

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**SUBDIRECCION DE POSTGRADO**



**FLUJO DE GENES DE LA METAPOBLACION DE *ANOPHELES*  
*'ALBIMANUS'* (DIPTERA: CULICIDAE) A PEQUEÑA ESCALA  
EN EL AMBITO MICROGEOGRAFICO DE CHIAPAS  
Y A GRAN ESCALA EN EL AMBITO  
MACROGEOGRAFICO DE MEXICO.**

**TESIS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA**

**PRESENTA**

**M. EN C. CUAUHTEMOC VILLARREAL TREVIÑO**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L.      DICIEMBRE DE 2001**



C.V.T.

FLUJO DE GENES DE ANOPHELES ALBIMANUS  
EN CHIAPAS Y MEXICO

TD  
RA644  
.M2  
V5  
2001  
c.1



1080124454

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

COORDINACIÓN DE POSGRADO



ELIMINACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE LAS  
ALIMENTICIONES CULTIVADAS A GRAN ESCALA  
EN EL ÁMBITO MACROGEOGRÁFICO DE CHIHUAHUA  
Y A GRAN ESCALA EN EL ÁMBITO  
MACROGEOGRÁFICO DE MÉXICO.

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA

PRESENTA

M. EN C. CUAUHEMOC VILLARREAL TREVIÑO

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L.

DICIEMBRE DE 2001



TD

RA644

• M2

VS

,





**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**FLUJO DE GENES DE LA METAPOBLACIÓN DE *ANOPHELES ALBIMANUS* (DIPTERA: CULICIDAE) A PEQUEÑA ESCALA EN EL AMBITO MICROGEOGRÁFICO DE CHIAPAS Y A GRAN ESCALA EN EL AMBITO MACROGEOGRÁFICO DE MEXICO.**

**TESIS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA**

**PRESENTA**

**M. EN C. CUAUHTÉMOC VILLARREAL TREVIÑO.**

San Nicolás de los Garza, Nuevo León

DICIEMBRE 2001

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



**FLUJO DE GENES DE LA METAPOBLACIÓN DE *ANOPHELES ALBIMANUS* (DIPTERA: CULICIDAE) A PEQUEÑA ESCALA EN EL AMBITO MICROGEOGRÁFICO DE CHIAPAS Y A GRAN ESCALA EN EL AMBITO MACROGEOGRÁFICO DE MÉXICO.**


TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA MEDICA


PRESENTA

M. EN C. CUAUHTÉMOC VILLARREAL TREVIÑO.

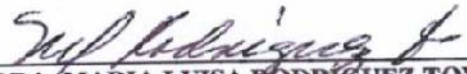
H. COMISIÓN DE TESIS

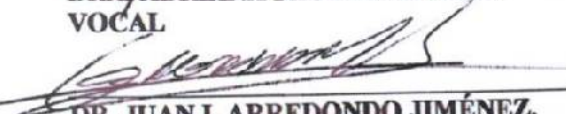
  
DR. ILDEFONSO FERNÁNDEZ SALAS  
DIRECTOR DE TESIS

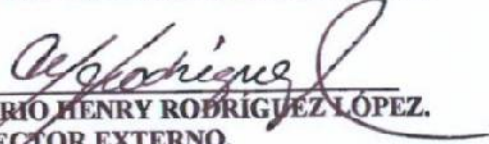
  
DR. MOHAMMED BADDI  
SECRETARIO

  
DR. ROBERTO MERCADO HERNÁNDEZ.  
VOCAL

  
DRA. ADRIANA FLORES SUÁREZ.  
VOCAL

  
DRA. MARÍA LUISA RODRÍGUEZ TOVAR.  
VOCAL

  
DR. JUAN I. ARREDONDO JIMÉNEZ.  
DIRECTOR EXTERNO

  
DR. MARIO HENRY RODRÍGUEZ LÓPEZ.  
CODIRECTOR EXTERNO.

SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, NUEVO LEÓN

DICIEMBRE 2001.



**“Cristo es el Hijo de Dios quién murió por la redención de los pecadores y resucitó después de tres días. Esta es la verdad mas grande en el universo. Muero por causa de mi creer en Cristo”**

**—Watchman Nee**



## **AGRADECIMIENTOS**

**AL Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo dentro del proyecto 3318 P-M.**

**Por el apoyo con una beca para la realización de estudio doctoral otorgada al suscrito.**

## AGRADECIMIENTOS A:

Dr. Mario H. Rodríguez L. Por ser mi guía en la ciencia, con respeto y agradecimiento.

Dr. Juan I. Arredondo-Jiménez. Por la confianza y apoyo durante la realización de este trabajo

Dr. Ildelfonso Fernández Salas, Por su ayuda y colaboración durante mis estudios.

Dr. Fidel de la Cruz Hernández Hernández, Por su colaboración y orientación en la realización de las pruebas moleculares.

Dr. Américo D. Rodríguez Ramírez y Dra. Patricia Penilla N. Por la colaboración prestada en la realización de las pruebas bioquímicas del presente trabajo.

Dra. Lilia González Cerón. Por los trabajos en conjunto que hemos realizado y por su amistad.

C. Secretaria Jana Celina Ríos Delgado. Por su apoyo y amistad.

Ing. Salvador Partida Pérez. Por administrar los recursos financieros y por su amistad.

Dr. Armando Ulloa García. Por el apoyo proporcionado en las labores de campo y laboratorio, y por ser mi cuñado.

Dr. Humberto Cuauhtémoc Lanz Mendoza. Por los estudios colaborativos y por ser mi tocayo.

Al personal del Insectario del CIP. M en C. Arnoldo Orozco Bonilla, QFB. José A. Nettel,

A los técnicos: Abel Alfaro, Martín Vázquez, Daniel A. Ramírez y Luis Orduña y Fernando Cano.



## **DEDICATORIA**

**A mis padres:**

**Dr. Juan Emilio Villarreal Stille y Mtra. Margarita Treviño de Villarreal**

**Con profundo agradecimiento por orientarme en la vida y por servirme de ejemplo,  
con cariño.**

**A mi Esposa**

**QFB. Iliana Rosalía Malo García**

**Por ser la pareja ideal. Con mucho amor**

**A mis Hijos: Israel Cuauhtémoc. Abraham David e Isaac Leví. Con mucho amor**

**A mis Hermanos:**

**Hernán, Leonardo, Margil, Margarita y Juan Emilio. Con aprecio.**

<b>INDICE GENERAL</b>	<b>PAGINA</b>
Indice de Cuadros	
Indice de Figuras	
<b>RESUMEN GENERAL</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>4</b>
<b>La malaria en el mundo.</b>	<b>9</b>
<b>La malaria en México.</b>	<b>13</b>
<b>Una fase sexual y tres asexuales en <i>Plasmodium</i>.</b>	<b>15</b>
<b>Ciclo de vida de <i>Plasmodium</i> en el mosquito.</b>	<b>18</b>
<b>Ciclo de vida de <i>Plasmodium</i> en el humano.</b>	<b>19</b>
<b>Signos y síntomas de la enfermedad.</b>	<b>20</b>
<b>Clase Insecta</b>	<b>21</b>
<b>Orden Diptera</b>	<b>21</b>
<b>Familia Culicidae</b>	<b>22</b>
<b>Biología del vector: <i>Anopheles</i> sp.</b>	<b>23</b>
<b><i>Anopheles albimanus</i></b>	<b>32</b>
<b>El Concepto de metapoblación</b>	<b>34</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>36</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>37</b>
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	<b>37</b>
<b>REFERENCIAS CITADA</b>	<b>38</b>
<b>CAPITULO 1</b>	<b>49</b>
<b>FLUJO DE GENES DE <i>ANOPHELES ALBIMANUS</i> EN CHIAPAS</b>	
<b>UTILIZANDO COMO MARCADOR FENOTÍPICO LA RESISTENCIA</b>	
<b>A INSECTICIDAS.</b>	<b>50</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>51</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>52</b>
<b>IMPORTANCIA DEL ESTUDIO</b>	<b>54</b>



<b>ANTECEDENTES</b>	<b>57</b>
Clasificación de los insecticidas por uso en salud pública y ejemplos.	58
Organoclorados	58
Organo fosforados	59
Carbamatos	60
Piretroides	61
Uso intradomiciliar del DDT para el control del paludismo.	62
Modo de acción de los insecticidas.	63
Mecanismos de resistencia a insecticidas	65
Alteración del sitio de acción	66
Acetilcolinesterasa insensible (AChE)	66
Proteína del canal Na <sup>+</sup> alterada.	66
Insensibilidad nerviosa, resistencia al derribo "Kdr".	67
Alteración en los receptores GABA.	67
Metabolismo incrementado	68
Esterasas	68
Glutación S-Transferasa	69
Oxidasa dependientes del Citocromo P450	69
Penetración reducida	69
Manejo de Resistencia	70
Detección de la resistencia	71
Pruebas de Susceptibilidad	71
Pruebas Bioquímicas	72
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>74</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>75</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>76</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>83</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>86</b>

CONCLUSIONES	91
REFERENCIAS CITADAS	92
CAPITULO 2	121
FLUJO DE GENES DE <i>ANOPHELES ALBIMANUS</i> EN EL AMBITO MICROGEOGRÁFICO EN EL SUR DE CHIAPAS Y MACROGEOGRÁFICO: EN MÉXICO UTILIZANDO RAPD-PCR	122
RESUMEN	123
INTRODUCCIÓN	126
IMPORTANCIA DEL ESTUDIO	128
ANTECEDENTES	130
Genética de poblaciones.	130
Mecanismos de microevolución.	132
Mutación	132
Migración (Flujo de genes)	133
Deriva génica	135
Apareamiento aleatorio	136
Selección natural	136
Selección direccional	136
Selección estabilizadora	136
Selección disruptiva	137
Propiedades del los marcadores RAPD-PCR	137
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	143
HIPÓTESIS	143



<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>144</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>144</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>145</b>
<b>Colecta de mosquito en Chiapas</b>	<b>145</b>
<b>Área de estudio</b>	<b>145</b>
<b>Colecta de mosquitos en México</b>	<b>145</b>
<b>Extracción de DNA</b>	<b>149</b>
<b>Amplificación del DNA</b>	<b>150</b>
<b>Condiciones de la PCR</b>	<b>151</b>
<b>Electroforesis en gel de agarosa</b>	<b>151</b>
<b>Iniciadores oligonucleotidos</b>	<b>151</b>
<b>Análisis estadístico</b>	<b>152</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>154</b>
<b>A. Estudio Microgeográfico en Chiapas</b>	<b>154</b>
<b>A. Estudio Macrogeográfico en México</b>	<b>156</b>
<b>DISCUSIONES</b>	<b>158</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>166</b>
<b>REFERENCIAS CITADAS</b>	<b>167</b>

## INDICE DE CUADROS

	Pag.	
CAPITULO 1		
Cuadro 1.1	Localidades de colecta de <i>Anopheles albimanus</i> por agroecosistemas y sus coordenadas	102
Cuadro 1.2	Porcentaje de mortalidad de <i>Anopheles albimanus</i> por agroecosistemas con tres insecticidas en el sur de Chiapas, México. Hembras + machos F1 de un día de edad.	104
Cuadro 1.3	Susceptibilidad de <i>Anopheles albimanus</i> (machos + hembras) F1 de 1 día de edad, a los insecticidas DDT, deltametrina y ciflutrina por tipo de captura, en el sur de Chiapas, México.	105
Cuadro 1.4	Susceptibilidad de <i>Anopheles albimanus</i> al DDT, deltametrina y ciflutrina, por sexo y agroecosistemas en Chiapas, México.	106
Cuadro 1.5	Titulos de enzimas responsables de la resistencia a insecticidas en <i>Anopheles albimanus</i> entre cuatro agro-ecosistemas del sur de Chiapas, México.	107
Cuadro 1.6	Inhibición de la actividad del AchE por propoxur en <i>Anopheles albimanus</i> de 1 día de edad por tipo de captura en los diferentes agro-ecosistemas en el sur de Chiapas.	

	Media $\pm$ Desv.	108
Cuadro 1.7	Actividad de esterasa en <i>Anopheles albimanus</i> de 1 día de edad: $\mu$ mol de $\alpha$ esterasas por cuatro tipos de captura, en diferentes agroecosistemas del sur de Chiapas. Media $\pm$ Desv. estandar nmol de producto/min/mg/proteína.	109
Cuadro 1.8	Actividad de esterasa en <i>Anopheles albimanus</i> de 1 día de edad: $\mu$ mol de $\beta$ esterasas por cuatro tipos de captura, en diferentes agroecosistemas del sur de Chiapas. Media $\pm$ Desv. estandar nmol de producto/min/mg/proteína.	110
Cuadro 1.9	Actividad de esterasa en <i>Anopheles albimanus</i> de 1 día de edad, actividad del sustrato pNPA por cuatro tipos de captura, en diferentes agroecosistemas del sur de Chiapas. Media $\pm$ Desv. estandar $\mu$ mol/min/mg/proteína.	111
Cuadro 1.10	Actividad de GST en <i>Anopheles albimanus</i> de 1 día de edad, en cuatro tipos de captura, en diferentes agroecosistemas del sur de Chiapas. Media $\pm$ Desv. estandar nmol de producto/min/mg/proteína.	112

Cuadro 1.11	<p><b>Monooxigenasas dependientes de citocromo P450 en <i>Anopheles albimanus</i> de 1 día de edad, por cuatro tipos de captura, en diferentes agroecosistemas del sur de Chiapas.</b></p> <p><b>Media <math>\pm</math> Desv. estandar nmol unidades equivalentes de citocromo P450/mg/proteína.</b></p>	113
<b>CAPITULO 2</b>		
Cuadro 2.1	<p><b>Localidades de colecta de <i>Anopheles albimanus</i> en el ámbito nacional y sus coordenadas.</b></p>	148
Cuadro 2.2	<p><b>Número de marcadores genéticos y la secuencia de los iniciadores seleccionado en <i>Anopheles albimanus</i> procedentes de Chiapas, México.</b></p>	178
Cuadro 2.3	<p><b>Distancia genética de Nei (1972) (abajo) y distancia geográfica (arriba) en <i>Anopheles albimanus</i> entre agroecosistemas.</b></p>	179
Cuadro 2.4	<p><b>Matriz de y distancia genética de Nei (abajo) y distancia geográfica (arriba) en <i>Anopheles albimanus</i> por localidades del sur de Chiapas, México.</b></p>	180
Cuadro 2.5	<p><b><math>F_{ST}</math> estadística y tasa efectiva de migración (<math>Nm</math>) dentro de agroecosistemas y entre localidades, por tres métodos en</b></p>	



	<i>Anopheles albimanus</i> de Chiapas, México.	181
Cuadro 2.6	Tasa efectiva de migración ( <i>Nm</i> ), entre agroecosistemas en <i>Anopheles albimanus</i> de Chiapas, Mexico.	182
Cuadro 2.7	Matriz de distancia genética de Nei (1972) (abajo) y distancia geográfica (arriba) de <i>Anopheles albimanus</i> en República Mexicana.	185
Cuadro 2.8	Valores promedio de <i>Fst</i> y <i>Nm</i> en <i>Anopheles albimanus</i> entre diferentes estados de la República Mexicana.	186

## INDICE DE FIGURAS

ANTECEDENTES	PAGINA
Fig. 1. Distribución geográfica de la Malaria en el mundo (Knell, 1991)	10
Fig. 2. Zonas de acuerdo a la distribución geográficas de las principales especies vectoras de <i>Anopheles</i> (Macdonald, 1957)	11
Fig. 3. Areas palúdicas de México mostrando las diferentes zonas de riesgo (fuente: DGE/SSA, 1998-2000).	14
Fig. 4. Numero de casos de paludismo desde 1942 a 2000 en México (DGE/SSA, 1998-2000)	16
Fig. 5. Ciclo de vida de <i>Plasmodium vivax</i> en el humano y en el mosquito (Knell, 1991)	17
Fig. 6. Mosquito anophelino hembra, vista lateral (Wilkerson, 1990)	24
Fig. 7. Diferencias entre los géneros <i>Anopheles</i> , <i>Culex</i> y <i>Aedes</i> (Bruce-Chwatt, 1985)	27
Fig. 8. Anatomía de la proboscide de una hembra adulta (Bruce-Chwatt, 1985)	28
Fig. 9. Sección longitudinal de una hembra de mosquito, se indican los sistemas digestivo y reproductor (Bruce-Chwatt, 1985)	28
Fig.10. Ciclo de vida y ciclo gonotrófico de una hembra <i>Anopheles</i> (Knell, 1991)	31
Fig.11. Distribución geográfica de <i>Anopheles albimanus</i> en México y Centro América (Fleming, 1991)	33
Fig 12. Tres diferentes clases de modelos que podrían ser utilizados para describir El flujo génico entre poblaciones (Sork, 1998)	35
 CAPITULO 1	
Fig. 1.1 Area de colecta de <i>Anopheles albimanus</i> y distribución de las cinco áreas agroecológicas en el sur de Chiapas, México.	103

- Fig 1.2. Porcentaje de Inhibición de la acetilcolinesterasa en *An.albimanus* (F1 machos + hembras, de 1 día de edad) por tipo de captura, pertenecientes a cuatro áreas agroecológicas del sur de Chiapas, México. 114
- Fig 1.3. Actividad enzimática con el sustrato pNPA de *Anopheles albimanus* (F1 machos + hembras, de 1 día de edad) por tipo de captura en cuatro áreas agroecológicas en el sur de Chiapas, México. 115
- Fig 1.4. Actividad de glutatión s- transferasa (GsT) con el sustrato dicloronitrobenzeno *Anopheles albimanus* (F1 machos + hembras, de 1 día de edad) por tipo de captura en cuatro áreas agroecológicas en el sur de Chiapas, México. 116
- Fig 1.5. Actividad de esterases con el sustrato  $\alpha$ -naftil acetato en *Anopheles albimanus* (F1 machos + hembras, de 1 día de edad) de diferentes localidades pertenecientes a cuatro áreas agroecológicas en el sur de Chiapas, México. 117
- Fig 1.6. Actividad de esterases con el sustrato  $\beta$ -naftil acetato en *Anopheles albimanus* (F1 machos + hembras, de 1 día de edad) de diferentes localidades pertenecientes a cuatro áreas agroecológicas en el sur de Chiapas, México. 118
- Fig 1.7. Promedio de citocromo P 450 que representa la actividad de monooxigenasas en *Anopheles albimanus* (F1 machos + hembras, de 1 día de edad) de diferentes localidades pertenecientes a cuatro áreas agroecológicas en el sur de Chiapas, México. 119
- Fig 1.8. Pruebas bioquímicas por sexo de *Anopheles albimanus* en las cuatro áreas agroecológicas del sur de Chiapas, México. Mosquito F1 de 1 día de edad. 120

## CAPITULO 2

Fig. 2.1	Área de estudio para determinar el flujo de genes en <i>Anopheles albimanus</i> en el ámbito macrogeográfico en México.	147
Fig. 2.2	Árbol de distancia genética de Nei (1972) utilizando el método de grupos pares no ponderado (UPGMA) en 20 localidades después de 100 replicas del análisis Bootstrap.	183
Fig 2.3	Árbol de distancia genética de Nei (1972) utilizando el método de grupos pares no ponderado (UPGMA) en cinco agroecosistemas después de 100 replicas del análisis Bootstrap.	184
Fig 2.4	Árbol de distancia genética de Nei (1972) utilizando el método de grupos pares no ponderado (UPGMA) entre diferentes estados de la República mexicana después de 100 réplicas del análisis Bootstrap.	187