

## EFFECTO DE LA DENSIDAD DE EMPAQUE Y TIPO DE ALIMENTO EN LA CALIDAD DE *Anastrepha ludens* CEPAS BISEXUAL Y TAPACHULA-7

José Arredondo-Gordillo y Lía Candelaria Ruiz-Salazar. Subdirección de Desarrollo de Métodos, Programa Moscafrut, SAGARPA-IICA, Camino a los Cacahuatales S/N, CP 30860, Metapa de Domínguez, Chiapas, México. jose.arredondo@iica-moscafrut.org.mx; lia.ruiz@iica-moscafrut.org.mx

**RESUMEN:** Se evaluó el efecto de tres densidades de empaque (1.0, 1.3 y 1.5 moscas/cm<sup>2</sup>) y dos tipos de alimentos (proteína hidrolizada y con azúcar a razón de 1:24 y el alimento Mubarqui®) sobre parámetros de calidad de *Anastrepha ludens* cepa bisexual y Tapachula-7. Los resultados sugieren que no hay diferencias estadísticas en las respuestas de ambas cepas. La densidad de empaque influyó en todas las variables estudiadas: peso de la mosca, voladoras absolutas, longevidad en inanición y longevidad con agua. Los valores más altos de cada variable se obtuvieron en la densidad más baja. El alimento influyó en el peso, longevidad en inanición y longevidad con agua. Los mejores resultados se obtuvieron con el alimento 1:24.

Palabras clave. Empaque, calidad, TIE.

### Effect of packing density and type of food upon the quality parameters of bisexual and tapachula-7 strains of *Anastrepha ludens*

**ABSTRACT:** Effect of three packing densities (1.0, 1.3 and 1.5 flies/cm<sup>2</sup>) and two types of food (hydrolyzed protein whit sugar at 1:24 ratio, and Mubarqui® food) upon the quality parameters of bisexual and Tapachula-7 strains of *Anastrepha ludens* was evaluated. Results suggest that there are no statistical differences on response of both strains. The packing density influenced in all studied variables: fly weight, absolute fliers, longevity under stress and longevity with water. Highest values for each variable were obtained on the lowest density. The type of food influenced on the fly weight, longevity under stress and longevity with water. The best results were obtained in flies fed upon hydrolyzed protein and sugar (1:24 ratio).

Key words. Packing, quality, SIT.

### Introducción

En México, la aplicación de la Técnica del Insecto Estéril (TIE) para *Anastrepha ludens*, se realiza desde 1994 con una cepa bisexual, es decir, se liberan machos y hembras (Reyes *et al.*, 2000). Actualmente se cuenta con la posibilidad de utilizar una Cepa Sexada Genéticamente (CSG). Esta cepa es denominada Tapachula-7 y está basada en la diferencia de coloración del pupario por sexo, lo que permite separar en este estadio a los machos (pupario café) de las hembras (pupario negro). Desde el punto de vista técnico y económico, son diversos los beneficios de criar y liberar exclusivamente al agente inductor de esterilidad aportado por el macho, incrementando por este hecho la eficiencia de la TIE (Zepeda, 2010). Sin embargo, para asegurar el éxito de la TIE con esta cepa, es necesario conocer primero la sensibilidad de estos insectos a diversos factores en el proceso de liberación que pueden afectar su calidad.

La liberación de los adultos estériles al campo, se realiza mediante el sistema de adulto frío. En este sistema se utilizan dispositivos de empaque para permitir la emergencia y maduración sexual de las moscas a las cuales se les provee de agua y alimento. Al final del proceso y previo a la liberación, las moscas se someten a 3 °C por 45 minutos aproximadamente, alcanzando así el estado de torpor en los insectos, lo que permite las maniobras necesarias para su liberación vía aérea (Zavala *et al.*, 2010).

La densidad de confinamiento en los dispositivos de empaque y el tiempo de enfriado pueden afectar la habilidad de vuelo, sobrevivencia y la competitividad sexual de los machos (Hernández *et al.*, 2010; Shelly *et al.*, 2013; Díaz-Fleisher *et al.*, 2009). La alimentación es otro factor fundamental que tiene influencia sobre la longevidad, habilidad de vuelo y maduración sexual de los insectos (Yuval *et al.*, 2007; Liedo *et al.*, 2013).

En este trabajo se evaluaron el efecto de tres densidades de confinamiento (1.0, 1.3 y 1.5 moscas/cm<sup>2</sup>) y dos tipos de alimento (Mubarqui y proteína hidrolizada más azúcar en proporción de 1:24) sobre la calidad de adultos de *A. ludens* cepa bisexual y la CSG Tapachula-7.

## **Materiales y Método**

Las evaluaciones se realizaron en los laboratorios del departamento de Biología, Ecología y Comportamiento de la Subdirección de Desarrollo de Métodos (Programa Moscafrut, SAGARPA-IICA) y en las instalaciones del Centro de Empaque de Moscas del Mediterráneo (CEMM) (SAGARPA-SENASICA).

Se utilizaron *Anastrepha ludens* de las cepas bisexual y Tapachula-7 procedentes de la producción masiva de la Planta Moscafrut. El material se obtuvo en estado de pupa, irradiado (8 Krad) y teñidas con pigmento fluorescente (DayGlo®, 2 g /kg de pupa). En el caso de la cepa Tapachula-7 se utilizaron solo puparios cafés (machos).

Se emplearon niveles de la torre tipo México II para evaluar simultáneamente tres densidades de empaque y dos tipos de alimentos. La superficie de cada nivel es de 14 200 cm<sup>2</sup> (80 L X 70 An X 10 Al) por lo cual se colocaron 14 200, 18 460 y 21 300 pupas viables para alcanzar las densidades de 1.0, 1.3 y 1.5 moscas/cm<sup>2</sup> respectivamente. Los alimentos correspondieron al preparado con proteína hidrolizada (yeasthydrolyzedenzymatic, ICN Biochemicals, Aurora, OH) y azúcar a razón de 1:24 (Liedo *et al.*, 2013) y al alimento comercial Mubarqui® (Mubarqui Servicio Aéreo, Cd. Victoria, Tamaulipas; México). En cada nivel de empaque se colocaron 120 g de alimento y dos almohadillas (20 X10 cm) saturadas de agua. Las torres se mantuvieron en oscuridad bajo las condiciones ambientales de las salas de emergencia del CEMM (23 ± 1 °C). Al quinto día, después de haber obtenido el 50% de la emergencia de los adultos, las moscas se sometieron al proceso de enfriamiento a 2 ± 1 °C durante 45 min. Se tomaron muestras de adultos en estado de torpor para evaluar los parámetros de calidad de peso de moscas, voladoras, longevidad en inanición y longevidad con agua. El peso de moscas se obtuvo pesando (g) muestras de 100 moscas. Las voladoras se determinó pesando muestras de 20 ml de moscas de acuerdo con Villaseñor *et al.* (2010). Las muestras se colocaron en charolas de plástico y se expusieron a la sombra a condiciones ambientales naturales (28.0 ± 2.2 °C, 65.6 ± 7.1 % HR) por 45 min, tiempo suficiente para que las moscas volaran fuera de la charola. El residuo total se pesó (moscas que no lograron salir de la charola, moscas no voladoras, deformes o muertas). El porcentaje de voladoras se estimó a través de la diferencia del peso inicial de la muestra y el peso residual. La longevidad en inanición y con agua, se determinó colocando 30 machos en vasos de plásticos de 500 ml, los cuales se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio (23.0 ± 2.5 °C, 70.5 ± 10.0 % HR y un fotoperiodo de 12:12 horas luz: oscuridad). Cada 12 horas se registró el número de machos muertos y se determinó el tiempo promedio (horas) del 50% de sobrevivencia de los insectos. El análisis de los diferentes factores estudiados se realizó a través de un ANOVA. El efecto de lote de mosca se consideró dentro del análisis como un factor aleatorio. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) [JMP v. 7 (SAS Institute, Cary, NC, USA)]. Los valores

porcentuales se transformaron a rangos (Conover&Iman 1981). Los valores porcentuales en tablas se presentan sin transformar.

**Resultados**

*Peso de mosca.* El peso de los adultos en la cepa bisexual varió significativamente dependiendo del alimento proporcionado ( $F_{1, 66} = 173.89$ ;  $P = 0.0001$ ). Los adultos que dispusieron proteína/azúcar 1:24 presentaron los mayores pesos. En relación a la densidad los tres tratamientos variaron estadísticamente entre sí ( $F_{2, 66} = 27.26$ ;  $P = 0.0001$ ). Los adultos confinados a las densidades de 1.0 y 1.5 moscas/cm<sup>2</sup> presentaron los mayores y menores pesos respectivamente (Cuadro 1). La interacción alimento\*densidad no fue significativa ( $F_{2, 66} = 0.52$ ;  $P = 0.5956$ ). En la cepa Tapachula-7, los adultos que dispusieron alimento de proteína/azúcar 1:24 presentaron mayores pesos que aquellos que se alimentaron con Mubarqui ( $F_{2, 66} = 129.11$ ;  $P = 0.0001$ ). La densidad de confinamiento también influyó sobre esta variable ( $F_{2, 66} = 4.500$ ;  $P = 0.0155$ ). Los adultos sometidos a densidades de 1.0 y 1.5 moscas/cm<sup>2</sup>, presentaron los mayores y menores pesos en relación con la densidad de 1.3 moscas/cm<sup>2</sup> aunque sin diferencias estadísticas con alguno de ellos (Cuadro 1). La interacción alimento\*densidad no fue significativa ( $F_{2, 66} = 0.39$ ;  $P = 0.6773$ ).

Cuadro 1. Promedios (±E.E) del peso (g) de 100 adultos de *A. ludens* cepa bisexual y Tapachula-7, confinados a dos tipos de alimento (proteína/azúcar 1:24 y Mubarqui) y tres densidades (1.0, 1.3 y 1.5 mosca/cm<sup>2</sup>).

Cepa de mosca	Peso (g) de 100 adultos (promedio ± EE)					
	Proteína/azúcar 1:24			Mubarqui		
	Densidad de confinamiento (moscas/cm <sup>2</sup> )			Densidad de confinamiento (moscas/cm <sup>2</sup> )		
	1.0	1.3	1.5	1.0	1.3	1.5
Bisexual	1.43± 0.02 a	1.36±0.02 b	1.3 ± 0.03c	1.26± 0.02 cd	1.20±0.02 e	1.14±0.02 f
Tap-7	1.23± 0.02 a	1.20±0.02 ab	1.16 ± 0.03 b	1.05± 0.02 b	1.04±0.02bc	1.01±0.02 c

Valores en la misma filas y seguidos con la misma letra, no difieren significativamente (Tukey = 0.05).

**Voladoras.** Los porcentajes de adultos voladores entre ambas cepas difirieron significativamente ( $F_{1, 132} = 42.89$ ;  $P = 0.0001$ ). En la cepa bisexual se presentaron los mayores porcentajes. El alimento no influyó de manera estadística sobre la capacidad de vuelo ( $F_{1, 132} = 2.90$ ;  $P = 0.0911$ ), pero si el tratamiento de densidad ( $F_{1, 132} = 10.853$ ;  $P = 0.0001$ ). Los mayores porcentajes de adultos voladores se obtuvo en la densidad de 1.0 mosca/cm<sup>2</sup>. Las otras densidades no variaron estadísticamente entre sí. Las interacciones; cepa\*alimento, cepa\*densidad, alimento\*densidad, cepa\*alimento\*densidad, no presentaron significancia ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2).

**Longevidad en inanición y con agua.** La longevidad de los adultos bajo condiciones de inanición no varió estadísticamente entre las dos cepas de mosca ( $F_{1, 132} = 0.0002$ ;  $P = 0.9668$ ). Los adultos que consumieron proteína hidrolizada: azúcar 1:24 sobrevivieron mayor tiempo ( $F_{1, 132} = 127.27$ ;  $P = 0.0001$ ). La longevidad varió también dependiendo de la densidad de confinamiento ( $F_{1, 132} = 127.27$ ;  $P = 0.0001$ ). Se observaron diferencias significativas entre las tres densidades evaluadas, siendo la densidad menor la que presentó los mayores tiempos de longevidad. Las diferentes interacciones: cepa\*alimento, cepa\*densidad, alimento\*densidad, cepa\*alimento\*densidad, no presentaron significancia ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2).

Resultados muy similares se observaron con la longevidad con agua, la cual no presentó diferencias estadísticas entre las cepas de moscas ( $F_{1, 132} = 1.94$ ;  $P = 0.1666$ ), pero sí en el tipo de alimento ( $F_{1, 132} = 142.685$ ;  $P = 0.0001$ ) y la densidad de confinamiento ( $F_{2, 132} = 15.72$ ;  $P = 0.0001$ ). Los adultos que sobrevivieron mayor tiempo en estas condiciones fueron aquellos alimentados con proteína hidrolizada: azúcar 1:24 y mantenidos a la densidad menor. Las tres densidades de confinamiento presentaron diferencias estadísticas entre sí. Las diferentes interacciones; cepa\*alimento, cepa\*densidad, alimento\*densidad, cepa\*alimento\*densidad, no presentaron significancia ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedios ( $\pm$ E.E) de % de voladoras, longevidad en inanición y estrés (horas) de adultos de *A. ludens* cepa bisexual y Tapachula-7, confinados a dos tipos de alimento (proteína/azúcar 1:24 y Mubarqui) y tres densidades (1.0, 1.3 y 1.5 mosca/cm<sup>2</sup>)

Factores			Variables (promedio $\pm$ EE)		
Cepa de mosca	Alimento	densidad	% voladoras	Longevidad (h)	
				inanición	con agua
Bisexual	Proteína/ Azúcar 1:24	1.0	94.9 $\pm$ 0.8a	60.2 $\pm$ 3.7a	82.9 $\pm$ 2.8a
		1.3	93.2 $\pm$ 0.9b	49.5 $\pm$ 3.6 b	80.1 $\pm$ 5.0b
		1.5	91.9 $\pm$ 1.3bc	41.8 $\pm$ 5.6c	70.6 $\pm$ 5.3c
	Mubarqui	1.0	95.8 $\pm$ 0.9a	39.4 $\pm$ 3.2c	67.1 $\pm$ 4.9c
		1.3	93.3 $\pm$ 1.1b	32.5 $\pm$ 3.2 d	58.1 $\pm$ 6.1 d
		1.5	92.2 $\pm$ 1.6b	29.0 $\pm$ 2.8 e	50.2 $\pm$ 3.0 e
Tapachula-7	Proteína/ Azúcar 1:24	1.0	90.1 $\pm$ 0.8 c	52.4 $\pm$ 4.6a	85.6 $\pm$ 4.4a
		1.3	90.0 $\pm$ 0.7 dc	51.2 $\pm$ 3.4b	81.5 $\pm$ 4.9b
		1.5	88.2 $\pm$ 1.1 d	45.9 $\pm$ 4.1c	77.0 $\pm$ 5.7c
	Mubarqui	1.0	91.0 $\pm$ 1.1 c	38.8 $\pm$ 2.8c	64.7 $\pm$ 4.6 c
		1.3	89.9 $\pm$ 1.2 d	32.7 $\pm$ 3.4 d	59.2 $\pm$ 5.8 d
		1.5	89.6 $\pm$ 1.0 d	31.7 $\pm$ 3.6 e	55.4 $\pm$ 5.3 e

Valores en las misma columnas y seguidos con la misma letra, no difieren significativamente (Tukey = 0.05).

## Discusión

En todas las variables estudiadas la interacción cepa-tratamiento no fue significativa, lo cual indica que la respuesta de ambas cepas no difieren al ser sometidas a las condiciones evaluadas (densidad y alimento), por lo que al analizar en detalle cada una de las variables omitiremos el factor cepa, asumiendo que lo que es bueno o malo para una de ellas, lo es también para la otra. La interacción de los factores densidad y alimento tampoco presentó significancia, por lo que se discutirán los resultados de cada parámetro por separado. En la evaluación de la densidad, el confinamiento de 1 mosca/cm<sup>2</sup> ofreció significativamente mejores resultados. Las moscas de este tratamiento pesaron más, presentaron los más altos porcentajes de voladoras y sobrevivieron mayor tiempo bajo las dos condiciones evaluadas. Los efectos adversos sobre la longevidad y voladoras debido a la densidad de confinamiento han sido reportados con anterioridad en moscas de la fruta (Gaskinet *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2010). Incluso, se sabe que el espacio per cápita, puede tener influencia negativas sobre parámetros tan importantes para la TIE como es la competitividad sexual de los machos (Gaskinet *et al.*, 2002; Díaz-Fleisher *et al.*, 2009). Por otra parte, los efectos de la densidad pueden variar en relación al sexo, siendo los machos más susceptibles (Gaskinet *et al.*, 2002; Díaz-Fleisher *et al.*, 2009). Los insectos silvestres pueden ser más susceptibles que los de laboratorio (Gramajo-Reyes *et al.*, 2009)

al dispositivo de confinamiento. Una misma densidad puede tener efectos negativos en un tipo de contenedor y en otro no (Hernández *et al.*, 2010). Se ha reportado que la alta densidad de confinamiento no ocasiona daños a la calidad del adulto, pero que es una condicionante para que el proceso de enfriamiento afecte la habilidad de vuelo y la competitividad sexual de estos insectos (Shelly *et al.*, 2013).

Los resultados en la evaluación del tipo de alimento, indican que la proporción proteína: azúcar 1:24 fue mejor fuente de nutrientes que el tipo Mubarqui. Los adultos confinados con proteína/azúcar 1:24 fueron significativamente más pesados y más longevos. El tipo de alimento no influyó en la variable de voladoras. Es muy probable que el alimento 1:24, sea una fuente más rica de aminoácidos que el alimento Mubarqui. Se ha determinado que el consumo de proteína incrementa el peso, y la longevidad e influye directamente sobre la madurez sexual de los adultos (Blay & Yuval 1997; Perez-Staples *et al.*; 2007).

### Agradecimientos

Por la asistencia técnica a: Luis M. Estrada, Gladis L. López, Javier Coutiño, Mario Pineda y Jorge Coronado. A Lucy Tirado por todo el apoyo logístico prestado en el CEMM y sus múltiples recomendaciones y al Dr. Salvador Flores por la revisión y sugerencias en el escrito.

### Literatura Citada

- Blay, S. and B. Yuval. 1997. Nutritional correlates of reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Animal Behaviour* 54: 59–66.
- Díaz-Fleischer F., J. Arredondo and M. Aluja. 2009. Enriching early adult environment affects the copulation behaviour of a tephritid fly. *The Journal Experimental Biology* 212: 2120-2127.
- Gaskin, T, P. Futerman, and T. Chapman. 2002. Increased density and male–male interactions reduce male longevity in the medfly, *Ceratitis capitata*. *Animal Behaviour* 63: 121– 129.
- Gramajo-Reyes, R. F., J. Arredondo y F. Díaz-Fleisher. 2009. Densidad óptima de confinamiento de la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew) (Díptera: Tephritidae). En Estrada V. E. G., A. Equihua M., M. P. Chaires G., J. A. Acuña S., J. R. Padilla R. y A. Mendoza E. (eds.) *Entomología Mexicana Vol. 9. Sociedad Mexicana de Entomología, A.C.* pp. 235-239.
- Hernández, E., A. Escobar, B. Bravo & P. Montoya. 2010. Chilled packing systems for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in the Sterile Insect Technique. *Neotropical Entomology* 39 (4): 601-607.
- Liedo, P., D. Orozco, L. Cruz-López, J. L. Quintero, C. Becerra-Pérez, M. del R. Hernández, A. Oropeza & J. Toledo. 2013. Effect of post-teneral diets on the performance of sterile *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* fruit flies. *Journal of Applied Entomology* 137: 49-60.
- Perez-Staples, D., V. Prabhu and P.W. Taylor. 2007. Post-teneral protein feeding enhances sexual performance of Queensland fruit flies. *Physiological Entomology* 32: 225–232.
- Reyes J, G. Santiago, P. Hernández. 2000. The Mexican fruit fly eradication programme, p.377-380. In Tan K H (ed) *Area-wide control of fruit flies and other insect pests*. Malaysia, Penang, PenerbitUniversitiSains, 782p.
- Shelly, T. E., J. Edu and J. Nishimoto. 2013. Chilling and flight ability and mating competitiveness of sterile males of the Mediterranean fruit fly. *Journal of Applied Entomology* 137: 11-18.
- Villaseñor, A., R. González, M. Rasgado, M. Romero, E. Hernández and P. Montoya. 2010. Sample size and methodology to estimate absolute flyer flies post-chilling of sterile medfly, *Ceratitis*

- capitata, pp. 125-133. En: Sabater- Muñoz, B., V. Navarro-Llopis and A. Urbaneja (eds.) Proceedings of 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Ed. Universitat Politècnica de Valencia, Spain.
- Yuval, B., M. Maor, K. Levy, R. Kaspi, P. Taylor & T. Shelly. 2007. Breakfast of champions or kiss of death? Survival and sexual performance of protein-fed, sterile Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 90: 115–122.
- Zavala, J. L., E. Hernández & P. Montoya. 2010. Empaque y liberación de Moscas Estériles. En: P. Montoya, J. Toledo y E. Hernández (eds.), Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. S y G editores, México, D.F. pp. 319-330.
- Zepeda, C. S. 2010. Desarrollo de Cepas de Sexado Genético. En: P. Montoya, J. Toledo y E. Hernández (eds.), Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. S y G editores, México, D.F. pp. 333-342.