

## INDICE

| Contenido   | Página |
|---|--------|
| 1. RESUMEN .....  | 7      |
| 2. INTRODUCCIÓN .....   | 8      |
| 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....   | 10     |
| 3.1 Rasgos en áfidos que explican su condición de plaga .....               | 10     |
| 3.2 Resistencia a insecticidas .....  | 11     |
| 3.2.1 Antecedentes generales .....  | 11     |
| 3.2.2 Resistencia por mutación en el receptor GABA .....                    | 12     |
| 3.2.3 Resistencia por mutación en el canal de sodio dependiente .....       | 13     |
| de voltaje en individuos con fenotipo <i>kdr</i> y <i>súper – kdr</i> .     |        |
| 3.2.4 Resistencia por modificación de Acetilcolinesterasa (MACE).....       | 17     |
| 3.3 El pulgón lanígero del manzano <i>Eriosoma lanigerum</i> .....          | 17     |
| 3.3.1 Antecedentes generales .....  | 17     |
| 3.3.2 Descripción morfológica .....   | 18     |
| 3.3.3 Biología de <i>Eriosoma lanigerum</i> .....                           | 18     |
| 3.3.4 Daño que provoca en el manzano .....                                  | 19     |
| 3.4 Exportación de manzanas .....   | 19     |
| 3.4.1 Superficie plantada .....   | 20     |
| 3.4.2 Economía .....  | 20     |
| 4. OBJETIVOS .....  | 22     |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 23     |
| 5.1 Recolección de individuos de <i>Eriosoma lanigerum</i> .....            | 23     |
| 5.2 Extracción de ADN .....   | 25     |
| 5.3 Elección de partidores .....  | 27     |
| 5.4 Condiciones iniciales y estandarización de las condiciones de PCR ..... | 28     |
| Para la amplificación del gen <i>kdr</i> .                                  |        |

|  |               |
|--|---------------|
| 6. RESULTADOS.....   | <b>31</b>     |
| <b>Contenido</b>   | <b>Página</b> |
| 6.1 Validación de la técnica de extracción de ADN reportada para áfidos.....             | <b>31</b>     |
| 6.2 Amplificación del gen <i>kdr</i> en <i>Eriosoma lanigerum</i> usando partidores..... | <b>35</b>     |
| específicos para <i>Myzus persicae</i> .   |               |
| 6.3 Condiciones de referencia probadas para la amplificación del gen .....               | <b>36</b>     |
| <i>kdr</i> en <i>Eriosoma lanigerum</i> usando partidores degenerados.                   |               |
| 6.4 Estandarización de las condiciones de PCR para la amplificación .....                | <b>37</b>     |
| del gen <i>kdr</i> en <i>Eriosoma lanigerum</i> usando partidores dgenerados.            |               |
| 6.5 Amplificación del gen <i>kdr</i> en muestras de <i>Eriosoma lanigerum</i> .....      | <b>40</b>     |
| Usando partidores degenerados.   |               |
| 7. DISCUSIÓN .....   | <b>45</b>     |
| 8. CONCLUSIONES.....   | <b>49</b>     |
| 9. BIBLIOGRAFÍA.....   | <b>50</b>     |

## INDICE DE TABLAS

| Contenido  | Página |
|--|--------|
| <b>Tabla 1:</b> Insecticidas aplicados en huertos de manzano de manejo convencional.....   | 25     |
| <b>Tabla 2:</b> Partidores específicos para la amplificación del gen <i>kdr</i> en <i>Myzus persicae</i> probados en <i>Eriosoma lanigerum</i> . | 27     |
| <b>Tabla 3:</b> Partidores degenerados para la amplificación de la región IIS4 –IIS6.....<br>en <i>Eriosoma lanigerum</i> .                      | 27     |
| <b>Tabla 4:</b> Concentraciones de reactivos para realizar PCR convencional.....   | 29     |
| <b>Tabla 5:</b> Concentraciones de ADN y relación de pureza en muestras de <i>Eriosma lanigerum</i> .  | 32     |

## INDICE DE FIGURAS

| Contenido  | Página    |
|--|-----------|
| <b>Figura 1:</b> Diagrama del canal de Sodio .....   | <b>16</b> |
| <b>Figura 2:</b> Mapa sitios de recolección de <i>Eriosoma lanigerum</i> .....   | <b>24</b> |
| <b>Figura 3:</b> Foto del gel de agarosa al 0,8% donde se analiza la calidad .....<br>del ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> proveniente de cultivos de<br>manzanos no tratados con insecticidas.                                    | <b>33</b> |
| <b>Figura 4:</b> Foto del gel de agarosa al 0,8% donde se analiza la calidad .....<br>del ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> proveniente de cultivos de<br>manzanos con aplicación de insecticidas.                                  | <b>34</b> |
| <b>Figura 5:</b> Foto del gel de agarosa al 0,8% donde se analiza la calidad .....<br>del ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> proveniente de arbustos de<br><i>Pyracantha coccinea</i> sin tratamiento insecticida.                   | <b>35</b> |
| <b>Figura 6:</b> Foto gel de agarosa al 1,5% donde se analiza producto de PCR .....<br>de ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> y <i>Myzus persicae</i> usando partidores<br>específicos para el gen <i>kdr</i> de <i>M. persicae</i> . | <b>36</b> |
| <b>Figura 7:</b> Foto gel de agarosa al 1,5% donde se analiza producto de PCR .....<br>de ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> y <i>Myzus persicae</i> usando partidores<br>degenerados para el gen <i>kdr</i> .                       | <b>37</b> |

| <b>Contenido</b>   | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>Figura 8:</b> Foto gel de agarosa al 1,5% donde se analiza producto de PCR de.....  | <b>38</b>     |
| ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> empleando partidores degenerados para el gen <i>kdr</i> y usando gradiente de concentraciones de MgCl <sub>2</sub> y de temperatura de alineamiento 46° y 47,3°C.                 |               |
| <b>Figura 9:</b> Foto gel de agarosa al 1,5% donde se analiza producto de PCR de.....  | <b>39</b>     |
| ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> empleando partidores degenerados para el gen <i>kdr</i> y usando gradiente de concentraciones de MgCl <sub>2</sub> y de temperatura de alineamiento 48,9 y 52,4°C.                |               |
| <b>Figura 10:</b> Foto gel de agarosa al 1,5% donde se analiza producto de PCR de.....   | <b>40</b>     |
| ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> empleando partidores degenerados para el gen <i>kdr</i> y usando gradiente de concentraciones de MgCl <sub>2</sub> y de temperatura de alineamiento 54,7°C, 57,3°C y 58°C.        |               |
| <b>Figura 11:</b> Foto del gel de agarosa donde se analiza productos de PCR usando.....  | <b>42</b>     |
| ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> proveniente de huerto de manzanos sin aplicación de insecticidas, empleando una concentración de 3mM de MgCl <sub>2</sub> y 47°C como temperatura de hibridación.                 |               |
| <b>Figura 12:</b> Foto del gel de agarosa donde se analiza productos de PCR usando.....  | <b>43</b>     |
| ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> proveniente de huerto de manzanos tratado con insecticidas, empleando una concentración de 3mM de MgCl <sub>2</sub> y 47°C como temperatura de hibridación.                       |               |
| <b>Figura 13:</b> Foto del gel de agarosa donde se analiza productos de PCR usando.....  | <b>44</b>     |
| ADN de <i>Eriosoma lanigerum</i> proveniente de arbustos de <i>Pyracantha coccinea</i> sin tratamiento insecticida empleando una concentración de 3mM de MgCl <sub>2</sub> y 47°C como temperatura de hibridación. |               |