

**Biología reproductiva de *Metamasius*
quadrilineatus (Coleoptera: Dryophthoridae) y
parasitismo por su agente de control biológico cf.
Lixophaga (Diptera: Tachinidae) en condiciones
de laboratorio**

Diego Eddie Alexis Pú Pacheco

ZAMORANO

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2005

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Biología reproductiva de *Metamasius*
quadrilineatus (Coleoptera: Dryophthoridae) y
parasitismo por su agente de control biológico cf.
Lixophaga (Diptera: Tachinidae) en condiciones
de laboratorio**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado Por:

Diego Eddie Alexis Pú Pacheco

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o
jurídicas se reservan los derechos de autor.

Diego Eddie Alexis Pú Pacheco

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

Biología reproductiva de *Metamasius quadrilineatus* (Coleoptera: Dryophthoridae) y parasitismo por su agente de control biológico cf. *Lixophaga* (Diptera: Tachinidae) en condiciones de laboratorio

Presentado por:

Diego Eddie Alexis Pú Pacheco

Aprobado:

Alonso Suazo, Ph. D.
Asesor Principal

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador Área Fitotecnia/CCPA

Ronald Cave, Ph. D.
Asesor

Abelino Pitty, Ph.D.
Director Interino Carrera de Ciencia
y Producción Agropecuaria

Howard Frank, Ph. D.
Asesor

George Pilz, Ph. D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso que nunca se aparta de mí y me ayudado en todo cuanto he logrado dándome fuerzas para seguir adelante.

A mis padres Juan Pú Tojín y Marta Pacheco Loarca, por haberme enseñado a vivir de una manera correcta, a salir adelante en la vida y siempre me han apoyado en todo y cuanto he emprendido.

A mis hermanos Dennis, Karla, Anabella y a mi primo Juan José que siempre creyeron en mí y me dieron ánimos para seguir adelante.

A mis amigos por siempre estar ahí en las buenas y malas apoyándome.

A mis colegas de la clase Némesis 2005 por haber sido mi familia estos últimos cuatro años.

A todas esas personas (trabajadores de campo, personal administrativo y docente) que siempre han estado ahí y me han ayudado en todo cuanto he necesitado.

A mi Alma Mater que me enseñó de lo que puedo ser capaz, y que el trabajo lo vence todo (Labor Omnia Vincit).

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen Maria por ser los pilares que guían mi camino, quienes nunca me desamparan.

A mis padres que siempre se han esforzado por que salga adelante y han puesto todo su empeño y ayuda para que me supere.

Al Dr. Alonso Suazo por siempre indicarme la dirección correcta para realizar mi trabajo, su apoyo incondicional y su paciencia inagotable. Por enseñarme que la esencia de la investigación esta en los detalles, ser un ejemplo de humildad y ser mi mentor.

Al equipo del proyecto “El Picudo de las bromelias”; Julio, Dña. Rosa y Ana por su ayuda y amistad.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco la Fundación Kellogg's por el financiamiento brindado para continuar mis estudios de Ingeniería Agronómica.

Agradezco a la Escuela Agrícola Panamericana, "El Zamorano" por el financiamiento brindado para continuar mis estudios de Ingeniería Agronómica.

Al Servicio de Parques de la Florida y al Departamento de Entomología y Nematología de la Universidad de Florida por haber financiado esta investigación.

RESUMEN

Pú, D. 2005. Biología reproductiva de *Metamasius quadrilineatus* (Coleoptera: Dryophthoridae) y parasitismo por su agente de control biológico cf. *Lixophaga* (Diptera: Tachinidae) en condiciones de laboratorio. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 18 p.

Las bromeliáceas son plantas epífitas o terrestres. Juegan un rol importante en el ecosistema sirviendo de refugio para varias especies de animales. En Florida existen 16 especies de bromeliáceas nativas, 12 de estas son amenazadas debido al daño causado por el picudo mexicano de las bromeliáceas *Metamasius callizona* (Chevrolat) (Coleoptera: Dryophthoridae). En la actualidad, es una de las principales plagas tanto para las bromeliáceas cultivadas como las que crecen en áreas naturales. En los bosques nublados de Honduras se encontró una mosca, cf. *Lixophaga* (Diptera: Tachinidae) parasitando la etapa larval del picudo de las bromeliáceas *Metamasius quadrilineatus* Champion (Coleoptera: Dryophthoridae). Esta mosca parasítica es un agente potencial para el control de *M. callizona*. Los objetivos de esta investigación fueron estudiar la fecundidad y longevidad de las hembras de *M. quadrilineatus*. El efecto de la tasa de mosca hembra por larva de picudo para maximizar el parasitismo en *M. quadrilineatus*. Estudiar si existe un método de parasitismo artificial en un sistema de crianza masiva. Se hicieron recolecciones de material biológico muestreando plantas e insectos en los bosques nublados de Cerros Uyuca y Monserrat, Honduras. Se usaron jaulas experimentales de 25 × 30 × 50 cm con cinco picudos hembras y cinco picudos machos. En promedio las hembras de picudo pueden llegar a vivir hasta 209 días. La distribución de la frecuencia de oviposición fue de aspecto bimodal, con un 83% de la producción de huevos entre las semanas 3 y 13 de vida adulto. El total del período de oviposición fue de 147 días. El inicio de la oviposición se dio 23.3 ± 3.6 días después de emergido los adultos, período que se considera importante para el apareamiento, desarrollo y madurez de los hembras. Hembras de *M. quadrilineatus* produjeron en promedio 0.14 huevos por hembra por día, con un porcentaje promedio de viabilidad de 52%. El periodo de incubación promedio de los huevos de 8.0 ± 3.4 días. Larvas de *M. quadrilineatus* recién emergidas alcanzan el estadio óptimo para parasitismo (tercer estadio) en 16.0 ± 2.5 días. Las pérdidas estimadas por manipuleo hasta llegar el tercer estadio fueron de 21%. La frecuencia de parasitismo y parasitismo gregario fue mayor cuando se usó una tasa de una mosca por dos larvas de picudo (44% y 13%, respectivamente); cuando se usó una mosca por cuatro larvas de picudo el porcentaje promedio de parasitismo y parasitismo gregario fue de 13% y 0%, respectivamente. Se logró parasitismo al colocar larvas neonatas de cf. *Lixophaga* sobre larvas de picudo de tercer estadio. Se encontró 63% de parasitismo (n=35). El tiempo que tarda en penetrar la larva neonata en su hospedero fue de 12.7 ± 4.7 min. El tiempo que tarda en desarrollarse dentro de su hospedero fue de 13.9 ± 0.9 días.

Palabras clave: Bromeliáceas, fecundidad, hospedero, larvas neonatas, longevidad, *Metamasius callizona* y parasitismo gregario.

CONTENIDO

Portadilla	i
Autoría.....	ii
Página de firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos	v
Agradecimientos a patrocinadores	vi
Resumen	vii
Contenido	viii
Índice de figuras.....	ix
 1. INTRODUCCIÓN	 1
 2. MATERIALES Y MÉTODOS	 3
2.1 UBICACIÓN	3
2.2 MATERIALES EXPERIMENTAL.....	3
2.3 MÉTODOS	4
2.4 ANÁLISIS DE DATOS	6
 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 11
 4. CONCLUSIONES.....	 16
 5. RECOMENDACIONES	 17
 6. BIBLIOGRAFÍA.....	 18

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1. Larva de tercer estadio de *M. quadrilineatus* puesta en una porción de tallo de *T. standleyi* (A). Este sistema se usó para mantener las larvas colectadas del campo y para exponer las larvas de tercer estadio para ser parasitadas. Larvas de cf. *Lixophaga* recién saliendo de su hospedero (B)6
2. Larvas de *M. quadrilineatus* presentando parasitismo gregario con dos larvas de cf. *Lixophaga* (A). Pupas recién formadas (B)7
3. Sistema utilizado para incubar pupas de cf. *Lixophaga* en el laboratorio. Las pupas fueron colocadas en un plato Petri entre discos de papel toalla humedecida a 21°C y 70% de humedad relativa7
4. Jaula de madera y tela metálica de 1.5 × 1.5 × 1.2 m usadas para el criadero principal de cf. *Lixophaga*. Nótese las bandejas cada una con 30 vasos de 30 ml cada uno conteniendo larvas de *M. quadrilineatus* en tallos de *T. standleyi* listos para ser parasitados7
5. Jaulas experimentales de madera y tela metálica de 30 × 30 × 30 cm usadas para colocar a los picudos machos y hembras para aparearse y para efectuar ensayos de parasitismo8
6. Tibia de la pata posterior de *M. quadrilineatus* sin vellosidades, característico de las hembras (A) y con vellosidades característico de los machos (B).....8
7. Huevos de *M. quadrilineatus* colocados en el parenquima de las hojas de *C. floribunda*. El contraste del huevo y la hoja hace mas fácil la visualización de este.....9
8. Parte ventral del abdomen de cf. *Lixophaga*. A). Abdomen de la hembra de forma redondeada y de color oscuro. B) Abdomen del macho de forma alargada y de color marrón9
9. Larvas neonatas de cf. *Lixophaga* listas para ser colocadas sobre larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus*.....10
10. Promedio de huevos por hembra por día de *M. quadrilineatus* dos semanas después de apareados. Valores de las barras con letras distintas son significativamente diferentes ($P<0.05$; Pruebas Duncan). Líneas sobre las barras corresponden a los valores de error estándar12

11.	Porcentaje de viabilidad de los huevos de las hembras de <i>M. quadrilineatus</i> dos semanas después de apareados. Valores de las barras con letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$; Pruebas Duncan). Líneas sobre las barras corresponden a los valores de error estándar	13
12.	Porcentaje de mortalidad acumulativa de las hembras de <i>M. quadrilineatus</i> tres semanas después de haber emergido	13
13.	Porcentaje de sobrevivencia acumulada de larvas de primero a sexto estadios de <i>M. quadrilineatus</i> en laboratorio.....	14
14.	Porcentaje de parasitismo y parasitismo gregario de cf. <i>Lixophaga</i> en larvas de tercer estadio de <i>M. quadrilineatus</i>	15

1. INTRODUCCIÓN

Metamasius quadrilineatus Champion (Coleoptera: Dryophthoridae), el picudo de las bromeliáceas es originario de los bosques nublados de Honduras y Guatemala, se le puede encontrar en zonas entre los 1800 y 2000 msnm (Álvarez y Cave 1999) Estos bosques se caracterizan por la presencia de pino (*Pinus maximinoi* Moore) en las zonas bajas y de especies latifoliadas en las zonas mas altas. En su ambiente natural no se le considera una plaga de importancia para las especies de bromelias epífitas que se encuentran en estas zonas debido a la presencia de enemigos naturales incluyendo entre otros a pájaros, hormigas, arañas y escarabajos depredadores (Álvarez 1997). *M. quadrilineatus* desarrolla su ciclo de vida en especies de bromelias epífitas nativas de los bosque nublado, tales como: *Tillandsia standleyi* L.B. Smith, *Tillandsia ponderosa* L.B. Smith, *Catopsis floribunda* Brongniart y *Catopsis hahni* Baker (Álvarez 1997).

En exploraciones realizadas en 1997 en los bosques nublados de la reservas biológicas de Uyuca, Montserrat, Cerro de Apalagua y El Aguacate, aledaños a la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, se encontró una mosca taquinida (cf. *Lixophaga* Díptera: Tachinidae) parasitando (endoparásito) diferentes estadíos larvales de *M. quadrilineatus* (Álvarez y Cave 1999). cf. *Lixophaga* ha sido clasificada recientemente como un género nuevo para la ciencia y solo se ha encontrado en las reservas biológicas aledañas a Zamorano incluyendo las anteriormente mencionadas y la reserva biológica del Chile (Álvarez y Cave 1999).

Metamasius callizona Chevrolat (Coleoptera: Dryophthoridae), el picudo mexicano de la bromelias es originario de los bosques nublados de México y Guatemala, fue introducido accidentalmente a la Florida en cargamentos de bromelias ornamentales procedentes de Mexico y Guatemala (Larson y Frank 2000). *M. callizona* fue reportado por primera vez en el sur de Florida en 1989 (Frank 1991). El daño causado por *M. callizona* no solo se limita a las bromelias epífitas y terrestres de los parques nacionales del sur de la Florida sino también a plantaciones comerciales de bromelias ornamentales cultivadas bajo invernadero. Actualmente, es una de las principales plagas que amenaza con extinguir a 12 de las 16 especies de bromelias nativas de los parques y áreas naturales del sur de la Florida, tales como *Tillandia utriculata* Linnaeus y *Tillandia fasciculata* Swartz entre otras. La recolección de semilla de bromeliáceas nativas que están en peligro de extinción es una de las medidas que se están tomando en el sur de la Florida para eventualmente propagar estas plantas y recolonizar las áreas afectadas (Frank y Thomas 1994).

Se ha comprobado, en pruebas de especificidad, que cf. *Lixophaga* parasita a *M. callizona* y por lo tanto, puede ser utilizada como un agente potencial de control biológico. También se determinó que los niveles de parasitismo gregario de cf. *Lixophaga* en *M. callizona* son significativamente superiores a los encontrados en *M. quadrilineatus* (Frank 2000). Actualmente, no existe un protocolo determinado para la producción masiva de cf. *Lixophaga* debido a la falta de información de la biología básica tanto de la mosca como del picudo. La disponibilidad de un gran número de larvas de picudos es por lo tanto un componente indispensable para el establecimiento de criaderos de cf. *Lixophaga* y la producción de moscas

a niveles lo suficientemente grandes para la implementación de un programa efectivo de control biológico. Como parte de esto, es necesario saber el potencial reproductivo de *M. quadrilineatus* (fecundidad) y determinar la longevidad de las hembras para poder implementar un criadero de picudos y por lo tanto, disponer de material biológico para que las moscas parasiten (Álvarez y Cave 1999).

Estudios realizados en 2004 indican que cf. *Lixophaga* parasita a larvas de *M. quadrilineatus* de tercero a sexto estadio, encontrándose diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de parasitismo en larvas de tercer estadio y cuarto estadio comparado con larvas de quinto a sexto estadio. cf. *Lixophaga* prefiere posiblemente estos estadios ya que el tiempo que tarda en desarrollar su etapa larval en *M. quadrilineatus* es de 14 a 16 días. Probablemente el primer y segundo estadio larval de los picudos no sea lo suficientemente grandes para proveer de alimento a las larvas de cf. *Lixophaga* y por lo tanto la larva neonata no se llega a desarrollar completamente. En pruebas preliminares y en larvas parasitadas del campo se ha encontrado parasitismo gregario en larvas de *M. quadrilineatus*, esto indica que las moscas larvipositan varias larvas neonatas en la entrada del túnel hecho por la larva en las plantas hospederas. Posteriormente las larvas neonatas entran a la larva en donde desarrolla su estado larval y salen de su hospedero unos días antes de empupar (Anzaldo 2004).

En estudios realizados por Álvarez y Cave (1999) se comprobó que las hembras adultas de cf. *Lixophaga* tienen preferencia en buscar las bromelias dañadas por larvas de picudos y no a las bromelias sanas para larvipositar, posiblemente debido a señales químicas en el ambiente asociadas al daño producido en la bromelia tales como el olor de la planta o de su hospedero y el olor del excremento de la larva en la bromelia.

La importancia de establecer los factores que afectan el parasitismo y el parasitismo gregario de cf. *Lixophaga* en *M. quadrilineatus* es para determinar si las larvas neonatas puede desarrollarse en óptimas condiciones en larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus* y si el parasitismo gregario influye en la producción de moscas de tamaño pequeño, con menor capacidad reproductiva y menos adaptadas, ya que se ha observado en laboratorio que larvas con parasitismo gregario tienden a producir moscas machos y hembras de tamaño pequeño. Aun no se sabe el efecto que pueda tener el parasitismo gregario en la calidad reproductiva de las moscas. Sin embargo hay evidencias en otros insectos que las hembras y machos más pequeños tienen menor capacidad reproductiva (Frank 1994).

El uso de *M. callizona* como hospedero principal para establecer criaderos de cf. *Lixophaga* en Florida puede presentar un problema ya que *M. callizona* presenta parasitismo gregario con mayor frecuencia que *M. quadrilineatus* y por lo tanto, producir moscas que potencialmente tengan menor capacidad reproductiva. Por esta razón, es de suma importancia entender y estudiar los factores que afectan el parasitismo gregario de cf. *Lixophaga* (Frank 2000).

Los objetivos de este estudio fueron determinar la fecundidad y longevidad de las hembras de *M. quadrilineatus*, las tasas adecuadas de moscas hembras de cf. *Lixophaga* por larva de picudo de *M. quadrilineatus* y estudiar si existe un método de parasitismo artificial, como parte del establecimiento de un protocolo de producción masiva del parasitoide y de su hospedero en laboratorio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 UBICACIÓN

La investigación se realizó en el Laboratorio de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, durante los meses de marzo a octubre de 2005.

2.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

2.2.1 Material biológico

Para la recolección del material biológico se muestrearon plantas e insectos en los bosques nublados de las reservas biológicas Uyuca en San Antonio de Oriente, Monserrat en Yuscarán y en el Cerro Apalagua y Aguacate en Tatumbla, Honduras. Bosques nublados que se encuentran de 1800-2000 msnm con vegetación de especies de pino en las zonas más bajas y especies latifoliados en las zonas más altas. En estos tipos de vegetación se puede encontrar bromelias epifitas de los géneros *Tillandsia*, *Catopsis* y *Vriesea*, entre otros.

Se recolectaron huevos y larvas de primer a sexto estadio de *M. quadrilineatus* en plantas de bromelias especialmente del género *Tillandsia*. Se seleccionaron en el campo las plantas que se encontraban en el suelo con el ápice hacia abajo. En estas existen poca acumulación de agua que no ahogan a las larvas y por lo tanto son preferidas por los picudos para ovipositar en sus hojas. Las larvas fueron colocadas en vasos de plástico transparente de 30 ml de capacidad con tapadera de malla para facilitar aireación. En cada vaso se colocó un pedazo de tallo de *T. standleyi* como fuente de alimento para las larvas y fueron llevadas al laboratorio donde se mantuvieron a 21°C y una humedad relativa de 70%. Se revisaron las larvas de cuarto a sexto estadio cada tres días para ver si estaban parasitadas. A las larvas parasitadas se les retiraba el alimento y se le colocaba una tapa sellada a los vasos para evitar deshidratación (Figura 1). Se esperó que emergieran y empuparan las larvas de cf. *Lixophaga*. Las pupas se colocaron en platos Petri de 10 cm de diámetro y se cubrieron con papel toalla humedecida. Se esperó de 21 a 25 días para que emergiera la mosca de cf. *Lixophaga*. Larvas sin parasitar se usaron como fuente de adultos de *M. quadrilineatus* para iniciar una colonia en laboratorio.

Se inició una colonia de cf. *Lixophaga* con las larvas provenientes de campo que estaban parasitadas. Se esperó que las larvas de las moscas emergieran de su hospedero y empuparan (Figura 2). Se preparó un plato Petri de 10 cm de diámetro colocando papel toalla húmeda en el fondo, luego se colocaron ocho pupas de cf. *Lixophaga* (cada día por 20 días) y luego se procedió a tapar con papel toalla humedecida. Cada día se humedecía el papel toalla con un atomizador manual (Figura 3). Al día 20 se colocó el plato Petri dentro de una jaula de 1.5 × 1.5 × 1.2 m (Figura 4) y se dejó que las moscas emergieran. La cantidad de pupas que se usó se basó para obtener una población estable de 45 moscas hembras y 45 machos considerando que la vida promedio de las moscas adultas es de 15 días que emergen aproximadamente 80% de las moscas en este sistema. Se colocó adentro de la jaula grande una bandeja con 30 larvas de tercer estadio para ser parasitadas y se dejó por dos días dentro de la jaula. Cada dos días se

introdujo una bandeja con 30 larvas de *M. quadrilineatus*. Se alimentó a las moscas con alimento para colibrí (Petky-pet®) y se le proporciona agua colocadas en vasos de 30 ml con una mecha de algodón. Nuevos platos Petri con pupas fueron continuamente agregándose en la jaula para mantener una población constante de moscas.

Se seleccionaron plantas sanas de *T. standleyi* que se encontraban en el suelo de los bosques para ser utilizadas en la alimentación de las larvas de picudo en laboratorio. A las plantas de bromelias se les retiró las hojas y se cortaron tallos de aproximadamente 5 cm de longitud. Los tallos fueron almacenados en bolsas plásticas y preservados a 4°C en un refrigerador. Se mantuvo una temperatura en laboratorio de 21°C y 78% de humedad relativa con aproximadamente 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

2.3 MÉTODOS

2.3.1 Fecundidad y longevidad de las hembras de *Metamasius quadrilineatus*

Se seleccionaron 120 picudos recién emergidos y se colocaron en una jaula de 35 × 35 × 35 cm recubierta con malla metálica. Tallos de *T. standleyi* fueron colocados dentro de la jaula como fuente de alimento para los picudos (Figura 5). Los picudos se dejaron por 10 días en la jaula para asegurar el apareamiento y luego se seleccionaron los mejores 60 picudos. Se sexaron 30 hembras y 30 machos, con base en la presencia(machos) de un mechón de pelos en la tibia de las patas traseras de los picudos y la ausencia (hembras) de este (Figura 6).

Se prepararon seis jaulas de 25 × 30 × 50 cm al mismo tiempo recubierta de malla metálica. Dentro de cada jaula se colocó cinco picudos hembras y cinco machos, con tres plantas de *C. floribunda* como fuente de alimento y sustrato de oviposición de las hembras. El uso de *C. floribunda* se debió a que se conseguía una mayor diferenciación del contraste del huevo con las hojas, facilitando el conteo de los huevos (Figura 7). Las plantas usadas se recolectaron en el campo una semana antes de introducirlas a las jaulas para evitar que larvas y huevos provenientes del campo fueran incluidos en los datos. Cada día se rociaba agua con un atomizador manual para mantener la humedad de las hojas de *C. floribunda*. En cada jaula se colocó un vaso de agua con una mecha de algodón como fuente de agua. Se revisaron las hojas de las plantas de *C. floribunda* cada semana para colectar los huevos. Se cortaron las áreas de las hojas que contenían los huevos (aproximadamente de dos centímetros). Los huevos fueron colocados en vasos de 30 ml de capacidad con un pedazo de papel toalla humedecida y se le cubrieron con tapaderas selladas. Cada día se revisaban los vasos y se humedecía el papel toalla con un atomizador manual para brindarle las condiciones adecuadas de emergencia a los huevos. Se determinó el inicio de oviposición, el largo y ancho de los huevos. Se determinó también el número de huevos producidos por hembra por día, la viabilidad de los huevos como el porcentaje de neonatos emergidos y el número de hembras muertas. Se mantuvo una temperatura de 21°C y 78% de humedad relativa en laboratorio, en el transcurso de todo el experimento.

Se recolectaron 100 huevos de *M. quadrilineatus* en el bosque nublado de la reserva Biológica Uyuca, para comparar la viabilidad de estos con los huevos provenientes de las colonias del laboratorio. Se seleccionaron plantas que se encontraban en el suelo con el ápice hacia abajo y en estado de descomposición no muy avanzado. Se revisaron solo las hojas de las plantas de *T. standleyi* y se colectaron los huevos presentes en ellos y fueron mantenidos como se describió anteriormente. Se determinó el porcentaje de emergencia de los huevos traídos del campo.

Para determinar el porcentaje de larvas útiles para parasitismo (larvas que llegaron a tercer estadio) se seleccionaron 100 larvas recién emergidas de los huevos de *M. quadrilineatus* criados en laboratorio. Estas larvas fueron colocadas en vasos de plástico transparente de 10 ml de capacidad, con tapaderas de malla. Se utilizó tallos de *T. standleyi* de aproximadamente cuatro centímetros de largo como fuente de alimento. Aproximadamente cada cuatro días o según fuera necesario se cambia el alimento. Se determinó el porcentaje de mortalidad de larvas de primer, segundo y tercer estadio. También se determinó el tiempo que tardan las larvas en llegar a tercer estadio en laboratorio a una temperatura de 21°C y 78% de humedad relativa.

2.3.2 Efecto de la tasa de moscas hembras por larvas de picudo en el parasitismo de *M. quadrilineatus*.

Se estudió el efecto de número de larvas de picudos por mosca adulta hembra y los niveles de parasitismo y parasitismo gregario en *M. quadrilineatus*. Se prepararon tres platos Petri de 10 cm de diámetro, cada plato con 20 pupas recién formadas de cf. *Lixophaga*. Se colocó papel toalla humedecida en el fondo del plato, luego se procedió a colocar las pupas y se tapó con papel toalla humedecida. Cada dos días se humedecía el papel toalla con un atomizador manual para brindarle a las pupas las condiciones adecuadas para emerger. Se esperó de 21 a 25 días para que las moscas adultas emergieran y fueran colocadas en jaulas de 35 × 35 × 35 cm recubierta de malla metálica. Las moscas recién emergidas se sexaron dejando cuatro moscas hembras y cuatro machos en cada jaula. La forma como se sexaron fue basándose en la forma y color de la parte ventral del abdomen. Moscas con abdomen alargado y de color marrón (macho) y moscas con el abdomen más redondeado y oscuro (hembra) (Figura 8).

Las moscas fueron alimentadas con alimento para colibrí (Petky-pet®) y se les proporcionó agua colocadas en vasos plásticos transparentes de 30 ml con una mecha de algodón.

Se realizó un primer ensayo usando moscas de tres días de edad. Se esperó que se aparearan y luego se expusieron larvas de picudos de tercer estadio colocadas en tallos sin hojas de *T. standleyi* de aproximadamente 5 cm de largo. Las larvas fueron introducidas en los tallos tres días antes y fueron dejados en la jaula por siete días. Se retiró y se le cambió el alimento a las larvas y se esperó dos semanas para evaluar parasitismo.

Los tratamientos utilizados fueron:

1:4(moscas: picudos): Cuatro moscas hembras por dieciséis larvas de picudos.

1:2(moscas: picudos): Cuatro moscas hembras por ocho larvas de picudo.

4:1(moscas: picudos): Cuatro moscas hembras por una larva de picudos.

Se realizó tres repeticiones para cada tratamiento.

Se realizó un segundo ensayo usando moscas de siete días de edad y que estuvieran ya apareadas. Se seleccionaron larvas de picudo de tercer estadio que fueron colocados en tallos de *T. standleyi* de aproximadamente de 10 cm de longitud con hojas y con raíces y fueron expuestas a las moscas inmediatamente durante siete días. Se retiró y se le cambió de alimento a las larvas. Se esperó dos semanas para observar parasitismo. Se usaron los mismos tratamientos (moscas hembras/larvas de picudo) descritas anteriormente con tres repeticiones para cada tratamiento. Para los dos ensayos se determinó el porcentaje de parasitismo y parasitismo gregario.

2.3.3 Parasitismo artificial.

También se estudió si existe un método para parasitar artificial a las larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus*. Se determinó el tiempo promedio de penetración de las larvas neonatas de cf. *Lixophaga* en las larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus*, y la duración de desarrollo (días) dentro de su hospedero antes de salir y empupar. Se seleccionaron 10 moscas apareadas y de más de 8 días de edad. Se disectaron las moscas, cortándole la parte ventral del abdomen para exponer las larvas neonatas. Las larvas neonatas más activas fueron seleccionadas para parasitar artificialmente a las larvas de tercer y cuarto estadio de *M. quadrilineatus*. (Figura 9). Se seleccionaron 35 larvas de tercer y cuarto estadio, con la ayuda de un pincel fueron tomadas tres larvas neonatas y colocadas sobre las larvas. Las larvas parasitadas fueron colocadas en vasos de 30 ml y alimentados con tallos de *T. standleyi* según fuera necesario.

2.4 ANÁLISIS DE DATOS

Para el estudio de fecundidad y longevidad de las hembras de *M. quadrilineatus* se utilizó estadística descriptiva (promedio y error estándar) y se realizó un ANDEVA (Proc GLM). Se hizo separación de medias con la prueba múltiple Duncan a una probabilidad de ($P \leq 0.05$). Para Efecto de la tasa de moscas hembras por larvas de picudo en el parasitismo de *M. quadrilineatus*, se usó un Diseño de Bloques al Azar, se realizó un ANDEVA y separación de medias con pruebas múltiples Duncan ($P \leq 0.05$).

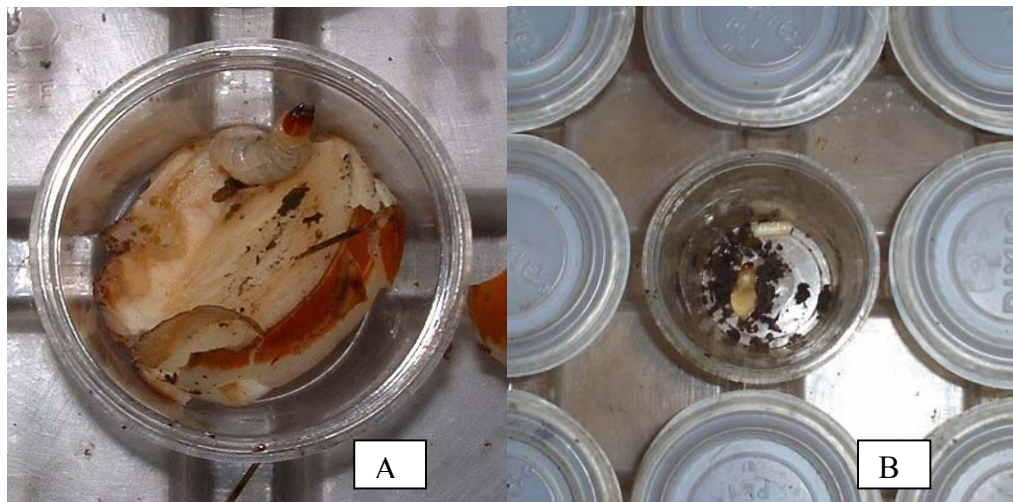


Figura 1. Larva de tercer estadio de *M. quadrilineatus* puesta en una porción de tallo de *T. standleyi* (A). Este sistema se usó para mantener las larvas colectadas del campo y para exponer las larvas de tercer estadio para ser parasitadas. Larvas de cf. *Lixophaga* recién saliendo de su hospedero (B).

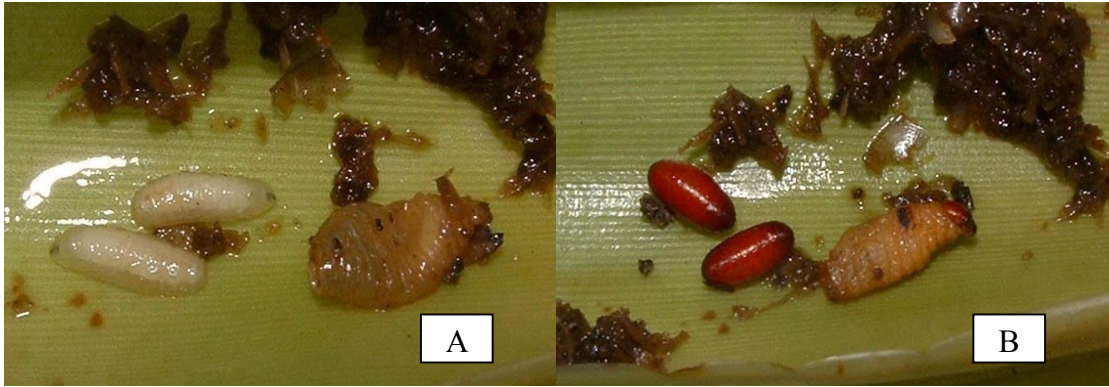


Figura 2. Larvas de *M. quadrilineatus* superparasitadas con dos larvas de cf. *Lixophaga* (A). Pupas de cf. *Lixophaga* recién formadas (B).

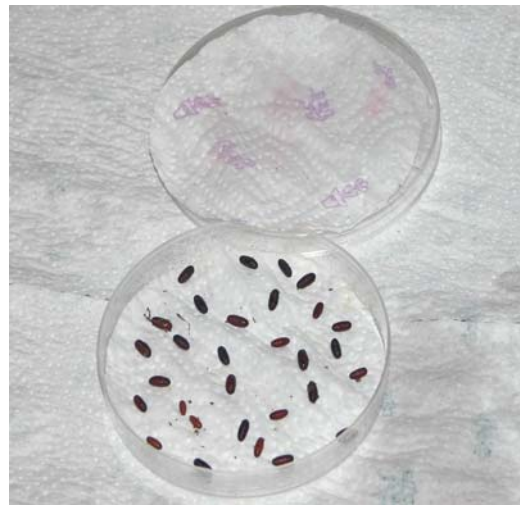


Figura 3. Sistema utilizado para incubar pupas de cf. *Lixophaga* en el laboratorio. Las pupas fueron colocadas en un plato Petri entre dos discos de papel toalla humedecido e incubado a 21°C y 70% de humedad relativa.



Figura 4. Jaula de madera y tela metálica de 1.5 × 1.5 × 1.2 m usada para el criadero principal de cf. *Lixophaga*. Nótese las bandejas cada una con 30 vasos de 30 ml cada uno conteniendo larvas de *M. quadrilineatus* en tallos de *T. standelyi* listos para ser parasitadas.



Figura 5. Jaula experimental de madera de $30 \times 30 \times 30$ cm usada para colocar a los picudos machos y hembras para aparearse y para efectuar ensayos de parasitismo.

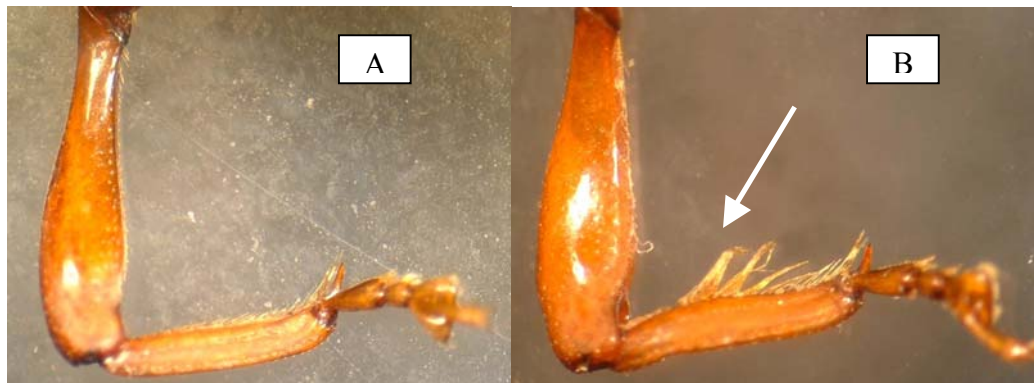


Figura 6. Tibia de la pata posterior de *M. quadrilineatus* sin vellosidades, característica de las hembras (A) y con vellosidades característico de los machos (B).



Figura 7. Huevo de *M. quadrilineatus* colocado en el parenquima de la hoja de *C. floribunda*. El contraste del huevo y la hoja hace más fácil la visualización de este.



Figura 8. Parte ventral del abdomen de cf. *Lixophaga*. A) Abdomen de la hembra de forma redonda y de color oscuro. B) Abdomen del macho de forma alargada y de color anaranjada.

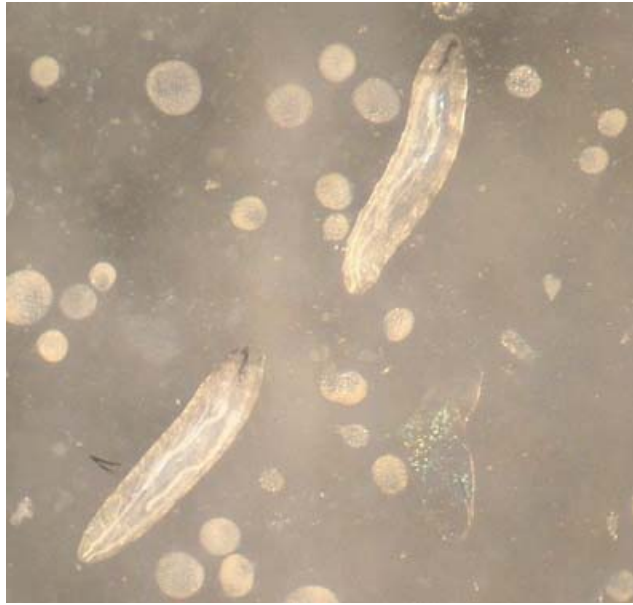


Figura 9. Larvas neonatas de cf. *Lixophaga* listas para ser colocadas sobre larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus*.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Fecundidad y longevidad de las hembras de *Metamasius quadrilineatus*:

La producción promedio de huevos por hembra se presenta en la Figura 10. El estudio fue realizado en un periodo de 30 semanas, pudiendo recolectar un total de 593 huevos de las 30 hembras estudiadas. Fueron colocados individualmente en el parenquima de las hojas de *C. floribunda*. Las hembras de *M. quadrilineatus* empiezan a ovipositar 23.3 ± 3.6 días después de haber emergido de pupa. Es posible que este periodo sea necesario para la maduración sexual, apareo y desarrollo de huevos viables en las hembras de *M. quadrilineatus*. Los huevos son blancos y miden 0.72 ± 0.06 mm (rango = 0.55 – 0.88 mm) de largo y 0.31 ± 0.03 mm (rango = 0.20 – 0.46 mm) de ancho (n=473). En Comparación, el huevo de *M. callizona* es más grande (1.98×0.97 mm) y tiene coloración más amarillenta (Salas y Frank 2001).

Durante las 30 semanas del estudio se produjo un promedio de 0.14 huevos por hembra por día. La producción alcanzó su máximo en la semana ocho después de emergidos, con un promedio de 0.48 huevos por hembra por día. El mínimo de producción fue en la semana 24 con 0.01 huevos por hembra por día. Estos valores son significativamente diferentes ($F=3.98$, $P<0.0001$) comparados con todas las demás semanas (Figura 10). El periodo de oviposición fue de 147 días. Hubo una tendencia bimodal con un pico de producción entre las semanas 3 y 12 y un segundo pico de producción entre las semanas 18 y 24. Entre las semanas 18 y 24 se observó un incremento en la producción de huevos, muy similar a la encontrada con *M. hemipterus* (Weissling *et al.* 2003). No está muy claro el significado biológico de este incremento, pero puede estar asociado con algún tipo de sobrevivencia del picudo. Se encontró un periodo de incubación promedio de los huevos de 8.0 ± 3.3 días. La producción de huevos por hembra por día comparado con otras especies de *Metamasius* es más bajo, por ejemplo con *M. hemipterus* se encontró una producción de 1.1 huevos por hembra por día.

Los promedios semanales de viabilidad de los huevos por semana pueden verse en la Figura 11. El mayor porcentaje de viabilidad de los huevos se encontró en la semana ocho (76%), que coincide con el pico más alto de producción de huevos seguido de la semana siete (68%) ($F=9.57$; $P<0.0001$). Una reducción significativa de la viabilidad de los huevos se observó en las semanas 13 a 15 ($F=9.57$; $P<0.0001$), incrementándose en la semana 17, reduciéndose a 0% en la semana 22. Es importante notar que en las semanas 22 y 23 la producción promedio de huevos fue relativamente alta (0.20 y 0.31, respectivamente). Sin embargo, todos estos huevos no eran viables, posiblemente como resultado de la edad de las hembras y/o de deficiencias en la fertilización de los huevos. El porcentaje de eclosión de huevos recolectado en el campo fue de 68% (n=100), comparado con 52% (n=593) de viabilidad de huevos colectados en el laboratorio. Esto posiblemente porque las hembras más viejas que producen huevos menos viables son eliminados en el campo por factores de selección. También es posible que las hembras de laboratorio pierdan todos los espermatozoides en el tiempo, mientras que las hembras de campo pueden reemplazarlos al aparearse con machos más jóvenes.

El porcentaje de mortalidad por semana de las hembras puede verse en la Figura 12. Durante las primeras 11 semanas se observó una mortalidad muy baja (8%). La mortalidad de las hembras se empezó a ver en la semana 11 (12%) y el incremento de la mortalidad fue gradual hasta que se murieron todas las hembras por la semana 30 o sea 209 días, con un promedio de vida de 119.0 ± 45.0 días.

Con el propósito de determinar el número estimado de larvas que alcanzan tamaño óptimo para ser parasitadas, se seleccionaron 100 larvas de primer estadio y se determinó el porcentaje de mortalidad entre cada estadio (Figura 13). La mayor parte de la mortalidad ocurrió en larvas de primer estadio (11%) debido a las dificultades que presenta en el manipuleo de ellos. No se observó pérdida de larvas después de tercer estadio. Un total de 11 larvas se murieron en primer estadio, 10 larvas se murieron en el segundo estadio y 79 larvas pasaron a tercer estadio y pudieron llegar a sexto estadio. El tiempo promedio desde que nació una larva para alcanzar el tercer estadio fue de 16.0 ± 2.4 días. Esta información junto con la viabilidad de los huevos es importante para poder estimar la cantidad de huevos que se requieren para una producción deseada de larvas óptimas para parasitismo. Se podrá así establecer las bases para producir modelos matemáticos requeridos para un programa de producción de moscas para control biológico.

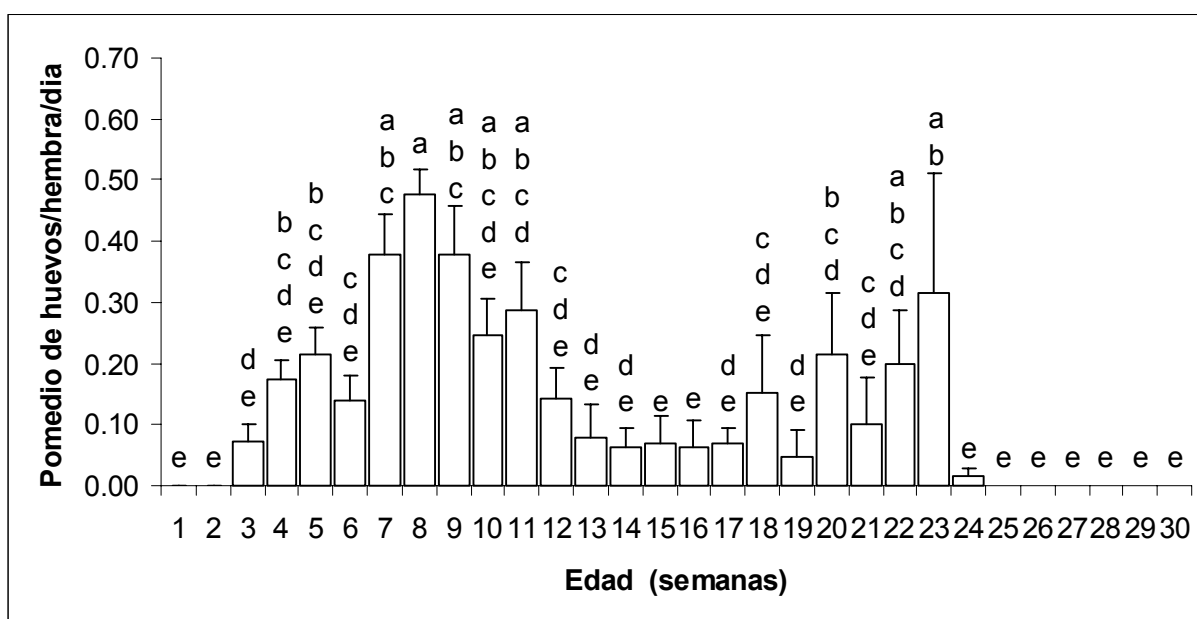


Figura 10. Promedio de huevos por hembra por día de *M. quadrilineatus* dos semanas después de apareados. Valores de las barras con letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$; Pruebas Duncan). Líneas sobre las barras corresponden a los valores de error estándar.

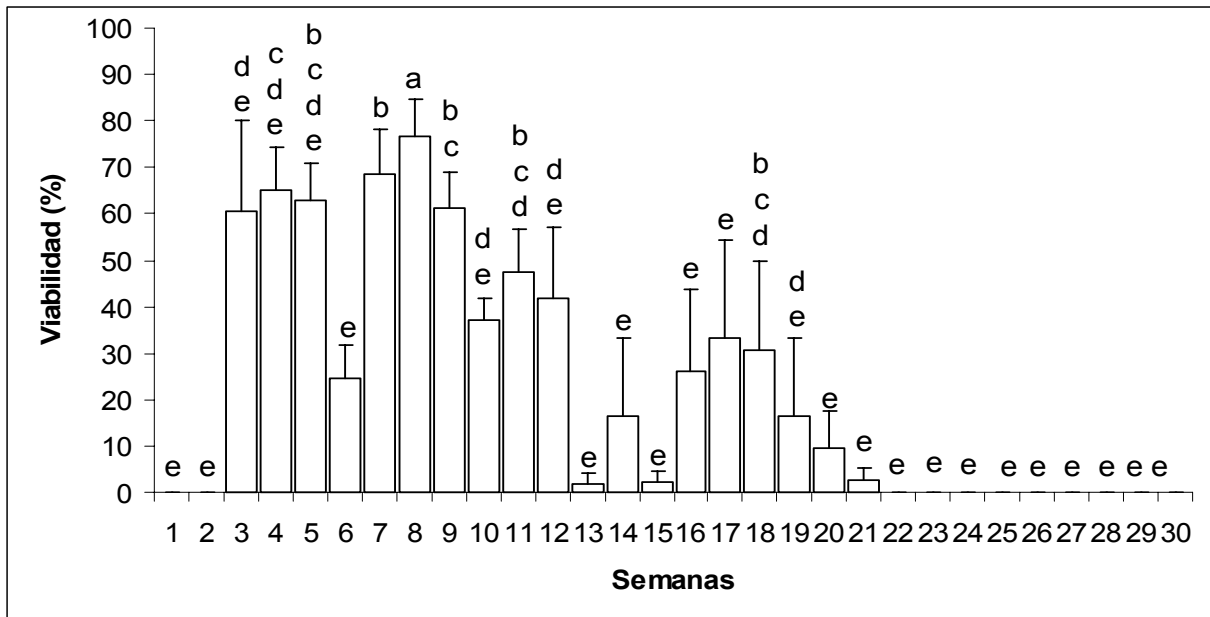


Figura 11. Porcentaje de viabilidad de los huevos de las hembras de *M. quadrilineatus* dos semanas después de apareados. Valores de las barras con letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$; Pruebas Duncan). Líneas sobre las barras corresponden a los valores de error estándar.

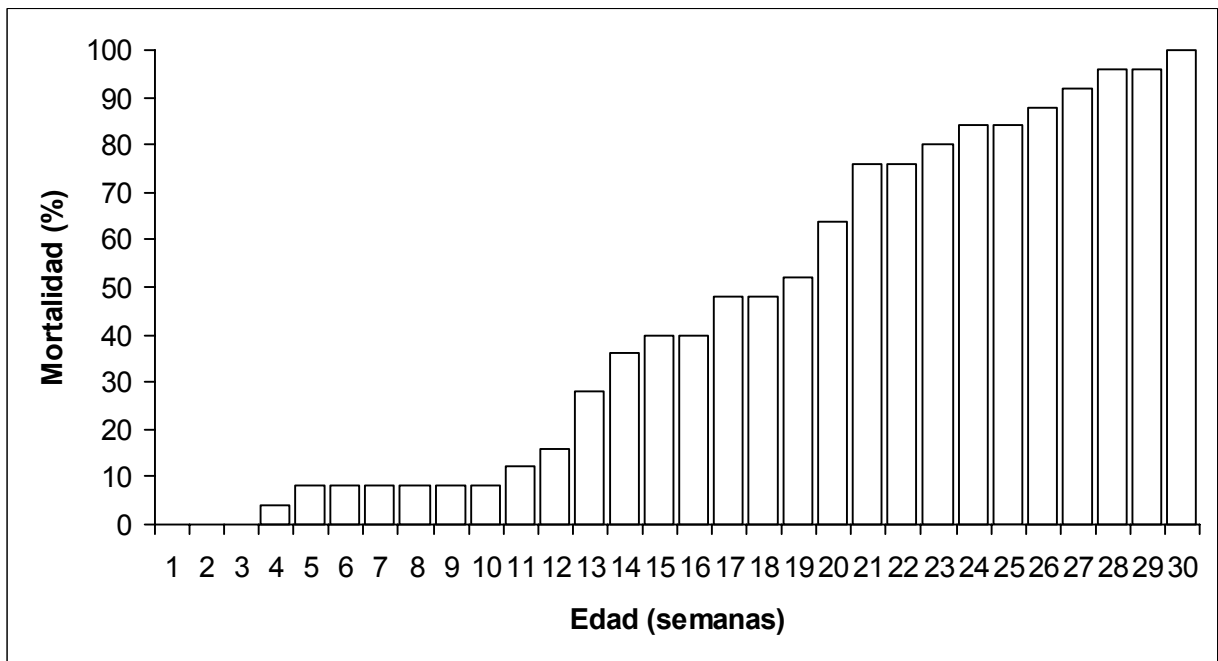


Figura 12. Porcentaje de mortalidad acumulada de las hembras de *M. quadrilineatus* tres semanas después de haber emergido.

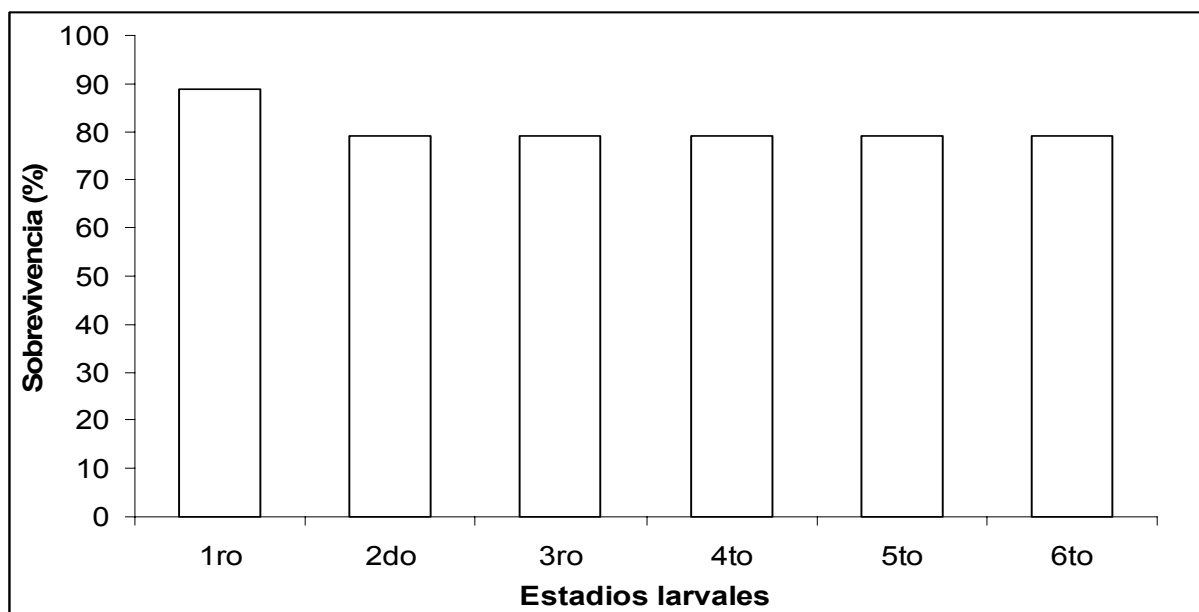


Figura 13 Porcentaje de sobrevivencia acumulada de larvas de primero a sexto estadio de *M. quadrilineatus* en laboratorio.

3.2 Efecto de la tasa de moscas hembras por larva de picudo en el parasitismo de *M. quadrilineatus*:

Consistente con pruebas realizadas por Anzaldo (2004), no se encontró parasitismo exponiendo por una semana larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus* a moscas de tres días de edad. Sin embargo, se encontró parasitismo cuando se expusieron larvas de picudo por una semana a moscas de una semana de edad. Se encontraron diferencias estadísticamente significativa entre las tres diferentes tasas (moscas hembras: larvas de picudo) estudiadas ($P \leq 0.01$). El mayor porcentaje de parasitismo se encontró cuando se usó una mosca hembra por dos larvas de picudo (44%) comparado con una hembra por cuatro larvas de picudo (13%) (Figura 14.). Parasitismo gregario con una mosca por larvas de picudo también fue lo más alto y significativamente diferente a las otras tasas. Posiblemente, las moscas larvipositen varias veces a cada larva de picudo y al estar en una proporción de 1:2 (moscas hembras: picudo) se establezca un nivel de larviposición óptimo, relativo a estos tratamientos para alcanzar un máximo de parasitismo. En pruebas de parasitismo artificial realizados en laboratorio, se pudo observar que al poner varias larvas neonatas en una larva de picudo, muchas terminaban matándose entre sí, mostrando una típica reacción de competitividad. Posiblemente al ofrecer una sola larva a cuatro moscas la cantidad de larvas neonatas colocadas por las moscas sean tan grande que terminen eliminándose entre ellas antes de parasitar a la larva de picudo o posiblemente eliminándose una vez parasitan al picudo.

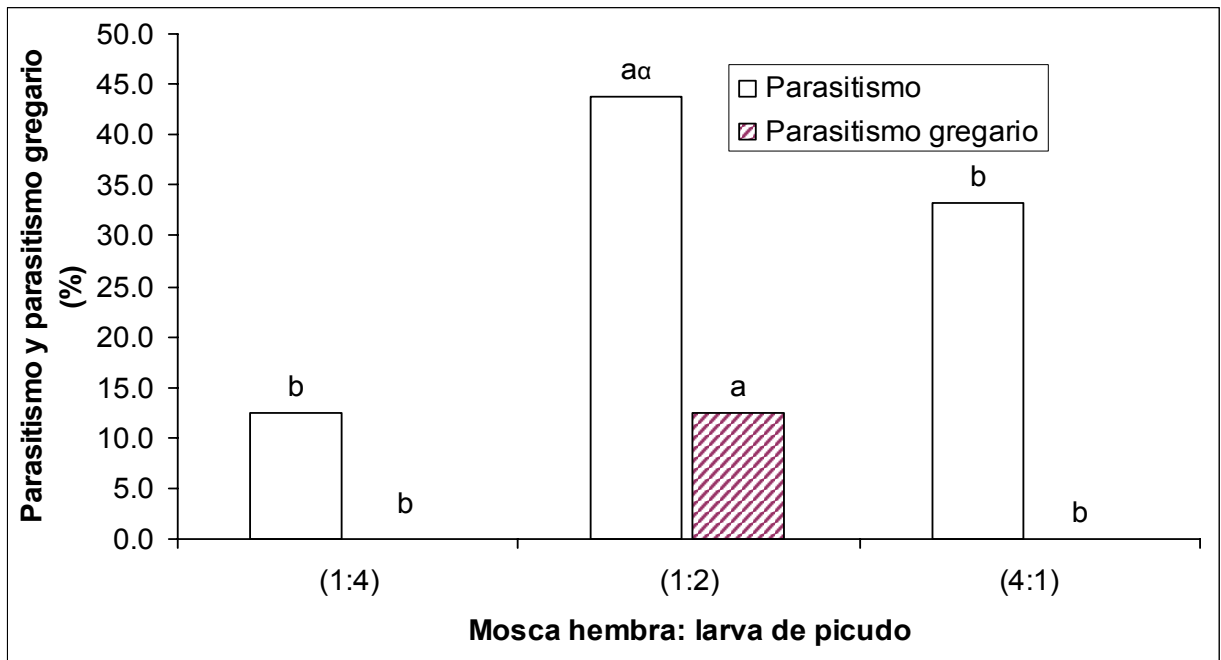


Figura 14. Porcentaje de parasitismo y parasitismo gregario por cf. *Lixophaga* en larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus*.

α Letras iguales no son estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$; Pruebas Duncan).

3.3 Parasitismo artificial:

Se encontró parasitismo al exponer larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus* a las larvas neonatas de cf. *Lixophaga*. De las 35 larvas que fueron parasitadas artificialmente 22 larvas presentaron parasitismo (63%). Sin embargo solo una larva presentó parasitismo gregario. Posiblemente en el momento de colocar las tres larvas neonatas sobre las larvas de tercer estadio (por ser más pequeña las larvas), las larvas de la mosca se encontraron y se mataron posiblemente como una reacción de competencia. El tiempo que tarda en penetrar en la larva una vez puesta sobre ella fue de 12.7 ± 4.7 min. El tiempo en desarrollarse en su hospedero fue de 13.9 ± 0.9 días.

4. CONCLUSIONES

Una hembra de *M. quadrilineatus* puede vivir hasta 209 días y tener un periodo de oviposición de 147 días. Durante este periodo se produce en promedio 0.14 huevos por día con un porcentaje promedio de viabilidad de 52% y un período de incubación de 8 días.

Los datos obtenidos de la fecundidad de *M. quadrilineatus* son valiosos para la determinación de modelos que puedan ser utilizados para la determinación de la cantidad de material biológico necesario para producir determinado número de moscas para un programa de control biológico.

Se encontraron diferencias significativas entre usar una mosca por dos larvas de picudo (44% de parasitismo y 13% de parasitismo gregario), siendo este la mejor tasa de parasitoide: hospedero.

Se logró parasitismo al colocar larvas neonatas de cf. *Lixophaga* sobre larvas de tercer estadio de *M. quadrilineatus*.

5. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar las hembras de *M. quadrilineatus* solo 8 semanas correspondientes al pico máximo de oviposición, ya que es ahí donde se presenta la mayor producción y eclosión de huevos y también hay menor mortalidad de hembras. También con esto se ahorra la utilización de plantas que se traen del campo utilizado como medio de oviposición y ahorro de mano de obra.

Investigar factores que faciliten y aumenten la oviposición de las hembras de *M. quadrilineatus* tales como el estado de descomposición de la planta y oviposición en diferentes especies de bromelias.

Determina el efecto de las diferentes tasas de parasitoide: hospedero usando *M. callizona* como hospedero.

Evaluar el efecto del parasitismo gregario en la calidad de las moscas producidas.

Evaluar otros métodos de parasitismo artificial para obtener mayor eficiencia de parasitismo tanto en *M. quadrilineatus* como en *M. callizona*.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, D. 1997. Biología reproductiva y métodos de crianza en laboratorio de *Admontia* sp. (Diptera: Tachinidae) parasitoide de *Metamasius quadrilineatus* champion (Coleoptera: Curculionidae). Tesis Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras. 41 p.
- Álvarez, D.; Cave, R. 1999. Ecología de *Metamasius quadrilineatus* (Coleoptera: Curculionidae) y *Admontia* (Diptera: Tachinidae) en tres bosques montanos de Honduras. Ceiba, 40: 43-49.
- Anzaldo, A. 2004. Biología de *Lixophaga* sp. (Diptera: Tachinidae), un agente de control biológico del picudo de las bromelias *Metamasius quadrilineatus* (Coleoptera: Curculionidae). Tesis Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras. 17 p.
- Frank, J.H. 1991. *Metamasius callizona* kills bromeliads in southeastern Florida Journal of the Bromeliad Society. V. 41 (3) p: 107-108.
- Frank, J.H. 1994. *Metamasius callizona* (a status report) Florida Council of Bromeliad Societies Newsletter 14 (1): 2-3.
- Frank, J.H. 2000. Florida's Native Bromeliads Imperiled by Exotic Evil Weevil (en línea). Consultado el 28 feb. 2005. disponible en <http://www.fcbs.org/articles/weevil-frank.htm>.
- Frank, J.H.; Thomas, M.C. 1994 *Metamasius callizona* (chevrolat) (Coleoptera: Curculionidae), an immigrant pest, destroys bromeliads in Florida. Canadian Entomologist. 126: 6-9
- Larson, B.; Frank, J.H. 2000. Mexican Bromeliad weevil (suggested common name). Featured Creatures, UF- IFAS. (en línea). Consultado el 25 marzo 2005. disponible en http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/m_callizona.htm.
- Salas, J.; Frank, J.H. 2001. Development of *Metamasius callizona* (Coleoptera: Curculionidae) on pineapple stems. Florida Entomologist. 84: 123-126.
- Weissling, T.; Giblin-Davis, R.; Center, B.; Heath, R.; Peña, J. 2003. Oviposition by *Metamasius hemipterus sericeus* (Coleoptera: Dryophthoridae: Rhynchophorinae). Florida Entomologist. 82(2): 174-177.