




PROGRAMA MOSCAMED
GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO *Ceratitis capitata* (Wiedemann)

(Clave: MTG-OC-MID-01, Versión: 01)

ESTE DOCUMENTO FUE APROBADO POR EL CONSEJO DE DIRECTORES

EL 29 DE OCTUBRE DE 2021:


José Luis Quintero Fong
Director MOSCAMED
SADER-SENASICA
MÉXICO


Jorge Guillermo López
Director MOSCAMED
MAGA-VISAR
GUATEMALA

Catherine A. Marzolf
Digitally signed by Catherine A. Marzolf
Date: 2021.12.01 11:52:45 -06'00'
Catherine Marzolf
Director MOSCAMED
USDA-APHIS
EE.UU

AGRICULTURA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL




GOBIERNO DE GUATEMALA
C.A. 11-2210918-1-1000000000000

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y ALIMENTACIÓN



United States Department of Agriculture

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)

Índice

1. Introducción	3
2. Objetivos	3
2.1. De la actividad	3
2.2. Del manual	3
3. Definiciones	3
4. Áreas de Trabajo.....	4
5. Consideraciones generales	4
6. Procedimientos para la recepción de frutos hospedantes	5
6.1 Ingreso.....	5
a) Asignación de número correlativo a las muestras contempladas para jaulas de maduración.....	5
b) Peso de la muestra.....	5
c) Preparación de jaulas	6
1) Jaula tipo A para frutos de café	6
2) Jaula tipo B para el resto de hospedantes	7
6.2 Disección Inicial	7
6.2.1 Disección de frutos hospedantes potenciales de la mosca del Mediterráneo	8
a) Frutos de café	8
b) Frutos de consistencia suave: caimito y guayaba	9
c) Frutos de naranja dulce y naranja agria	9
d) Frutos de mandarina	10
6.3 Disección final	12
6.4 Tratamiento de desechos	12
7. Características morfológicas de larvas y pupas de moscas del Mediterráneo	12
7.1 Características de la larva	12
7.2 Características de la pupa	15
8. Procedimientos para identificación de larvas y pupas	15
8.1 Identificación de larvas	15
8.2 Identificación de pupas	16
8.3 Técnica de preparación y conservación de montajes con larvas	16
9. Funciones y responsabilidades del personal técnico del laboratorio	17
9.1 Supervisor o responsable del laboratorio	17
9.2 Técnico y/o laboratorista	18
10. Captura y emisión de resultados	18
11. Referencias bibliográficas	19
12. Anexos	20

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)

1. Introducción

La mosca de la fruta del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann), es una de las plagas hortofrutícolas más importantes a nivel mundial, esto por su gran capacidad de reproducción, fácil adaptación a su entorno climático y por el amplio rango de frutas y hortalizas que infesta, por lo que representa una constante preocupación para el desarrollo de la horto fruticultura en una región determinada.

Con el objetivo de controlar y erradicar esta plaga de Guatemala y sur de México en el estado de Chiapas, se creó el Programa Moscamed, mismo que opera un sistema de detección de la plaga en sus estados inmaduros a través de la actividad de muestreo de frutos hospedantes.

Estos frutos son colectados en campo y trasladados al Laboratorio de Identificación y Diagnóstico, donde son disectados para determinar la presencia o ausencia de larvas de mosca del Mediterráneo. Una oportuna detección permite definir el momento preciso en el que se deben aplicar los métodos de control, por ello es importante contar con un documento operativo en el que además de especificar de manera detallada la ejecución de los procesos, sea una guía práctica en la identificación de larvas y pupas de mosca del Mediterráneo. Con base a esto, se elabora el presente documento, mismo que será considerado como una herramienta más de trabajo para llevar a cabo las actividades encomendadas al personal técnico y operativo de los Laboratorios de Identificación.

2. Objetivos

2.1. De la actividad

Realizar la disección de frutos hospedantes e identificación de larvas y pupas de mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann).


2.2. Del manual

- a) Estandarizar los procedimientos para la identificación de larvas y pupas de la mosca del Mediterráneo presentes en la fruta colectada en el campo.
- b) Disponer de una guía práctica para el personal que realiza la actividad de disección e identificación de larvas y pupas de la mosca del Mediterráneo.

3. Definiciones

Hospedantes primarios. Frutos altamente susceptibles de ser infestados de forma natural por la mosca del Mediterráneo. (García *et al.*, 2012).

Hospedantes secundarios. Frutos susceptibles de ser infestados por la mosca del Mediterráneo. (García *et al.*, 2012).

 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
	Versión: 01
<p>Grupo Técnico del Programa Moscamed</p> <p>MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)</p>	Emisión: Julio, 2021
	Página: 4 de 22

Medidas fitosanitarias. Las establecidas en Leyes, reglamentos, normas oficiales mexicanas, Ley de Sanidad Vegetal de Guatemala (Decreto 36-98) y su reglamento, acuerdos, decretos, lineamientos y demás disposiciones legales aplicables en materia de sanidad vegetal para conservar y proteger a los vegetales, sus productos o subproductos de cualquier tipo de daño producido por plagas que los afecten. (Ley Federal de Sanidad Vegetal, 2011).

Plaga cuarentenaria. Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aun cuando la plaga no existe o, si existe, no está extendida y se encuentra bajo control oficial. (Ley Federal de Sanidad Vegetal, 2011).

4. Áreas de trabajo


Las áreas de trabajo son: Libre, Baja Prevalencia, Supresión.

5. Consideraciones generales

Al momento de ingresar las muestras procedentes del campo, el personal asignado a esta actividad debe tomar en cuenta las consideraciones siguientes:

Supervisar que las muestras entregadas al laboratorio vengan maduras y de consistencia sólida.

- a) Que el número de unidades de frutos por muestra sea el recomendado de acuerdo a las exigencias que requiere el Programa Moscamed para la detección de estados inmaduros (anexo No. 2).
- b) El técnico laboratorista deberá revisar las bolsas de colecta de frutos e informar si están deterioradas y que pudiesen ocasionar inconvenientes en el material colectado.
- c) Verificar que la bolsa de colecta presente frutos de una sola especie hospedante.
- d) Verificar que la muestra haya sido colectada del árbol y no del suelo.
- e) En los casos donde se utilicen las bolsas de manta, se debe corroborar que el número correlativo de bolsa, coincida con la información de la boleta de campo. Para el caso de uso de bolsas de plástico, se deberá verificar que los datos de la etiqueta de muestreo estén completos (anexo 1 a).
- f) Las larvas que se encuentren dentro de las bolsas de las muestras, se anotarán de acuerdo a la boleta de campo o etiqueta de muestreo.
- g) Deberá llevarse un registro por muestreador de errores acumulados y dependiendo la reincidencia de los mismos se aplicarán medidas correctivas.

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)

6. Procedimientos para la recepción de frutos hospedantes

6.1. Ingreso

Se le llama ingreso a una serie de actividades que conlleva el manejo de la muestra colectada en el campo para ser analizada en el laboratorio, para detectar larvas o pupas de mosca del Mediterráneo.

Después de que las muestras de fruta son colectadas en el campo, se transportan al laboratorio en un período no mayor de 24 horas, que variará de acuerdo a la distancia al laboratorio.

a) Asignación de número correlativo a las muestras contempladas para jaulas de maduración.

Consiste en asignar un número correlativo a las muestras en la boleta de campo (Anexo No. 1), mismo que debe anotarse en la jaula donde se depositarán los frutos de la muestra para su observación en el laboratorio (figura 1). El número correlativo inicia el primer día de labores del año y finaliza el último día del año. Cuando en el área no se utilicen las jaulas de maduración, se pesará la muestra de frutos y se procederá conforme al punto 6.2.

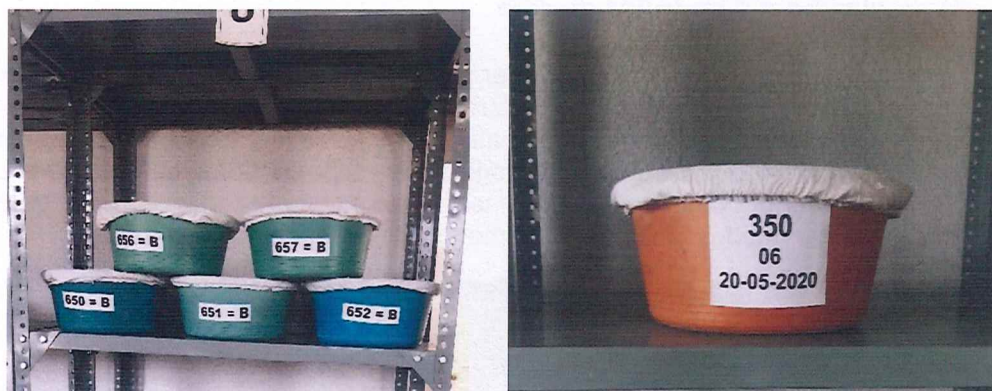


Figura 1. Asignación de números correlativos

b) Peso de la muestra

Consiste en pesar la muestra en una balanza granulométrica bajo el sistema de kilogramos utilizando tres decimales (figura No. 2). Este peso servirá para poder establecer una relación de larvas por kilogramo de fruta existente en el campo o medir el daño de kilogramos infestados.


 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
	<p style="text-align: center;">Grupo Técnico del Programa Moscamed</p>
<p style="text-align: center;">MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)</p>	Emisión: Julio, 2021
	Página: 6 de 22



Figura 2. Peso de la muestra

c) Preparación de jaulas

La razón por la que se coloca la fruta en estas jaulas, es con la finalidad de brindarle las condiciones ambientales adecuadas a los huevos y larvas de primeros estadios que puedan estar infestando la fruta y continuar con su desarrollo normal. Se deben ordenar las jaulas de acuerdo al número correlativo asignado en las boletas de campo. Dependiendo de la especie de fruto colectado se utilizan diferentes tipos de jaula.

1) Jaula tipo A para frutos de café

Consiste en un contenedor rectangular plástico con tapadera, el cual debe contener en su interior una malla metálica para la suspensión de los frutos. Se le agrega 0.11 kg. de arena, misma que servirá como sustrato para que las larvas que se encuentren dentro de los frutos, continúen con su ciclo biológico a la etapa de pupa. La tapa de esta jaula debe tener una abertura cubierta con tela fina (cedazo) con el objetivo de darle ventilación a los frutos y evitar que los insectos que emerjan se escapen (figura No. 3).

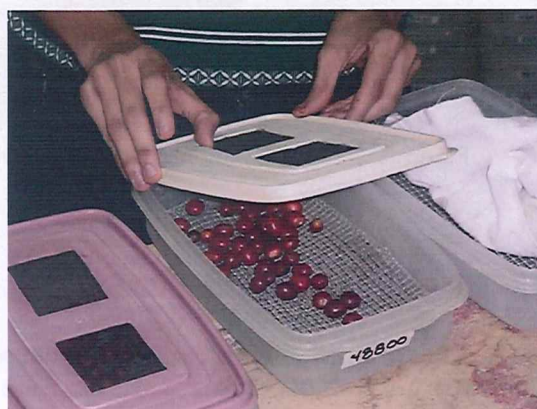



Figura 3. Jaula tipo A

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed Versión: 01
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	Emisión: Julio, 2021
	Página: 7 de 22

2) Jaula tipo B para el resto de hospedantes

Consiste en una palangana plástica y un colador de pastas para la suspensión de los frutos. Se le agrega 0.23 kg. de arena misma que servirá como sustrato para que las larvas que se encuentren dentro de los frutos, continúen con su ciclo biológico a la etapa de pupa. Para tapar la palangana se utiliza una funda de manta con banda elástica en la orilla (figura No. 4).



Figura 4. Jaula tipo B

6.2. Disección inicial

Para este proceso se seleccionan primeramente los frutos con mayor grado de madurez de la muestra total, que aproximadamente será la mitad de la muestra y se procede a disectarla para determinar la presencia de larvas (figura No. 5). Cuando no se utilicen las jaulas de maduración, todos los frutos que conformen la muestra, deberán ser disectados.

Para la disección de frutos, estos se colocarán sobre una charola de plástico color negro. Se humedecen cuando sea necesario, además se deben utilizar guantes de látex, un cuchillo filetero recto de 7", pinzas de disección y una lámpara lupa.


 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)



Figura 5. Disección de frutos con el apoyo de lámpara lupa

6.2.1. Disección de frutos hospedantes potenciales de la mosca del Mediterráneo


Se contempla para el presente manual el procedimiento para la disección de frutos hospedantes primarios, sin embargo, cuando se presenten hospedantes secundarios, la disección de estos tendrá como base lo descrito a continuación, considerando que sean similares; por ejemplo, la disección de una toronja se hará de igual manera que la naranja dulce o agria.

a) Frutos de café

Presionar la cereza con los dedos dirigiéndola hacia la parte donde se separó el fruto de la rama (pedúnculo), una vez abierta la cereza, verificar la presencia de larvas, en caso de no observar ninguna, dividir los cotiledones y sumergir el resto del fruto en el agua para verificar nuevamente la presencia de larvas tanto en la pulpa como en el agua donde se sumergió el grano (figura 6 a – d).



Figura 6. Disección de frutos de café

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed Versión: 01
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	Emisión: Julio, 2021
	Página: 9 de 22

b) Frutos de consistencia suave: caimito y guayaba

Realizar un corte longitudinal hasta la mitad del fruto y/o presionar por la parte media del fruto con los dedos, hasta partirlo, después se retira poco a poco la pulpa y en la medida que ésta se va retirando, verificar la existencia de larvas (figura 7 a - d y 8 a - d).

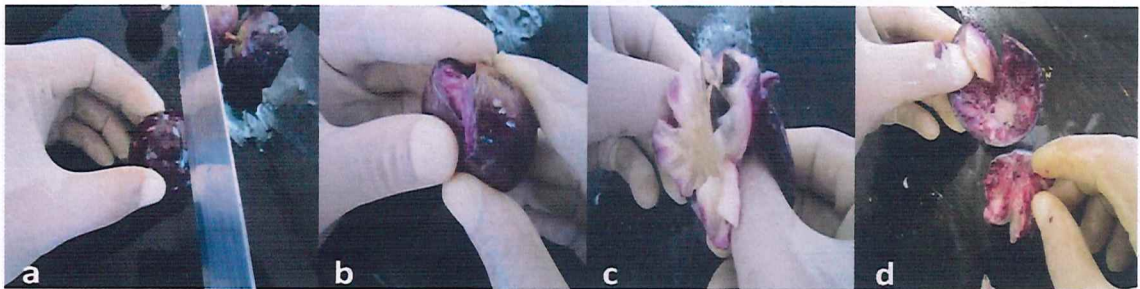


Figura 7. Disección de frutos de caimito

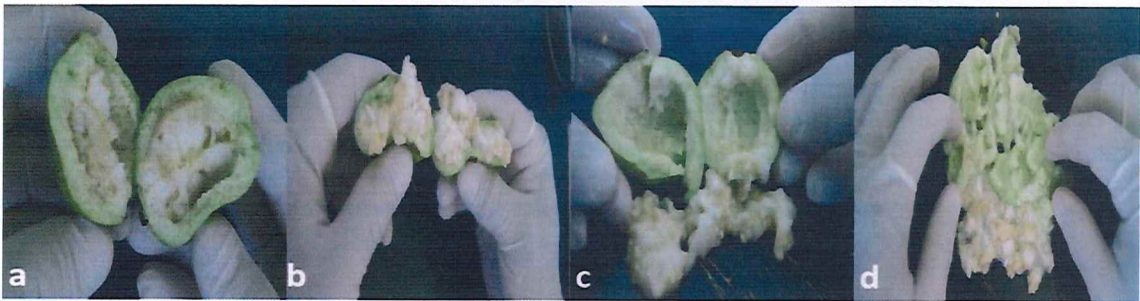


Figura 8. Disección de frutos de guayaba

c) Frutos de naranja dulce y naranja agria

Con un cuchillo cortar de forma transversal el fruto, exprimir cada mitad hasta eliminar media parte de jugo contenido en ellas. Posteriormente exponer la pulpa (endocarpio) y separar por gajo (carpelo) desmenuzando cada uno de ellos. Verificar la presencia de larvas (figura 9a-d).

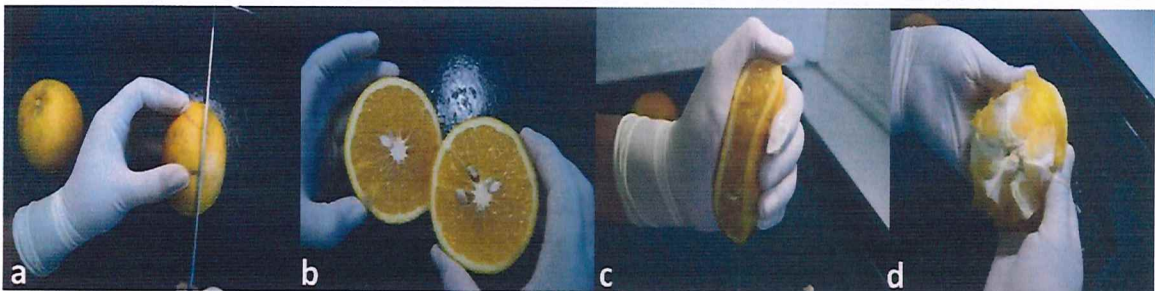



Figura 9. Disección de frutos de naranja

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)

d) Frutos de mandarina

Retirar la cascara del fruto con los dedos, después separar los gajos (carpelos) y desmenuzar para verificar la presencia de larvas. En caso de que la epidermis venga muy adherida a los carpelos, realizar el mismo procedimiento de disección que la naranja dulce o agria (figura 10 a – d).

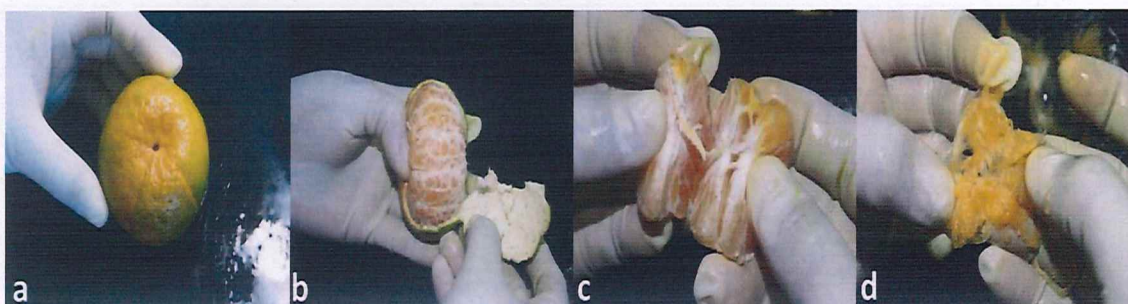


Figura 10. Disección de frutos de mandarina

Cuando se detectan larvas, éstas se introducen en un frasco con agua o alcohol isopropílico o metílico al 70% con ayuda de pinzas de disección. Los frascos con larvas deben rotularse con la fecha, el número correlativo y el código de hospedante; o en su defecto, se debe acompañar de la etiqueta de muestreo correspondiente al frasco. Posteriormente se trasladan al área de identificación.

Al 50% restante de la muestra de fruta que queda en la jaula se le hace una aplicación de una solución de benzoato de sodio a razón de 4 a 14 gramos por litro de agua, dependiendo de las condiciones ambientales, esto con el objetivo de minimizar la proliferación de hongos y bacterias que pudieran infectar la fruta. Luego se ordenan en estanterías (figuras No. 11 y 12) para posteriores revisiones hasta que completen su período de observación que es de 7 días desde su fecha de ingreso; finalizado este periodo, se procederá a realizar la disección final.



**PROGRAMA MOSCAMED
GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS**

Clave: MTG-OC-MID-01

Grupo Técnico del Programa Moscamed

Versión: 01

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS
Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO *Ceratitis capitata*
(Wiedemann)**

Emisión: Julio, 2021


Página: 11 de 22



Figura 11. Ordenamiento de jaulas tipo A



Figura 12. Ordenamiento de jaulas tipo B

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Versión: 01
Grupo Técnico del Programa Moscamed	Emisión: Julio, 2021
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	Página: 12 de 22

6.3. Disección final

Consiste en disectar lo que queda de la muestra al finalizar su período de observación, para detectar larvas o pupas de mosca del Mediterráneo. Las larvas encontradas en este proceso se colocarán en un frasco entomológico con agua o alcohol isopropílico o metílico y deberán rotularse con la fecha, el número correlativo y el código de hospedante.

Posteriormente se debe colar la arena de las jaulas para detectar pupas. De encontrarse, se introducen en un frasco entomológico sin agua.

6.4. Tratamiento de desechos

Consiste en la aplicación de cal a los restos de fruta que se ha disectado en el día, ésta debe estar dentro de un tonel o una bolsa plástica sin mezclarla con basura de otro tipo.

7. Características morfológicas de larvas y pupas de moscas del Mediterráneo

En los laboratorios de identificación es necesario diagnosticar la presencia o ausencia de larvas y/o pupas de la mosca del Mediterráneo por esta razón se describen sus características morfológicas:

7.1. Características de la larva

Es importante poder diferenciar las larvas de mosca del Mediterráneo de otras especies que infestan las frutas o de aquellas larvas de dípteros que poseen características similares. Las larvas de mosca del Mediterráneo tienen una forma mucidiforme, es decir que tienen la parte posterior ensanchada y disminuyen gradualmente en forma cónica hacia la cabeza, son de color blanco o blanco amarillento. Pueden variar en longitud de 3 a 10 mm. Su cuerpo está compuesto por 11 segmentos fusiformes además de la cabeza. De los 11 segmentos, 3 corresponden a la región torácica y 8 al abdomen (figura No. 13).

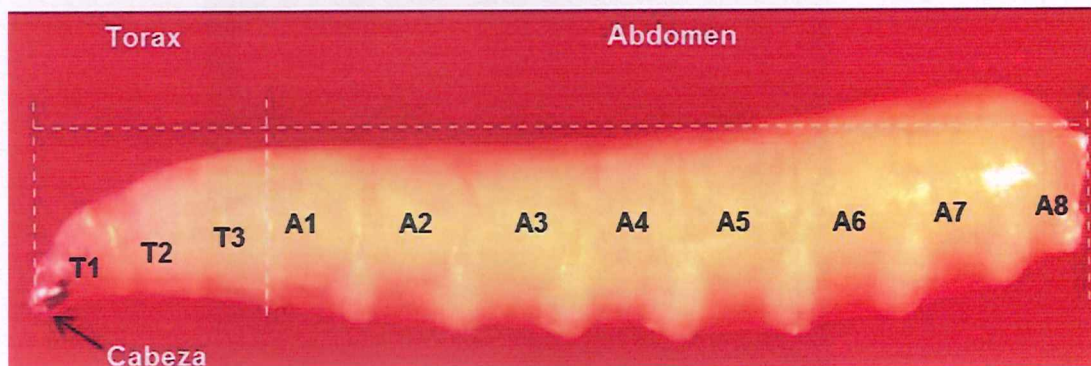


Figura 13. Larva de 3er estadio de mosca del Mediterráneo

 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
Grupo Técnico del Programa Moscamed	Versión: 01
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	Emisión: Julio, 2021
	Página: 13 de 22

La cabeza no se encuentra esclerosada, es pequeña, retráctil y en forma de cono. En su parte anterior lleva las antenas y papilas sensoriales. Las mandíbulas son dos ganchos esclerosados paralelos que se distinguen fácilmente en la abertura oral y casi completamente cubiertos por los labios, los cuales forman una serie de membranas carnosas con apariencia de abanico, llamadas carinas bucales. En el primer segmento torácico, se encuentran un par de espiráculos anteriores con prolongaciones tubulares que salen de sus bordes libres, que se conocen con el nombre de tubos, túbulos o dígitos por su forma parecida a dedos, cada uno de ellos posee una apertura en el ápice (figuras No. 14, 15 y 16).

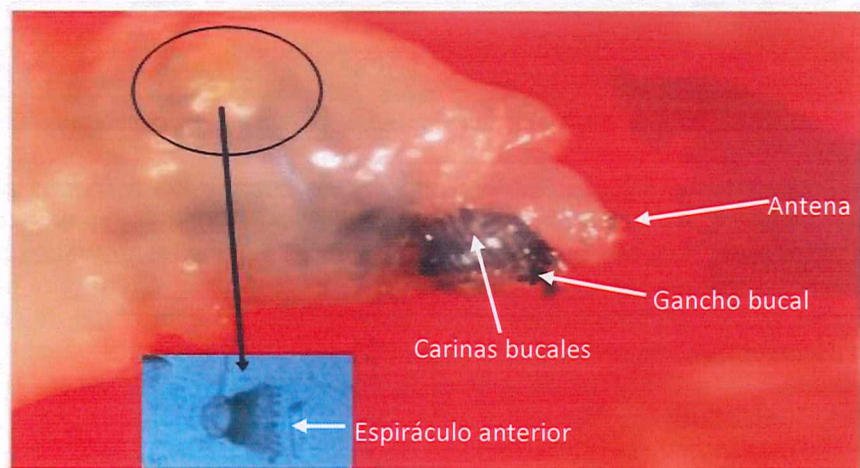


Figura 14. Cabeza y ubicación de espiráculo anterior de larva de mosca del Mediterráneo

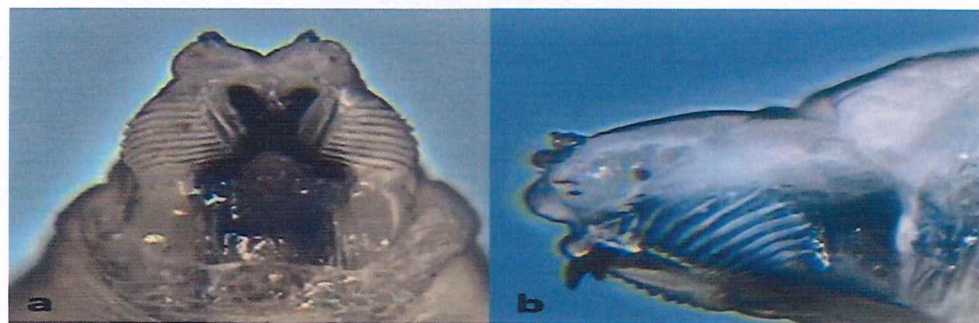


Figura 15. Vista ventral (a), vista lateral (b) de carinas bucales de aparato bucofaringeo


 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)



Figura 16. Espiráculos anteriores de la mosca del Mediterráneo

En el segmento caudal, se observa otro par de espiráculos llamados posteriores, además presentan un número variable de papilas (proyección diminuta, suave y en forma de pezón) y tubérculos sub espiraculares que son estructuras sólidas en forma de grano (figura 17). Los espiráculos posteriores son diferentes a los anteriores, cada uno tiene tres aberturas rodeadas por un peritrema, estructura esclerosada, y hacia el exterior nacen de ellos una serie de proyecciones en forma de rayos o pelos denominados procesos inter espiraculares. Los espiráculos posteriores de la larva de mosca del Mediterráneo están situados a nivel del resto del cuerpo (figura 18).

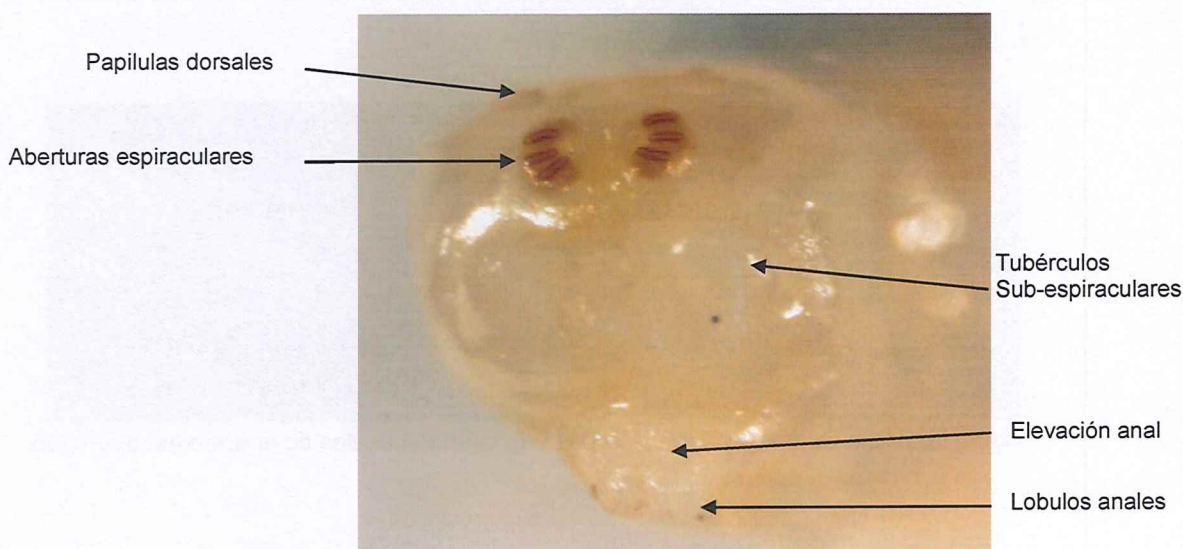



Figura No. 17 Espiráculos posteriores de larva de mosca del Mediterráneo

 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
<p style="text-align: center;">Grupo Técnico del Programa Moscamed</p>	Versión: 01
<p style="text-align: center;">MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)</p>	Emisión: Julio, 2021 Página: 15 de 22

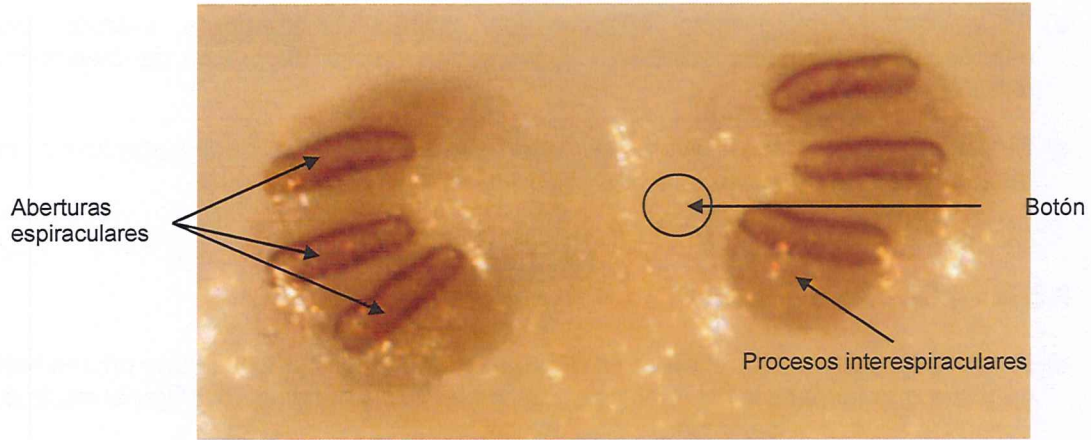


Figura 18. Procesos interespiraculares

7.2. Características de la pupa

Es una cápsula de forma cilíndrica con 11 segmentos, el color y el tamaño varía de acuerdo al hospedante infestado, presentándose diversas tonalidades, entre ellas las combinaciones de café, rojo y amarillo blanco, su longitud varía de 5 a 7 mm y su diámetro de 2 a 2.5 mm (figura No. 19).

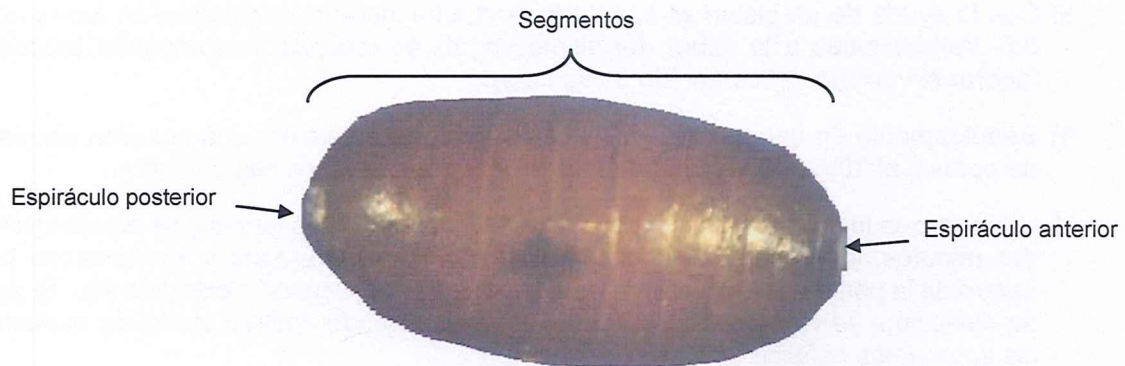



Figura 19. Pupa de mosca del Mediterráneo

8. Procedimientos para identificación de larvas y pupas

8.1. Identificación de larvas

- a) Extraer la larva del frasco que la contiene y colocarla en una caja petri.

 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
	<p style="text-align: center;">Grupo Técnico del Programa Moscamed</p>
<p style="text-align: center;">MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)</p>	Emisión: Julio, 2021
	Página: 16 de 22

- b) En un estéreo-microscopio, observar los espiráculos anteriores, carinas bucales y espiráculos posteriores, sujetando la larva con auxilio de pinzas de disección punta extrafina (No. 5).
- c) Si no se observan claramente las estructuras anteriores, se procede a efectuar un montaje de la larva (pasar a inciso 8.3).


8.2. Identificación de pupas

- a) En una caja petri con parafina de color negro o blanco, se coloca la pupa en una hendidura cóncava que se hace en el centro para evitar su deslizamiento y facilitar el manejo.
- b) Se enfoca con el estéreo-microscopio y se observan los espiráculos anteriores que son más visibles que los posteriores.

8.3. Técnica de preparación y conservación de montaje con larvas

Este procedimiento de conservar las larvas, se utiliza en casos especiales; como por ejemplo en áreas libres, para aclarar identificaciones o para verificar diagnóstico posteriormente, realizándolo de la siguiente manera:

- a) Con la ayuda de un bisturí se hace a la larva una incisión longitudinal en forma lateral o dos transversales a la altura del último segmento torácico y el segundo caudal, para facilitar el vaciado del contenido de su cuerpo.
- b) Seguidamente en un vaso de precipitados se pone a calentar una solución de hidróxido de potasio al 10% o hidróxido de sodio al 5% (manejándose con cuidado).
- c) Una vez que la solución comience a hervir, se depositan las larvas y se hierven por uno o dos minutos, luego se separa la solución de la fuente de calor y manteniendo la larva dentro de la potasa caliente, con la ayuda de pinzas de disección extrafina (No. 5) y agujas de disección, se vacía el contenido del cuerpo, evitando destruir cualquier estructura de los segmentos cefálico y caudal.
- d) Posteriormente la larva se enjuaga en agua y luego se pasa a alcohol al 70%. Si parte de la musculatura o grasa, especialmente de la región cefálica y caudal no se ha desprendido, se le puede agregar lactofenol para desprender, con ayuda de las pinzas, los músculos o grasa que aún se encuentra adherida, sin maltratar los espiráculos anteriores, espiráculos posteriores, esqueleto bucofaringeo y carinas bucales.
- e) Todo el manejo de la larva se hace por la parte interna, especialmente en la región de los espiráculos posteriores, para evitar el desprendimiento de los procesos inter espiraculares. Cuando la exocutícula queda completamente transparente, sin grasa o

	<p align="center">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	<p>Clave: MTG-OC-MID-01</p>
<p align="center">Grupo Técnico del Programa Moscamed</p>		<p>Versión: 01</p>
<p align="center">MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)</p>		<p>Emisión: Julio, 2021 Página: 17 de 22</p>

musculatura que impide su observación, se lava en alcohol al 70% y se traspasan a un portaobjetos plano y se agregan gotas de Bálsamo de Canadá o Enteyan con goteros o pipetas Pasteur. Sobre estas estructuras, se coloca un cubre objetos.

- f) Todas las estructuras del segmento de la cabeza deben quedar visibles para contar el número de dígitos del espiráculo anterior y observar la retícula que llena la copa, además de visualizar el esqueleto bucofaringeo y las carinas bucales.
- g) Los espiráculos posteriores pueden observarse claramente, si al segmento caudal se le hacen unos pequeños cortes alrededor para poder extenderlos sobre el portaobjetos evitando dobleces.
- h) Finalmente, se debe capturar una imagen de cada estructura con la cámara del equipo microscópico estereoscópico y compuesto. Además, el montaje realizado será almacenado y etiquetado sobre el portaobjetos con los siguientes datos: fecha, estructura a la que corresponde, no. de evento y centro/sub centro de procedencia.

Si no se tiene disponible Hidróxido de Sodio y/o Potasio, se puede utilizar la técnica de Lactofenol:


- a) Aplicar gotas de lactofenol sobre la larva ya con incisiones y remover el tejido grasoso y otros órganos del interior de la larva con la ayuda de un estereoscopio y agujas de disección punta extra fina (No 5.), sobre una caja Petri o un portaobjetos plano.
- b) Desechar el lactofenol que tiene restos de tejidos y aplicar nuevamente lactofenol. Continuar removiendo tejido graso y musculatura del interior de la larva. Se debe tener cuidado de no dañar la cutícula, esqueleto cefalofaríngeo, espiráculos anteriores posteriores, carinas bucales.

Finalmente se utilizan las técnicas de montaje ya descritas.

9. Funciones y responsabilidades del personal técnico del laboratorio

9.1. Supervisor o Responsable de laboratorio

- a) Coordinar y supervisar actividades técnicas y laborales del personal asignado al laboratorio.
- b) Solicitar oportunamente y dar seguimiento a solicitudes de materiales y equipos necesarios para el buen funcionamiento del laboratorio.
- c) Verificar el cumplimiento de los procedimientos del manual autorizado para el laboratorio.
- d) Supervisar que las funciones y responsabilidades del personal técnico del laboratorio se ejecuten de manera apropiada a fin de alcanzar diagnósticos confiables.
- e) Tramitar y darle seguimiento al plan anual de mantenimiento preventivo del equipo de microscopia y de servicio correctivo cuando sea necesario.

 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
	<p style="text-align: center;">Grupo Técnico del Programa Moscamed</p>
<p style="text-align: center;">MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)</p>	Emisión: Julio, 2021
	Página: 18 de 22

- f) Corregir de manera inmediata los errores u omisiones que se susciten en la aplicación correcta del manual de procedimientos del laboratorio, y llevar un registro detallado de estos errores, así como de la eficiencia de su personal (para considerar en el programa de estímulos y/o sanciones).
- g) Realizar de manera oportuna y correcta la identificación de larvas y/o pupas de mosca del Mediterráneo de acuerdo al manual de procedimientos. En ausencia del jefe de laboratorio un técnico autorizado deberá realizar esta actividad.
- h) Entregar de manera oportuna los resultados del diagnóstico, así como los informes semanales de la actividad, y/o cualquier otro informe que le sea solicitado en su área.

9.2. Técnico y/o laboratorista

- a) Recibir las muestras de frutos y registrarlas en el Anexo No. 1 (en su semana de asignación). Checar que la tarjeta informativa o etiqueta de muestreo anexa a la muestra esté llena correctamente.
- b) Aplicar de manera correcta los métodos y procedimientos establecidos en el manual de esta área.
- c) Realizar de manera cuidadosa y responsable la revisión de jaulas que contienen los frutos, así como la disección de frutos y sujetarse a las acciones de control de calidad que implemente en el programa Moscamed.
- d) Entregar de manera oportuna la información de larvas y/o pupas para el informe diario de laboratorio, y/o cualquier otro informe que le sea solicitado en su área.
- e)

10. Captura y emisión de resultados

Posterior a la identificación de las larvas encontradas durante el proceso de disección de frutos, los resultados se deberán capturar conforme a los anexos 1 y 1 a, mismos que se entregarán al responsable de centro/sub centro cuando corresponda a larvas y/o pupas de mosca del Mediterráneo, en caso contrario, se capturarán en la base de datos correspondiente. Además, deberá complementarse el formato del anexo 4 cuando corresponda a larvas de mosca del Mediterráneo.

 <p style="text-align: center;">PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS</p>	Clave: MTG-OC-MID-01
Grupo Técnico del Programa Moscamed	Versión: 01
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	Emisión: Julio, 2021 Página: 19 de 22

11. Referencias bibliográficas

Ley Federal de Sanidad Vegetal, Cap. II, Artículo 5°, 2011.


García, G., Sánchez, P., Cotoc, E. Gutiérrez, J. (2012) *Guía de hospedantes potenciales de la mosca del Mediterráneo Ceratitis capitata (Wied.) en México*. México.

Programa Regional Moscamed, Guatemala – México – Estados Unidos. 2015. Manual de procedimientos para la identificación de larvas y pupas de la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) <https://www.gob.mx/senasica/documentos/estrategia-operativa-mosca-del-mediterraneo?>

Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta, 2018. Guía de identificación de moscas de la fruta. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/estrategia-operativa-moscas-nativas-de-la-fruta>

Programa Moscamed, 2017. Manual de procedimientos para el sistema de detección por trapeo de la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) en Guatemala, Chiapas y sur de Tabasco, México. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/estrategia-operativa-mosca-del-mediterraneo?>

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2010. Ficha técnica de la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann). <https://www.gob.mx/senasica/documentos/ficha-tecnica>

	PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed	Versión: 01
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)	Emisión: Julio, 2021
		Página: 20 de 22

12. Anexos

Anexo 1 BOLETA DE MUESTREO DE FRUTOS (GUATEMALA.)

PROGRAMA MOSCAMED
MUESTREO DE FRUTOS


Semana: _____ Responsable: _____ Código: _____ Fecha: _____
 Brigada: _____ Recolectores: _____

Bolsa Numero	Correl.	Altura	Mpio.	Nombre del Lugar	Coordenadas		SP.	Peso Kgs.	No. Frutos	RESULTADOS DE IDENTIFICACION LARVA / PUPA									Variedad			
					Longitud	Latitud				50%			REVISION I			DISECCION FINAL						
										Ccw	Anas	OM	Ccw	Anas	OM	Ccw	Anas	OM				

Referencias: Ccw = Ceratitis capitata wied Anas = Anastrepha OM = Otras Moscas

Observaciones: _____

No. Muestras	Peso Kgs.

 PROGRAMA MOSCAMED GUATEMALA – MÉXICO – ESTADOS UNIDOS	Clave: MTG-OC-MID-01
	Grupo Técnico del Programa Moscamed MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS Y PUPAS DE LA MOSCA DEL MEDITERRÁNEO <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedemann)

Anexo 1a
ETIQUETA DE MUESTREO (MÉXICO)

ETIQUETA DE MUESTREO DE FRUTOS	
Fecha: _____	Semana: _____
Centro: _____	Subcentro: _____
Lugar: _____	Mpio: _____
Propietario: _____	
COORDENADAS UTM	
X: _____	Y: _____
Tipo de muestreo: _____	
Hospedante: _____	
N° de frutos: _____	Entrada N°: _____
Muestreador: _____	
DISECCIÓN DE FRUTOS	
Fecha de disección: _____	
Peso de la muestra: _____	
Frasco N°: _____	N° de larvas: _____
Disector: _____	
IDENTIFICACIÓN DE LARVAS	
Fecha de identificación: _____	
C. capitata: _____	A. spp: _____
Otras familias: _____	
Identificador: _____	

Anexo 2

**CANTIDAD DE FRUTOS POR MUESTRAS A COLECTAR
PARA EL CASO DE HOSPEDANTES PRIMARIOS**

Hospedante	Nombre científico	Cantidad de Frutos	Peso Aproximado (g)
Café	<i>Coffea arabica</i>	30 a 60	100
Caimito	<i>Chrysophyllum cainito</i>	4 a 6	250
Guayaba	<i>Psidium guajaba</i>	4 a 6	200
Mandarina	<i>Citrus reticulata</i>	4 a 6	250
Naranja dulce	<i>Citrus sinensis</i>	4 a 6	500
Naranja agria	<i>Citrus aurantium</i>	4 a 6	500
Pera	<i>Pyrus communis</i>	4 a 6	500
Durazno	<i>Prunus pérsica</i>	4 a 6	250

La cantidad de frutos en hospedantes secundarios estará en base al tamaño: frutos grandes de 4 a 6 frutos. Frutos medianos de 8 a 10 frutos y Frutos pequeños de 20 a 30 frutos.

