoria e inmunitaria; por lo que las proteasas encontradas, podrían estar relacionadas con dichos mecanismos de acción. Similar a los perfiles proteicos, los pesos moleculares son un indicio de la presencia de proteínas diferentes. De acuerdo con el ensayo de zimografía y la utilización de colágeno como sustrato, los resultados obtenidos permitirían sugerir que se trata de colagenasas, sin embargo, existen muchas proteínas que presentan esta función, especialmente las gelatinasas y algunas metaloproteasas (Angulo-Valadez et al., 2007); es por ello que la identificación a partir de espectrometría de masas, así como un análisis bioinformático y por consiguiente la actividad biológica, serían elementos importantes para una correcta identificación y caracterización funcional (Zhang et al., 2014).

VI. CONCLUSIONES

- Las abundancias de los tábidos en las zonas de muestreo están asociados a los meses donde se registra la precipitación y las temperaturas más altas, siendo los meses de julio, agosto y septiembre. Sin embargo, son organismos que se encuentran durante todo el año, pero en menor cantidad.
- Se identificaron nueve especies de tabánidos en los 5532 ejemplares. Las especies son: *Chrysops variegatus*, *Diachlorus ferrugatus*, *Leucotabanus itzarum*, *Tabanus colombensis*, *Tabanus commixtus*, *Tabanus haemagogus*, *Tabanus oculus*, *Tabanus vittiger* var. *guatemalanus* y *Tabanus yucatanus*.
- *Diachlorus ferrugatus* y *Tabanus haemagogus* fueron las especies más dominantes en la UMA Nohan y en la Selva Colpos Cam, respectivamente.
- *Tabanus haemagogus* se reporta por primera vez para Campeche, debido a que los antecedentes de colectas que se tienen solo indican su presencia en los estados de Tabasco, Yucatán y Quintana Roo.
- La diversidad de tabánidos en los sitios de muestreo representa el 31.03 % del total de las especies reportadas para la península de Yucatán.
- El contenido proteico del EGS *Tabanus haemagogus* y *Leucotabanus itzarum* tiene un patrón de expresión diferente.
- El género *Leucotabanus* es analizado por primera vez dentro de las especies de la familia Tabanidae.
- Se determino la actividad enzimática del tipo proteolítica y amilolítica en el EGS de las especies *Tabanus haemagogus* y *Leucotabanus itzarum*.
- El EGS de *Tabanus haemagogus* presenta compuestos con actividad antimicrobiana, con un efecto concentración dependiente contra el tiempo de exposición al antimicrobiano.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más colectas para enriquecer los datos sobre la diversidad de tabánidos en la Península de Yucatán, así mismo, poder asociar y describir los reservorios y nichos ecológicos.

Correspondiente al extracto de glándulas salivales, se recomienda realizar las identificaciones de las proteínas con la finalidad de poder determinar la composición química de dicho extracto. Así mismo, la realización de otros tipos de ensayos funcionales (coagulación, vasodilatación, inmunológico, entre otros) permitiría determinar su potencial bioprospección.

VIII. LITERATURA CITADA

- Alves-Silva, J., Ribeiro, J. M., Abbeele, J. V. D., Attardo, G., Hao, Z., Haines, L. R., Soares, M. B., Berriman, M., Aksoy, S., & Lehane, M. J. (2010). An insight into the sialome of *Glossina morsitans*. *BMC Genomics*, *11*(1), 213. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-213>
- Amino, R., Martins, R. M., Procopio, J., Hirata, I. Y., Juliano, M. A., & Schenkman, S. (2002). Trialsin, a novel pore-forming protein from saliva of hematophagous insects activated by limited proteolysis*. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(8), 6207–6213. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109874200>
- Amino, R., Tanaka, A. S., & Schenkman, S. (2001). Triapsin, an unusual activatable serine protease from the saliva of the hematophagous vector of Chagas' disease *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *31*(4), 465–472. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(00\)00151-X](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(00)00151-X)
- Andrades, A., & Contreras, L. M. (2017). Amylase Zymography. En J. Wilkesman & L. Kurz (Eds.), *Zymography* (Vol. 1626, pp. 301–308). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7111-4_29
- Andreeva, R. V. (1988). The morphological adaptations of horse fly larvae (Diptera: Tabanidae) to developmental sites in the Palearctic Region and their relationship to the evolution and distribution of the family. *Canadian Journal of Zoology*. <https://doi.org/10.1139/z89-322>
- Andreeva, R. V. (1989). The morphological adaptations of horse fly larvae (Diptera: Tabanidae) to developmental sites in the Palearctic Region and their relationship to the evolution and distribution of the family. *Canadian Journal of Zoology*, *67*(9), 2286–2293. <https://doi.org/10.1139/z89-322>
- Angulo-Valadez, C. E., Cepeda-Palacios, R., Ascencio, F., Jacquiet, P., Dorchies, P., Romero, M. J., & Khelifa, R. M. (2007). Proteolytic activity in salivary gland products of sheep bot fly (*Oestrus ovis*) larvae. *Veterinary Parasitology*, *149*(1), 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.040>
- Aquino-Luna, V. A. (2020). Análisis Proteolítico del Extracto de Glándulas Salivales (EGS) de Tabánidos. [Tesis de Licenciatura]. Instituto Tecnológico de Chetumal.
- Arcà, B., Lombardo, F., Francischetti, I. M. B., Pham, V. M., Mestres-Simon, M., Andersen, J. F., & Ribeiro, J. M. C. (2007). An insight into the sialome of the adult female mosquito *Aedes albopictus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *37*(2), 107–127. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.10.007>
- Assumpção, T. C. F., Francischetti, I. M. B., Andersen, J. F., Schwarz, A., Santana, J. M., & Ribeiro, J. M. C. (2008). An insight into the sialome of the blood-sucking bug *Triatoma infestans*, a vector of Chagas' disease. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *38*(2), 213–232. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2007.11.001>

- Baldacchino, F., Desquesnes, M., Mihok, S., Foil, L. D., Duvallet, G., & Jittapalapong, S. (2014). Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 28, 596–615. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.029>
- Bender, D. A., Botham, K. M., Weil, P. A., Kennelly, P. J., Murray, R. K., & Rodwell, V. W. (2013). Harper. *Bioquímica ilustrada*, (29a ed.). McGraw-Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1441§ionid=100481537>
- Bequaert, J. (1931). Tabanidae of the peninsula of Yucatan, Mexico, with descriptions of new species. *Journal of the New York Entomological Society*, 39(4), 533–553.
- Bonhag, P. F. (1951). The skeleto-muscular mechanism of the head and abdomen of the adult horsefly (Diptera: Tabanidae). *Transactions of the American Entomological Society (1890-)*, 77(2), 131–202. <https://www.jstor.org/stable/25077628>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Burger, J. F., & Thompson, F. C. (1981). The *Tabanus striatus* complex (Diptera: Tabanidae): A revision of some oriental horse fly vectors of surra. <http://repository.si.edu/xmlui/handle/10088/17477>
- Bussacos, A. C. M., Nakayasu, E. S., Hecht, M. M., Assumpção, T. C. F., Parente, J. A., Soares, C. M. A., Santana, J. M., Almeida, I. C., & Teixeira, A. R. L. (2011). Redundancy of proteins in the salivary glands of *Panstrongylus megistus* secures prolonged procurement for blood meals. *Journal of Proteomics*, 74(9), 1693–1700. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.04.028>
- Carmo, D. D. D., & Henriques, A. L. (2019). Taxonomy of *Tabanus trivittatus* species-group (Diptera: Tabanidae), with description of five new species. *Zootaxa*, 4554(1), Art. 1. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4554.1.2>
- Castillo Cázares, A. V., Moguel Ordóñez, Y. B., Cortés Cruz, M. A., Espinosa Huerta, E., Arechavaleta Velasco, M. E., Mora Avilés, M. A., Castillo Cázares, A. V., Moguel Ordóñez, Y. B., Cortés Cruz, M. A., Espinosa Huerta, E., Arechavaleta Velasco, M. E., & Mora Avilés, M. A. (2016). Composición botánica de mieles de la península de Yucatán, mediante qPCR y análisis de curvas de disociación. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 7(4), 489–505. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-11242016000400489&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Cetzal-Ix, W., Noguera-Savelli, E., & Martínez-Puc, J. F. (2019). Flora melífera de la península de Yucatán, México: Estrategia para incrementar la producción de miel en los periodos de escasez de alimento de *Apis mellifera* L. *Desde el Herbario*

- CICY, 11, 172–179. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Changbunjong, T., Prakaikowit, N., Maneephan, P., Kaewwiset, T., Weluwanarak, T., Chaiphongpachara, T., & Dujardin, J.-P. (2021). Landmark data to distinguish and identify morphologically close *Tabanus* spp. (Diptera: Tabanidae). 12, 974.
- Chmelař, J., Kotál, J., Langhansová, H., & Kotsyfakis, M. (2017). Protease inhibitors in tick saliva: the role of serpins and cystatins in tick-host-pathogen interaction. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00216>
- De Boer, M., Heuer, C., Hussein, H., & McDougall, S. (2015). Minimum inhibitory concentrations of selected antimicrobials against *Escherichia coli* and *Trueperella pyogenes* of bovine uterine origin. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4427–4438. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8890>
- Díaz Martín, V. (2014). Análisis de la saliva de *Ornithodoros moubata* y producción de antígenos recombinantes para el desarrollo de test serológicos y vacunas antigarrapata. <https://digital.csic.es/handle/10261/101385>
- Díaz-Gamboa, L., Herrera, D., Gallardo, A., Cedeño-Vázquez, J., V. H., G.-S., Chiappa-Carrara, X., & Arenas, C. (2020). Catálogo de reptiles de la península de Yucatán.
- Fairchild, G. B. (1983). Notes on neotropical Tabanidae (Diptera) XIX. The *Tabanus lineola* complex. *Entomological Society of America*, 57.
- Fairchild, G. B., Weems, H. V., Fasulo, T. R., & Fasulo, T. R. Jr. (2011). Yellow Fly, *Diachlorus ferrugatus* (Fabricius) (Insecta: Diptera: Tabanidae)1. *Askifas*, 139. <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/IN595>
- Ferreira, R. L., Henriques, A. L., & Rafael, J. A. (2002). Activity of tabanids (insecta: diptera: tabanidae) attacking the reptiles *Caiman crocodilus* (linn.) (Alligatoridae) and *Eunectes murinus* (linn.) (Boidae), in the Central Amazon, Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, 133–136. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000100024>
- Flota-Bañuelos, C. (2016). Uso y aprovechamiento de fauna silvestre en zonas rurales de Campeche, México. *Agro Productividad*, 9(9), Art. 9. <https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/808>
- Foil, L. D. (1989). Tabanids as vectors of disease agents. *Parasitology Today*, 5(3), 88–96. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(89\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0169-4758(89)90009-4)
- Francischetti, I. M. B., Calvo, E., Andersen, J. F., Pham, V. M., Favreau, A. J., Barbian, K. D., Romero, A., Valenzuela, J. G., & Ribeiro, J. M. C. (2010). Insight into the sialome of the bed bug, *Cimex lectularius*. *Journal of Proteome Research*, 9(8), 3820–3831. <https://doi.org/10.1021/pr1000169>
- Fujita, T., Kozuka-Hata, H., Uno, Y., Nishikori, K., Morioka, M., Oyama, M., & Kubo, T.

- (2010). Functional analysis of the honeybee (*Apis mellifera* L.) salivary system using proteomics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 397(4), 740–744. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.023>
- Gallardo, A., Chiappa-Carrara, X., & Badillo, M. (2018). Aves comunes de la costa norte de Yucatán. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11069.10729>
- Garza-González, D. A., & Canto, A. (2020). Abejas nativas y abejas africanizadas: ¿amigas o enemigas? *Desde el Herbario CICY*, 12, 58–63. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- González, C. (2004). The immature stages of *Dasybasis* (*Dasybasis*) *pruinivitta* (Kröber), from Central Chile (Diptera: Tabanidae). *Zootaxa*, 573, 1–7. <https://doi.org/10.5281/zenodo.157921>
- Google Earth. (2022). <https://earth.google.com>
- Granados, D., Tarango, L., Olmos, G., Palacio, J., Clemente, F., & Mendoza, G. (2014). Dieta y disponibilidad de forraje del venado cola blanca *Odocoileus virginianus thomasi* (Artiodactyla: Cervidae) en un campo experimental de Campeche, México. *Revista de Biología Tropical*, 62(2), 699–710. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-77442014000100024&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Hemmer, W., Focke, M., Vieluf, D., Berg-Drewniok, B., Götz, M., & Jarisch, R. (1998, enero). Anaphylaxis induced by horsefly bites: Identification of a 69 kd IgE-binding salivary gland protein from *Chrysops* spp. (Diptera Tabanidae) by Western blot analysis. *101*(1). [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70208-8](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70208-8)
- Hempolchom, C., Reamtong, O., Sookrung, N., Srisuka, W., Sakolvaree, Y., Chaicumpa, W., Taai, K., Dedkhad, W., Jariyapan, N., Takaoka, H., & Saeung, A. (2019). Proteomes of the female salivary glands of *Simulium nigrogilvum* and *Simulium nodosum*, the main human-biting black flies in Thailand. *Acta Tropical*, 194, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.03.026>
- Hill, C. A., & MacDonald, J. F. (2019). Horse and deer flies: biology and public health risk. *E-246-W*, 4.
- Hribar, L. J., Hribar, M. N., & DeMay, D. J. (2003). Seasonal abundance of *Diachlorus ferrugatus* (Diptera: Tabanidae) in Monroe County, Florida. *Florida Scientist*, 66(1), 52–54.
- Ibáñez-Bernal, Sergio. (2017). Actualización del catálogo de autoridades taxonómicas de los dípteros (Diptera: Insecta) de México. CONABIO. <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfJE006.pdf>
- Ibáñez-Bernal, S. (1989). Fauna de tabánidos de la reserva de la biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México (Diptera: Tabanidae) [Tesis Profesional, Universidad Autónoma de México].

<https://repositorio.unam.mx/contenidos/122012>

- Ibáñez-Bernal, S. (1991). Una nueva especie de *Stenotabanus* (Aegialomyia) Philip, del Caribe Mexicano (Diptera: Tabanidae). *Folia Entomologica Mexicana*, 133–141.
- Ibáñez-Bernal, S. (1992). Tabanidae (Diptera) de Quintana Roo, México. En D. Navarro & E. Suárez-Morales (Eds.), *Diversidad Biológica en la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an Quintana Roo, México* (Vol. 2, pp. 241–284). CIQRO/SEDESOL. https://www.researchgate.net/publication/289537188_Tabanidae_Diptera_de_Quintana_Roo_Mexico
- Ibáñez-Bernal, S. (1992). *Tabanidae (Diptera) de Quintana Roo, México* (pp. 241–284).
- Ibáñez-Bernal, S. (2022, junio). *Tabanus haemagogus* (Williston, 1901) [Directo].
- Inostroza-Infante, T. A. (2013). Caracterización palinológica de la alimentación de hembras adultas de *Scaptia lata* (Diptera: Tabanidae) en ambientes con una gran diversidad florística, en la comuna de Valdivia [Universidad Austral de Chile]. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2013/fai.58c/doc/fai.58c.pdf>
- Iv, R. F. M., Mizell, R. F., & Mizell, R. A. (2002). Trolling: A novel trapping method for *Chrysops* spp. (Diptera:Tabanidae). *Florida Entomologist*, 85(2), 356–366. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2002\)085\[0356:TANTMF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2002)085[0356:TANTMF]2.0.CO;2)
- Karolyi, F., Colville, J. F., Handschuh, S., Metscher, B. D., & Krenn, H. W. (2014, septiembre). One proboscis, two tasks: Adaptations to blood-feeding and nectar-extracting in long-proboscid horse flies (Tabanidae, Philoliche). 43(5), 403–413.
- Kazimírová, M., Šulanová, M., Kozánek, M., Takáč, P., Labuda, M., & Nuttall, P. A. (2001). Identification of anticoagulant activities in salivary gland extracts of four horsefly species (Diptera, Tabanidae). *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 31(3–6), 294–305. <https://doi.org/10.1159/000048076>
- Kazimírová, M., Šulanová, M., Trimnell, A. R., Kozánek, M., Vidlička, L., Labuda, M., & Nuttall, P. A. (2002). Anticoagulant activities in salivary glands of tabanid flies. *Medical and Veterinary Entomology*, 16(3), 301–309. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2002.00379.x>
- Kazimirova, M., Sulanová, M., Trimnell, A., Kozanek, M., Vidlicka, L., Labuda, M., & Nuttall, P. (2002). Anticoagulant activities in salivary glands of tabanid flies. *Medical and veterinary entomology*, 16, 301–309. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2002.00379.x>
- Khan, N. H. (1951). A study od the bionomics and control of certain tabanidae (Diptera) [Doctoral Thesis, University of Massachusetts Amherst]. https://scholarworks.umass.edu/dissertations_1/5583
- Kobayashi, D., Watanabe, M., Faizah, A. N., Amoa-Bosompem, M., Higa, Y., Tsuda, Y., Sawabe, K., & Isawa, H. (2021). Discovery of a novel flavivirus (flaviviridae) from the horse fly, *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae): The possible

- coevolutionary relationships between the classical insect-specific flaviviruses and host dipteran insects. *Journal of Medical Entomology*, 58(2), 880–890. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa193>
- Krenn, H. W., & Aspöck, H. (2012). Form, function and evolution of the mouthparts of blood-feeding Arthropoda. *Arthropod Structure & Development*, 41(2), 101–118. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2011.12.001>
- Kumar, R. (1970). Occurrence of Proteases in the salivary glands of cocoa-capsids (Heteroptera: Miridae). *Journal of the New York Entomological Society*, 78(4), 198–200.
- Lane, R. S. (1975). Immatures of Some tabanidae (diptera) from mendocino county, calif. *Annals of the Entomological Society of America*, 68(5), 803–819. <https://doi.org/10.1093/aesa/68.5.803>
- Laurema, S., Varis, A.-L., & Miettinen, H. (1985). Studies on enzymes in the salivary glands of *Lygus rugulipennis* (Hemiptera, miridae). *Insect Biochemistry*, 15(2), 211–224. [https://doi.org/10.1016/0020-1790\(85\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0020-1790(85)90010-1)
- Lawson, F. A. (1983). SEM Studies of insect mouth Parts 1. The stylets of deer flies (Diptera: Tabanidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 56(2), 253–260. <https://www.jstor.org/stable/25084404>
- Ma, D., Wang, Y., Yang, H., Wu, J., An, S., Gao, L., Xu, X., & Lai, R. (2009). Anti-thrombosis Repertoire of blood-feeding horsefly salivary glands *. *Molecular & Cellular Proteomics*, 8(9), 2071–2079. <https://doi.org/10.1074/mcp.M900186-MCP200>
- Maat-Bleeker, F., & Bronswijk, van, J. E. M. H. (1995). Allergic reaction caused by bites from blood-sucking insects of the Tabanidae family, species *Haematopota pluvialis* (L.). *Allergy*, 50(suppl 26), 388–388. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1995.tb04278.x>
- Manrique-Saide, P. C., Briceño-UC, Á. R., Ibáñez-Bernal, S., & Sandoval-Ruiz, C. A. (2012). Tábanos (Diptera: Tabanidae) de la selva mediana del sur de Yucatán, México. *Acta Zoológica mexicana*, 28(3), 497–506. <https://doi.org/10.21829/azm.2012.283854>
- Manrique-Saide, P., Delfin-Gonzalez, H., & Ibanez-Bernal, S. (2001). Horseflies (Diptera: Tabanidae) from protected areas of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Florida Entomologist*, 352–352. <https://journals.flvc.org/flaent/article/view/59658>
- Manrique-Saide, P., Delfín-González, H., & Ibáñez-Bernal, S. (2001). Horseflies (Diptera: Tabanidae) from protectec areas of The Yucatan Peninsula, Mexico. *Florida Entomologist*, 84(3), 352–362.
- Martin-Park, A., Delfín, H., Sosenski, P., Reyes-Novelo, E., Meléndez-Ramirez, V., Navarrete-Carballo, J., Ibañez-Bernal, S., Dzul-Manzanilla, F., González-Moreno,

- A., & Manrique-Saide, P. (2018). Diversity of Tabanidae, Asilidae and Syrphidae (Diptera) in natural protected areas of Yucatan, Mexico. *Journal of Insect Conservation*, 22. <https://doi.org/10.1007/s10841-017-0040-x>
- Martin-Park, A., Meléndez-Ramírez, V., Delfín, H., Medina-Barreiro, A., & Manrique-Saide, P. (2018). Diversidad de Tábanos (Insecta: Diptera). En C. I. Sélem-Salas & H. Delfín-González (Eds.), *Diversidad faunística de la Reserva Estatal El Palmar, Yucatán, México* (p. 51). https://www.researchgate.net/publication/328939740_Diversidad_de_Tabanos_Insecta_Diptera
- McElligot, P. E. K. (1992). Aspects of the biology of horse flies and deer flies (Diptera: Tabanidae) in Subartic: Larval distribution and development, biology of host-seeking females, and effect of climatic factors on daily activity [Thesis PhD, McGill University Ste-Anne-de-Bellevue]. <https://escholarship.mcgill.ca/concern/theses/tm70mw963>
- Mejenes-López, S. M. A., & Vallarino-Moncada, A. (2016). Diversidad de murciélagos en dos ecosistemas del noroeste de Campeche, México. *Agro Productividad*, 9(9), Art. 9. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/812>
- Moreno, C. E. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad* (Vol. 1). Manuales y Tesis SEA.
- Mullens, B. (2002). Horse Flies and Deer Flies (Tabanidae). En *Medical and Veterinary Entomology* (pp. 263–277). <https://doi.org/10.1016/B978-012510451-7/50015-3>
- Mullens, B. A. (2019). Chapter 16—Horse Flies and Deer Flies (Tabanidae). En G. R. Mullen & L. A. Durden (Eds.), *Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)* (pp. 327–343). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00016-9>
- Navarrete-Carballo, J., Chan-Espinoza, D., Huerta, H., Trujillo-Peña, E., López-Platas, J., Vivas-Pérez, D., Damasco-Córdova, K., Medina-Barreiro, A., Delfín-González, H., Manrique-Saide, P., & Martin-Park, A. (2021). Diversity of Culicidae and Tabanidae (Diptera) and new record of *Uranotaenia sapphirina* from the archaeological site of X'cambó, Yucatan, Mexico. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00329-y>
- Noguera-Savelli, E., Pacheco-Pinzano, J., & Cetzal-Ix, W. (2021). Epífitas del fragmento de manglar de la UMA Nohan, Carmen, Campeche, México. *Desde el Herbario CICY*, 13, 136–142. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Oschman, J. L., & Berridge, M. J. (1970). Structural and functional aspects of salivary fluid section in *Calliphora*. *Tissue and Cell*, 2(2), 281–310. [https://doi.org/10.1016/S0040-8166\(70\)80021-0](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(70)80021-0)
- Prisca, O. M. A., Franck, M., Roland, Z. K. C., Armel, K. A., Lendzele, S. S., Pamela, M.

- A., Lydie, A.-Y. G., Lebel, T. J., Gustave, S., Bertrand, M., & François, M. J. (2021). Ecological aspects of Tabanids (Diptera: Tabanidae) in a Gabonese cattle ranch. En *The Wonders of Diptera—Characteristics, Diversity, and Significance for the World's Ecosystems*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.95062>
- Quercia, O., Emiliani, F., Foschi, F. G., & Stefanini, G. F. (2005). Anaphylactic reaction after *Hippobosca equina* bite. *Alergol. Immunol. Clín. (Ed. Impr.)*, 20(1), 31–33.
- Quercia, O., Emiliani, F., Foschi, F. G., & Stefanini, G. F. (2008). The wasp-horsefly syndrome. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 40(2), 61–63.
- Rajská, P., Pecháňová, O., Takác, P., Kazimírová, M., Roller, L., Vidlicka, L., Ciampor, F., Labuda, M., & Nuttall, P. A. (2003a). Vasodilatory activity in horsefly and deerfly salivary glands. *Medical and Veterinary Entomology*, 17(4), 395–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2003.00457.x>
- Rajská, P., Pecháňová, O., Takác, P., Kazimírová, M., Roller, L., Vidlicka, L., Ciampor, F., Labuda, M., & Nuttall, P. A. (2003b). Vasodilatory activity in horsefly and deerfly salivary glands. *Medical and Veterinary Entomology*, 17(4), 395–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2003.00457.x>
- Reyes-Gomez, H. G. (2009). *Criterios para la Selección del Sitio de Manglar Sabancuy-Chen Kan, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Sitios de Manglar con Relevancia Biológica y con Necesidades de Rehabilitación Ecológica*. CONABIO. www.conabio.gob.mx%2Fconocimiento%2Fmanglares%2Fdoctos%2Fcriterios%2FPY75_Sabancuy_Chén_Kan_criterios.pdf&clen=105711&chunk=true
- Reyes-Gomez, H. G., & Vásquez-Lule, A. D. (2009). Caracterización del Sitios de Manglar Sabancuy-Chen Kan, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). www.conabio.gob.mx%2Fconocimiento%2Fmanglares%2Fdoctos%2Fcaracterizacion%2FPY75_Sabancuy_Chén_Kan_caracterizacion.pdf&clen=2074392&chunk=true
- Ribeiro, J. M. C. (1995). Insect Saliva: Function, Biochemistry, and Physiology. En R. F. Chapman & G. de Boer (Eds.), *Regulatory Mechanisms in Insect Feeding* (pp. 74–97). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1775-7_3
- Ribeiro, J. M. C., & Arcà, B. (2009). Chapter 2. From sialomes to the sialoverse: an insight into salivary potion of blood-feeding insects. En *Advances in Insect Physiology* (Vol. 37, pp. 59–118). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(09\)37002-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(09)37002-2)
- Ribeiro, J. M. C., & Francischetti, I. M. B. (2003). Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. *Annual Review of Entomology*, 48(1), 73–88. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.060402.102812>

- Rodrigues-Ronald, R., Storti-Rodrigues, H. R., & Rodrigues-Guimarães Junior, R. (2017). Tabanids in South America. En V. Shields D. C. (Ed.), *Insect Physiology and Ecology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/67108>
- Sanal-Demirci, S. N., Kilic, V., Mutun, S., & Kilic, A. Y. (2021). Population genetics and phylogeography of *Tabanus bromius* (Diptera: Tabanidae). *Parasites & Vectors*, 14(1), 453. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04970-5>
- Santiago, P. B., Assumpção, T. C. F., Araújo, C. N. de, Bastos, I. M. D., Neves, D., Silva, I. G. da, Charneau, S., Queiroz, R. M. L., Raiol, T., Oliveira, J. V. de A., Sousa, M. V. de, Calvo, E., Ribeiro, J. M. C., & Santana, J. M. (2016). A Deep insight into the sialome of *Rhodnius neglectus*, a vector of chagas disease. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(4), e0004581. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004581>
- Service, M. (2008). Horse-flies (Tabanidae). En *Medical Entomology for Students* (4th edición, pp. 111–120). <https://doi.org/10.1017/CBO9780511811012.011>
- Sonco-Suri, R. (2013). Estudio de la diversidad alfa (α) y beta (β) en tres localidades del bosque montano en la región de Madidi, La Paz—Bolivia [Tesis Profesional, Universidad de San Andrés]. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/4225>
- Squitier, J. M. (2021). Deer Flies, Yellow Flies and Horse Flies, *Chrysops*, *Diachlorus*, and *Tabanus* spp. (Insecta: Diptera: Tabanidae). *askIFAS*, #ENNY-028. <https://doi.org/doi.org/10.32473/edis-in155-2003>
- Stoffolano, J. G., Jr, & Yin, L. R. S. (1983). Comparative Study of the mouthparts and associated sensilla of adult male and female *Tabanus nigrovittatus* (Diptera: Tabanidae). *Journal of Medical Entomology*, 20(1), 11–32. <https://doi.org/10.1093/jmedent/20.1.11>
- Sullivan, D. (2021). 15. Cattle loss. En *The LS Brand: The Story of a Texas Panhandle Ranch* (pp. 135–142). University of Texas Press. <https://doi.org/10.7560/783836-017>
- Sultanbawa, Y., Cusack, A., Currie, M., & Davis, C. (2009). An innovative microplate assay to facilitate the detection of antimicrobial activity in plant extracts. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 17(4), Art. 4.
- Taioe, M. O., Motloang, M. Y., Namangala, B., Chota, A., Molefe, N. I., Musinguzi, S. P., Sukanuma, K., Hayes, P., Tsilo, T. J., Chainey, J., Inoue, N., & Thekiso, O. M. M. (2017). Characterization of tabanid flies (Diptera: Tabanidae) in South Africa and Zambia and detection of protozoan parasites they are harbouring. *Parasitology*, 144(9), 1162–1178. <https://doi.org/10.1017/S0031182017000440>
- Takáč, P., Nunn, M. A., Mészáros, J., Pecháňová, O., Vrbjar, N., Vlasáková, P., Kozánek, M., Kazimírová, M., Hart, G., Nuttall, P. A., & Labuda, M. (2006). Vasotab, a vasoactive peptide from horse fly *Hybomitra bimaculata* (Diptera, Tabanidae) salivary glands. *Journal of Experimental Biology*, 209(2), 343–352.

<https://doi.org/10.1242/jeb.02003>

- Teskey, H. J. (1969). Larvae and Pupae of Some Eastern North American Tabanidae (Diptera). *The Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 101(S63), 5–147. <https://doi.org/10.4039/entm10163fv>
- Universidad de Antioquia. (2009). Medios, Reactivos y Control de Calidad. *Medicina y Laboratorio*, 15(11), 549–587.
- Valenzuela, J. G., Belkaid, Y., Rowton, E., & Ribeiro, J. M. (2001). The salivary apyrase of the blood-sucking sand fly *Phlebotomus papatasi* belongs to the novel Cimex family of apyrases. *Journal of Experimental Biology*, 204(2), 229–237. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.2.229>
- Vasquez-May, L. A. (2018). Diversidad y Composición Avifaunística en Áreas de Regeneración de Campeche, Champotón y Palizada [Tesis de Licenciatura]. Instituto Tecnológico de Tizimin.
- Veraldi, S., & Esposito, L. (2017). Skin lesions caused by *Tabanus bovinus* bites. *Journal of Travel Medicine*, 24(5), tax049. <https://doi.org/10.1093/jtm/tax049>
- Veroy, K., Orozco, J., & Henriques, A. L. (2022, enero). First Records of Two Genera and Thirteen Species of Tabanidae (Diptera) from Honduras. *ZooKeys*, 1084, 27–42.
- Walker, G. P. (2009). Chapter 228—Salivary Glands. En V. H. Resh & R. T. Cardé (Eds.), *Encyclopedia of Insects (Second Edition)* (pp. 897–901). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00237-X>
- Wei, L., Huang, C., Yang, H., Li, M., Yang, J., Qiao, X., Mu, L., Xiong, F., Wu, J., & Xu, W. (2015). A potent anti-inflammatory peptide from the salivary glands of horsefly. *Parasites & Vectors*, 8(1), 556. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1149-y>
- Whyte, A. F., Popescu, F.-D., & Carlson, J. (2020a). Tabanidae insect (horsefly and deerfly) allergy in humans: A review of the literature. *Clinical & Experimental Allergy*, 50(8), 886–893. <https://doi.org/10.1111/cea.13677>
- Whyte, A. F., Popescu, F.-D., & Carlson, J. (2020b). Tabanidae insect (horsefly and deerfly) allergy in humans: A review of the literature. *Clinical & Experimental Allergy*, 50(8), 886–893. <https://doi.org/10.1111/cea.13677>
- Wu, J., Mu, L., Zhuang, L., Han, Y., Liu, T., Li, J., Yang, Y., Yang, H., & Wei, L. (2015). A cecropin-like antimicrobial peptide with anti-inflammatory activity from the black fly salivary glands. *Parasites & Vectors*, 8(1), 561. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1176-8>
- Xu, X., Yang, H., Ma, D., Wu, J., Wang, Y., Song, Y., Wang, X., Lu, Y., Yang, J., & Lai, R. (2008). Toward an understanding of the molecular mechanism for successful blood feeding by coupling proteomics analysis with pharmacological testing of

- horsefly salivary glands*. *Molecular & Cellular Proteomics*, 7(3), 582–590. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700497-MCP200>
- Yan, X., Feng, H., Yu, H., Yang, X., Liu, J., & Lai, R. (2008). An immunoregulatory peptide from salivary glands of the horsefly, *Hybomitra atriperoides*. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(10), 1242–1247. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.04.003>
- Yeo, D., Srivathsan, A., Puniamoorthy, J., Maosheng, F., Grootaert, P., Chan, L., Guénard, B., Damken, C., Wahab, R. A., Yuchen, A., & Meier, R. (2021). Mangroves are an overlooked hotspot of insect diversity despite low plant diversity. *BMC Biology*, 19(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01088-z>
- Zapata, A., & Ramirez-Arcos, S. (2015). A comparative study of Mcfarland turbidity standards and the densimat photometer to determine bacterial cell density. *Current microbiology*, 70. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0801-2>
- Zhang, Z., Gao, L., Shen, C., Rong, M., Yan, X., & Lai, R. (2014). A potent anti-thrombosis peptide (vasotab TY) from horsefly salivary glands. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 54, 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.07.004>
- Zhao, R., Yu, X., Yu, H., Han, W., Zhai, L., Han, J., & Liu, J. (2009). Immunoregulatory peptides from salivary glands of the horsefly, *Tabanus pleskei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 154(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2009.03.009>

ANEXOS

Preparación de reactivos y soluciones

Soluciones de extracción de proteínas

PBS pH 7.2 (Solución Salina de Fosfatos, 1 L)

NaCl	8.00 g
KCl	0.20 g
Na ₂ HPO ₄	1.44 g
KH ₂ PO ₄	0.24 g
H ₂ O	800 mL

- Ajustar pH a 7.2 con HCl o NaOH
- Aforar con H₂O hasta 1L

Solución de TCA (10 mL)

TCA	2.00 g
DTT	0.02 g

- Disolver en 8 mL de acetona fría (-20 °C)
- Aforar con acetona fría hasta 10 mL

Solución de lavado (10 mL)

DTT	0.02 g
-----	--------

- Disolver en 8 mL de acetona fría
- Aforar hasta 10 mL con acetona fría

Solución de resuspensión (10 mL)

SDS	0.1 g
Tris-base	0.12 g

- Disolver en 8 mL de H₂O
- Aforar hasta 10 mL con H₂O

Soluciones de electroforesis

Solución de poliacrilamida para un gel al 12 %

Gel concentrador

30 % Acrilamida/Bis-acrilamida	325 µL
Tris-HCl pH 6.8	625 µL
SDS 10 %	27 µL
H ₂ O	1.525 mL
10 % PSA	12.5 µL
TEMED	2.5 µL

Gel separador

30% Acrilamida/Bis-acrilamida	3.00 mL
Tris-HCl pH 8.8	1.88 mL
SDS 10%	76 µL

H ₂ O	2.65 mL
10 % PSA	25 µL
TEMED	5 µL

Acrilamida/Bis (30 % T, 2.67 % C) (100 mL)

Acrilamida	29.20 g
N'N'-bis-metileno-acrilamida	0.80 g
H ₂ O	60 mL

- Disolver completamente
- Aforar con H₂O hasta 100 mL

Buffer de corrida 1X SDS-PAGE (1 L)

10X Buffer nativo PAGE	100 mL
SDS 10 %	10 mL

- Aforar H₂O hasta 1L

Buffer de carga 2X SDS-PAGE

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	3.75 mL
Glicerol 50 %	15.00 mL
Azul de Bromofenol 1%	0.30 mL
SDS 10 %	6.00 mL

- Aforar con H₂O hasta 30 mL
- Agregar β-mercaptoetanol (50 µL por cada 950 µL de buffer de carga 2X antes de usarla)

Soluciones de tinción

Solución de Azul de Coomassie (200 mL)

Coomassie Brilliant Blue G-250	0.50 g
Metanol	90 mL
H ₂ O	90 mL
Ácido Acético Glacial	20 mL

Solución desteñidora (1L)

Metanol	400 mL
Ácido acético glacial	100 mL
H ₂ O	500 mL

Solución de Nitrato de Plata al 0.1 %

AgNO ₃	0.25 g
H ₂ O	250 mL

Solución fijadora para tinción de plata (250 mL)

Metanol 50 %	125 mL
Ácido acético glacial al 5 %	12.5 mL
H ₂ O	112.5 mL

Solución de sensibilización

Na ₂ S ₂ O ₃	0.05 g
H ₂ O	250 mL

Soluciones de actividad proteolítica

Solución de poliacrilamida para un gel al 12 %

Gel concentrador

30 % Acrilamida/Bis-acrilamida	325 µL
Tris-HCl pH 6.8	625 µL
Solución de gelatina	1.525 mL
10 % PSA	12.5 µL
TEMED	2.5 µL

Gel separador

30 % Acrilamida/Bis-acrilamida	3.00 mL
Tris-HCl pH 8.8	1.88 mL
Solución de gelatina	2.65 mL
10 % PSA	25 µL
TEMED	5 µL

Buffer de carga 2x nativo PAGE

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	3.75 mL
Glicerol 50 %	24.0 mL
Azul de Bromofenol 1 %	0.3 mL
H ₂ O	30 mL

Solución de lavado

Tris-HCl pH 7.5 50 mM	25 mL
Tritón 2.5 % x100	12.5 mL
- Aforar con H ₂ O hasta 500 mL	

Solución activadora

Tris-HCl mM	25 mL
Tritón 2.5 % 100 X	12.5 mL
CaCl ₂ 5 mM	2.5 mL
ZnCl ₂ 1 mM	500 µL
- Aforar con H ₂ O hasta 500 mL	