



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

## **CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

### **DESARROLLO DE *Comadia redtenbacheri* (LEPIDOPTERA: COSSIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

**KALINA MIRANDA PERKINS**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2013**

La presente tesis, titulada: **Desarrollo de *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) en condiciones de laboratorio**, realizada por el alumna: Kalina Miranda Perkins, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. MARÍA CELINA MICAELA LLANDERAL CÁZARES

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. HÉCTOR MANUEL DE LOS SANTOS POSADAS

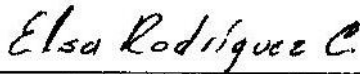
ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. LIBERATO PORTILLO MARTÍNEZ

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. ANA LILIA VIGUERAS GUZMÁN

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. MARÍA ELSA RODRÍGUEZ CONTRERAS

Montecillo, Texcoco, México, 30 de agosto de 2013

## DESARROLLO DE *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Kalina Miranda Perkins, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2013

*Comadia redtenbacheri*, conocido como gusano rojo del maguey, es un insecto comestible sobreexplotado debido a su valor comercial, lo que ha originado interés por la conservación de las poblaciones silvestres y la formación de unidades de producción. Sin embargo, todavía existen grandes lagunas e información errónea para la identificación de la especie y en el estudio de su desarrollo. Para tratar de determinar qué factores son indispensables en la pupación y el apareamiento de la especie, bajo condiciones de confinamiento se establecieron una serie de experimentos. Se determinó que el sustrato más adecuado para su desarrollo pupal es la mezcla de suelo arenoso de las zonas de incidencia natural de la especie con vermiculita en la proporción 50:50. La humidificación del sustrato no tiene un efecto significativo. Al utilizar larvas sin manipulación comercial la emergencia de adultos aumenta significativamente con respecto a las manipuladas. Las larvas de quinto instar con peso de 0.30 a 0.39 g no presentan diferencias significativas en la probabilidad de emerger como adultos con respecto a las de mayor peso. La proporción de sexos, en su estado adulto, fue de 1.4:1.0 hembras a machos. Al realizar cruza se detectaron diferencias de fecundidad entre las combinaciones 3:3, 2:1 y 3:1, con la media más alta en la primera de éstas, por lo que se infiere que al ir aumentando el número de individuos en igual proporción de hembras a machos, se obtendrán mejores resultados de oviposición. La segunda y tercera proporción de sexos presentan los niveles más bajos, efecto que se ve modificado al incrementar el número de machos. Con el objetivo de aumentar la precisión en el reconocimiento de *C. redtenbacheri*, se tomaron fotografías e imágenes en microscopio electrónico de barrido, de estructuras externas representativas de las etapas inmaduras y del adulto.

**Palabras clave:** Gusano rojo del maguey, pupa, cría de insectos comestibles, pupación, apareamiento, morfología externa.

## DEVELOPMENT OF *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) IN THE LABORATORY

Kalina Miranda Perkins, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2013

*Comadia redtenbacheri*, known as the agave red worm, is an edible insect that has been overexploited because of its commercial value. Its value as a marketable good has awoken interest in preserving wild populations and in constructing production units. However, in identification of the species and in the study of their development there are large gaps and erroneous information. To determine which factors are essential to pupation and mating under conditions of confinement, a series of experiments were set up. We determined that the most suitable substrate for pupal development is the mixture of soil from areas of the species' of natural incidence and vermiculite in a 50:50 proportion. Moisture in the substrate does not have a significant effect. When using larvae that had not been handled for commercial purposes, emergence of adults increases significantly, relative to those that had been handled. The larvae of the fifth instar, weighing 0.30 to 0.39 g, was not significantly different in the probability of emerge as adults from that of the sixth and seventh instars, 0.40 g or more. The proportion of sexes in the adult stage was 1.4:1.0 females to males. In breeding the insects there were differences in fecundity among the combinations 3:3, 1:2 and 1:3: the highest mean was achieved with the first proportion. This suggests that, when the number of females to equal to the number of males, better oviposition is obtained. The second and third proportions resulted in lower levels of oviposition, but as the number of males increased, so did oviposition. To increase precision in identification of *C. redtenbacheri*, photographs and electronic scanning microscope images were taken of the external structures representative of the immature and adult stages.

**Key words:** Agave redworm, pupae, edible insect rearing, pupation, mating, external morphology.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi doctora Celina, a la cual ya podré llamar solo por su hermoso nombre, sin menoscabo del respeto si no por significar una profunda amistad. A mis queridos maestros, como siempre apasionados en su labor, gracias por permitirme hacer mis sueños realidad. A mis raíces, que no puedo olvidar, estoy sembrada y creciendo sobre ellas, las amo, mi familia.

A mis amigos, que con ellos este proceso fue posible y divertido: Mari botánica, Mari ganadera, Dr. NasaKw7 (por inspirar con arte la ciencia), Gerardo, Manuel, Sra. Susana (tan comprometida con su labor) y el primero Víctor, con mayúsculas, por obvias, sublimes, coloridas y amorosas razones.

Con respeto y agradecimiento a CONACYT, una institución funcional, importante, con la labor generosa del apoyo a la educación, que tanta falta hace y a pesar de estar dentro de este sistema gubernamental, dignifica el trabajo de los mexicanos. Por cierto a este pueblo explotado, que me ha permitido estudiar, gracias.

A los campos, pastos, árboles, insectos y flores del Colegio de Posgraduados. Al agave planta noble, mágica que ha fundado mi cultura mexicana, y a su más hermoso cohabitante, su gusano rojo.

Y esta vez no invertiré en desagradecimientos, la historia nos los dirá.

Marichiweu.

## CONTENIDO

Página

<b>INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
3. LITERATURA CITADA .....	3
<b>CAPÍTULO I. Desarrollo pupal de <i>Comadia redtenbacheri</i> (Lepidoptera: Cossidae) en condiciones de laboratorio.....</b>	<b>5</b>
RESUMEN .....	5
ABSTRACT.....	6
1.1. INTRODUCCIÓN .....	7
1.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
1.2.1. Descripción de Zonas de Colecta de las Larvas .....	9
1.2.2. Subprovincia de los Llanos y Sierras de Querétaro e Hidalgo .....	9
1.2.3. Subprovincia de Lagos y Volcanes de Anáhuac en el Estado de México .....	10
1.2.4. Trabajo de campo y gabinete .....	10
1.2.5. Trabajo de Laboratorio .....	10
1.2.6. Evaluación de Sustratos y Humedad .....	12
1.2.7. Efecto del Manejo de las Larvas y de la Humidificación del sustrato en la emergencia de los Adultos .....	12
1.2.8. Pupación, Emergencia de Adultos y Proporción de Sexos, de Acuerdo al Peso de las Larvas.....	12
1.2.9. Muestreo Destructivo .....	13
1.2.10. Efecto del Manejo de las Larvas, del Tipo de Sustrato y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos.....	13
1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
1.3.1. Evaluación de Sustratos y Humedad.....	15
1.3.2. Efecto del Manejo de las Larvas y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos .....	16
1.3.3. Pupación, Emergencia de Adultos y Proporción de Sexos, de Acuerdo al Peso de las Larvas.....	17
1.3.4. Muestreo Destructivo .....	19
1.3.5. Efecto del Manejo de las Larvas, Tipo de Sustrato y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos.....	21
1.4. CONCLUSIONES.....	24
1.5. AGRADECIMIENTOS .....	24
1.6. LITERATURA CITADA.....	25

<b>CAPÍTULO II. Cruzas con diferente proporción de sexos en <i>Comadia redtenbacheri</i> (Hammerschmidt)</b> .....	<b>29</b>
RESUMEN .....	29
ABSTRACT.....	30
2.1. INTRODUCCIÓN .....	31
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
2.3.1. <i>Análisis de comparación múltiple de cruzas con diferentes proporciones de sexos</i> .....	34
2.3.2. <i>Análisis de frecuencias de cruzas con diferentes proporciones de sexos</i> .....	36
2.3.3. <i>Fecundidad de hembras</i> .....	37
2.4. CONCLUSIONES.....	39
2.5. LITERATURA CITADA .....	39
<b>CAPÍTULO III. Ilustraciones de la morfología externa distintiva de <i>Comadia redtenbacheri</i></b> .....	<b>41</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	<b>48</b>
<b>ANEXO A</b> .....	<b>49</b>

## LISTA DE CUADROS

## Página

Cuadro 1. Influencia de sustratos y riego en la emergencia de adultos de <i>Comadia redtenbacheri</i> .....	15
Cuadro 2. Efecto de la manipulación de las larvas y de la humedad del sustrato en la emergencia de adultos de <i>Comadia redtenbacheri</i> .....	17
Cuadro 3. Capacidad de pupación y de emergencia de adultos de <i>Comadia redtenbacheri</i> con respecto al peso de las larvas.....	18
Cuadro 4. Emergencia de adultos de <i>Comadia redtenbacheri</i> y proporción de sexos con relación al peso de las larvas.....	19
Cuadro 5. Efecto de sustratos, manipulación y humedad en la emergencia de adultos de <i>Comadia redtenbacheri</i> .....	22
Cuadro 6. Contraste de comparación múltiple de medias mediante las técnicas de Bonferroni y Tukey para las cruzas de <i>C. redtenbacheri</i> con diferentes proporciones de sexos.....	36
Cuadro 7. Tabla de frecuencias del total de oviposturas por tipo de crusa y por número de hembras y machos.....	37
Cuadro 8. Número de huevos por hembra en cruzas de 1:1 y el promedio a partir de cuatro cruzas. ....	38
Cuadro 9. Número aproximado de huevos que conforman una masa.....	38



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Características de una de las cabinas de pupación que permiten el control individual de las pupas, las cuales se sostienen en charolas con una capa de suelo en el fondo.....11
- Figura 2. Grado de avance en meses hacia la transformación a adultos de larvas de *Comadia redtenbacheri* con pesos a partir de 0.30 g, ubicadas en diferentes tratamientos..... 20
- Figura 3. Número de individuos de *Comadia redtenbacheri* no desarrollados por posible desecación, enfermedad o parasitismo. N = 164 capullos tomados al azar en los cuatro muestreos destructivos durante el periodo de pupación.....21
- Figura 4. Histograma de los porcentajes de emergencia de adultos de acuerdo al tipo de tratamiento. CM: Con manipulación comercial, SM: Sin manipulación comercial. S1: Suelo de las áreas magueyeras donde fueron colectadas las larvas; S4: Mezcla 50:50 de suelo con vermiculita.....23
- Figura 5. *Comadia redtenbacheri*. (A) Masa de huevos; (B) polo anterior del huevo, mostrando el micrópilo (flecha); (C) polo posterior del huevo; (D) micrópilo.....42
- Figura 6. *Comadia redtenbacheri*. (A) Huevo eclosionado y larva de primer instar; (B) larva de tercer instar sobre hoja de *Agave salmiana* Otto ex Salm; (C) larva de quinto instar; (D) larva de séptimo instar.....43
- Figura 7. *Comadia redtenbacheri*. (A) Pupa hembra, vista dorsal; (B) pupa hembra, vista lateral; (C) pupa hembra, vista ventral; (D) pupa macho, vista dorsal; (E) pupa macho, vista lateral; (F) pupa macho, vista ventral; (G) adulto farate, vista ventral; (H) adulto farate, vista lateral; (I) cauda de pupa hembra; (J) cauda de pupa macho.....44
- Figura 8. *Comadia redtenbacheri*. (A) Adulto hembra; (B) adulto macho; (C) vista frontal de la cabeza del adulto sin escamas ni palpos labiales.....45
- Figura 9. *Comadia redtenbacheri*. (A) Fotografía de la antena de adulto hembra; (B) fotografía de la antena de adulto macho, vista dorsal; (C) imagen de la antena de adulto hembra; (D) imagen de la antena de adulto macho; (E) acercamiento a la antena de adulto hembra; (F) acercamiento a la antena de adulto macho; (G) acercamiento a la antena de adulto macho,

mostrando el s3nsulo apical; (H) s3nsulo de la antena de adulto hembra.....46

Figura 10. *Comadia redtenbacheri*. Hembra (A y C] alas anterior y posterior con escamas, (B y D) alas anterior y posterior sin escamas Macho (E y G) alas anterior y posterior con escamas, (F y H) alas anterior y posterior sin escamas.....47

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1. Planteamiento del problema

*Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt) conocido en su etapa larval como gusano rojo del maguey, pertenece al orden Lepidoptera y a la familia Cossidae, para la que se reportan 11 especies distribuidas en Estados Unidos de Norteamérica y sólo *C. redtenbacheri* para México con las siguientes sinonimias: *Zeuzera redtenbacheri* Hammerschmidt, 1848; *Bombix agavis* Blásquez, 1870; *Hypopta chilodora* Dyar, 1910 e *H. redtenbacheri* Dyar, 1937 (Brown 1976). Las principales especies que albergan en la base de sus hojas y después en su rizoma al gusano rojo, son magueyes pulqueros tales como *Agave salmiana* Otto ex Salm, *A. mapisaga* Trel. y *A. atrovirens* Karw. ex Salm (Camacho et al. 2003).

Las larvas de *C. redtenbacheri* se han comercializado para su consumo como alimento y en la industria del mezcal, siendo la fuente principal de abastecimiento la cosecha silvestre, situación que señala Yen (2009) para otros insectos comestibles. Anualmente el insecto se colecta intensivamente (Encabo 2000) del rizoma de los agaves hospedantes, lo que ocasiona su eliminación constante, sin que haya replantaciones posteriores (Llanderal-Cázares et al. 2007). Además estas plantas son poco cultivadas y se propagan a partir de hijuelos o rizomas por ser más rápido que por semillas, pero aun así uno de los inconvenientes es su lento crecimiento (Malda et al. 1999), teniendo que esperar más de dos años para que un hijuelo o renuevo alcance tallas propicias para el establecimiento del insecto (Llanderal-Cázares et al. 2010). La abundancia del gusano rojo del maguey es cada vez menor, debido en gran parte al descenso drástico del hospedante y a su sobreexplotación, pero también a su ciclo de vida largo, comportamiento complejo, desconocimiento de su biología (Llanderal-Cázares et al. 2007) y a la susceptibilidad al ataque de enfermedades y parasitoides (*Acantholespesia texana* y *Lissonota*

*fascipennis*) (Zetina et al. 2009), lo que influye en los altos precios del gusano rojo del maguey.

Existe el interés por mantener a la especie en confinamiento bajo condiciones controladas, induciendo las larvas a la pupación para obtener adultos con diferentes fines, que incluyen desde estudios básicos hasta los que consideran su liberación en unidades de producción (Nolasco 2002, Camacho et al. 2003 y 2005, Llanderal-Cázares et al. 2007). Sin embargo, para el manejo de cualquier especie de insecto, ya sea para su conservación, control o propagación, es fundamental el conocimiento de su morfología y biología. En el caso de *C. redtenbacheri* esta información es sumamente escasa y sin ella es difícil llegar a establecer una técnica de producción sustentable.

La información sobre la etapa de pupación es indispensable para el mantenimiento de los insectos en condiciones de confinamiento (Guillott 2005) y en el caso de *C. redtenbacheri* se desconocen aspectos básicos como son el nivel de madurez en el que las larvas pueden ser capaces de pupar, el impacto que genera la manipulación de las larvas por parte de los recolectores y vendedores y las condiciones adecuadas para la formación de las pupas, lo que incide directamente en la emergencia de adultos y la capacidad de reproducción de estos. Forschler y Nordin (1989) argumentan que los estudios de lepidópteros barrenadores son limitados, debido a la falta de métodos efectivos para producir un número suficiente de estos insectos y mencionan que en el caso específico de la cría del gusano carpintero *Prionoxystus robiniae*, otra especie de la familia Cossidae, han persistido una serie de problemas en el procedimiento de apareamiento, esencial para mantener cualquier cría en laboratorio.

El hábito barrenador de *C. redtenbacheri* durante la fase larval, el que la pupa permanezca dentro de un capullo en el suelo y la vida efímera del adulto de tres a cinco días, han complicado el reconocimiento morfológico de la especie. Además el hecho de que los individuos sean consumidos únicamente en la etapa de larva madura, hace que se carezca

de información que vincule las diferentes etapas de desarrollo del insecto, lo cual es una limitante importante para su manejo, al igual que para otras especies mencionadas por Yen (2012).

## **2. Objetivos**

- Definir las condiciones adecuadas para la pupación de *C. redtenbacheri*, con relación a la manipulación de las larvas durante la colecta y acopio, su peso al ser inducidas a pupar y el tipo de sustrato y la humedad del mismo proporcionados durante esta etapa de desarrollo.
- Detectar diferencias de fecundidad entre cruzas con proporciones variadas de hembras a machos, en condiciones de laboratorio.
- Ilustrar algunas características morfológicas externas distintivas de *C. redtenbacheri* en etapas inmaduras y en el adulto.

## **3. Literatura citada**

- BROWN, R. M. 1976. A revision of the North American *Comadia* (Cossidae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 14: 189-212.
- CAMACHO, A. D., SÁNCHEZ H., JIMÉNEZ J. L., Y NOLASCO M. A. 2003. Observaciones en condiciones de laboratorio de la biología del “gusano rojo del maguey” *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana* 2: 281-287.
- CAMACHO, A. D., NOLASCO M. A., JIMÉNEZ J. L. Y RIVERA F. T. 2005. Reintroducción de maguey y cultivo del gusano rojo *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana* 4: 599-603.
- ENCABO, J. E. 2000. Mezcal, bebida de los dioses. (<http://www.afuegolento.com/noticias/39firmas/encabo/1610/-44K>, agosto, 2012).

- FORSCHLER, B. T., Y NORDIN G. L. 1989. Techniques for rearing the wood borers *Prionoxystus robiniae* (Lepidoptera: Cossidae) and *Paranthrene dollii* (Lepidoptera: Sesiidae). The Florida Entomologist 72: 224-226.
- GUILLOTT, C. 2005. Entomology. 3<sup>th</sup> ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- LLANDERAL-CÁZARES, C., NIETO-HERNÁNDEZ R., ALMANZA-VALENZUELA I., Y ORTEGA-ÁLVAREZ C. 2007. Biología y comportamiento de *Comadia redtenbacheri* (Hamm) (Lepidoptera: Cossidae). Entomología Mexicana 6: 252-255.
- LLANDERAL-CÁZARES, C., DE LOS SANTOS-POSADAS H. M., ALMANZA-VALENZUELA I., NIETO-HERNÁNDEZ R., Y CASTILLEJOS-CRUZ C. 2010. Establecimiento del gusano rojo en plantas de maguey en invernadero. Acta Zoológica Mexicana 26:1-6.
- MALDA, B., BACKHAUS R., Y SUZAN H. 1999. *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing Crassulacean acid metabolism. Scientia Horticulturae 81: 71-87.
- NOLASCO, M. A., JIMÉNEZ, L. J., Y CAMACHO, A. D. 2002. Introducción a la pupación y colonización del gusano rojo del maguey *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). Entomología Mexicana 1: 125-130.
- YEN, A. L. 2009. Entomophagy and insect conservation: some thoughts for digestion. Journal for Insect Conservation 13:667-670.
- YEN, A. L. 2012. Edible insects and management of country Ecological Management & Restoration 13: 97-99.
- ZETINA, D. H., LLANDERAL-CÁZARES, C., RUÍZ-CANCINO, E., Y KHALAIM, A. I. 2009. Registro para México de *Lissonota fascipennis* Townes (Hymenoptera: Ichneumonidae), como parasitoide del gusano rojo del maguey. Acta Zool. Mexicana (n. s.) 25: 655-657.

## **CAPÍTULO I. Desarrollo pupal de *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) en condiciones de laboratorio**

### **Resumen**

Con el objeto de definir las condiciones adecuadas para la pupación en confinamiento de *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt), un insecto comestible en su estado larval, se evaluó el efecto de la manipulación de las larvas durante la colecta y acopio, su peso al ser inducidas a pupar, así como el tipo de sustrato y la humidificación del mismo proporcionados durante esta etapa de desarrollo, durante dos años consecutivos. Los factores fueron analizados con regresión logística (PROC GENMOD,  $\alpha = 0.05$ ), con respecto a la emergencia de adultos. La relación entre el peso y el sexo de los adultos se analizó con una tabla de contingencia. Las larvas presentaron adaptación a los diferentes sustratos utilizados para la pupación, los que incluso pueden ser reutilizados. Resultó más adecuada la mezcla de suelo arenoso de las áreas magueyeras con vermiculita en proporción 50:50. La humidificación del sustrato no tiene un efecto significativo en el proceso de pupación. De acuerdo con la prueba de Chi-Cuadrada, las larvas de quinto instar con peso de 0.30 a 0.39 g que logran pupar y emerger como adultos, no presentan diferencias significativas con las larvas de sexto y séptimo instares y peso de 0.40 g o más. Los machos emergieron principalmente de puparios producidos por las larvas de pesos menores, mientras que las hembras lo hicieron de puparios que albergaron a las larvas de mayor peso.

**Palabras clave:** Gusano rojo del maguey, pupa, insectos comestibles, cría de insectos.

## ***Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) pupal development in the laboratory**

### **Abstract**

Wild populations of *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt), known in its larval stage as agave red worm, are gathered intensively for sale and human consumption. To define adequate conditions for its pupation in confinement, the effect of handling larvae during collection, their weight when induced to pupate, substrate type and the moisture content provided during this stage of development, were evaluated over two consecutive years. The factors were analyzed with a logistic regression (PROC GENMOD,  $\alpha = 0.05$ ), relative to the proportion of emerged adults. The relationship between larval weight and adult gender was analyzed with a contingency table. The larvae exhibited adaptation to different substrates used for pupation, which could be reused. The sandy soil from areas where agaves grow, mixed with vermiculite (50:50), was the most suitable substrate. Moisture had no significant effect on the pupation process. Emergence of adults was significantly higher from larvae that had not been handled commercially relative to emergence from those acquired from vendors. According to the Chi-square test, the capacity to pupate by larvae of the fifth instar, weighing 0.30 to 0.39 g, was not significantly different from that of the sixth and seventh instars, 0.40 g or more. Males emerged mainly from cocoons produced by the smallest larvae, while females emerged mainly from cocoons by heavier larvae.

**Key words:** Agave red worm, pupa, edible insect, insect rearing.



## 1.1. Introducción

La pupación es una etapa de importancia desde el punto de vista fisiológico y morfológico, en la que se produce una reconstrucción interna que permite la formación e inserción de los músculos del adulto a la cutícula y el pleno desarrollo de las alas y de la genitalia (Mehta 1933, Chapman 1998, Gullan y Cranston 2010). Con frecuencia los lepidópteros requieren de un año para completar su ciclo de vida y desarrollan una pupa de tipo obtecta, en la que las alas y apéndices del cuerpo se adhieren mediante una secreción producida por las larvas y el abdomen es relativamente inmóvil (Chapman 1998, Triplehorn y Johnson 2005). Para pupar, las larvas de Lepidoptera construyen un capullo o pupario de estructura ovoide, el cual consolidan con seda proveniente de sus glándulas salivales, partículas de suelo, pequeñas piedras e incluso fragmentos de vegetación (Collin et al. 2010). El capullo garantiza cierta protección contra los depredadores, agentes microbianos y cambios severos en las condiciones climáticas (Guillott 2005).

*Comadia redtenbacheri* lleva a cabo la pupación en el suelo aproximadamente a 5 cm de la superficie (Almanza-Valenzuela 2007) durante un periodo de 3.5 a 4.0 meses. Al principio las pupas son de un color casi blanco, pero con el transcurso de los días se van pigmentando hasta alcanzar una tonalidad oscura y en la parte final del abdomen, en posición ventral, se identifican marcas cuticulares típicas de machos y hembras que permiten el sexado de los individuos (Llanderal-Cázares et al. 2007). La pupa tiene una serie de espinas a manera de ganchos en la parte dorsal del abdomen, que la ayudan en la excavación hacia la superficie del suelo antes de la eclosión (Brown 1976). Las larvas y pupas de *C. redtenbacheri* son afectadas por agentes microbianos y por parasitoides de las especies *Lissonota fascipennis* Townes (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Zetina et al. 2009) y *Acantholespesia texana* (Aldrich & Webber) (Diptera: Tachinidae) (Zetina et al. 2012) que afectan los programas de producción

del gusano rojo del maguey, por lo que es importante la selección de larvas que se emplearán para iniciar una cría que permita obtener adultos para su apareamiento y oviposición (Zetina et al. 2011).

La duración de la pupación en cualquier especie está determinada por factores tanto bióticos como abióticos, siendo los de mayor importancia la humedad relativa para evitar la deshidratación, la temperatura porque influye en la duración del ciclo de vida del insecto y el fotoperiodo que regula las actividades fisiológicas diarias o estacionales (Véjar 2004). El suelo es otro factor importante, ya que constituye el hábitat de muchas especies que interactúan con él y cuya textura-estructura puede limitar el desarrollo de los insectos cuando es diferente a la que está adaptada una especie (Romero y Villanueva 2000). La combinación de factores ambientales como los mencionados anteriormente determina el éxito de la pupación, que constituye una etapa crítica en el desarrollo del insecto y que se complica en condiciones de confinamiento al limitar la emergencia de los adultos (Guillott 2005). Los componentes ambientales son fáciles de medir, pero su impacto en las poblaciones de insectos es difícil de definir y si no se controlan sus efectos es imposible establecer un método de cría (Montoya et al. 2008) que permita su manejo con fines de investigación, conservación y eventual comercialización.

La información sobre la etapa de pupación del gusano rojo del maguey es indispensable para el manejo de la especie en condiciones de confinamiento, ya que actualmente sólo a partir de las larvas procedentes de colectas masivas en campo, se pueden establecer colonias de la especie con propósitos de investigación, entre otros, pero incluso se desconoce la etapa de desarrollo en la que las larvas de *C. redtenbacheri* pueden ser capaces de pupar, lo que incide directamente en la emergencia de adultos y la capacidad de reproducción de estos.

Esta investigación tuvo como objetivo definir las condiciones adecuadas para la pupación de *C. redtenbacheri*, con relación a la manipulación de las larvas durante la colecta y acopio, su peso al ser

inducidas a pupar y el tipo de sustrato y la humidificación del mismo proporcionados durante esta etapa de desarrollo.

## **1.2. Materiales y Métodos**

### *1.2.1. Descripción de Zonas de Colecta de las Larvas*

Las larvas utilizadas como pie de cría se obtuvieron de diferentes localidades ubicadas en la región noroeste del Estado de México (Ixtapaluca, Coatepec, Pirámides, Otumba, San Pedro, Tezoutlalpan y Tianguistengo) y también de comunidades colindantes pertenecientes al estado de Hidalgo (El Puerto, Pozos y Peña Colorada). Se utilizaron larvas provenientes de diversos sitios para contar con una amplia variabilidad genética, aspecto importante en la cría de insectos según lo expuesto por Parra (1979).

Los lugares antes citados forman parte de la provincia del eje neovolcánico, la cual se integra de la subprovincia de los llanos y sierras de Querétaro e Hidalgo y de la subprovincia de lagos y volcanes de Anáhuac. Forma parte de la región hidrológica de Lerma-Santiago y de El Balsas y del Pánuco en la menor proporción. El clima que predomina en el área es templado subhúmedo con lluvias en verano y semicálido subhúmedo (INEGI 2012).

### *1.2.2. Subprovincia de los LLanos y Sierras de Querétaro e Hidalgo*

Penetra en tres puntos de la parte norte del estado de México y cubre 1,415.29 km<sup>2</sup> (6.08 % de la superficie total de la entidad). Los municipios que quedan dentro de ésta son: Polotitlán y Soyaniquilpan en su totalidad y parte de Jilotepec, Aculco, Acambay, Chapa de Mota y Hueypoxtla. Aunque no hay gran diversidad de suelos, estos se caracterizan por ser muy fértiles y aptos para la agricultura y la ganadería (INEGI 2012).

### *1.2.3. Subprovincia de Lagos y Volcanes de Anáhuac en el Estado de México*

Ocupa 14,315.69 km<sup>2</sup> (61.6%) de la superficie estatal total, abarcando 84 municipios en su totalidad y 18 parcialmente. Presenta 27 tipos de suelos, entre ellos diferentes clases de cambisoles, fluvisoles y solonchaks, además de planosol éutrico, feozem calcárico, vertisol calcárico, regosol calcárico y gleisol húmico (INEGI 2012).

### *1.2.4. Trabajo de Campo y gabinete*

Se trabajó con cuatro muestras, dos de ellas colectadas durante el mes de septiembre de 2010 y las otras dos durante octubre de 2011. Las muestras fueron de dos tipos por año: a) “sin manipulación”, larvas que fueron extraídas del rizoma de los agaves por una sola persona para evitar su maltrato. b) “comercial”, consistió de larvas adquiridas en diferentes puntos de venta que proceden de colectas hechas por distintas personas, sin un cuidado especial durante su extracción del rizoma de los agaves hospedantes y que por lo general son manipuladas durante el proceso de colecta, acopio y distribución. Se seleccionaron las larvas de sexto y séptimo instares de acuerdo Hernández-Livera et al. (2005), que pesaban 0.40 g a casi 1.0 g, ya que, teniendo en cuenta las observaciones anteriores, posiblemente iniciarían la pupación una vez colocadas en el sustrato adecuado. Las larvas de quinto instar que pesaron entre 0.30 y 0.39 g, fueron confinadas en cabinas con suelo para definir su capacidad de pupación y la posible relación del peso de las larvas con el sexo de los adultos, comparado con el de las larvas con pesos de 0.40 g o más (sexto y séptimo instares).

### *1.2.5. Trabajo de Laboratorio*

En 2010 se indujeron a la pupación entre el 30 de septiembre y el 12 de octubre, bajo tres experimentos, y con la finalidad de integrar las diferentes condiciones evaluadas en la población colectada durante 2010 y probar un

sustrato más fácil de manejar, se llevó a cabo un cuarto experimento entre el 10 y el 15 de octubre de 2011. Éstos se mantuvieron en las siguientes condiciones ambientales: 40-50% de humedad relativa y  $20 \pm 5$  °C, mediante un humidificador y calefactores, además de 24 h de oscuridad. Debido a su hábito gregario, las larvas de *C. redtenbacheri* en condiciones de confinamiento tienden a construir cámaras comunes de pupación, lo que genera contaminación y causa su mortalidad, por lo que fue necesario mantener a los individuos separados. Los recipientes usados como cabinas de pupación individuales, consistieron de tubos de poliducto de 10 cm de largo y 3.18 cm ( $1 \frac{1}{4}$ ) de diámetro, sostenidos en bandejas o charolas de plástico de 36 x 29 x 12 cm, cada una de ellas con capacidad para 50 tubos, a los cuales se les agregó una capa de sustrato de 5 cm de profundidad para la pupación, misma que establecieron Roubos y Liburd (2010) para la pupación de la especie *Dasineura oxycoccana* (Figura. 1). Un muestreo destructivo se estableció para determinar el grado de avance hacia la transformación a pupa de las larvas ubicadas en los tres primeros experimentos.

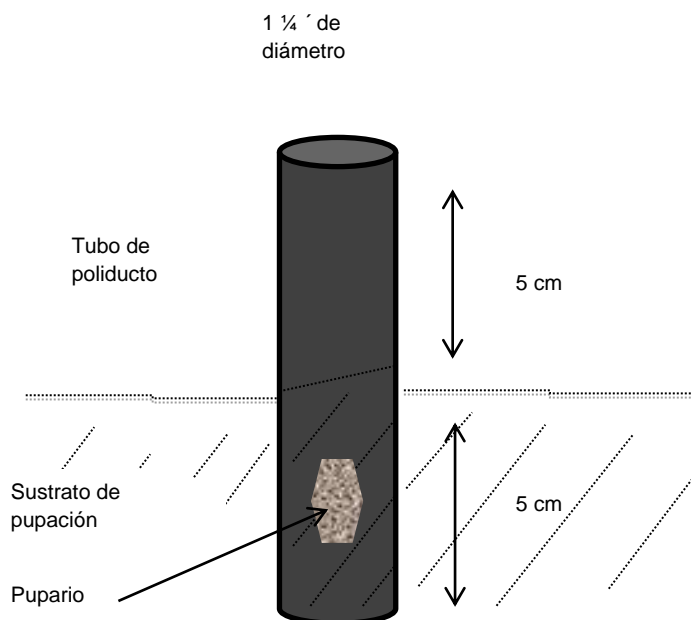


Figura 1. Características de una de las cabinas de pupación que permiten el control individual de las pupas, las cuales se sostienen en charolas con una capa de suelo en el fondo.

### *1.2.6 Evaluación de Sustratos y Humedad*

Los tratamientos de sustratos con y sin humidificación consistieron de cuatro charolas por tipo de sustrato (S1: Suelo arenoso de las áreas magueyeras donde fueron colectadas las larvas; S2: Mezcla 75:25 de suelo con vermiculita (INSULEX®, Aislantes y Acústicos, S. A.) y S3: Turba (peat moss) (Kekkila®). Cada charola contuvo 50 larvas, mismas que se redujeron a 46 debido a que fueron utilizadas para llevar a cabo el muestreo destructivo descrito más adelante. Se proporcionó humedad cada tres semanas a dos charolas por sustrato mediante la aspersión de 100 mL de agua por bandeja con un atomizador. Se registró el número de adultos emergidos por tratamiento y los resultados se analizaron mediante regresión logística (PROC GENMOD), con un valor de  $\alpha = 0.05$ .

### *1.2.7. Efecto del Manejo de las Larvas y de la Humidificación del sustrato en la emergencia de los Adultos*

Se establecieron seis bandejas, cada una con 50 larvas de la “muestra comercial” que fueron colocadas de manera individual en los tubos de poliducto. La mitad de las charolas fue sometida a riego, de igual forma que en el experimento anterior. Este procedimiento se repitió con larvas de la “muestra sin manipulación”. Como sustrato de pupación se utilizó suelo de áreas con magueyes que albergan larvas del gusano rojo. De la misma manera que en el experimento anterior, se registró el número de adultos emergidos por tratamiento y los resultados se analizaron mediante regresión logística (PROC GENMOD), con un valor de  $\alpha = 0.05$ .

### *1.2.8. Pupación, Emergencia de Adultos y Proporción de Sexos, de Acuerdo al Peso de las Larvas*

Para establecer este experimento se colocaron en las bandejas larvas con peso de 0.30 a 0.39 g y de 0.40 g o más, con cuatro repeticiones de 50 larvas por rango de peso. Todas tuvieron riego y como sustrato de pupación se empleó suelo nuevo en la mitad de las charolas y suelo

reutilizado en el resto, con el fin de probar si el usar el mismo suelo en dos ocasiones influye en el desarrollo de la pupación. Los resultados de emergencia de adultos de acuerdo al peso de las larvas y condición del suelo se analizaron con regresión logística (PROC GENMOD,  $\alpha = 0.05$ ) y los datos de proporción de sexos con respecto al peso se determinaron con el estadístico de prueba Chi-Cuadrada ( $X^2$ ).

#### *1.2.9. Muestreo Destructivo*

Las larvas se indujeron a pupación entre el 25 de septiembre y el 02 de octubre de 2011. En total se llevaron a cabo cuatro muestreos, uno a los dos meses y medio (14 de diciembre de 2010) de haber puesto las larvas en condiciones de pupación, los dos siguientes después de tres y cuatro meses y medio (14 de enero y 14 de febrero de 2011) y el último a los cinco meses (03 de marzo de 2011). Cada muestreo consistió en elegir al azar de diferentes charolas pertenecientes a los tres primeros experimentos un tubo que contuviera un capullo, 41 capullos en total. En los individuos no desarrollados se observó el estado en el que se detuvo su crecimiento (larva o pupa) y la posible causa de ello (hongos, bacterias o parasitismo).

#### *1.2.10. Efecto del Manejo de las Larvas, del Tipo de Sustrato y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos*

Se utilizaron 16 bandejas, la mitad de ellas contenían larvas de origen "comercial" y la otra mitad era "sin manipulación". Dentro de cada prueba cuatro bandejas tenían el tipo de sustrato S1 (suelo de las zonas magueyeras, donde se colectaron las larvas) y los otros cuatro tenían sustrato tipo S4 (50:50 mezcla de S1 y vermiculita). La humedad se proporcionó a dos bandejas con S1 y dos con S4. Finalmente se registró el número de adultos emergidos por tratamiento y los resultados se analizaron mediante regresión logística (PROC GENMOD), con un valor de  $\alpha = 0.05$ .

Se hizo uso de la prueba de regresión logística para el análisis de los resultados de los experimentos anteriores, debido a que es un tipo especial de regresión que se utiliza para explicar y predecir una variable categórica binaria en función de varias variables independientes que pueden ser cuantitativas o cualitativas (Agresti 2002). En esta investigación la variable dependiente fue la emergencia o no emergencia de adultos de *C. redtenbacheri* a partir de larvas, en función de las variables categóricas integradas en los tratamientos. Para que la aplicación del modelo de regresión logística resulte procedente debe cumplirse que los valores de respuesta (Y) sean independientes entre sí y la relación entre las variables sea lineal de la forma:  $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \varepsilon_i$   $Y_i = 0,1$  (Neter et al. 1996).

Debido a que todas las variables independientes presentes en los experimentos son categóricas, como se mencionó anteriormente, cada experimento presenta diferente forma en el módulo lineal implementado, que se vincula con la estructura logística a través de  $\pi$ . A partir del módulo lineal también es posible obtener las probabilidades de emergencia de adultos en porcentajes, de acuerdo a las relaciones entre los coeficientes o valores estimados de las variables de los tratamientos (Anexo A).

Para poder interpretar el resultado del modelo se debe recurrir al concepto “odds ratio” o razón de probabilidades (OR), con él que se puede demostrar que los coeficientes obtenidos en la regresión logística son medidas que cuantifican el riesgo de presentar cierta característica respecto a no presentarla en base a la variable de estudio, de manera que:  $OR = \text{Exp}(\beta_1)$ , donde  $\beta$  es el coeficiente resultado de la regresión logística asociado a cierta variable participante en el modelo (Neter et al. 1996).

La prueba de  $X^2$  es utilizada en estudios de observación, donde es común el obtener información de datos recogidos simultáneamente para dos variables que se clasifican de acuerdo a su procedencia, con el fin de probar la hipótesis de que la frecuencia de ocurrencia en las categorías de una variable es independiente de las frecuencias en la segunda variable (Herrera y García 2010). Para el análisis de estas pruebas se utilizó el



paquete estadístico SAS versión 9.2 (2008). Con la ayuda de estas pruebas fue posible identificar en los cuatro experimentos las que resultaron ser las mejores condiciones para el desarrollo del insecto.

### **1.3. Resultados y Discusión**

#### *1.3.1. Evaluación de Sustratos y Humedad*

En el Cuadro 1 se muestran los resultados provenientes de pupas confinadas en cabinas con diferentes tipos de sustratos, entre los que no hubo diferencias significativas con respecto a la proporción de adultos emergidos y el mismo resultado se tuvo al medir el efecto de la humedad que incluso presenta un valor negativo -0.3624 y un OR < 1, que indica menor probabilidad de emergencia de adultos. De lo anterior se deduce que el gusano rojo del maguey puede presentar una alta capacidad para pupar en suelo de diferente textura-estructura, aún sin humidificar. Esto facilita en gran medida el manejo de la especie en condiciones controladas y permite seguir experimentando con otros tipos de sustratos. De acuerdo con Madrigal (2001) las pupas, crisálidas y puparios o cocones de varias especies deben de mantenerse en condiciones de humedad al 75%, ya que bajas humedades producen desecación, mientras que las altas favorecen la acción de hongos y bacterias. Soto-Manitiu et al. (1997) supusieron que para *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) la humedad del suelo tenía influencia sobre la duración de su período pupal. Como resultado de su investigación identificaron que es la humedad relativa atmosférica la que incide principalmente sobre la emergencia de las formas adultas.

Cuadro 1. Influencia de sustratos y riego en la emergencia de adultos de *Comadia redtenbacheri*.

Parámetro	Variable independiente	Valor estimado	Error estándar	Valor de P	Odds ratio
Intercepto	Sin humedad +S3	-1.6926	0.2296	<0.0001	
Humedad	Con humedad	-0.3624	0.2271	0.1166	0.69
Sustrato	S1	0.3442	0.2775	0.2171	1.41
Sustrato	S2	0.1622	0.2851	0.5695	1.17

S1: Suelo de las áreas magueyeras donde fueron colectadas las larvas; S2: Mezcla 75:25 de Suelo con vermiculita y S3: Turba (peat moss).

### 1.3.2. Efecto del Manejo de las Larvas y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos

De acuerdo con los resultados mostrados en el Cuadro 2, se observa que la probabilidad de emergencia de adultos aumenta significativamente conforme se tengan larvas sin manipulación comercial, mientras que al utilizar larvas con manipulación, la emergencia disminuye abruptamente de 27% a 18% (Anexo A). El valor de OR indica que la probabilidad de que un adulto emerja es 40 veces menor cuando la larva fue manejada comercialmente. En crías de insectos se ha determinado que la manipulación directa de las larvas debe ser mínima durante todo su desarrollo, ya que ésta les ocasiona estrés (Madrigal 2001). Sin embargo, para el número total de individuos de la muestra “sin manipulación”, el 15.3% fueron larvas dañadas, enfermas o parasitadas y en el lote “comercial” este tipo de larvas representaron el 13.2%, lo que podría indicar que existe alguna selección de las larvas por parte de los recolectores, aunque sin considerar daños poco evidentes, además del maltrato durante su distribución y venta.

En el Cuadro 2 también se aprecia que en esta prueba la humedad resultó marginalmente significativa (0.0662), resultado que difiere del obtenido en el experimento anterior en donde la humedad no fue significativa y mostró valores negativos, lo que marca la pauta para continuar probando el riego en las charolas de pupación y no dejar de lado este factor reportado por Véjar (2004) como de los más importantes en la cría de insectos. En este caso el efecto de la humedad estima la emergencia total en 35% en larvas sin manipulación y 24% en larvas manipuladas (Anexo A).

Cuadro 2. Efecto de la manipulación de las larvas y de la humedad del sustrato en la emergencia de adultos de *Comadia redtenbacheri*.

Parámetro	Variable independiente	Valor estimado	Error estándar	Valor de P	Odds ratio
Intercepto	SM+Sin humedad	-0.9609	0.1665	<0.0001	
Manipulación	CM	-0.5082	0.1958	0.0094	0.60
Humedad	Con humedad	0.3583	0.1951	0.0662	1.43

CM: Con manipulación comercial, SM: Sin manipulación comercial.

### 1.3.3. Pupación, Emergencia de Adultos y Proporción de Sexos, de Acuerdo al Peso de las Larvas

Las larvas del gusano rojo que se obtienen del maguey son de muy diversos tamaños y es importante saber a partir de qué peso pueden seguir con su transformación a pupa. En este estudio se determinó que las larvas de hasta 0.30 g logran pupar y emerger como adultos y no presentan diferencias significativas con las larvas de mayor peso en su capacidad de pupación, como se observa en el análisis de regresión logística (Cuadro 3). Cabe destacar que el rango entre los pesos es pequeño y esto puede estar ocasionando que no se presenten diferencias significativas, por lo que convendría probar con larvas de menor peso para determinar el mínimo a partir del cual las larvas son capaces de pupar. Nolasco et al. (2002)

consideran que las larvas extraídas de las plantas por los colectores podrían ser inmaduras para pupar. Camacho et al. (2003, 2005) indujeron a la pupación a larvas que ellos determinaron que correspondían a los dos últimos instares por medición de la cápsula cefálica, por considerar que eran las únicas capaces de completar el proceso de pupación, pero cuando emplearon larvas de instares anteriores, éstas permanecieron sin cambio durante varias semanas en cajas con suelo y los autores no aclaran si llegaron a pupar.

Cuadro 3. Capacidad de pupación y de emergencia de adultos de *Comadia redtenbacheri* con respecto al peso de las larvas.

Parámetro	Variable independiente	Valor estimado	Error estándar	Valor de P	Odds Ratio
Intercepto	> 0.40 g + Suelo reutilizado	-0.0661	0.1780	<.00001	
Peso	0.30-0.39 g	-0.2899	0.2613	0.2672	0.74
Suelo	Suelo nuevo	0.4276	0.2627	0.1036	1.53

Por otro lado, el análisis estadístico indicó que no hay variabilidad significativa en la emergencia de adultos por utilizar un sustrato de pupación recién preparado y uno reutilizado, ya que la probabilidad de emergencia sólo es 1.53 veces mayor cuando se utiliza suelo nuevo (Cuadro 3), lo que genera ventajas desde el punto de vista económico y de manejo de la cría de este insecto, ya que como lo indica Madrigal (2001), para algunas especies el sustrato de pupación requiere incluso de un procedimiento de esterilización, como sucede en el caso del parasitoide *Telenomus alsophilae*.

Al conocer que las larvas de quinto instar y de bajo peso (0.30-0.39 g) son igualmente capaces de pupar que las de sexto y séptimo instares y pesos mayores (> 0.40 g), se identificó por medio de una tabla de contingencia, que existe cierta relación entre el peso y el sexo de los

adultos que emergen, como sucede en muchas especies de Lepidóptera (Allen et al. 2011). Las larvas de tallas pequeñas tienden a ser adultos machos en un 41.57% y las grandes a ser hembras en un 29.21%, aunque se pueden encontrar machos que fueron larvas > 0.40 g (Cuadro 4). La significancia para el estadístico de prueba Chi-Cuadrada ( $X^2$ ) fue < 0.0001. Por lo tanto, si se utiliza una muestra en la que se incluyan indistintamente larvas de ambos rangos de pesos, se aumenta la posibilidad de tener individuos de ambos sexos al momento de la emergencia.

Cuadro 4. Emergencia de adultos de *Comadia redtenbacheri* y proporción de sexos con relación al peso de las larvas.

Frecuencia				
Porcentaje	Peso (g)	Hembra	Macho	Total
	0.30- 0.39	6	37	43
		6.74	41.57	48.31
	> 0.40	26	20	46
		29.21	22.47	51.69
	Total	32	57	89
		35.96	64.04	100

#### 1.3.4. Muestreo Destructivo

Al momento de colocar las larvas en las cabinas de pupación se observó que la mayoría se introduce en el suelo y las que permanecen en la superficie generalmente mueren. También se puede dar el caso de larvas que después de que se introdujeron en el sustrato de pupación regresan a la superficie y por lo general no sobreviven.

Mediante el primer muestreo destructivo se determinó que las larvas encerradas en sus capullos continuaron siendo activas dentro de ellos por

dos meses y medio. Para la segunda fecha de muestreo se encontraron prepupas y larvas inactivas en un 7.3%, porcentaje que aumentó en el mes de febrero a un 17%. El 03 de marzo de 2012, después de cinco meses de haber inducido las larvas a pupación, se identificó un 12% de pupas formadas y un 14.6% de prepupas, identificadas por tener menor movilidad, un color más claro y presentar acortamiento del cuerpo. Una vez encontradas las pupas se esperó casi un mes para la emergencia de los primeros adultos, que se prolongó hasta el 24 de mayo del mismo año (Figura 2).

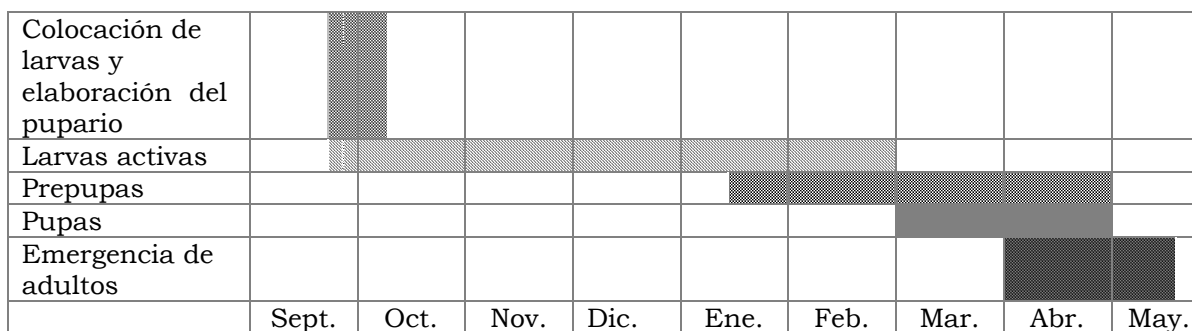


Figura 2. Grado de avance en meses hacia la transformación a adultos de larvas de *Comadia redtenbacheri* con pesos a partir de 0.30 g, ubicadas en diferentes tratamientos.

El tiempo total de transformación de larvas a adultos una vez formado el capullo fue de cinco meses aproximadamente, difiriendo con lo citado por Llanderal-Cázares et al. (2007) que indican que el proceso dura alrededor de tres y medio a cuatro meses.

Al clasificar los organismos muertos encontrados en cada muestreo destructivo se registró el estado de desarrollo en el que se detuvo su transformación y la posible causa de ello. Se encontró que el 39.6% de los individuos mueren en el estado de larva a causa del hongo entomopatógeno *Beauveria* spp., que provoca su endurecimiento y momificación y ha sido reportado como causante de muerte en varias especies de insectos (Castillo et al. 2009). En *Anastrepha obliqua*, Chaverri et al. (1999) determinaron que un porcentaje de pupas queda sin emerger

debido al daño por hongos y parasitoides. Madrigal (2001) relaciona la presencia de estos patógenos con altos porcentajes de humedad. El ataque por bacterias resultó ser la segunda causa de muerte, con larvas que presentaban olor fétido y consistencia blanda. La tercera causa de mortalidad se presentó debido a la presencia de parasitoides y además se encontró una pupa momificada (Figura 3). Aproximadamente un mes antes de la emergencia de los adultos y durante ésta, salen de los capullos los taquínidos *A. texana* y al final del periodo se detectó la presencia del icneumonido *L. fascipennis*, parasitoides reportados por Zetina et al. (2009, 2011, 2012).

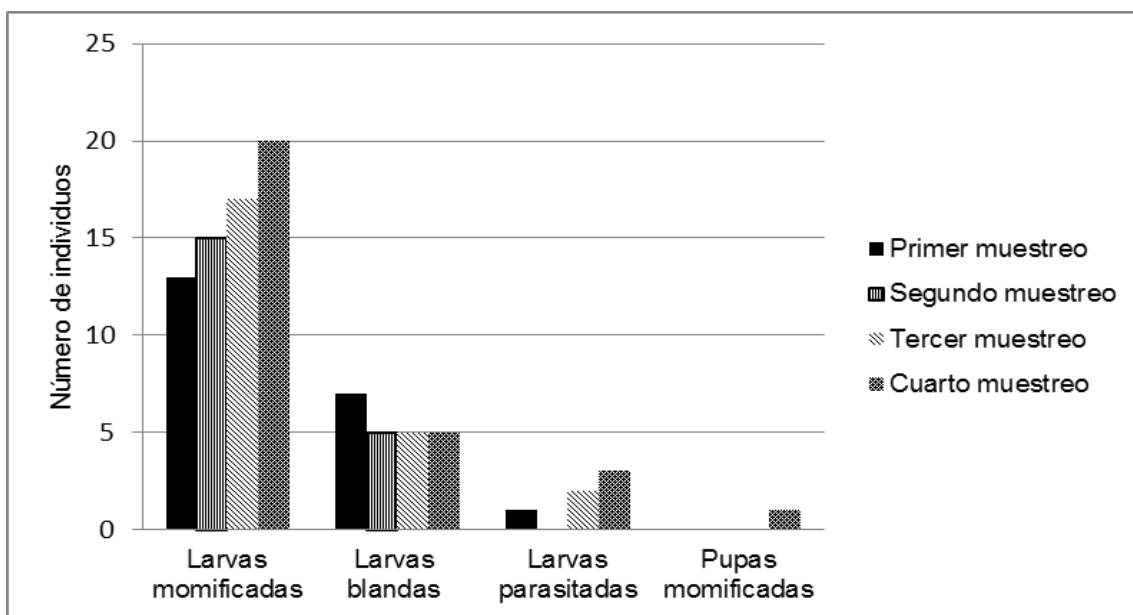


Figura 3. Número de individuos de *Comadia redtenbacheri* no desarrollados por posible desecación, enfermedad o parasitismo. N = 164 capullos tomados al azar en los cuatro muestreos destructivos durante el periodo de pupación.

### 1.3.5. Efecto del Manejo de las Larvas, Tipo de Sustrato y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos

Según los datos mostrados en el Cuadro 5, con este estudio se corroboró que las larvas con manipulación presentan una probabilidad de emergencia menor que las larvas sin manipulación (OR = 0.03).

La mezcla de suelo y vermiculita (S4) es más fácil de manejar y menos costosa que la empleada en 2010 con un 25% menos de vermiculita (S2). S4 fue significativamente diferente al suelo de las áreas de colecta (S1), ya que favorece la pupación 2.07 veces. También se comprobó que el proceso de pupación se puede llevar a cabo aún sin proporcionar humedad. Con base en estos resultados se recomienda utilizar como pie de cría larvas que no hayan sido sometidas a un manejo comercial, con una mezcla 50:50 de suelo con vermiculita como sustrato de pupación.

Cuadro 5. Efecto de sustratos, manipulación y humedad en la emergencia de adultos de *Comadia redtenbacheri*.

Parametro	Variable independiente	Valor estimado	Error estándar	P-value	Odds ratio
Intercepto	SM+Sin humedad+S1	-0.7068	0.1772	<0.0001	
Manipulación	CM	-3.3091	0.3382	<0.0001	0.03
Humedad	Con humedad	-0.1559	0.1975	0.4301	0.85
Sustrato	S4	0.7304	0.1990	0.0002	2.07

CM: Manipulación comercial, SM: manipulación no comercial S1: Suelo de las áreas magueyeras donde fueron colectadas las larvas; S4: Mezcla de suelo con vermiculita 50:50.

La Figura 4 muestra las probabilidades de emergencia de adultos en porcentajes de acuerdo a las relaciones entre las variables de los tratamientos. Los porcentajes más altos se encontraron en los tratamientos conformados por larvas no manipuladas. El efecto del sustrato S4 lleva la probabilidad de emergencia de adultos al 50%, si no presenta humedad. En este experimento el efecto de la manipulación fue muy importante pues el caso de referencia que es el intercepto, sugiere un



33% de emergencia de adultos a partir de las larvas no manipuladas, mientras que en las manipuladas es el 1.5% (Anexo A).

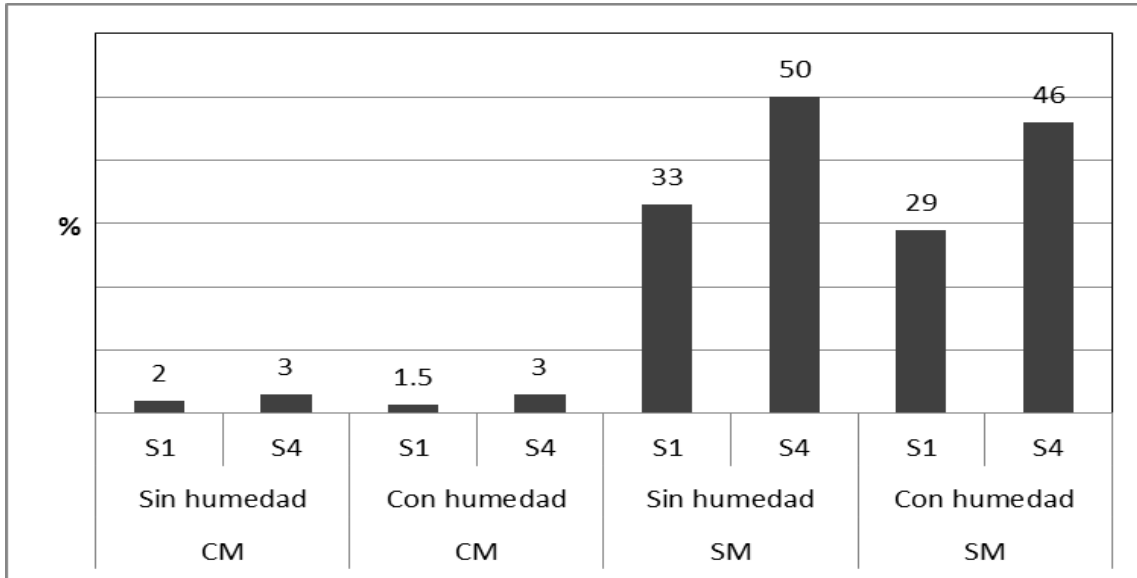


Figura 4. Histograma de los porcentajes de emergencia de adultos de acuerdo al tipo de tratamiento. CM: Con manipulación comercial, SM: Sin manipulación comercial. S1: Suelo de las áreas magueyeras donde fueron colectadas las larvas; S4: Mezcla 50:50 de suelo con vermiculita.

Debido a que *C. redtenbacheri* es un barrenador, el estudio de su biología y comportamiento es complicado y la cría en el laboratorio es difícil. Forchsler y Nordin (1989) señalan que el estudio de los lepidópteros barrenadores de madera es a menudo limitado debido a la falta de métodos para criar un número adecuado de insectos. En el caso del gusano rojo del maguey, hasta ahora la única manera de tener suficientes larvas para el estudio es a partir de poblaciones silvestres y la colecta de éstas es difícil porque el rizoma del agave hospedante debe de ser destruido para extraer las larvas. Una vez recogidas, se mantienen en condiciones de hacinamiento hasta que se utilizan, provocando su contaminación y deterioro y por consiguiente, la reducción del número de individuos sanos que podrían servir como pie de cría. Zetina et al. (2011) reportaron un modelo para la predicción de parasitismo en instares de *C.*

*redtenbacheri*, y mencionan la necesidad de encontrar procedimientos para evitar pérdidas de material, así como reducir costos y tiempo en la selección del pie de cría. Comentan que una larva de gusano rojo en buenas condiciones, tendrá mayor posibilidad de llegar a la edad adulta y reproducirse. Los resultados obtenidos en este estudio sobre pupación pueden mejorar los métodos para la obtención de los adultos a través de la selección de las larvas por procedencia, salud y tamaño, así como para la conservación de las pupas.

#### **1.4. Conclusiones**

La probabilidad de emergencia de los adultos de *C. redtenbacheri* aumenta significativamente conforme se tengan larvas sin manipulación. Las larvas presentaron adaptación a los diferentes sustratos utilizados para la pupación, los que incluso pueden ser reutilizados, aunque la pupación fue mejor en la mezcla de suelo de las áreas magueyeras con vermiculita (50:50). La humedad no tiene un efecto significativo en este proceso.

Las larvas de hasta 0.30 g lograron pupar y emerger como adultos. Estas no tuvieron diferencias significativas con respecto a las larvas de mayor peso en su capacidad de pupación. La mayoría de las larvas más pequeñas fueron machos, mientras que las hembras emergieron principalmente de puparios que albergaron a larvas de 0.40 g o más.

El tiempo total de transformación de larvas a adultos una vez formado el capullo, fue de cinco meses aproximadamente. Durante el proceso de pupación, la mayoría de los individuos murieron en el estado de larva a causa de patógenos y por la acción de parasitoides.

#### **1.5. Agradecimientos**

Esta investigación se llevó a cabo con el financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), como parte del proyecto 166898 “Biología de *Comadia redtenbacheri* Hamm”.

## 1.6. Literatura Citada

- AGRESTI, A. 2002. Categorical data analysis. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- ALLEN, C. E., ZWAAN, B. J., AND BRAKEFIELD, P. M. 2011. Evolution of sexual dimorphism in the Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 56: 445-64.
- ALMANZA VALENZUELA, E. I. 2007. Establecimiento de larvas de *Comadia redtenbacheri* Hamm. en plantas de maguey en invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. México.
- BROWN, R. M. 1976. A revision of the North American *Comadia* (Cossidae). *J. Res. Lepid.* 14: 189-212.
- CAMACHO, A. D., SÁNCHEZ, H., JIMÉNEZ, J. L., Y NOLASCO, M. A. 2003. Observaciones en condiciones de laboratorio de la biología del “gusano rojo del maguey” *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana* 2: 281-287.
- CAMACHO, A. D., NOLASCO M. A., JIMÉNEZ J. L., Y RIVERA, F. T. 2005. Reintroducción de maguey y cultivo del gusano rojo *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana* 4: 599-603.
- CASTILLO, A., GÓMEZ J. F., INFANTE F., AND VEGA, F. E. 2009. Susceptibilidad del parasitoide *Phymastichus coffea* a *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio. *Neotrop. Entomol.* 38: 665-670.
- COLLIN, M. A., MITA, K., SEHNAL, F., AND HAYASHI, CH. Y. 2010. Molecular evolution of lepidopteran silk proteins: Insights from the ghost moth, *Hepialus californicus*. *J. Mol. Evol.* 70: 519-529.
- CHAPMAN, R. F. 1998. *The Insects Structure and Function*. 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge, U. K.

- CHAVERRI, L. G., SOTO-MANITIU, J., AND JIRÓN, L. F. 1999. Notas sobre la biología y ecología de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae), plaga de plantas anacardiáceas en América tropical. II. Formas adultas. *Agronomía Mesoamericana* 10: 99-102.
- FORSCHLER, B. T., Y NORDIN, G. L. 1989. Techniques for rearing the wood borers *Prionoxystus robiniae* (Lepidoptera: Cossidae) and *Paranthrene dollii* (Lepidoptera: Sesiidae). *Florida Entomol.* 72: 224-226.
- GUILLOTT, C. 2005. *Entomology*. 3th ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- GULLAN, P. J. Y CRANSTON, P. S. 2010. *The insects. An Outline of Entomology*. 4th ed. Wiley-Blackwell. Oxford, UK.
- HERNÁNDEZ-LIVERA, R. A., LLANDERAL-CÁZARES, C., CASTILLO-MÁRQUEZ, E., VALDEZ-CARRASCO, J. AND NIETO-HERNÁNDEZ, R. 2005. Identification of larval instars of *Comadia redtenbacheri* (Hamm) (Lepidoptera: Cossidae). *Agrociencia* 39: 539-544.
- HERRERA, H. J. G., Y GARCÍA, C. A. 2010. *Bioestadística en Ciencias Veterinarias. Procedimientos de Análisis de Datos con SAS*. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- INEGI. 2012. Fisiografía. (<http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/estados/edomex/fisio.cfm?c=444&e=21>, agosto 2012).
- LLANDERAL-CÁZARES, C., NIETO-HERNÁNDEZ R., ALMANZA-VALENZUELA, I., Y ORTEGA-ÁLVAREZ, C. 2007. Biología y comportamiento de *Comadia redtenbacheri* (Hamm) (Lepidoptera: Cossidae). *Entomología Mexicana* 6: 252-255.
- MADRIGAL, A. 2001. Cría de insectos en laboratorio, pp. 266-295 In A. Madrigal C. [ed.] *Fundamentos de Control Biológico de Plagas*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

- MEHTA, D. R. 1933. Memoirs: On the development of the male genitalia and the efferent genital duct in Lepidoptera. The Quarterly Journal of Microscopical Science. 76: 35-61.
- MONTOYA, P., FLORES, S., Y TOLEDO, J. 2008. Effect of rainfall and soil moisture on survival of adults and immature stages of *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) under semifield conditions. Florida Entomol. 91: 643-650.
- NETER, J., KUTNER, M. H., NACHTSHEIM C. J., Y WASSERMAN, W. 1996. Applied Linear Statistical Models. 4th ed. Times Mirror Higher Education Group, USA.
- NOLASCO, M. A., JIMÉNEZ, L. J., Y CAMACHO, A. D. 2002. Introducción a la pupación y colonización del gusano rojo del maguey *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). Entomología Mexicana 1: 125-130.
- PARRA, P. J. R. 1979. Biología dos insectos. Universidad de Sao Paulo ESALQ. Piracicaba: ESALQ.
- ROMERO, R. F., Y VILLANUEVA, V. C. 2000. Resistencia Vegetal a Insectos y Ácaros. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, Estado de México, México.
- ROUBOS, C. R. Y LIBURD, O. E. 2010. Pupation and emergence of blueberry gall midge, *Dasineura oxycoccana* (Diptera: Cecidomyiidae), under varying temperature conditions. Florida Entomol. 93: 283-290.
- SAS INSTITUTE. 2008. SAS/STAT User's guide. Version 9.2. 1st Ed. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- SOTO-MANITIU, J., CHAVERRI, L. G., Y JIRÓN, L. F. 1997. Notas sobre la biología y ecología de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae), plaga de plantas anacardiáceas en América tropical. II. Formas inmaduras. Agronomía Mesoamericana 8: 116-20.

- TRIPLEHORN, C. A., Y JOHNSON, N. F. 2005. Borror and Delong's Introduction to the study of insects. 7th ed. Thomson Brooks/Cole. Belmont, CA., USA.
- VÉJAR, C. G. 2004. Importancia e infraestructura para mantener crías de insectos, pp. 3-17 In N. Bautista-Martínez, H. Bravo-Mojica, y C. Chavarín-Palacio [eds.] Cría de Insectos Plaga y Organismos Benéficos. CONABIO, México, D. F., México.
- ZETINA, D. H., LLANDERAL-CÁZARES, C., RUÍZ-CANCINO, E., Y KHALAIM, A. I. 2009. Registro para México de *Lissonota fascipennis* Townes (Hymenoptera: Ichneumonidae), como parasitoide del gusano rojo del maguey. Acta Zool. Mexicana (n. s.). 25: 655-657.
- ZETINA, D. H., LLANDERAL-CÁZARES, C., Y DE LOS SANTOS-POSADAS, H. M. 2011. Logistic regression analysis to predict parasitism in larvae of *Comadia redtenbacheri* Hammerschmidt (Lepidoptera: Cossidae). Entomotropica 26 1-6.
- ZETINA, D. H., LLANDERAL, C., Y HUERTA, H. 2012. *Acantholespesia texana*: A new report for Mexico, as a parasitoid of *Comadia redtenbacheri* Hamm. Southwestern Entomol. 37: 235-237.

## **CAPITULO II. Cruzas con diferente proporción de sexos en *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt)**

### **Resumen**

Debido a la importancia del comportamiento de apareamiento en insectos que se pretenden criar en laboratorio, se llevó a cabo este estudio con *Comadia redtenbacheri*, un lepidóptero de interés alimenticio. El objetivo fue detectar diferencias de fecundidad entre cruzas con distintas proporciones de hembras a machos (1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2, 3:3). El análisis de comparación múltiple de medias arrojó diferencias significativas en las combinaciones 3:3, 2:1 y 3:1, con la media más alta en la primera de éstas, por lo que se infiere que al ir aumentando el número de individuos en igual proporción de hembras a machos, se obtendrán mejores resultados de oviposición. Las cruzas con un solo macho y dos o tres hembras presentan los niveles más bajos, efecto que se ve modificado al incrementar el número de machos.

**Palabras clave:** Gusano rojo del maguey, apareamiento, insecto comestible

**Crossing using different proportions of sexes in *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt)**

**Abstract**

Because of the importance of mating behavior in insects to be reared in the laboratory, the study was conducted with *Comadia redtenbacheri*, a lepidopteran used as food. The objective was to detect differences in fecundity among crosses using different proportions of females and males (1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2, 3:3). The analysis of multiple comparison of means resulted in significant differences in the combinations 3:3, 2:1 and 3:1, the first having the highest mean. For this reason, it is inferred that increasing the number of individuals, females and males in equal proportion, there will be better results for oviposition. The crosses with a single male and two or three females had lower rates of oviposition. This effect changes when the number of males is increased.

**Key words:** Agave redworm, mating, edible insect



## 2.1. Introducción

*Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt) (Lepidoptera: Cossidae) conocido como gusano rojo del maguey es un recurso alimenticio en México, principalmente en los estados del centro del país. Su colecta masiva en la etapa larval ha mermado las poblaciones silvestres tanto del insecto como de su hospedante (*Agave* spp.) (Llanderal-Cázares et. al. 2007). En los últimos años han surgido trabajos con la intención de definir diversos aspectos tanto de biología como de comportamiento del insecto, que constituyen un antecedente primordial para el conocimiento de la especie (Miranda-Perkins 2010) y la conformación de una propuesta que permita su manejo.

Dentro de los aspectos biológicos menos estudiados de *C. redtenbacheri* se encuentran el comportamiento de apareamiento y la oviposición. Los estudios de lepidópteros barrenadores son limitados, debido a la dificultad para ser criados en condiciones de laboratorio, con problemas específicos en los procedimientos de apareamiento (Forschler y Nordin 1989).

Madrigal (2001) menciona que la información relacionada con la cópula y el procedimiento de postura de las hembras en condiciones naturales, permite el diseño de espacios, estructuras y técnicas adecuadas para los insectos que se pretenden criar.

En el pasado la mayoría de los estudios de comportamiento reproductivo en insectos se enfocaron en estudiar el cortejo realizado por los machos, tal vez debido a que el comportamiento de estos es más evidente y muestra una fuerte competencia entre ellos por las hembras, mientras que el comportamiento de apareamiento de las hembras es casi inadvertido, difícil de caracterizar y se creía que era pasivo, es decir que la hembra no jugaba un papel importante, sin embargo, en años recientes se han incrementado los estudios enfocados en las hembras, en particular en el comportamiento de apareamiento múltiple de la hembra (Villa-Ayala y Jiménez-Pérez 2012).

Hasta el momento se sabe que los adultos de *C. redtenbacheri* emergen en enero en el campo y durante marzo en condiciones de laboratorio y presentan dimorfismo sexual; las hembras miden en promedio 2.1 cm de longitud por 0.5 cm de ancho y el macho 1.5 cm de largo por 0.4 de ancho; las alas de la hembra no alcanzan a cubrir todo el abdomen y en el caso del macho sí lo hacen (Ancona 1931, Llanderal-Cázares et al. 2007). La hembra se caracteriza por tener un ovipositor retráctil, simple, delgado y antenas aserradas, el macho presenta un edeago como tubo simple ligeramente esclerótico y antenas bipectinadas (Brown 1976).

Los adultos sólo viven de tres a cinco días durante los cuales no se alimentan porque tienen el aparato bucal atrofiado; la actividad de apareamiento es crepuscular y se inicia con el llamado de las hembras hacia los machos a partir de la presunta liberación de una feromona (Llanderal-Cázares et al. 2007). En el proceso de atracción mediante feromonas se puede presentar un fenómeno de interferencia y saturación de la señal en los insectos, debido a la adaptación sensorial de los receptores periféricos, a la adaptación a nivel del sistema nervioso central o a una combinación de ambos mecanismos (Cardé y Minks 1995), lo que se debe de tomar en cuenta durante el manejo en los apareamientos.

Dampf (1927) cita a Blazquez, que en 1870 trabajó con la especie bajo la sinonimia de *Bombyx agavis*, quien mencionó que la oviposición se efectúa en los meses de abril y mayo y que una hembra puede generar entre 40 ó 50 huevos de superficie áspera de color ocre oscuro, unidos con una sustancia gomosa. Ya con el nombre de *C. redtenbacheri*, Ancona (1931) mencionó que son de 70 a 80 huevos los que oviposita en grupos de 5 a 12. Llanderal et al. (2007) determinaron que las hembras tienen una fecundidad potencial de 118 huevos, que por lo general la oviposición tiene lugar al día siguiente del apareamiento y que la sustancia pegajosa mencionada anteriormente, proviene de las glándulas accesorias de la hembra y también sirve para adherir las masas de huevos en la base de

las hojas del maguey o cualquier otro material como cartón, tela y otros. Madrigal (2001) indica que algunos insectos pueden aceptar sustratos como papel estraza, papel servilleta o tela-gasa.

Sin embargo, los trabajos mencionados proporcionan poca información sobre el proceso de apareamiento. Este estudio tuvo como objetivo detectar diferencias de fecundidad entre cruzas con proporciones variadas de hembras a machos en condiciones de laboratorio, además de determinar la proporción de sexos de los adultos.

## **2.2. Materiales y Métodos**

Las larvas de las que se obtuvieron los adultos provinieron del Estado de México y de Hidalgo y se llevaron al laboratorio de Fisiología de Insectos del Colegio de Posgraduados, campus Montecillo, en el cual fueron inducidas a la pupación entre los meses de septiembre y octubre de 2010, dentro de cabinas individuales, que consistían de tubos de poliducto con 5 cm de suelo, sostenidos en charolas de plástico, que se mantuvieron a 40-50% de humedad relativa,  $20 \pm 5$  °C y 24 h de oscuridad.

A partir del 31 de marzo de 2011, fecha en la que inició la emergencia de los adultos, se reconoció el sexo con base en las antenas y se registró la fecha de la emergencia, con el fin de determinar la proporción de sexos. Después se confinaron bajo diferentes combinaciones de hembras a machos (1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2, 3:3), con un mínimo de cuatro repeticiones cada una de ellas, dentro de bolsas de organza de 38 x 15 cm, con una jareta para cerrarlas a un tercio por abajo del borde superior. Se registró la actividad diurna y nocturna y el número de huevos ovipositados por tipo de craza. En las combinaciones 1:1 se determinó el número de huevos totales por hembra, así se encontraran sueltos o agrupados en masa y en el resto de las combinaciones en las que se encontró una sola masa ovipositada se obtuvo el número de huevos en ella.

Debido a que la mayoría de las oviposturas se hacen en masas cubiertas por una sustancia gomosa (Llanderal et al. 2007), es difícil determinar el número de huevos que las integran, por lo tanto se calculó el peso promedio individual de 30 de ellos y a partir del peso promedio de un huevo se estimó el número total de ellos contenidos en el material ovipositado por tipo de cruce.

Se llevó a cabo un contraste de comparación múltiple de medias mediante las técnicas de Tukey (HSD) y Bonferroni (Dunn), con el objetivo de definir las diferencias estadísticamente significativas entre los tipos de cruces. Las medias resultantes fueron divididas de acuerdo al número de hembras contenidas en cada cruce, lo que permitió obtener la fecundidad promedio por hembra. Adicionalmente, mediante una tabla de frecuencias, se obtuvieron los porcentajes de oviposición total por tipo de cruce y por número de hembras y machos. Para el análisis de estas pruebas se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.2 (2008).

## **2.3. Resultados y Discusión**

### *2.3.1. Análisis de comparación múltiple de cruces con diferentes proporciones de sexos*

Se obtuvo un total de 485 adultos, en los que se observó la proporción de sexos de 1.4 hembras: 1 macho. La emergencia de las palomillas se prolongó durante dos meses (abril y mayo), lo que coincide con lo citado por Blazquez (1870) en Dampf (1927). Existió sincronía en la emergencia de hembras y machos durante el primer mes, pero durante el segundo, el número de hembras emergidas fue mayor. Los adultos permanecieron con vida de tres a cinco días y su hora promedio de apareamiento fue a las 19:00, tal y como lo indican Llanderal-Cázares et al. (2007). Poco antes de la cópula la hembra presentó un comportamiento especial que incluyó la vibración continua de las alas, vuelos cortos y exposición del ovipositor, como es típico de las hembras durante la emisión de feromonas, de

manera que los machos la percibieran a través de sus antenas y fueran estimulados para el apareamiento.

Los huevos fueron retirados fácilmente de las bolsas de organza. El peso promedio de un huevo fue de 0.00056 g (56 diezmilésimas de gramo), dato a partir de cual se estimó el número de huevos por tipo de cruce. Los resultados mostraron un valor de  $F = 0.0030$ , lo que hizo suponer que se encontrarían diferencias significativas entre las proporciones de sexos, tal y como lo muestran los resultados de las pruebas de Dunn y HSD, coincidiendo en las cruces 3:3, 2:1 y 3:1. La cruce de tres hembras con tres machos presentó la media más alta, por lo que se infiere que al ir aumentando el número de individuos en igual proporción, se obtendrán mejores resultados de oviposiciones. Las cruces con un solo macho y dos o tres hembras presentan los niveles más bajos, efecto que se ve modificado al incrementar el número de machos, con la excepción de la cruce 1:2 (Cuadro 6).

La última columna del Cuadro 6 nos muestra los resultados de dividir la media resultante entre el número de hembras contenidas por cruce. Se observa que en general los valores más altos de oviposición están dados en las cruces con la misma proporción de hembras a machos, seguidos por los que resultan al tener varios machos.

Si se considera la corta longevidad de los adultos y su incapacidad para alimentarse (Llanderal-Cázares et al. 2007) se podría suponer que los adultos sólo se aparean una vez, y que al limitar el número de machos en las cruces, se reduce la posibilidad de apareamiento para las hembras.

Cuadro 6. Contraste de comparación múltiple de medias mediante las técnicas de Bonferroni (Dunn) y Tukey (HSD) para las cruza de *C. redtenbacheri* con diferentes proporciones de sexos (hembra: macho).

Tipo de crusa hembra: macho	Dunn	HSD	Media	Cociente de la media entre el número de hembras
3:3	A	A	201.00	67
3:2	B A	B A	170.75	56.91
1:3	B A	B A	165.80	165.80
2:2	B A	B A	139.40	69.7
2:3	B A	B A	131.00	65.5
1:1	B A	B A	84.00	84
1:2	B A	B	60.60	60.60
2:1	B	B	51.50	25.75
3:1	B	B	39.75	13.25

### 2.3.2. Análisis de frecuencias de cruza con diferentes proporciones de sexos

El análisis de frecuencias (Cuadro 7) muestra los porcentajes de oviposición por combinación de sexos y por cada hembra y macho, los cuales se incrementan con relación a un mayor número de machos, 18.36% con uno solo de ellos, 35.70% con dos y 45.94% con tres. En el caso de las hembras los porcentajes fueron homogéneos, 32.95 % con una sola hembra, 29.93% con dos y 37.12% con tres. Incluso la combinación de una hembra con tres machos resulta efectiva, sólo superada por la combinación 3:3.

Cuadro 7. Tabla de frecuencias del total de oviposturas por tipo de cruce y por número de hembras y machos

Frecuencia					
Porcentaje					
Pct. Fila					
Pct. Columna	Macho	1	2	3	Total
Hembra	449	303	709		1461
1	10.13	6.83	15.99		32.95
	30.73	20.74	48.53		
	55.16	19.14	34.81		
2	206	597	524		1327
	4.65	13.46	11.82		29.93
	15.52	44.99	39.49		
	25.31	37.71	25.72		
3	159	683	804		1646
	3.59	15.40	18.13		37.12
	9.66	41.49	48.85		
	19.53	43.15	39.47		
Total	814	1583	2037		4434
	18.36	35.70	45.94		100

### 2.3.3. Fecundidad de hembras

En las cruces 1:1 se obtuvo un promedio de 104.75 huevos (Cuadro 8) dato que difiere con los presentados por Blázquez (1870) en Dampf (1927) y Ancona (1931), por ser estos últimos menores, 40 ó 50 y 70 u 80, respectivamente. En cambio existe mayor correspondencia con el resultado de 118 huevos de fecundidad potencial indicado por Llanderal et al. (2007), aunque si observamos los valores mostrados en el Cuadro 4 y supone que una masa de huevos es conformada por una sola hembra, la fecundidad resulta ser mayor, con un promedio de 128.83 (Cuadro 9).

Es importante tomar en cuenta que la cría de insectos en condiciones de laboratorio puede generar adaptaciones no genéticas temporales es decir, o cambios genéticos permanentes y ambos tipos de cambios pueden influenciar el comportamiento del insecto al ser liberado en campo (García et al. 2005).

Cuadro 8. Número de huevos por hembra en cruzas de 1:1 y el promedio a partir de cuatro cruzas.

Cruza (hembra: macho)	Peso del material ovipositado (g)	Número de huevos
1:1	0.0363	64
1:1	0.0123	21
1:1	0.1088	194
1:1	0.0789	140
	Promedio	104.75

Cuadro 9. Número aproximado de huevos que conforman una masa.

No. de Masa	Peso de una masa de huevos (g)	Número aproximado de huevos ovipositados
1	0.0422	75
2	0.0722	128
3	0.0182	32
4	0.0619	103
5	0.1167	208
6	0.1272	227
	Promedio	128.83



## 2.4. Conclusiones

La proporción de sexos de *C. redtenbacheri* fue de 1.4:1.0 hembras a machos, lo que coincide con los resultados de fecundidad, al indicar que las cruzas con igual proporción de hembras a machos en general presentan los valores más altos de oviposición, seguidos por los obtenidos en las cruzas que incluyen un mayor número de machos.

La craza de tres hembras con tres machos presentó la oviposición promedio más alta, mientras que las conformadas con un solo macho y dos o tres hembras tuvieron los niveles más bajos. Los porcentajes de oviposición se vieron incrementados con relación al aumento en el número de machos, mientras que al aumentarse el de las hembras, los porcentajes no muestran variación evidente. La fecundidad de las hembras tomando en cuenta las cruzas 1:1 resultó de 104.75 huevos. Una masa puede contener en promedio 128.83 huevos.

## 2.5. Literatura citada

- ANCONA, L. H. 1931. Los chilocuiles o gusanitos de la sal de Oaxaca. Anales del Instituto de Biología. UNAM. 2: 265-277.
- BROWN, R. M. 1976. A revision of the North American *Comadia* (Cossidae). Journal of Research on the Lepidoptera 14: 189-212.
- CARDÉ, R. T. Y MINKS A. K. 1995. Control of pests by mating disruption: successes and constraints. Annu. Rev. Entomol. 40: 559-585.
- DAMPF, A. 1927. Contribución al conocimiento de la morfología de los primeros estados de *Hypoata agavis* Blázquez *chilodora* (Dyar) (Lepidoptera, familia Cossidae), plaga de los magueyes en la mesa central de México. Oficina para la Defensa Agrícola, México.
- FORSCHLER, B. T., Y NORDIN G. L. 1989. Techniques for rearing the wood borers *Prionoxystus robiniae* (Lepidoptera: Cossidae) and *Paranthrene dollii* (Lepidoptera: Sesiidae). The Florida Entomologist 72: 224-226.

- GARCÍA, G. J., BENÍTEZ É. R., Y LÓPEZ-ÁVILA A. 2005. Tabla de vida de *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae) en la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). Revista Colombiana de Entomología 31(2): 155-160.
- LLANDERAL-CÁZARES, C., NIETO-HERNÁNDEZ R., ALMANZA-VALENZUELA I. Y ORTEGA-ÁLVAREZ C. 2007. Biología y comportamiento de *Comadia redtenbacheri* (Hamm) (Lepidoptera: Cossidae). Entomología Mexicana 6: 252-255.
- MADRIGAL, A. 2001. Cría de insectos en laboratorio. pp. 266-295. En: Control Biológico de Plagas. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- MIRANDA-PERKINS, K. 2010. Importancia del gusano rojo del maguey. Boletín Nakari 21: 9.
- SAS INSTITUTE. 2008. SAS/STAT User's guide. Version 9.2. 1st Ed. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- VILLA-AYALA, J. Y JIMÉNEZ-PÉREZ A. 2012. ¿Por qué los insectos hembra se aparean más de una vez? Hypatia 42: 1.

### **CAPÍTULO III. Ilustraciones de la morfología externa distintiva de *Comadia redtenbacheri***

El presente registro gráfico consiste de fotografías e imágenes tomadas en microscopio electrónico de barrido (MEB) de los diferentes estados de desarrollo de *C. redtenbacheri*, así como de algunas de sus características morfológicas distintivas, importantes para el reconocimiento de la especie. Las muestras de huevos y antenas que fueron capturadas en MEB, se fijaron en glutaraldehído al 3% durante 24 h, posteriormente se llevaron a cabo tres lavados seriados con el amortiguador de fosfatos Sorensen's 0.1 M pH 7.2, dejando transcurrir 5 min en cada cambio. Los tejidos se deshidrataron en una serie gradual de etanol (30%, 40%, 50%, 60%, 70%) por 45 min en cada concentración. Manteniendo las muestras en etanol 70%, se procedió a deshidratarlas (80% 90%, 100%, 100%) por 1 h en cada cambio. Las preparaciones se colocaron en una secadora de punto crítico (Sandri-780A®), se orientaron sobre portamuestras usando una cinta doble adhesiva de carbón y se recubrieron con oro durante cuatro min en una ionizadora (Ion Sputter JFC-1100, Jeol, Fine Coat®).

Las alas del insecto se aclararon con hipoclorito y ácido clorhídrico al 10% y se limpiaron mecánicamente con un pincel de cabello mientras se mantenían sumergidas en alcohol al 70%. La cabeza también fue limpiada con el mismo procedimiento, retirando el mayor número posible de escamas. Las larvas, pupas y adultos, se sacrificaron con dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), para proceder a fotografiarlos en un fotomicroscopio Tessoar de Carl Zeiss® con cámara digital para microscopia pax cam 3®. Los resultados de las imágenes y fotografías de los estados de huevo, larva, pupa y adulto, así como de estructuras específicas de la especie se muestran en las Figuras 5 a 10.

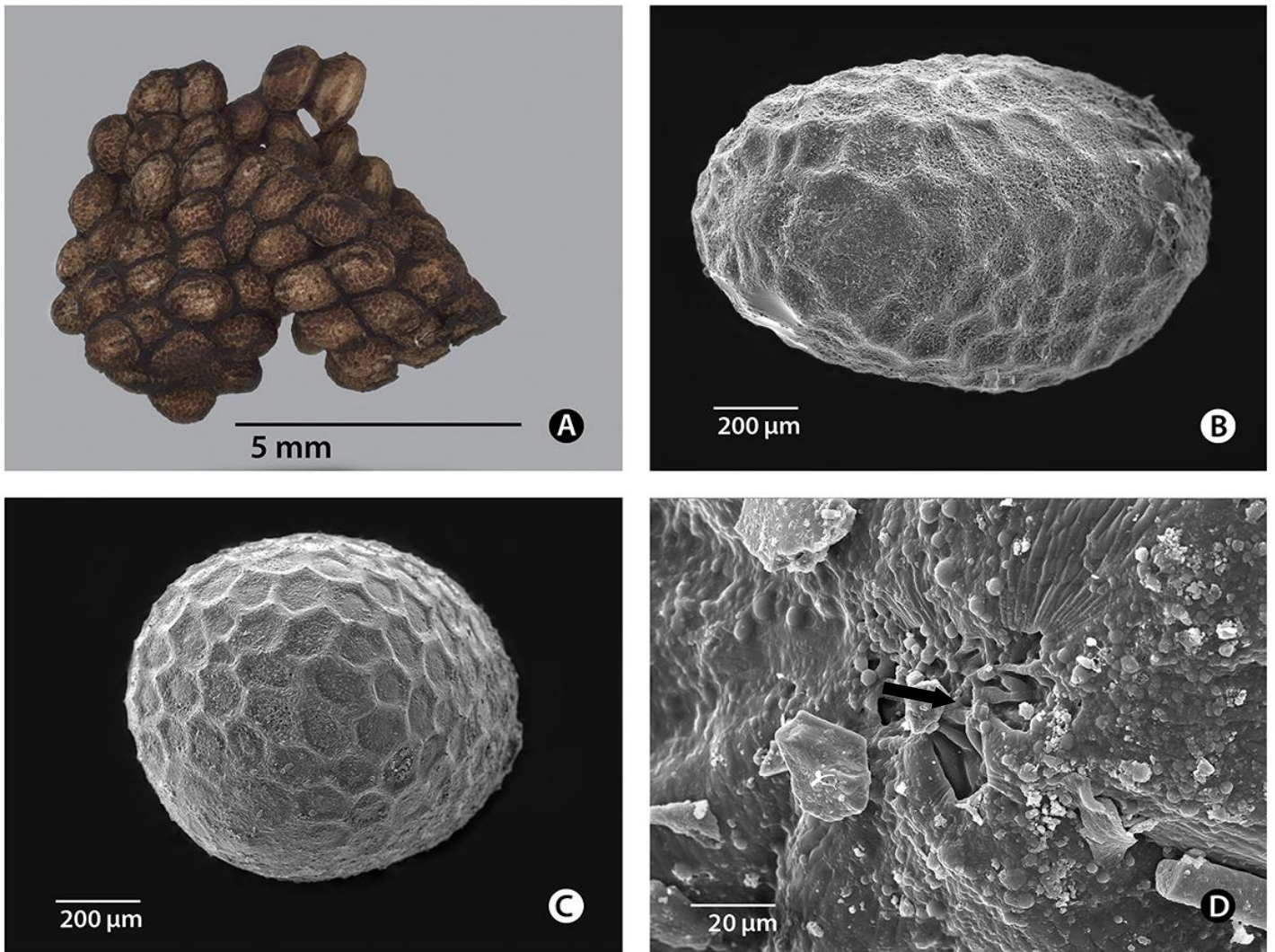


Figura 5. *Comadia redtenbacheri*. (A) Masa de huevos; (B) polo anterior del huevo, mostrando el micrópilo (flecha); (C) polo posterior del huevo; (D) micrópilo.

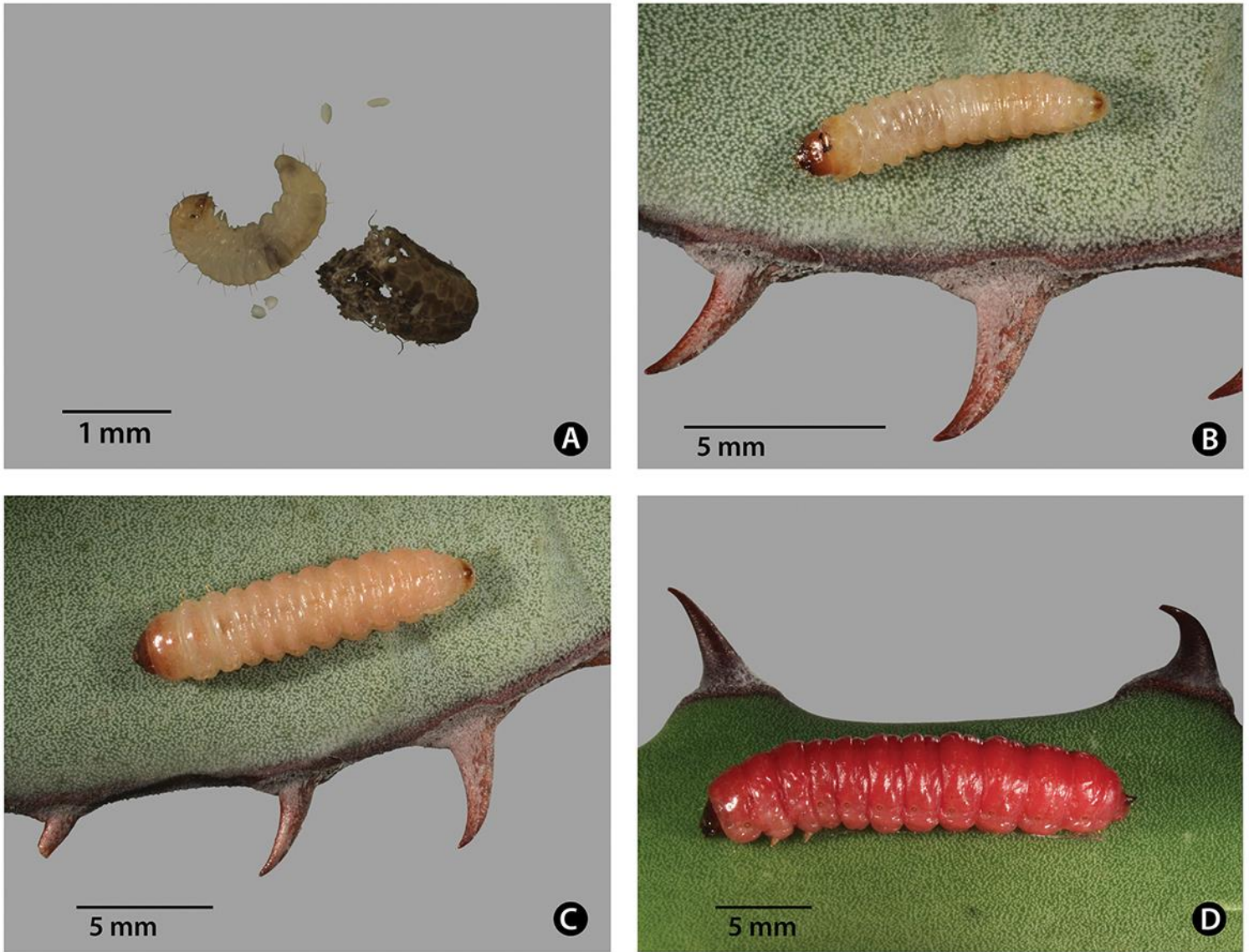


Figura 6. *Comadia redtenbacheri*. (A) Huevo eclosionado y larva de primer instar; (B) larva de tercer instar sobre hoja de *Agave salmiana* Otto ex Salm; (C) larva de quinto instar; (D) larva de séptimo instar.



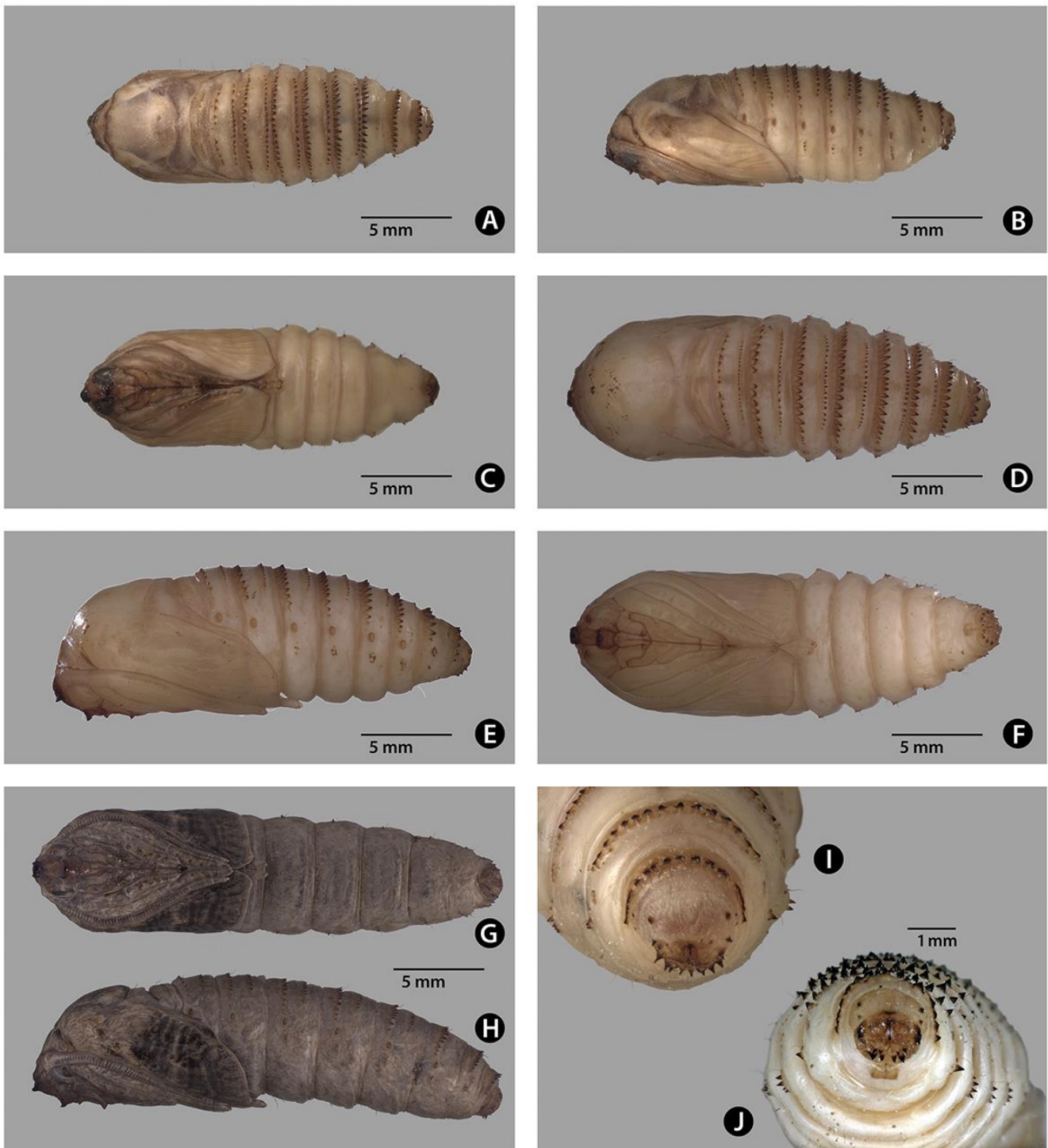


Figura 7. *Comadia redtenbacheri*. (A) Pupa hembra, vista dorsal; (B) pupa hembra, vista lateral; (C) pupa hembra, vista ventral; (D) pupa macho, vista dorsal; (E) pupa macho, vista lateral; (F) pupa macho, vista ventral; (G) adulto farate, vista ventral; (H) adulto farate, vista lateral; (I) cauda de pupa hembra; (J) cauda de pupa macho.

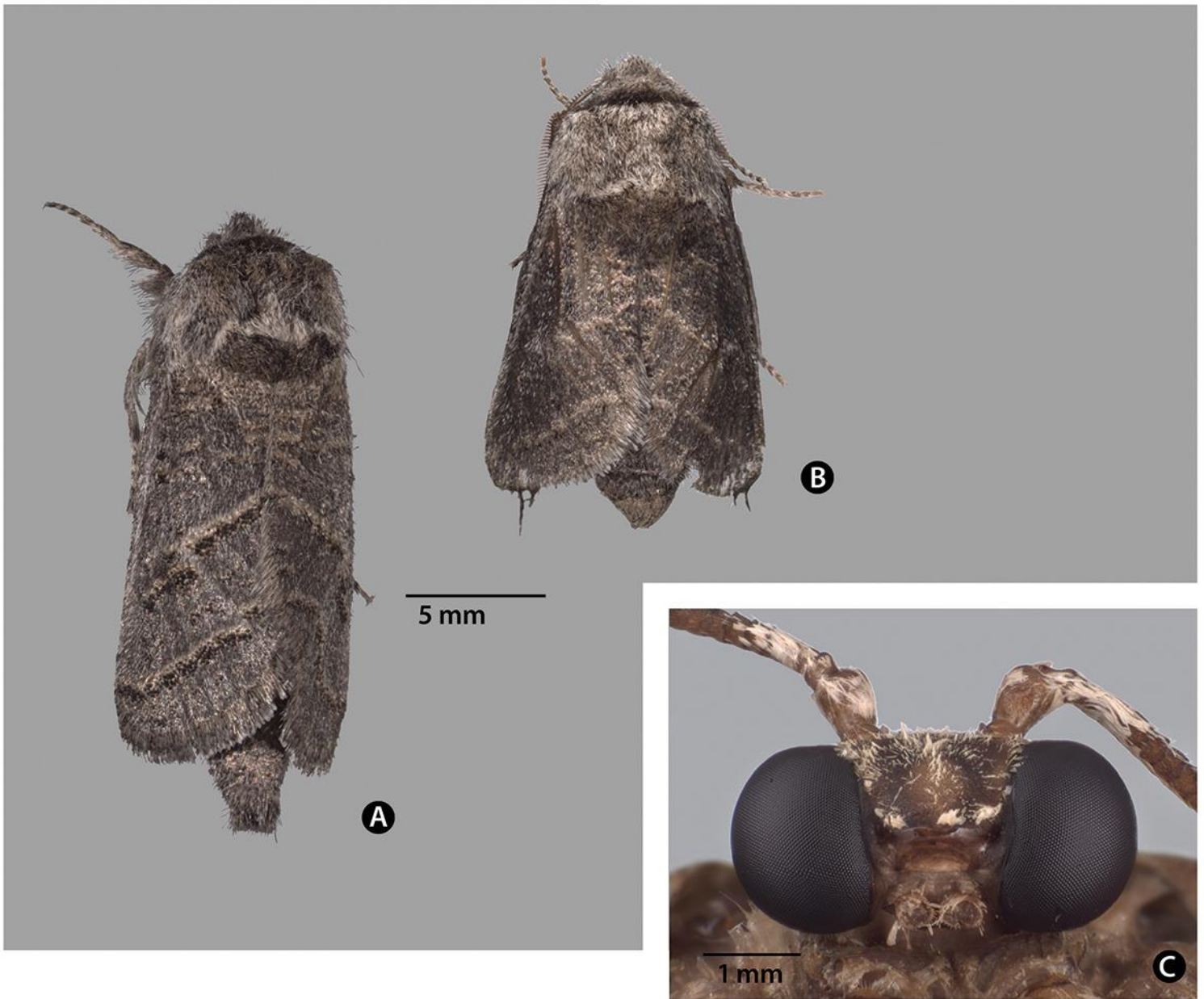


Figura 8. *Comadia redtenbacheri*. (A) Adulto hembra; (B) adulto macho; (C) vista frontal de la cabeza del adulto sin escamas ni palpos labiales.



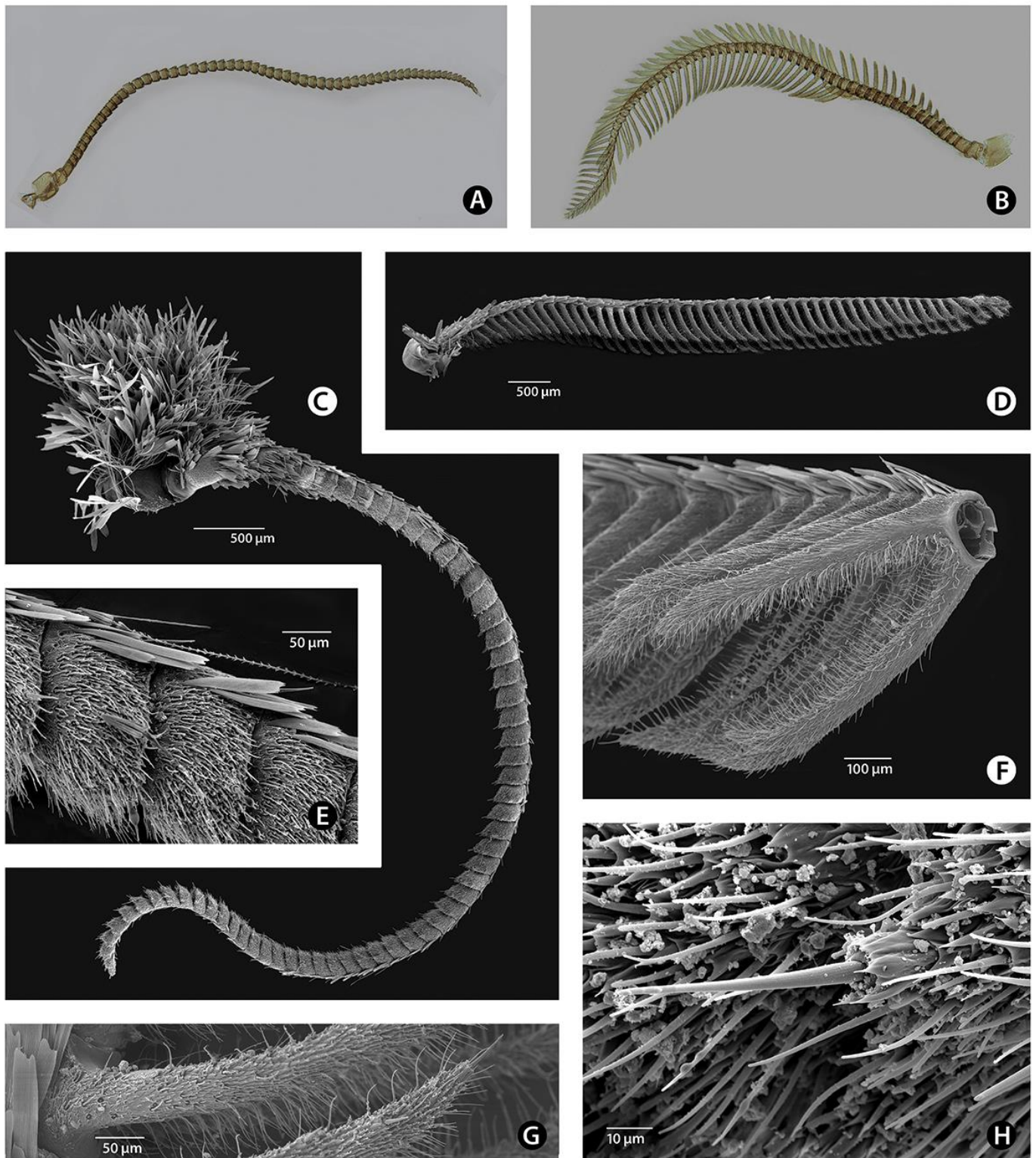


Figura 9. *Comadia redtenbacheri*. (A) Fotografía de la antena de adulto hembra; (B) fotografía de la antena de adulto macho, vista dorsal; (C) imagen de la antena de adulto hembra; (D) imagen de la antena de adulto macho; (E) acercamiento a la antena de adulto hembra; (F) acercamiento a la antena de adulto macho; (G) acercamiento a la antena de adulto macho, mostrando el sénsulo apical; (H) sénsulo de la antena de adulto hembra.



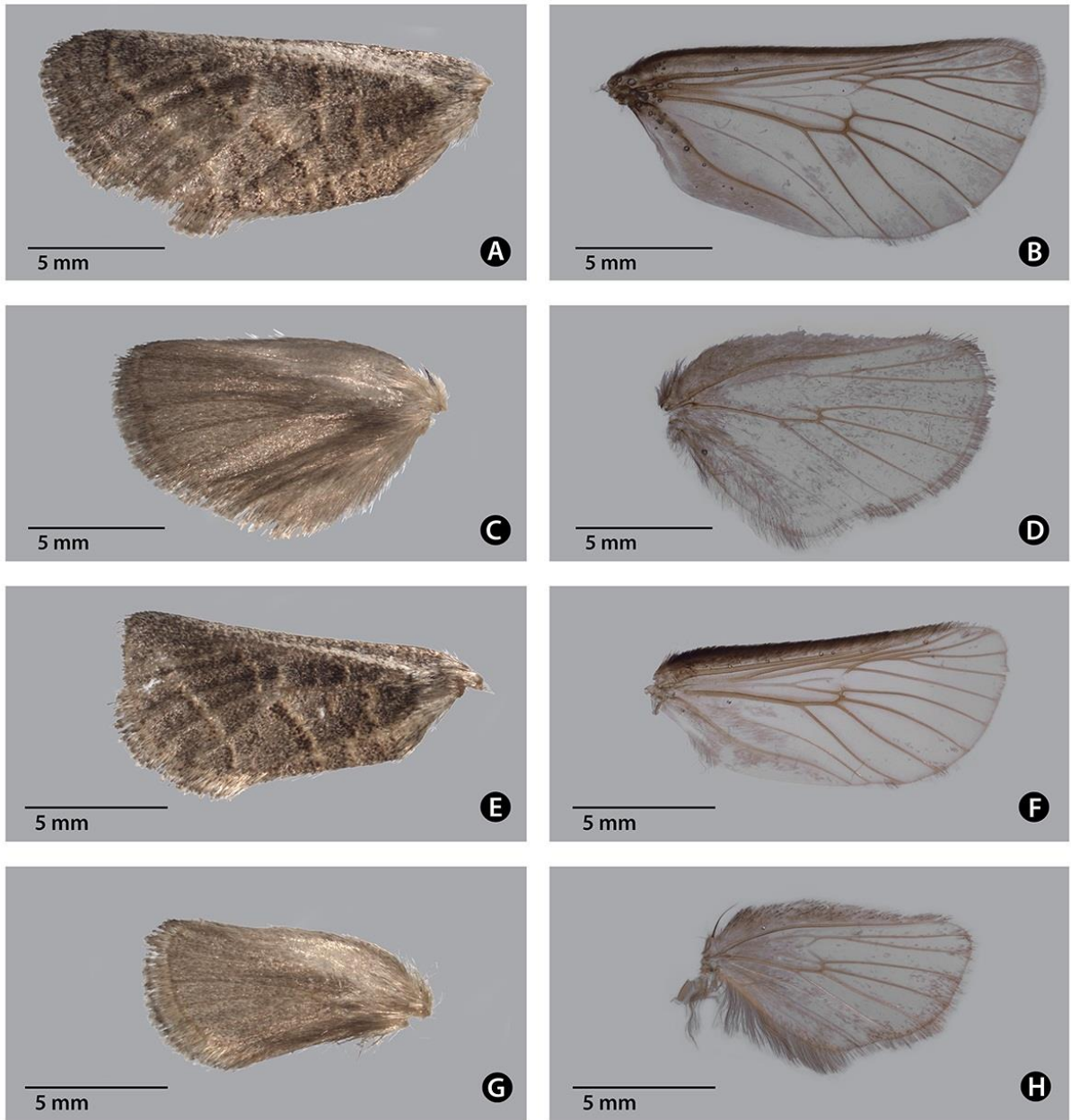


Figura 10. *Comadia redtenbacheri*. Hembra (A y C) alas anterior y posterior con escamas, (B y D) alas anterior y posterior sin escamas Macho (E y G) alas anterior y posterior con escamas, (F y H) alas anterior y posterior sin escamas.

## CONCLUSIONES GENERALES

Las condiciones probadas en este estudio permiten el desarrollo pupal de *C. redtenbacheri* en confinamiento, considerando la conformación del sustrato de pupación, la manipulación de las larvas durante la colecta y almacenamiento, peso e instar a partir del cual una larva puede ser inducida a la pupación para lograr la coincidencia de los adultos de ambos sexos en un período de tiempo, y los cambios que ocurren en los individuos desde la formación del capullo hasta la emergencia de adultos. Para el apareamiento y mayor oviposición, lo conveniente es mantener la misma proporción de hembras a machos y si es posible, aumentar el número de ellos.

Ahora se dispone de una referencia gráfica de las características distintivas en diferentes etapas de desarrollo de *C. redtenbacheri*, que podrá ser utilizada para el reconocimiento de la especie en laboratorio y campo por quienes lo requieran.

Esta información complementa otros estudios básicos para el desarrollo del manejo de la especie en las unidades de producción, como una alternativa a la colecta de poblaciones silvestres de *C. redtenbacheri* que actualmente se lleva a cabo.

## ANEXO A

### *Modulo lineal del experimento 1.3.1. Evaluación de Sustratos y Humedad*

$$\mu_1 = \beta_0 + \beta_1 I_h + \beta_1 I_{s1} + \beta_1 I_{s2}$$

Donde  $\mu$ , es la probabilidad de emergencia de adultos.

$\beta_0$  es el intercepto de las variables independientes sin humedad (SH) y suelo 3 (S3).

$\beta_1 I_h$  es la variable independiente con humedad (CH).

$\beta_1 I_{s1}$  es la variable independiente con suelo 1 (S1) y  $\beta_0 I_{s1}$  sin suelo 1.

$\beta_1 I_{s2}$  es la variable independiente con suelo 2 (S2) y  $\beta_0 I_{s2}$  sin suelo 2.

Probabilidades de emergencia de adultos en porcentajes de acuerdo a las relaciones entre los coeficientes o valores estimados de las variables de los tratamientos:

$$SH+S3 = \mu_1 = \text{Exp}(-1.6926)/(1+\text{Exp}(-1.6926)) = 0.1554 = 15\%$$

$$SH+S2 = \mu_1 = \text{Exp}(-1.6926+0.1622)/(1+\text{Exp}(-1.6926+0.1622)) = 0.1779 = 17\%$$

$$SH+S1 = \mu_1 = \text{Exp}(-1.6926+0.3442)/(1+\text{Exp}(-1.6926+0.3442)) = 0.2061 = 20\%$$

$$CH+S3 = \mu_1 = \text{Exp}(-1.6926-0.3624)/(1+\text{Exp}(-1.6926+0.3624)) = 0.1135 = 11\%$$

$$CH+S2 = \mu_1 = \text{Exp}(-1.6926-0.3624+0.1622)/(1+\text{Exp}(-1.6926+0.3624+0.1622)) = 0.1309 = 13\%$$

$$CH+S1 = \mu_1 = \text{Exp}(-1.6926-0.3624+0.3442)/(1+\text{Exp}(-1.6926+0.3624+0.3442)) = 0.1530 = 15\%$$

### *Modulo lineal del experimento 1.3.2. Efecto del Manejo de las Larvas y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos*

$$\mu_1 = \beta_0 + \beta_1 I_M + \beta_1 I_H$$

Donde  $\mu$ , es la probabilidad de emergencia de adultos.

$\beta_0$  es el intercepto de las variables independientes sin manejo (SM) y sin humedad (SH).

$\beta_1 I_M$  es la variable independiente con manejo (CM).

$\beta_1 I_H$  es la variable independiente con humedad (CH).

Probabilidades de emergencia:

$$SM+SH = \mu_1 = \text{Exp}(-0.9609)/(1+\text{Exp}(-0.9609)) = 0.2766 = 27\%$$

$$CM+SH = \mu_1 = \text{Exp}(-0.9609-0.5082)/(1+\text{Exp}(-0.9609-0.5082)) = 0.1870 = 18\%$$

$$CM+CH = \mu_1 = \text{Exp}(-0.9609-0.5082+0.3583)/(1+\text{Exp}(-0.9609-0.5082+0.3583)) = 0.2477 = 24\%$$

$$SM+CH = \mu_1 = \text{Exp}(-0.9609+0.3583)/(1+\text{Exp}(-0.9609+0.3583)) = 0.3537 = 35\%$$

*Modulo lineal del experimento 1.3.3. Pupación, Emergencia de Adultos y Proporción de Sexos, de Acuerdo al Peso de las Larvas*

$$\mu_1 = \beta_0 + \beta_1 I_p + \beta_1 I_{su}$$

Donde  $\mu$ , es la probabilidad de emergencia de adultos.

$\beta_0$  es el intercepto de las variables independientes > 0.40 g ( $P_1$ ) y suelo reutilizado (SR).

$\beta_1 I_p$  es la variable independiente 0.30 a 0.39 g ( $P_2$ ).

$\beta_1 I_{su}$  es la variable independiente suelo nuevo (SN).

Probabilidades de emergencia:

$$P_1+SR = \mu_1 = \text{Exp}(-2.0661)/(1+\text{Exp}(-2.0661)) = 0.1124 = 11\%$$

$$P_2+SR = \mu_1 = \text{Exp}(-2.0661-0.2899)/(1+\text{Exp}(-2.0661-0.2899)) = 0.086 = 8\%$$

$$P_2+SN = \mu_1 = \text{Exp}(-2.0661+0.2899+0.4276)/(1+\text{Exp}(-2.0661+0.2899+0.4276)) = 0.1269 = 12\%$$

$$P_1+SN = \mu_1 = \text{Exp}(-2.0661+0.4276)/(1+\text{Exp}(-2.0661+0.4276)) = 0.1626 = 16\%$$

*Modulo lineal del experimento 1.3.2. Efecto del Manejo de las Larvas, Tipo de Sustrato y de la Humedad en la Emergencia de los Adultos*

$$\mu_1 = \beta_0 + \beta_1 I_M + \beta_1 I_H + \beta_1 I_{s4}$$

Donde  $\mu$ , es la probabilidad de emergencia de adultos.

$\beta_0$  es el intercepto de las variables independientes sin manejo (SM), sin humedad (SH) y suelo 1 (S1).

$\beta_1 I_M$  es la variable independiente con manejo (CM).

$\beta_1 I_H$  es la variable independiente con humedad (CH).

$\beta_1 I_{s4}$  es la variable independiente con suelo 4 (S4).

Probabilidades de emergencia de adultos en porcentajes:

$$SM+SH+S1 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068)/(1+\text{Exp}(-0.7068)) = 0.3303 = 33\%$$

$$SM+SH+S4 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068+0.7304)/(1+\text{Exp}(-0.7068+0.7304)) = 0.5058 = 50\%$$

$$CM+SH+S1 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068-3.3091)/(1+\text{Exp}(-0.7068-3.3091)) = 0.017 = 2\%$$

$$SM+CH+S1 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068-0.1559)/(1+\text{Exp}(-0.7068-0.1559)) = 0.2967 = 29\%$$

$$CM+CH+S4 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068-3.3091+0.7304)/(1+\text{Exp}(-0.7068-3.3091+0.7304)) = 0.0360 = 3\%$$

$$CM+CH+S1 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068-3.3091-0.1559)/(1+\text{Exp}(-0.7068-3.3091-0.1559)) = 0.01519 = 1.5\%$$

$$SM+CH+S4 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068-0.1559+0.7304)/(1+\text{Exp}(-0.7068-0.1559+0.7304)) = 0.4669 = 46\%$$

$$CM+CH+S4 = \mu_1 = \text{Exp}(-0.7068-3.3091-0.1559+0.7304)/(1+\text{Exp}(-0.7068-3.3091-0.1559+0.7304)) = 0.03102 = 3\%$$