



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

---

---

Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales

Parasitoides de dos enrolladores de hojas de zarzamora con énfasis en la biología de *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) y de su parasitoide *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae)

TESIS

Que para obtener el grado académico de:

**Maestra en ciencias**

Presenta:

**ORNELLA BARRETO BARRIGA**

Director de tesis

**DR. SAMUEL PINEDA GUILLERMO**

Co-director

**DR. JOSÉ ISAAC FIGUEROA DE LA ROSA**

Morelia, Michoacán, México. Marzo del 2012.

## DEDICATORIA

A mi mamá la Sra. Maria Barreto Barriga por su amor, cariño, fuerza, sabiduría y mil cosas más que siempre me ha transmitido y que me han dado la fuerza para seguir adelante.

A mi hermano Helmut Barreto por estar conmigo.

A Omar Real por su amor, apoyo y motivarme a alcanzar mis metas.

A mis mejores amigos Irma Toscano, Ingrid, Amanda Ayala y Margarita Mccann (q.e.p.d.) por enseñarme el valor de la amistad.

A la vida por darme la oportunidad de conocer el fascinante mundo de los parasitoides.

## AGRADECIMIENTOS

A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por financiar los proyectos de investigación: 1) “Identificación, fluctuación poblacional, ciclo y parámetros de vida del gusano telarañero (Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de zarzamora: Identificación de sus parasitoides” y 2) “Revisión taxonómica de especies mexicanas del género *Paroligoneurus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae). Así mismo, a la Fundación Produce Michoacán por el financiamiento del proyecto “Hacia un Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades de la Zarzamora en Michoacán” realizado en el Centro Regional Universitario Centro Occidente (CRUCO) de la Universidad Autónoma Chapingo.

A CONACYT por otorgarme la beca.

A mi asesor el Dr. Samuel Pineda Guillermo y coasesor Dr. Isaác por su tiempo y apoyo durante la realización del presente estudio.

A la Dra. Mabel Castillo Martínez, Dr. Ángel Rebollar Alviter y Dr. Mario Miranda Salcedo por sus revisiones objetivas del escrito.

Al Dr. Benjamín Gómez por el apoyo brindado en los análisis estadísticos de mis datos. A Raúl Omar Real Santillan por apoyarme en el laboratorio y en el presente escrito. A amanda Ayala por su apoyo en el índice. Al Biol. Ignacio López y el Ing. Félix por su apoyo en las colectas de enrolladores en campo. Al M.C. Jorge Valdez por su paciencia en la medición de las cápsulas cefálicas. A la M.C. Elvira de Lange por sus valiosos consejos sobre el manejo de la cría de parasitoides. Al M.C. Manuel Chavarrieta por su apoyo en el laboratorio. A mis compañeros de laboratorio: Sinue, Luis, por apoyarme en el inventario de las colectas de campo. A Cesar Alberto, Cesar Bonificio, Ana y Yadira.

# ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.2. ANTECEDENTES .....	2
1.2.1. Los enrolladores de hojas: género <i>Argyrotaenia</i> .....	2
1.2.2. Descripción y biología de los enrolladores de las hojas del género <i>Argyrotaenia</i> sp. ....	2
1.2.3. Daños causados por los enrolladores de las hojas del género <i>Argyrotaenia</i> .....	3
1.2.4. Control químico de los enrolladores de las hojas del género <i>Argyrotaenia</i> .....	3
1.2.5. Parasitoides de los enrolladores de las hojas de la familia Tortricidae .....	4
1.2.6. <i>Apanteles</i> spp. ....	4
1.2.7. <i>Colpoclypeus</i> spp. ....	5
1.3. LITERATURA CITADA.....	6
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	10
1.5. HIPÓTESIS.....	11
1.6. OBJETIVOS DE LA TESIS .....	12
1.6.1. Objetivo General .....	12
1.6.2. Objetivos específicos.....	12
CAPÍTULO 2: Parámetros de vida del enrollador de las hojas, <i>Argyrotaenia montezumae</i> (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) y de su parasitoide <i>Apanteles</i> cercana a <i>aristoteliae</i> (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae).....	13
2.1. RESUMEN .....	14
2.2. ABSTRACT .....	16
2.3. INTRODUCCIÓN .....	18
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
2.4.1. Colecta de los insectos .....	20
2.4.2. Cría de <i>A. montezumae</i> .....	21
2.4.3. Cría de <i>A.</i> cercana a <i>aristoteliae</i> .....	21
2.4.4. Ciclo de vida de <i>A. montezumae</i> .....	22
2.4.5. Incremento de tamaño de las cápsulas cefálicas.....	22
2.4.6. Peso de pupas y proporción de sexos.....	23
2.4.7. Fecundidad y fertilidad de <i>A. montezumae</i> .....	24

2.4.8. Influencia del color y densidad del sustrato de oviposición en la fecundidad de <i>A. montezumae</i> .....	25
2.4.9. Ciclo de vida y proporción sexual de adultos de <i>A. cercana a aristoteliae</i> a dos temperaturas.....	26
2.4.10. Influencia de dos métodos de apareamiento sobre la proporción sexual de <i>A. cercana a aristoteliae</i> .....	27
2.4.11. Preferencia de parasitismo de <i>A. cercana a aristoteliae</i> sobre <i>A. montezumae</i> .....	28
2.4.12. Análisis de datos.....	29
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
2.5.1. Establecimiento de la cría de <i>A. cercana a aristoteliae</i> .....	30
2.5.2. Ciclo de vida de <i>A. montezumae</i> .....	30
2.5.3. Incremento de tamaño de las cápsulas cefálica .....	34
2.5.4. Peso de pupas y proporción de sexos .....	35
2.5.5. Fecundidad y fertilidad.....	37
2.5.6. Influencia del color y densidad del sustrato de oviposición en la fecundidad de <i>A. montezumae</i> .....	38
2.5.7. Efecto de dos temperaturas sobre el ciclo de vida y proporción de sexos de <i>A. cercana a aristoteliae</i> .....	41
2.5.7.1. Ciclo de vida .....	41
2.5.8. Longevidad. ....	44
2.5.9. Proporción de sexos.....	45
2.5.10. Influencia de dos métodos de apareamiento en <i>A. cercana a aristoteliae</i> sobre la proporción sexual.....	46
2.5.11. Preferencia de parasitismo de <i>A. cercana a aristoteliae</i> sobre <i>A. montezumae</i> .....	47
2.8. AGRADECIMIENTOS.....	51
2.9. LITERATURA CITADA.....	52
CAPÍTULO 3: Parasitoides asociados a dos especies de enrolladores de hojas de zarzamora (Lepidoptera: Tortricidae), en dos localidades del estado de Michoacán, México. ....	58
3.1 RESUMEN .....	59
3.2. ABSTRACT .....	60
3.3. INTRODUCCIÓN .....	61
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	63
3.4.1. Sitio de trabajo. ....	63

3.4.2. Acondicionamiento de los brotes. ....	63
3.4.3. Determinación taxonómica y porcentaje de parasitismo. ....	64
3.5. RESULTADOS .....	65
3.5.1. Porcentajes de parasitismos ejercidos por especie y sus frecuencias .....	66
3.6. DISCUSIÓN.....	72
3.6.1. <i>Apanteles</i> cercana a <i>aristoteliae</i> .....	73
3.6.2. <i>Bracon</i> sp.....	75
3.6.3. <i>Chelonus</i> sp.....	76
3.6.4. <i>Colpoclypeus michoacanensis</i> .....	77
3.7. CONCLUSIÓN .....	79
3.8. AGRADECIMIENTOS.....	80
3.9. LITERATURA CITADA.....	81

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

<b>CAPITULO II</b>	<b>13</b>
Figura 1. En el 9º segmento abdominal de los machos se encuentra, sobre un área circular, una pequeña elevación señalada por una incisión. La hembra no presenta relieve tegumentario, hay una incisión longitudinal diferenciada que alcanza el margen del 7º segmento abdominal y se prologa por los segmentos 9º y 10º.	24
Figura 2. Diferencias morfológicas utilizadas para la separación de sexos en estado adulto. La conformación del frénulo en las alas representa la principal característica. En machos está constituido por una gruesa seta, mientras que en hembras consta de tres, de las cuales, la más externa es más corta y fina.	24
Figura 3. Número de huevos puestos (promedio $\pm$ error estándar) por hembra de <i>A. montezumae</i> sobre diferentes sustratos de oviposición. BD; baja densidad, AD; alta densidad. Barras con la misma letra, no difieren significativamente (LSD) ( $P < 0.05$ ).	39
Figura 4. Proporción sexual de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> provenientes de dos temperaturas.	45
Figura 5. Porcentajes de parasitismo (promedio $\pm$ ee) de diferentes estadios larvarios de <i>A. montezumae</i> expuestos a hembras de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> .	48
Cuadro 1. Tiempo promedio de duración (días $\pm$ ee) de los diferentes estados de vida y estadios larvarios de <i>A. montezumae</i> .	30
Cuadro 2. Parámetros de vida de tres especies del género <i>Argyrotaenia</i> , indicándose las condiciones controladas de temperatura, fotoperiodo y humedad, así como también los autores de cada estudio.	32
Cuadro 3. Promedio ( $\pm$ ee) de las distancias, en $\mu\text{m}$ , entre genas y	35

	entre setas frontales, de las cápsulas cefálicas de <i>A. montezumae</i> .	
Cuadro 4.	Duración promedio (días $\pm$ ee) de los estados de huevo-larva, pupa y adulto de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> a dos temperaturas.	41
Cuadro 5.	Comparación en días de los parámetros de vida de tres especies del género <i>Apanteles</i> y la especie <i>C. plutellae</i> , indicando las condiciones de humedad y fotoperiodo para cada especie.	43
Cuadro 6.	Porcentaje de machos y hembras de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> obtenidos en laboratorio a 25 °C utilizando dos métodos de apareamiento.	47
<b>CAPITULO III</b>		<b>58</b>
Figura 1.	Vista lateral de <i>Apanteles</i> cercana a <i>aristoteliae</i>	66
Figura 2.	Porcentajes de parasitismos de <i>Apanteles</i> cercana a <i>aristoteliae</i> sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.	67
Figura 3.	Vista lateral de <i>Bracon</i> sp.	67
Figura 4.	Porcentajes de parasitismos de <i>Bracon</i> sp. sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.	68
Figura 5.	Vista lateral de <i>Chelonus</i> sp.	68
Figura 6.	Porcentajes de parasitismos de <i>Chelonus</i> sp. sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.	69
Figura 7.	Vista lateral de <i>Colpoclypeus michoacanensis</i> .	70
Figura 8.	Porcentajes de parasitismos de <i>C. michoacanensis</i> sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.	71
Cuadro 1.	Número y especies de parasitoides emergidos por localidad estudiada.	65



## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

A principios de la década de los 80's, en México se establecieron los primeros cultivares de zarzamora, *Rubus sp.* L, provenientes de Estados Unidos de América (EUA), en los estados de Hidalgo, Morelos, Estado de México y Michoacán (Muratalla *et al.* 1993). En los últimos años, la producción de zarzamora, así como el área dedicada a su cultivo, se ha incrementado exponencialmente. Al respecto, en los años 2000, 2004, 2006 y 2007, la producción de este cultivo fue de 13 534, 26 696, 40 841 y 42 000 toneladas, respectivamente, siendo los estados de Michoacán, Guanajuato, Hidalgo y Estado de México los principales productores (Sánchez 2008). Actualmente, Michoacán es el primer productor y exportador de esta fruta fresca a nivel mundial debido a que en este estado se concentra el 97% de la producción total nacional (Sánchez 2008).

En México hay poca información relacionada al conocimiento de los insectos asociados al cultivo de zarzamora. En el año 1997 se detectó la presencia de un enrollador de las hojas de zarzamora, aparentemente del género *Argyrotaenia sp.* (Stephens) (Lepidoptera: Tortricidae) en el estado de Michoacán. Derivado de colectas realizadas en las localidades de Tangancícuaro, municipio de Tangancícuaro y Atapan y Huatarillo, municipios de Los Reyes, Michoacán, este insecto fue identificado como el enrollador de las hojas, *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) (López 2009). Cabe aclarar que este insecto no se ha encontrado sobre los frutos de zarzamora. Por otra parte, en EUA se ha reportado al barrenador de la corona, *Pennisetia marginata* (Harris) (Lepidoptera: Sesiidae); escarabajo japonés, *Popillia japonica* (Newman) (Coleoptera: Scarabaeidae); enrolladores de hojas, *Argyrotaenia citrana* (Fernald) y *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae); araña roja, *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) y un complejo de chinches compuesto por la chinche arlequín, *Murgantia histrionica* (Hemiptera: Pentatomidae) y chinche verde, *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) (Ellis *et al.* 1991).

## 1.2. ANTECEDENTES

### 1.2.1. Los enrolladores de hojas: género *Argyrotaenia*

El nombre común de enrolladores de hojas ha sido aplicado a la familia Tortricidae debido a que, para construir sus refugios y alimentarse, las larvas doblan o enrollan las hojas de sus hospederos. Sin embargo, diversas especies de tortricidos pueden comportarse como barrenadores de raíces o frutas y pueden alimentarse de flores y semillas (Brown *et al.* 2008).

El género *Argyrotaenia* (Walsingham) pertenece a la familia Tortricidae y comprende alrededor de 88 especies distribuidas desde Canadá hasta Argentina, de las cuales 13 se encuentran en México (Brown y Cramer 1999, Bentancourt *et al.* 2003, Razowski y Becker 2000).

### 1.2.2. Descripción y biología de los enrolladores de las hojas del género *Argyrotaenia* sp.

Los adultos de los enrolladores de las hojas del género *Argyrotaenia* son de tamaño pequeño ya que miden entre 12 y 13 mm de expansión alar (García 1997). Generalmente, el color de los adultos es gris bayo, aunque algunas especies presentan puntuaciones de color marrón o café anaranjado. Los adultos del género *Argyrotaenia* mantienen sus alas sobre su abdomen y cuando se encuentran en reposo adquieren la forma de campana (García 1997). Debido a que sus palpos labiales son alargados y se dirigen hacia adelante, el aparato bucal de los adultos adquiere una forma de pico. Presentan ojos compuestos de color negro y antenas cortas (García 1997).

Para alimentarse, las larvas unen los extremos laterales de las hojas con seda que ellas mismas producen. Este refugio también les sirve como protección de sus enemigos naturales. Dependiendo del área geográfica, *Argyrotaenia franciscana* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae), especie no presente en México, es una especie bivoltina o multivoltina (Gilligan y Epstein 2009)..

### **1.2.3. Daños causados por los enrolladores de las hojas del género *Argyrotaenia***

Las especies del género *Argyrotaenia* tienen hábitos polífagos (Brown y Cramer 1999). En Brazil, *Argyrotaenia spheropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) se alimenta de diversos frutales, ornamentales y plantas herbáceas (Meneguim y Hohmann 2007). En EUA, la lista de hospederos de *A. franciscana*, incluye cerca de 80 especies de plantas, muchas de importancia económica; entre ellas manzano, *Malus sp.* L. (Rosaceae); chabacano, *Prunus armeniaca* L. (Rosaceae); aguacate, *Persea americana* Mill (Lauraceae), zarzamora y frambuesa, *Rubus sp.* L. (Rosaceae); arándanos, *Vaccinium sp.* L. (Ericaceae); uva, *Vitis sp.* L.; toronja, *Citrus x paradisi* L. (Rutaceae), limón, *Citrus lemon* L. (Rutaceae) y pino Monterey, *Pinus radiata* (Pinaceae). En EUA, Europa y Nueva Zelanda, los enrolladores de las hojas de zarzamora y frambuesa, *Rubus idaeus* L., más importantes son las especies *A. citrana* y *Ch. rosaceana* (Knight y Croft 1987, Fisher 1991, Walker y Welter 2004). *Argyrotaenia montezumae* se encontró solamente sobre hojas de zarzamora en las localidades de Atapan y Huatarillo, municipio de Los Reyes y Tangancicuaro, municipio del mismo nombre, en el estado de Michoacán (López 2009). El primer registro de *A. montezumae* en México, aunque sin mencionar el hospedero, fue hecho por Obratsov (1961) y posteriormente se encontró sobre plantas de lantana, *Lantana camara* L. (Verbenaceae) (Palmer y Pullen 1995) y durazno, *Prunus persica* L. (Rosaceae) (Aguilera *et al.* 2008).

### **1.2.4. Control químico de los enrolladores de las hojas del género *Argyrotaenia***

En EUA y Europa, el control de los enrolladores de las hojas del género *Argyrotaenia* se ha realizado fundamentalmente mediante el uso de insecticidas químicos de amplio espectro (Walker y Welter 2004). Sin embargo, esta medida de control puede reducir las poblaciones nativas de parasitoides y depredadores, contaminar el medio ambiente y provocar el desarrollo de resistencia de estos insectos.

### **1.2.5. Parasitoides de los enrolladores de las hojas de la familia Tortricidae**

Existen varias especies de parasitoides que se han colectado a partir de los diferentes estados de desarrollo de los enrolladores de las hojas pertenecientes a la familia Tortricidae. En el estado California, EUA, Walker y Welter (2004), reportaron a los himenópteros *Apanteles aristoteliae* (Viereck) (Braconidae), *Diadegma interruptum pterophorae* (Föster) (Ichneumonidae), *Exochus nigripalpis subobscurus* (Walsh) (Ichneumonidae), *Glypta variegata* (Dasch) (Ichneumonidae) y al díptero *Actia interrupta* (Curran) (Tachinidae) como endoparasitoides solitarios de larva-pupa de *A. citrana*.

Por último, en los Ranchos El Santino y El Barreno, municipios de Los Reyes, y Rancho Huatarillo, municipio de Peribán, todos el estado de Michoacán, se registraron a dos especies de parasitoides pertenecientes a los géneros *Apanteles* y *Colpoclypeus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas del enrollador de las hojas, *A. montezumae* (Juárez 2011).

### **1.2.6. *Apanteles* spp.**

El género *Apanteles* (Viereck) comprende alrededor de 1000 especies distribuidas en América, de las cuales 13 se encuentran en México (Whitfield 1997, Yu *et al.* 2005). La mayoría de las especies de *Apanteles* son parasitoides solitarios de larvas de microlepidópteros, aunque también existen de hábitos gregarios sobre macrolepidópteros (Whitfield 1997).

*Apanteles aristoteliea* es un agente promisorio para el control biológico de larvas de la familia Tortricidae. Walker y Welter (2004) realizaron un estudio dirigido a identificar los parasitoides nativos del enrollador de las hojas, *A. citrana* en huertos de manzano en California, EUA y encontraron que *A. aristoteliae* y *E. nigripalpis subobscurus* parasitaron en conjunto el 33% de las larvas de esta plaga. De igual forma, en cultivos de zarzamora y frambuesa en Oregón, E.U.A., se encontró que *A. aristoteliae* y *Meteorus argyrotaenia* (Johan) (Hymenoptera: Braconidae) fueron responsables también del 33% de parasitismo en *A. franciscana* (Ambrosino *et al.* 2007).

Recientemente, López (2009) reportó la presencia de *A.* cercana a *aristotelia*, sobre larvas de *A. montezumae* en las localidades de Tangancícuaro municipio de Tangancícuaro y Atapan y Huatarillo, municipios de Los Reyes, Michoacán. En caso de confirmarse, éste representaría el primer registro de esta especie para México.

### **1.2.7. *Colpoclypeus* spp.**

Hasta el año 2010, dentro del género *Colpoclypeus* sólo se encontraba descrita la especie *Colpoclypeus florus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae), ectoparasitoide gregario de larvas de la familia Tortricidae (Brunner 1996, Brunner *et al.* 2001). En Europa, esta especie se considera como el principal agente de control biológico en diversos cultivos frutícolas debido a que causa hasta 95% de parasitismo (Evenhuis 1974, Gruys y Vaal 1984, Vives 1980). *Colpoclypeus florus* se introdujo a Ontario, Canadá, desde Francia e Italia para controlar a los enrolladores de hojas, *Ancylis comptana fragariae* (Walsh y Riley) y *Argyrotaenia velutinana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae) en 1966 y 1967, respectivamente (Brunner 1996). Este mismo autor reportó por primera vez a *C. florus* como parasitoide del enrollador de las hojas, *P. pyrusana* en huertos de manzano, *Malus* sp., en Washington, EUA.

En México recientemente se describió la nueva especie de *Colpoclypeus michoacanensis* (Sánchez y Figueroa) (Hymenoptera: Eulophidae) colectada a partir de larvas de *A. montezumae* en las localidades de Tangancícuaro, Atapan y Huatarillo, Michoacán (Sánchez *et al.* 2011). Este hallazgo representa una extensión de la distribución geográfica de este género, así como un nuevo registro de hospedero. El parasitismo causado por *C. michoacanensis* más la combinación de *A.* cercana a *aristoteliae* fue de 47% (López 2009).

### 1.3. LITERATURA CITADA

- Aguilera, P. M., H. González, H. J. Carrillo L., S. F. Byerly K., M. M. Valdivia E., C. C. J. Mena, G. E., L. Castañeda, P. R. Muñoz, J. Soria y G. L. Morales. 2008. **Ausencia de plagas cuarentenarias en huertos de duraznos de los estados de México, Michoacán, Chihuahua y Zacatecas.** *Entomología Mexicana* 6: 593-596.
- Ambrosino, D. M., L. B. Coop y P. C. Jepson. 2007. **Conserving and enhancing parasitoid natural enemies of leafroller pests in caneberries.** Annual Meeting of the Entomological Society of America. Oregon State University. August 5-10, 2007.
- Bentancourt, C. M., I. B. Scatoni, A. González, y J. Franco. 2003. **Effects of larval diet on the development and reproduction of *Argyrotaenia spheropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae).** *Neotropical Entomology* 32: 551-557.
- Brown, W. J. y A. Cramer. 1999. **Five new species of *Argyrotaenia* sp. Tortricidae: Archipini) from Mexico and the southwestern United States.** *Journal of Lepidopterists' Society* 53: 114-125.
- Brown, J. W., G. Robinson y J. A. Powell. 2008. **Food plant database of the leafrollers of the world (Lepidoptera: Tortricidae).** <http://www.tortricidae.com/foodplants.asp>. (Accesada el 03 de agosto de 2010).
- Brunner, J. F. 1996. **Discovery of *Colpoclypeus florus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) in apple orchards of Washington.** *Pan Pacific Entomologist*. 72: 5-12.
- Brunner, J. F. 2001. **Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington.** *Journal Economic of Entomology* 94: 1075-1084.
- Ellis, M. A., R. H. Converse, R. Williams y B. Williamson. 1991. **Compendium raspberry and blackberry diseases and insects.** APS Press. Minn, USA. pp.100.

- Evenhuis, H. H. 1974. **The enemies of apple tortricids. Les organismes auxiliaires en verger de pommiers.** OILB/SROP, Brouchuer. 3: 29-30.
- Fisher, G. C. 1991. **Leafrollers.** En: Ellis, M. A, R. H. Converse, R. N. William y B. Williamson, (Eds.). **Compendium of raspberry and blackberry disease and insects.** APS Press. Minn, USA. pp.100.
- Garcia, C. R. 1997. **Detección de insectos plagas en el cultivo de zarzamora (*Rubus sp.*) en Ziracuaretiro, Mich., México.** Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. pp. 64.
- Gilligan, T. M. y M. E. Epstein. 2009. **LBAM ID, Tools for diagnosing light brown apple moth and related western U. S. leafrollers (Tortricidae: Archipini).** Colorado State University, California. Department of food and agriculture, and center for Plant Health Science and Technology, USDA, APHIS, PPQ. <http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/LBAM/references.html>. (Accesada el 03 de agosto de 2010).
- Gruys, P. y F. Vaal. 1984. ***Colpoclypeus florus*, an eulophid parasite of tortricids in orchards: rearing biology and use in biological control.** *Entomologia Experimentalis et Applicata* 36: 31-35.
- Knight, A. L. y B. A. Croft. 1987. **Regional population dynamics and seasonal spatial patterns of *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae) as measured by a pheromone trap grid and larva sampling.** *Environmental Entomology* 16: 59-67.
- López, C. I. 2009. **Identificación, dinámica poblacional y parasitoides de dos lepidópteros plaga de zarzamora, *Rubus fruticosus* L., en tres regiones productoras del estado de Michoacán.** Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México 61 pp.
- Meneguim, M. A. y C. L. Hohmann. 2007. ***Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) in citrus in State of Paraná, Brazil.** *Neotropical Entomology* 36: 317-319.

- Muratalla, L. A., P. F. Barrientos, A. J. Rodríguez, J. A. López, G. A. Salazar y M. J. López. 1993. **Manejo de variedades de zarzamora, tipo erecto**. En: **Primera reunión nacional sobre frutales nativos e introducidos: Producción en Michoacán de frutos exóticos con demanda nacional e internacional**. Uruapan, Michoacán, México.
- Obraztsov, S. N. 1961. **Description of and notes on North and Central American species of *Argyrotaenia*, with the description of a new genus (Lepidoptera, Tortricidae)**. *American Museum Novitates* 2048: 1-42.
- Palmer, W. A. y K. R. Pullen. 1995. **The phytophagous arthropods associated with *Lantana camara*, *L. hirsuta*, *L. urticifolia*, and *L. urticoides* (Verbenaceae) in North America**. *Biological Control* 5: 54-72.
- Razowski, J. y V. O. Becker. 2000. **Revision of the neotropical *Argyrotaenia Stephens*, with notes on *Diebra Rubinoff & Powell* (Lepidoptera: Tortricidae)**. *Acta Zoologica Cracoviensia* 43: 307-332.
- Ruíz, M. C. y P. J. Cervantes M. 2007. **Reporte de una nueva plaga sobre zarzamora (*Rubus sp.*) en Coatepec, Veracruz, México**. XXX Congreso Nacional de Control Biológico-Simposio de IOBC, Mérida Yucatán. Noviembre de 2007. p. 336-339.
- Sánchez, R. G. 2008. **La red de valor de la zarzamora. El clúster de Los Reyes, Michoacán, un ejemplo de reconversión competitiva**. Primera edición. Fundación PRODUCE Michoacán, A.C. Morelia, Michoacán, México. 116 pp.
- Sánchez, G. J. A., S. Pineda, A. M. Martínez, A. Rebollar-Alviter, A. C. Juárez-Gutiérrez, I. López Cruz, y J. I. Figueroa. 2011. **A new species of *Colpoclypeus* Lucchese (Hymenoptera: Eulophidae) from Mexico**. *Zootaxa* 2830: 64-68.
- Vives, J. M. 1980. **An important pest of Spanish carnations, the South African carnation miner, *Epichoristodes acerbella* Walk.** *Agricultura* 49: 688-691.
- Walker, R. K. y C. S. Welter. 2004. **Biological control potential of *Apanteles aristoteliae* (Hymenoptera: Braconidae) on populations of *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in California apple orchards**. *Environmental Entomology* 33: 1327-1334.



- Whitfield, J. B. 1997. **Subfamilia Microgastrinae**. Chapter 29, 33-364 En: Wharton, R. A., P. M. Marsh y M. J. Sharkey. (Eds). **Manual of the new world Genera of the Family Braconidae (Hymenoptera)**. International Society of Hymenopterists. Special publication. pp. 439.
- Yu, D. S., C. V. Achterberg y K. Horstmann. 2005. **World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, biology, morphology and distribution (Braconidae)**. Taxapad 2005 (Scientific names for information management) Interactive catalogue on DVD/CDROM. Vancouver.

#### 1.4. JUSTIFICACIÓN

En México existe poca información relacionada a los insectos asociados al cultivo de zarzamora. La información al respecto la ha generado el Grupo Interdisciplinario de Investigadores del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y de la Universidad Autónoma Chapingo Campus Morelia. Debido a la identificación de *A. montezumae* (López, 2009) y de su parasitoide *A. cercana* a *aristoteliae*, es indispensable realizar estudios básicos sobre los parámetros de vida de ambos insectos. De igual forma, surge la necesidad de identificar a los parasitoides nativos de este enrollador de hojas, los cuales pueden impedir que se convierta en una plaga de los cultivos de zarzamora.

## 1.5. HIPÓTESIS

- a. Los parámetros biológicos de *A. montezume* son similares a los reportados en otros tortrécidos.
- b. Los parámetros biológicos del parasitoide *Apanteles* cercana a *aristoteliae* son similares a los reportados en otros parasitoides de la familia Braconidae.
- c. Las poblaciones de los enrolladores de hojas de zarzamora son reguladas por parasitoides nativos.

## 1.6. OBJETIVOS DE LA TESIS

### 1.6.1. Objetivo General

Conocer los parasitoides asociados a dos enrolladores de hojas con énfasis en la biología de *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) y de su parasitoide *Apanteles cercana aristoteliae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae).

### 1.6.2. Objetivos específicos

- |              |  |
|--------------|--|
| Capítulo II  | <ol style="list-style-type: none"><li>1. Determinar los parámetros de vida del enrollador de las hojas <i>A. montezumae</i>.</li><br/><li>2. Evaluar la influencia del color y densidad del sustrato sobre la oviposición del enrollador de las hojas, <i>A. montezumae</i>.</li><br/><li>3. Determinar el ciclo de vida y proporción sexual de adultos de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> a dos temperaturas.</li><br/><li>4. Determinar la proporción sexual de adultos de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> bajo dos métodos de apareamiento.</li></ol> |
| Capítulo III | <ol style="list-style-type: none"><li>5. Determinar la preferencia de parasitismo de <i>A. cercana</i> a <i>aristoteliae</i> sobre las larvas de <i>A. montezumae</i>.</li><br/><li>6. Conocer la frecuencia, estacionalidad y parasitismo de las especies de parasitoides asociadas a dos enrolladores de hojas de zarzamora.</li></ol>   |

**CAPÍTULO 2: Parámetros de vida del enrollador de las hojas,  
*Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae)  
y de su parasitoide *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (Viereck)  
(Hymenoptera: Braconidae)**

## 2.1. RESUMEN

Las larvas de los insectos que pertenecen a la familia Tortricidae generalmente se les conoce como enrolladores de hojas, aunque existen especies que son barrenadoras de semillas y frutos. En el año 2009, se encontró en el estado de Michoacán, México, la asociación entre del enrollador de hojas, *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) y su parasitoide *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae) en cultivos de zarzamora, *Rubus* sp., aunque cabe aclarar que este enrollador no causa daños económicos. En una primera parte de este estudio, se determinaron los parámetros de vida (ciclo de vida, tasa de incremento de las cápsulas cefálicas, peso de pupas, proporción de sexos y parámetros reproductivos) de *A. montezumae*, así como la influencia del color y densidad del sustrato sobre su oviposición. El ciclo de vida de este insecto fue de 59 días. La duración de los estados de huevo, larva, prepupa, pupa y adulto fue de 7, 21, 4, 8 y 18 días, respectivamente. Las larvas presentaron cinco estadios larvarios, todos con una duración de 4 días, excepto el primero de ellos con 5 días. La tasa promedio de incremento de las cápsulas cefálicas de larvas fue de 1.43 y 1.54 veces cuando se midió la anchura de éstas a través de las distancias entre las genas y entre las setas frontales, respectivamente. Las pupas machos y hembras de *A. montezumae* tuvieron un peso de 21 mg y 33 mg, respectivamente, y la proporción de sexos fue 1:1 (machos: hembras). Respecto a los parámetros reproductivos, se determinó que el periodo de preoviposición fue de 3.5 días con una fecundidad de 391 huevos por hembra durante toda su vida y una fertilidad del 93%. El color y densidad de los plásticos utilizados como sustrato de oviposición de *A. montezumae* tuvieron un efecto significativo sobre la fecundidad de este insecto. Los plásticos de alta densidad de color azul y verde registraron el mayor número de huevos depositados por hembra durante toda su vida con 328 y 352 huevos, respectivamente. En una segunda parte, en este estudio se determinó el efecto de la temperatura y el método de apareamiento sobre diversos parámetros de vida (ciclo de vida y proporción de sexos) de *A. cercana a aristoteliae*, así como su preferencia de parasitismo hacia las larvas de *A. montezumae*. La temperatura afectó

significativamente el ciclo de vida de este parasitoide ya que tuvo una duración de 47 y 35 días a 20 °C y 25 °C, respectivamente. A 20 °C la duración de los estados de huevo-larva, pupa y adulto fue de 23,13 y 12 días respectivamente, mientras que a 25 °C fue de 16, 6 y 13 días para cada estado de desarrollo, respectivamente. La proporción de sexos fue 1:1.16 y 1:2.90 a 20 °C y 25 °C, respectivamente. El método de apareamiento no afectó significativamente la proporción de sexos de *A. cercana* a *aristoteliae*, ya que se tuvo 1:2.66 y 1:3.21 (hembras: machos) en los métodos *sin* y *con separación de sexos antes de la copulación*, respectivamente. Finalmente, las hembras de *A. cercana* a *aristoteliae* mostraron preferencia de parasitismo por las larvas de segundo estadio de *A. montezumae*, seguido por las de tercero y cuarto estadio con porcentajes de parasitismo de 37%, 17% y 0.8%, respectivamente.

**PALABRAS CLAVE:** Parámetros de vida, *Argyrotaenia montezumae*, *Apanteles* cercana a *aristoteliae*, *Rubus* sp., proporción de sexos.

## 2.2. ABSTRACT

Larvae of insects that belong to Tortricidae family are known as leafrollers, although there are species that feed as fruit- and seed borers. In 2009 in the state of Michoacán, Mexico, was found the association between the leafroller, *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) and its parasitoid *Apanteles cercana a aristoteliae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae) on blackberry, *Rubus* sp., crops; although it is important to point out that the this tortricid no cause major economic losses in this crops. In a first part of this study, the biological parameters of *A. montezumae* (life cycle, rate of increasing based on the width of head capsule from one molt to the next, pupal weight; sex ratio and reproductive parameters), as well as the influence of color and density of substrate on its oviposition were investigated under laboratory conditions. The life cycle of this insect was 59 days. The duration of egg, larva, prepupa, pupa, and adult was 7, 21, 4, 8, and 18 days, respectively. Larva stage had five instars, all of them with duration of 4 days, with exception to the first instar, which had 5 days. The average of the growth rate was 1.43 y 1.54 times when the width of the head capsule of known larval instars was determined by measuring the distance between both genae and the distance between frontal setae, respectively. Male and female pupa weighed 21 mg and 33 mg, respectively, with a sex ratio of 1:1 (male: female). Both, the pre-oviposition and oviposition periods were 3.5 and 8 days, respectively. Each female laid 391 eggs during all its lifetime and fertility was 93%. *Argyrotaenia montezumae* was found to lay more eggs on blue (328 eggs/female) and green (352 eggs/female) high density polyethylene than on other colors. In a second part of this study, we determined the Influence of temperature and mating methods on several life parameters (life cycle and sex ratio) of *A. cercana a aristoteliae*, as well as its host instar preference toward *A. montezumae*. Temperature significantly affected the life cycle of this parasitoid because at 20 °C and 25 °C was of 47 and 35 days, respectively. At 20 °C, the duration of egg-larva, pupa, and adult stages was 23, 13, and 12 days, respectively; whereas at 25 °C was 16, 6, and 13 days, respectively. The female to male ratio was 1:1.16 and 1:2.90 at 20 °C and 25 °C, respectively.



Mating method did not significantly affect the sex ratio in the progeny of *A. cercana* and *aristoteliae*. The female to male ratio was 1:2.66 and 1:3.21 in the following mating methods: without a period of isolation before mating and with a period of isolation before mating respectively. Finally, *A. cercana* and *aristoteliae* showed a higher preference for second instar of *A. montezumae*, followed by third- and four-instars with 37%, 17% and 0.8% of parasitism, respectively.

**Keywords:** Life parameters, *Argyrotaenia montezumae*, *Apanteles* near *aristoteliae*, *Rubus* sp., sex ratio.

## 2.3. INTRODUCCIÓN

En México, más del 90% de la producción de zarzamora se destina a la exportación a Estados Unidos, Canadá, Japón y Europa. En el año 2010, se colectaron dos especies de enrolladores de hojas en cultivos de zarzamora en las localidades de Huatarillo y Rancho El Guayabo, municipios de Peribán y Los Reyes, Michoacán, respectivamente; una de éstas se identificó como *Argyrotaenia montezumae* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) (López 2009), la segunda especie aun sigue sin identificar. También se identificó a *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae) y a *Colpoclypeus michoacanensis* (Sánchez y Figueroa) (Hymenoptera: Eulophidae) (Juárez 2011, Sánchez *et al.* 2011), ambos parasitoides de estos enrolladores. Aunque ambas especies de enrolladores no causan daños económicos, los agricultores realizan aplicaciones de diversos insecticidas de amplio espectro contra estos insectos. Sin embargo, el uso de estos agentes químicos puede reducir las poblaciones nativas de parasitoides y depredadores, contaminar el medio ambiente y provocar el desarrollo de resistencia. En México existe poca información relacionada a los parámetros de vida del enrollador *A. montezumae* y de su parasitoide *A.* cercana a *aristoteliae*. Esto podría ser de gran utilidad para establecer la relación que existe entre ambas especies y de esta forma buscar nuevas alternativas, tales como el uso de parasitoides, que eviten que este insecto se convierta en una plaga.

Las especies del género *Argyrotaenia* tienen hábitos polífagos (Brown y Cramer 1999). Este género comprende alrededor de 88 especies distribuidas desde Canadá hasta Argentina, de las cuales 13 se encuentran en México (Brown y Cramer 1999, Bentancourt *et al.* 2004, Razowski y Becker 2000). Las especies más importantes y representativas de este género son *A. citrana* (Fernald) y *A. velutinana* (Walker), ambas presentes en EUA (Knight y Croft 1987, Fisher 1991, Walker y Welter 2004); *A. ljungiana* (Thunberg) y *A. spherulopa* encontradas en Europa y América del Sur, respectivamente (Trematerra y Brown 2004).

El género *Apanteles* (Foerster) incluye alrededor de 1000 especies distribuidas en América, de las cuales 13 se encuentran en México (Whitfield 1997, Yu *et al.*

2005). La mayoría de las especies del género *Apanteles* son parasitoides solitarios de larvas de microlepidóptera, pero también pueden ocurrir sobre macrolepidóptera como parasitoides gregarios (Whitfield 1997). *Apanteles aristoteliae*, es un agente promisorio para el control biológico de larvas de los enrolladores de las hojas. Por ejemplo, en huertos de manzano, *Malus* sp., en California, Estados Unidos de Norte América, este parasitoide causó 20% y 33% de parasitismo sobre larvas de *A. citrana* y *Argyrotaenia franciscana* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae), respectivamente (Kathleen *et al.* 2004). En México, *A.* cercana a *aristoteliae*, también se obtuvo de larvas de *A. montezumae* colectadas en los Ranchos El Santino y El Barreno, municipio de Los Reyes; y Rancho Huatarillo, municipio de Peribán, todos el estado de Michoacán (Juárez 2011). Muchos aspectos de la biología de las siguientes especies de *Argyrotaenia* ya han sido estudiados: *Argyrotaenia* sp. (Rosas y Villegas 2008), *A. sphaleropha* (Meneguim y Hohmann 2007) y *A. citrana* (Walker y Welter 2004), éstas dos últimas especies presentes en Brasil y estado de California, EUA, respectivamente. Con respecto a *A. montezumae*, con excepción del estudio realizado por Juárez (2011) sobre el establecimiento de la cría bajo condiciones de laboratorio, no existen otros estudios relacionados a la biología de este insecto. Por otro lado, En México tampoco existen estudios sobre los parámetros de vida de *A.* cercana a *aristoteliae* ni de su relación con el enrollador de hojas *A. montezumae*. En el presente trabajo se determinaron los parámetros de vida del enrollador de las hojas, *A. montezumae*, así como la influencia del color y densidad del sustrato sobre su oviposición. También se determinó el efecto de la temperatura y el método de apareamiento sobre diversos parámetros de vida (ciclo de vida y proporción de sexos temperaturas) de *A.* cercana a *aristoteliae*, así como su preferencia de parasitismo hacia las larvas de *A. montezumae*.

## 2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.4.1. Colecta de los insectos

El 28 de agosto de 2010 se colectaron 229 larvas de diferentes estadios larvarios de *A. montezumae* en campos de cultivos de zarzamora, *Rubus* sp., en las localidades de Huatarillo (19° 34' 07" 'N, 102° 27' 37" O y 1350 m de altitud) y Rancho El Guayabo (19° 34' 31' 'LN, 102° 27' 46" LO y 1351 m de altitud), municipios de Peribán y Los Reyes, Michoacán, respectivamente. Las colectas consistieron en tomar directamente las hojas de zarzamora enrolladas y con presencia de seda, lo que indica la presencia de larvas de *A. montezumae*. Para la colecta de las larvas, se realizaron recorridos en forma de zig-zag entre los surcos de 1 ha del cultivo de zarzamora en cada una de las localidades antes mencionadas.

Después de las colectas, las hojas de zarzamora con las larvas se colocaron en cajas de plástico ventiladas (32 x 22 x 6 cm) y se trasladaron al Laboratorio de Entomología (LE) del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) en Morelia, Michoacán. Las larvas se revisaron cada 24 horas con el objetivo de, en caso de que estuvieran parasitadas, colectar los parasitoides emergidos, los cuales se conservaron en alcohol al 70% hasta su identificación. En el laboratorio, cada larva se individualizó en una caja Petri (1.5 cm de altura x 9.5 cm de diámetro) que contenía una hoja de zarzamora como alimento, y se mantuvo allí hasta la pupación y emergencia del adulto. Para evitar la desecación, a cada hoja de zarzamora se le colocó en el peciolo algodón húmedo que se reemplazó cada dos días para evitar el crecimiento de hongos. Los insectos se mantuvieron en condiciones controladas de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad).

#### **2.4.2. Cría de *A. montezumae***

Los adultos de *A. montezumae* que resultaron de las larvas colectadas en campo, considerados como la generación cero ( $G_0$ ), se colocaron en jaulas de oviposición (30 x 28 x 30 cm) cubiertas con tela de organza y se les proporcionó una solución de miel de abeja al 15% como alimento. En el interior de estas jaulas se introdujeron recuadros (25 cm x 25 cm) de plásticos de alta densidad de color azul, verde y rosa que sirvieron como sustrato de oviposición. Los huevos de la  $G_1$  se colectaron cada 24-48 h y se mantuvieron en cajas de Petri (1.5 de altura x 9.5 cm de diámetro) hasta la eclosión de las larvas. Después de la emergencia, las larvas se colocaron en cajas de plástico ventiladas (5 x 25 x 17 cm) y se alimentaron con dieta artificial a base de harina de soya y germen de trigo (Rosas y Villegas 2008). La dieta se cambió cada vez que se requería y las larvas se mantuvieron en estos contenedores hasta la emergencia de los adultos.

#### **2.4.3. Cría de *A. cercana* a *aristoteliae***

La cría de *A. cercana* a *aristoteliae* se inició con 35 adultos (15 machos y 20 hembras) emergidos de las larvas parasitadas de *A. montezumae* y que fueron colectadas en campo. Estos insectos se colocaron en jaulas de plástico (30 x 30 x 30 cm) Bugdorm® (Taichung, Taiwán) y se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales antes mencionadas. Para ello, se siguieron los métodos desarrollados para las crías de los parasitoides *Cotesia kazak* Telenga (Harrington *et al.* 1993), *Cotesia melanoscela* Ratzeburg (Hymenoptera: Braconidae) (Webb *et al.* 1997) y *Apanteles gelechiidivoris* Marsh (Hymenoptera: Braconidae) (Bajonero *et al.* 2008). Los adultos se alimentaron con miel de abeja al 100%, colocando varias gotas de ésta en la parte interna superior de las jaulas. A los adultos, también se les suministró agua destilada en vasos de plástico (2.5 cm de altura x 4 cm de diámetro) cubiertos con papel Parafilm®, a través del cual se introducía una mecha de algodón

Para obtener suficiente material para realizar el proceso de parasitación, los huevos (de seis días de edad) de *A. montezumae* se colocaron en vasos de plástico (4 cm de altura x 6 cm de diámetro) que contenían dieta artificial. Esto con la finalidad de asegurar la alimentación de las larvas inmediatamente después de la

emergencia. A cada hembra de *A. cercana* a *aristoteliae* se le ofrecían, dentro de las jaulas de cría, un promedio de 15 larvas de segundo y tercer estadio de *A. montezumae*. El tiempo de exposición de las larvas fue de 24 h. Después de este tiempo, los vasos con las larvas de *A. montezumae* se retiraron de las jaulas, se cubrieron con papel absorbente Pacific Blue<sup>®</sup> y se colocaron en las condiciones ambientales antes mencionadas. La dieta artificial contenida en estos vasos se cambió tantas veces fue necesario hasta que se observó la formación de las pupas del parasitoide. Las larvas no parasitadas se retiraron de los vasos a los 15 días después de la exposición a los parasitoides. A los cuatro o cinco días después de la formación de las pupas de *A. cercana* a *aristoteliae*, se colocó una gota de miel al 100% en las paredes de los vasos de plástico para asegurar la alimentación de los adultos al momento de su emergencia. Diariamente se registró la emergencia de hembras y machos del parasitoide en cada uno de los vasos utilizados en el proceso de parasitación. Los adultos del parasitoide se liberaban en las jaulas de cría el mismo día de su emergencia.

#### **2.4.4. Ciclo de vida de *A. montezumae***

El ciclo de vida de *A. montezumae* se determinó investigando la duración en días de los estados de huevo, larva, pupa, prepupa y adulto. Para ello, se eligió al azar una cohorte de 300 huevos (<24 h de edad) de la G<sub>1</sub>. Para determinar el número de estadios larvarios, las larvas se individualizaron a partir del segundo día de emergencia, en cajas para cultivo de tejidos de 12 celdas que contenían aproximadamente 5 g de dieta. Las larvas se observaron cada 12 horas para registrar el desprendimiento de la cápsula cefálica, lo cual indica el cambio de un estadio a otro. El periodo de duración de las pupas se consideró a partir de su formación hasta la emergencia de los adultos.

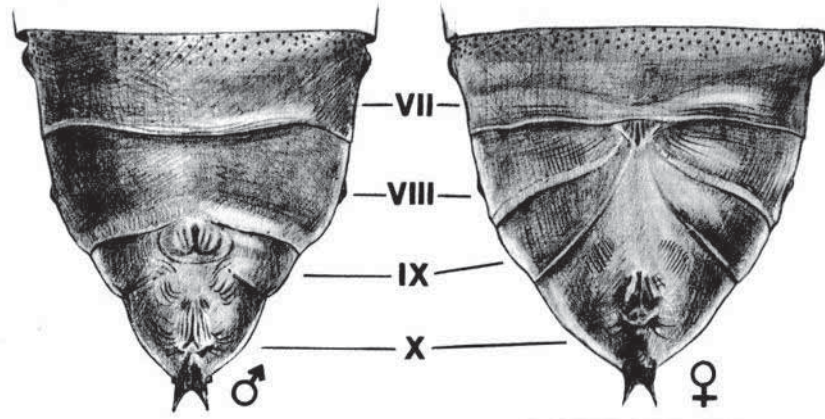
#### **2.4.5. Incremento de tamaño de las cápsulas cefálicas**

Después de la esclerotización, el tamaño de la cápsula cefálica de los insectos se mantiene constante durante un mismo estadio larval (Chapman 1998). Por ello, se determinó el tamaño de la capsula cefálica de cada estadio larval de *A. montezumae*

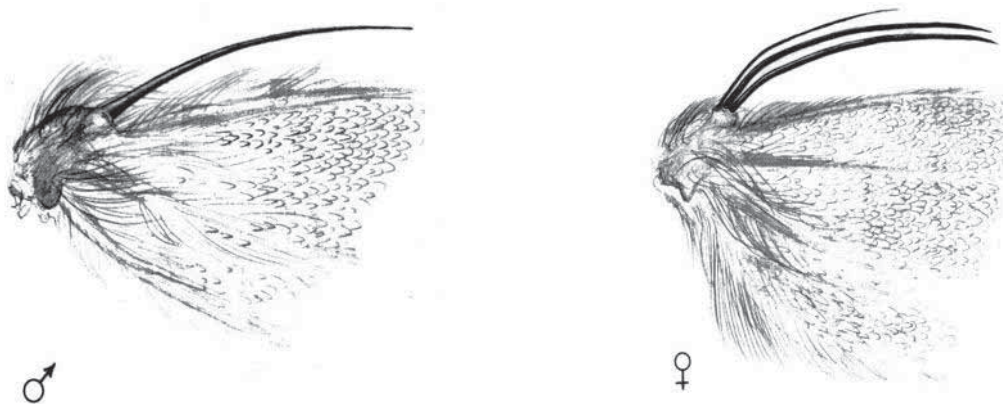
mediante la medición de las distancias entre genas (Dyar y Rhinebeck 1890) y entre setas frontales (Podoler y Klein 1978). Las cápsulas cefálicas se fijaron en alcohol etílico al 70% durante 5 días. Después de este tiempo las cápsulas cefálicas se colocaron en portaobjetos de vidrio con gel transparente con el área facial de la cabeza quedando paralela a la superficie del portaobjetos, esto para asegurarse de que los planos de la superficie de ancho fueran perpendiculares al eje de visión del microscopio (Rodríguez-Quiroz et al. 2000). Las imágenes de las cápsulas cefálicas fueron obtenidas en un fotomicroscopio Carl Zeiss III Tessovar con una cámara digital profesional Pixera y analizadas utilizando el programa UTHSCSA Image Tool versión 3.0 (Wilcox et al. 2002). Para cada estadio larvario, se utilizaron un mínimo de 10 y un máximo de 30 cápsulas cefálicas para determinar la distancia entre las genas y entre las setas frontales, la cual se expresa en  $\mu\text{m}$ .

#### **2.4.6. Peso de pupas y proporción de sexos**

El peso de las pupas de la  $G_1$  se determinó pesando individualmente 200 pupas (100 hembras y 100 machos) de entre cuatro-cinco días de edad. Las pupas se sexaron revisando los segmentos esterno-abdominales 7<sup>o</sup>, 8<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup> y 10<sup>o</sup> (Figura 1) (Sannino *et al.* 1987) mediante el uso de un microscopio estereoscópico (40X) (Zeiss Stemi DV4). También se determinó la proporción de sexos en los adultos emergentes, tomando en cuenta las características morfológicas presentadas en la Figura 2 (Sannino *et al.* 1987).



**Figura 1.** En el 9º segmento abdominal de los machos se encuentra, sobre un área circular, una pequeña elevación señalada por una incisión. La hembra no presenta relieve tegumentario, hay una incisión longitudinal diferenciada que alcanza el margen del 7º segmento abdominal y se prologa por los segmentos 9º y 10º. Tomada de Sannino *et al.* (1987).



**Figura 2.** Diferencias morfológicas utilizadas para la separación de sexos en estado adulto. La conformación del frénulo en las alas representa la principal característica. En machos está constituido por una gruesa seta, mientras que en hembras consta de tres, de las cuales, la más externa es más corta y fina. Tomada de Sannino *et al.* (1987).

#### 2.4.7. Fecundidad y fertilidad de *A. montezumae*

Para determinar la fecundidad de *A. montezumae*, los adultos (<24 h de edad) se colocaron en parejas en vasos de plástico (Reyma®) (2.5 cm de altura x 4 cm de



diámetro), cuyas paredes sirvieron como sustrato de oviposición. Los adultos se alimentaron con una solución de miel al 15%. Se utilizaron 19 parejas.

La fecundidad se determinó contabilizando el número total de huevos depositados por cada hembra durante toda su vida. Las parejas que no produjeron huevos se eliminaron del experimento. También se determinó el periodo de preoviposición (entendido como los días previos a la primera puesta) y periodo de oviposición (tiempo de duración de oviposición). El porcentaje de eclosión de las larvas, de los huevos colectados a los 3 días después de la primera oviposición, se utilizó para evaluar la fertilidad. La emergencia de las larvas se registró hasta los 9 días después de ser colectados los huevos.

#### **2.4.8. Influencia del color y densidad del sustrato de oviposición en la fecundidad de *A. montezumae***

Para desarrollar este experimento, se usaron adultos (<48 h de edad) provenientes de la cría establecida bajo condiciones de laboratorio. Los adultos se colocaron por parejas en vasos de plástico (4 cm de altura x 6 cm de diámetro), los cuales se recubrieron en su parte interna con los siguientes plásticos de diferente color y densidad, los cuales sirvieron como sustrato de oviposición.

- Plástico transparente de baja densidad
- Plástico transparente de alta densidad
- Plástico de color azul de alta densidad
- Plástico de color rosa de alta densidad
- Plástico de color verde de alta densidad
- Plástico de color amarillo alta densidad

Se colocaron 25 parejas por cada densidad y color de plástico. Cada pareja representó una repetición. Las parejas que no produjeron huevos se eliminaron del experimento. Los adultos se alimentaron con una solución de miel al 15%. La fecundidad se determinó contabilizando el número total de huevos depositados por cada hembra durante toda su vida.

#### **2.4.9. Ciclo de vida y proporción sexual de adultos de *A. cercana* a *aristoteliae* a dos temperaturas**

El ciclo de vida y proporción sexual de los adultos de *A. cercana* a *aristoteliae* se determinaron a  $20 \pm 2$  °C y  $25 \pm 2$  °C y en ambos casos se utilizó una humedad relativa de  $60 \pm 5\%$  y un fotoperiodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad). En cada temperatura ensayada, se colocaron, en una jaula Bugdorm® y por un periodo de 24 h, 10 parejas de adultos (< 24 h de edad) del parasitoide. Esto con la finalidad de asegurar el apareamiento y fertilización. Después de este tiempo, se introdujeron a esta jaula 150 larvas de segundo estadio (< 24 h después de la ecdisis) de *A. montezumae*, distribuidas en vasos de plástico (2.5 cm de altura x 4 cm de diámetro), para su parasitación durante 24 h. Este proceso se realizó durante tres días consecutivos con el fin de incrementar el número de larvas parasitadas. De esta forma, se expusieron en total 450 larvas de *A. montezumae* para cada temperatura ensayada, 20 y 25 °C, de las cuales el 36.66% (165 larvas) y 38.22% (172 larvas) resultaron parasitadas en cada temperatura, respectivamente. A los diez días de la parasitación, se descartaron las larvas que no fueron parasitadas, las cuales se reconocieron por su tamaño más grande, en comparación con aquellas parasitadas, y por su color blanquecino. El desarrollo de estas larvas parasitadas se siguió en los vasos de plástico mencionados anteriormente y con la descendencia obtenida de *A. cercana* a *aristoteliae* se determinó el ciclo de vida y la proporción de sexos. Para el ciclo de vida, se consideraron los siguientes tres estados de desarrollo: huevo-larva, pupa y adulto. El estado de huevo-larva comprendió desde el día de la parasitación hasta que se observó la formación de la pupa, la cual se lleva a cabo fuera del hospedero. Después del décimo día de parasitación, las larvas parasitadas de *A. montezumae* se observaron diariamente con el fin de registrar la formación de pupas y emergencia de los adultos del parasitoide.

La longevidad de los adultos de *A. cercana* a *aristoteliae* se determinó de la siguiente manera. En un vaso de plástico (12 cm de diámetro x 7.5 cm de altura) se colocaron 4 adultos del parasitoide, en proporción 3:1 (machos: hembras), lo cuales se alimentaron con miel de abeja al 100% y además se les ofreció agua destilada. Este vaso se cubrió con tela de organza para facilitar la aireación y manipulación de

los individuos y funcionó, además, como una unidad experimental o repetición. En ese vaso se introdujeron diariamente, a partir del segundo día de edad de los parasitoides y hasta su muerte, 20 larvas de *A. montezumae* de segundo y tercer estadio en un vaso de plástico (2.5 cm de altura x 4 cm de diámetro) cubierto con papel Parafilm® pero con una abertura de 2 cm de diámetro en el centro para la permitir la entrada de la hembra del parasitoide. Se realizaron 20 repeticiones. La longevidad de los adultos de *A. cercana* a *aristoteliae* se determinó observándolos diariamente hasta su muerte y su descendencia se incorporó a la cría de laboratorio.

#### **2.4.10. Influencia de dos métodos de apareamiento sobre la proporción sexual de *A. cercana* a *aristoteliae***

Este experimento se realizó con el objetivo de optimizar la cría de *A. cercana* a *aristoteliae*. Se utilizaron dos métodos de apareamiento: con y sin separación de sexos antes de la copulación. En el método con separación de sexos, hembras y machos recién emergidos (< 24 h de edad) se separaron, por un periodo de dos días, en vasos de plástico transparente (4 cm de altura x 6 cm de diámetro); esto con la finalidad de evitar el apareamiento. Después de este tiempo, 10 machos y 10 hembras se introdujeron en una jaula de cría Bugdorm® para su apareamiento durante dos días. Inmediatamente después de este tiempo, se ofrecieron 20 larvas de segundo estadio (< 24 h después de la ecdisis) de *A. montezumae* a cada hembra de *A. cercana* a *aristoteliae*, las cuales se colocaron en un vaso de plástico (4 cm de altura x 6 cm de diámetro). Los adultos de los parasitoides se alimentaron con miel de abeja al 100% y también se les ofreció agua destilada. El tiempo de parasitación fue de 24 h. Después de este tiempo, los vasos que contenían las larvas de *A. montezumae* se retiraron de las jaulas de *A. cercana* a *aristoteliae*. A los diez días de la parasitación, se descartaron las larvas que no fueron parasitadas. A las larvas parasitadas se les siguió su desarrollo, en los vasos de plástico antes mencionados, hasta la emergencia de los adultos de los parasitoides con los cuales se determinó la proporción de sexos. Se realizaron 3 repeticiones, cada una de ellas consistió de una jaula Bugdorm® con 10 parejas del parasitoide.

En el método sin separación de sexos, las hembras y machos (< 24 horas de edad) de *A. cercana* a *aristoteliae* se colocaron, por un periodo de 24 horas, en las jaulas de cría Bugdorm®. Todo el proceso de parasitación se realizó de la misma forma como se ha descrito para el método con separación de sexos.

Se expusieron 600 larvas de *A. montezumae* para cada uno de los métodos ensayados: con y sin separación de sexos antes de la copulación; de las cuales el 22.5% (135 larvas) y 23.3% (140 larvas) resultaron parasitadas en cada uno de los métodos, respectivamente. Con los adultos de esta descendencia de *A. cercana* a *aristoteliae* se determinó la proporción de sexos, los cuales, posteriormente, se liberaron en las jaulas de cría. Los ensayos se realizaron en condiciones de  $25 \pm 2$  °C,  $60 \pm 5\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad).

#### **2.4.11. Preferencia de parasitismo de *A. cercana* a *aristoteliae* sobre *A. montezumae***

Se utilizaron 10 hembras y 10 machos de *A. cercana* a *aristoteliae* (< 24 h de edad), los cuales, previo a la parasitación, se colocaron en una jaula de cría Bugdorm® durante 24 horas para asegurar el apareamiento y la fertilización. Después de este tiempo, se introdujeron a esta jaula 64 larvas de cada uno de los estadios segundo, tercero y cuarto de *A. montezumae* para su parasitación. Las larvas de cada estadio se colocaron (un mínimo de 20 y un máximo de 24 larvas por vaso) en tres vasos de plástico (4 cm de altura x 6 cm de diámetro), los cuales contenían pequeños trozos de dieta artificial para su alimentación. El tiempo de parasitación fue de 24 h. Después de este tiempo, las larvas de cada estadio de *A. montezumae* se individualizaron en cajas para cultivo de tejidos de 24 celdas, las cuales contenían dieta artificial y se observaron diariamente para determinar si fueron parasitadas o no. La preferencia de parasitismo de *A. cercana* a *aristoteliae* se determinó tomando en cuenta el porcentaje de formación de pupas del parasitoide provenientes de cada uno de los estadios larvarios ensayados de *A. montezumae*. Se realizaron cuatro repeticiones. Cada repetición consistió de una jaula de cría Bugdorm® con 10 parejas del parasitoide y 64 larvas de cada uno de los estadios segundo, tercero y cuarto de *A. montezumae*.

#### **2.4.12. Análisis de datos**

Los datos de peso de pupas de *A. montezumae* y parámetros de vida de *A. cercana* a *aristoteliae* (ciclo de vida y proporción sexual a dos temperaturas e influencia del método de apareamiento sobre la proporción sexual), así como los de preferencia de parasitismo sobre *A. montezumae* se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Este análisis se realizó usando el procedimiento de Modelos Lineales Generalizados (GLM). Las medias se separaron con la prueba de diferencias mínimas significativas (LSD) ( $P < 0.05$ ) con el programa estadístico SAS versión 8.1 (SAS Institute 2000).

Los datos obtenidos del ensayo de influencia del color y densidad del sustrato sobre la fecundidad de *A. montezumae* se sometieron a un ANOVA mediante el programa Statistica versión 6.1 (Statsoft Inc, 2003). Las medias se separaron con la prueba de diferencias mínimas significativas (LSD) ( $P < 0.05$ ).

## 2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.5.1. Establecimiento de la cría de *A. cercana* a *aristoteliae*

Durante el desarrollo del experimento se logró obtener hasta la octava generación de *A. cercana* a *aristoteliae*. La cría de este parasitoide se mantuvo a 25 °C porque se observó que a esta temperatura se puede mantener una mayor cantidad de larvas de *A. montezumae* (ver Sección de resultados del Ciclo de vida de *A. montezumae*). Este trabajo representa el inicio de las investigaciones básicas de la biología de *A. cercana* a *aristoteliae* con el objetivo de implementar su cría a mediano plazo.

### 2.5.2. Ciclo de vida de *A. montezumae*

El ciclo de vida de *A. montezumae* determinado en este trabajo fue de 59 días (Cuadro 1). La duración de los estados de huevo, larva, prepupa, pupa y adulto fue de 7, 21, 4, 8 y 18 días, respectivamente.

**Cuadro 1.** Tiempo promedio de duración (días  $\pm$  ee) de los diferentes estados de vida y estadios larvarios de *A. montezumae*.

Estado/Estadio de desarrollo	(n)	Duración (días)
Huevo	179	7.28 $\pm$ 0.41
Larva I	179	5.35 $\pm$ 0.09
Larva II	178	3.63 $\pm$ 0.08
Larva III	170	3.97 $\pm$ 0.08
Larva IV	166	4.26 $\pm$ 0.07
Larva V	138	4.41 $\pm$ 0.10
Prepupa	95	3.89 $\pm$ 0.08
Pupa	64	8.37 $\pm$ 0.17
Adulto♀	20	17.7 $\pm$ 1.08
Adulto♂	27	17.59 $\pm$ 0.86
Promedio de ♀ y ♂	47	17.64 $\pm$ 0.67
Total		<b>58.82</b>

n = número de individuos con los cuales se determinó el tiempo de duración de cada estado/estadio de desarrollo.

El ciclo de vida de los insectos puede variar dependiendo de las condiciones climáticas. En el presente estudio, desde la deposición del huevo hasta la emergencia de los adultos de *A. montezumae* transcurrieron 41 días. Este tiempo fue ligeramente más largo que el reportado para *Argyrotaenia* sp. (32-36 días) (Rosas y Villegas 2008) y *A. spherophora* (36 días), ésta última especie presente en Brasil (Meneguim y Hohmann 2007) en el mismo periodo de desarrollo, pero esto puede ser debido a las diferencias en las condiciones climáticas en las cuales se desarrollaron estas especies ([ $26 \pm 1^\circ\text{C}$  de temperatura,  $65 \pm 5\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 14:10 h (Luz: Oscuridad) para *Argyrotaenia* sp.] y  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura,  $70 \pm 10\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 14:10 h (Luz: Oscuridad) para *A. spherophora*) (Cuadro 2). La longevidad de los adultos de *A. montezumae* fue de 17.6 y 17.7 días para machos y hembras, respectivamente. Esto difiere de lo reportado para machos y hembras de *A. spherophora* (9 y 15 días, respectivamente) (Meneguim y Hohmann 2007) y *Platynota rostrana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae) (11 y 10.5 días, respectivamente), un tortricido encontrado frecuentemente en cultivos de cítricos en el estado de São Paulo, Brasil (Nava *et al.* 2006).

**Cuadro 2.** Parámetros de vida de tres especies del género *Argyrotaenia*, indicándose las condiciones controladas de temperatura, fotoperiodo y humedad, así como también los autores de cada estudio.

<b>Especie</b>	<b><i>A. sphaleropa</i></b>	<b><i>Argyrotaenia</i> sp.</b>	<b><i>A. montezumae</i></b>
Autor	Meneguim y Hohmánn 2007	Rosas y Villegas 2008	Presente estudio
Temperatura	28 ± 2 °C	26 ± 1 °C	25 ± 2 °C
Humedad Relativa	70 ± 10%	65 ± 5%	60 ± 5%
Fotoperiodo (L: O)	14:10 h	14:10 h	16:8 h
<b>Parámetros (días):</b>			
Huevo	6 ±1.1	5 a 6	7.2 ± 0.4
Larva	22.9 ± 0.5	18 a 20	21
Pupa	6.3 ± 0.9	6 a 7	8.37± 0.17
Pre-oviposición	1.9 ± 0.3	2	3.5 ± 0.4
Oviposición	10	NR	8 ± 0.9
Fecundidad	180.8 ± 30.6	NR	391 ± 42.8
Longevidad (hembra)	14.7 ± 1.6	NR	17.7 ± 1.1
Longevidad (macho)	8.7±1.1	NR	17.6 ± 0.1
Ciclo de vida	36	32-36	41
No. de estadios larvarios	NR	5	5

HR = Humedad relativa, (L: O) = Fotoperiodo, horas Luz: Oscuridad y

NR = No Reporta.



De igual forma, los parámetros biológicos de *A. montezumae* son semejantes a los de un tortricido nativo de Uruguay llamado *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) debido a que el ciclo de vida para esta especie, desde huevo hasta la emergencia de los adultos, fue de 41 y 60 días cuando se desarrolló en la primavera sobre hojas y frutos de manzano, respectivamente. La duración de larva en hojas de manzano en primavera fue de 22.8 días para larvas hembra y 21.5 para larvas macho. La duración del desarrollo de la pupa hembra fue de 9.7 días cuando la larva se alimentó de frutos de manzano y 11.4 días cuando lo hizo sobre frutos de uva. Por otro lado, la duración del desarrollo de la pupa macho fue de 10.7 días cuando la larva se alimentaron sobre hojas de vid y 11.7 días cuando lo hizo sobre frutos y hojas de manzano en la estación de primavera. La duración del periodo embrionario fue de 7.9 y 8.5 días cuando los huevos se desarrollaron sobre hojas de manzano en la primavera y el verano, respectivamente.

Nava *et al.* (2006), mencionaron que la duración del ciclo biológico (huevo-adulto) de *P. rostrana* fue de 38.3 días cuando la cría se mantuvo bajo las siguientes condiciones de laboratorio:  $25 \pm 2$  °C, humedad relativa de  $70 \pm 10\%$  y fotoperiodo de 14 h y dieta artificial. El periodo embrionario y los estados de larva y pupa de este insecto tuvieron una duración de 8.5, 21.4, y 8.4 días respectivamente.

En el presente estudio, las larvas de *A. montezumae* presentaron cinco estadios larvarios, lo que coincide con *Argyrotaenia* sp. (Rosas y Villegas 2008) y *P. rostrana* (Nava *et al.* 2006). En *A. montezumae* 24 individuos presentaron un estadio larval adicional. Un incremento en el número de estadios larvales ha sido reportado en distintas especies de insectos tales como *A. franciscana* (Gilligan y Epstein 2009), *A. spheropa* (Betancourt *et al.* 2004), *Malacosoma disstria* Hübner (Lepidoptera, Lasiocampidae) (Esperk *et al.* 2007), *Streblote panda* Hübner (Lepidoptera, Lasiocampidae) (Calvo y Molina 2008) y *Mocis latipes* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) (Reinert 1975), entre otras. Esto depende del valor nutritivo del alimento, lo cual es afectado por los factores ambientales, y a la estacionalidad (Shafiei *et al.* 2001, Betancourt *et al.* 2004, Esperk *et al.* 2007, Calvo y Molina 2008). Al respecto, Betancourt *et al.* (2004) reportaron que el número de estadios larvarios varió de cinco a siete en larvas de *B. cranaodes* que se alimentaron con frutos y hojas, tanto

de manzano como de vid, y con hojas de madre selva, *Lonicera japonica* Thunb (Caprifoliaceae), en las épocas de primavera y verano. Estos autores encontraron que las larvas alimentadas con hojas de manzano tuvieron en general menos estadios que aquellas que se alimentaron con hojas de vid y hojas de madre selva.

### **2.5.3. Incremento de tamaño de las cápsulas cefálica**

La regla de Dyar parte de la base de que un área esclerosada del cuerpo de un insecto, como la cápsula cefálica, permanece más o menos constante durante un mismo estadio larval, con una progresión geométrica regular de una muda a otra (Chapman 1998). Esta conclusión resultó del análisis de 28 especies de Lepidoptera, mediante la cual es posible pronosticar matemáticamente el número de estadios larvales de especies de lepidópteros y compararlos con el número de estadios reales (Chapman 1998).

En el presente estudio, tomando en cuenta las distancias entre las genas y entre las setas frontales, la tasa de incremento de las cápsulas cefálicas de las larvas de *A. montezumae* difirió de un estadio larval a otro, ya que estuvo comprendida entre 1.21-1.83 y 1.33-1.96 veces, respectivamente (Cuadro 3). Sin embargo, en promedio, la tasa de incremento fue de 1.43 y 1.54 veces para cada método de medición, respectivamente.

**Cuadro 3.** Promedio en  $\mu\text{m}$  ( $\pm$  ee) de las distancias entre genas y entre setas frontales, de las cápsulas cefálicas de *A. montezumae*.

Estadio larval	(n)	Distancia entre genas	Incremento en No. de veces	Distancia entre setas	Incremento en No. de veces
I	30	199.36 $\pm$ 6.36		78.88 $\pm$ 3.25	
II	30	366.44 $\pm$ 8.57	1.83	155.23 $\pm$ 7.96	1.96
III	10	539.25 $\pm$ 9.75	1.47	238.93 $\pm$ 7.56	1.53
IV	10	655.41 $\pm$ 6.46	1.21	326.49 $\pm$ 7.96	1.36
V	12	806.96 $\pm$ 11.60	1.23	436.26 $\pm$ 7.96	1.33

N = número de cápsulas cefálicas utilizadas en la medición de la distancia entre genas y setas.

Los valores promedio de la tasa de incremento de las cápsulas cefálicas de *A. montezumae* son muy cercanos a la constante de crecimiento de la regla de Dyar, la cual establece que, en Lepidoptera, la tasa de crecimiento de las cápsulas cefálicas de un estadio larval a otro es de 1.4 veces (Dyar y Rhinebeck 1890). Esta tasa de crecimiento también se observó en los diferentes estadios larvarios de *Comadia redtenbacheri* Hamm (Lepidoptera: Cossidae) (1.42 veces) (Hernández-Libera *et al.* 2005), *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) (1.41 veces) (Zúñiga 2005) y *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) (1.37 veces) (Bailez *et al.* 2003). Sin embargo, es importante mencionar que existen diversas especies de insectos que no se ajustan a la tasa de incremento establecida por Dyar. Por ejemplo, en *Ochrogaster lunifer* Herrich-Schäffer (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), *Copitarsia incommoda* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), *Bephrateloidea cubensis* Ashmead (Hymenoptera: Eurytomidae) y *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae), las tasa promedio de incremento de las cápsulas cefálicas fue de 1.30, 1.35, 1.66 y 1.88 veces, respectivamente. Estas diferencias pueden ser debido a situaciones interespecíficas, las cuales están condicionadas por factores geográficos, ambientales y tipo de hospedero (Hernández-Fuentes *et al.* 2010).

#### 2.5.4. Peso de pupas y proporción de sexos

El peso de las pupas de *A. montezumae* fue significativamente diferente entre machos y hembras ( $F = 236.38$ ;  $gl = 183,1$ ;  $P \leq 0.0001$ ). Las pupas machos y

hembras pesaron 21 mg y 33 mg, respectivamente. Estos resultados difieren de los obtenidos en las pupas machos y hembras, de la G<sub>0</sub> de *Argyrotaenia* sp., las cuales pesaron 18 mg y 17 mg, respectivamente (Rosas y Villegas 2008). Además, los resultados obtenidos para *A. montezumae* fueron 2 y 3 veces más altos que los reportados para *A. sphaleropa*, especie en la cual las pupas machos y hembras pesaron 9 mg y 11 mg, respectivamente (Meneguim y Hohmánn 2007).

El peso promedio de las pupas machos y hembras de *P. rostrana* fue de 33.4 mg y 49.3 mg, respectivamente. Estos valores son muy diferentes a los registrados en *A. montezumae*. Esto puede ser debido a que estas especies no pertenecen al mismo género. Sin embargo, en ambas especies las pupas hembras pesaron más que las de los machos. De acuerdo a Slansky y Scriber (1985), las hembras de los lepidópteros son, en general, más grandes, y por lo tanto más pesadas que los machos. Esto refleja el mayor consumo de alimento de las larvas hembras, las cuales en su etapa de adulto serán las responsables de la oviposición (Slansky y Scriber 1985). Además, estos mismos autores mencionaron que las larvas hembras generalmente pueden presentar un estadio más que las larvas machos, lo que explica claramente la diferencia en el peso. Por su parte, Betancourt *et al.* (2004), reportaron que el tipo de dieta tuvo una influencia decisiva en el peso de las pupas de *B. cranaodes*, obteniendo que las pupas hembras provenientes de larvas alimentadas con hojas de madre selva, *L. japonica*, tuvieron un mayor peso (31.8 mg) que aquellas alimentadas con hojas de manzano en primavera (27.4 mg), con frutos de manzano en cualquier temporada (27.1 mg), hojas de vid en primavera (19.7 mg), frutos de uva en cualquier temporada (16.6 mg), hojas de manzano en verano (16.1 mg) y hojas de vid en verano (15.6 mg). De igual forma, las pupas machos provenientes de larvas alimentadas con *L. japonica* tuvieron un peso mayor (17 mg) que aquellas alimentadas con hojas de manzano en primavera (15 mg), frutos de manzano en cualquier temporada (12 mg), hojas de vid en primavera (12.2 mg), frutos de uva en cualquier temporada (10.6 mg), hojas de manzano en verano (11.3 mg) y hojas de vid en verano (10 mg).

Por otra parte, la proporción de sexos de *A. montezumae* fue 1:1 (machos:hembra). Estos adultos son provenientes de una cohorte de 179 larvas que se

individualizaron y se utilizaron para la determinación del ciclo de vida de este insecto. Similarmene, Nava *et al.* (2006) reportó una proporción de sexos de 1:1 (machos: hembras) para *P. rostrana*.

#### **2.5.5. Fecundidad y fertilidad**

El periodo de preoviposición de *A. montezumae* fue de 3.5 días. En contraste, en *A. sphaleropa*, *Argyrotaenia* sp., *B. cranaodes* y *P. rostrana* se registró que el periodo de preoviposición fue de 2 días (Cuadro 2). Como se ha mencionado antes, estas diferencias pueden ser debidas al tipo de alimentación que tuvieron las larvas de estas especies. Por ejemplo, Betancourt *et al.* (2004) reportaron que el periodo de preoviposición de los adultos de *A. sphaleropa* provenientes de larvas alimentadas con hierba madre selva, *L. japonica*, fue de 1.7 días, mientras que en aquellos provenientes de larvas alimentadas con frutos de uvas fue de poco más que el doble de este tiempo (3.6 días).

Por otro lado *A. montezumae* mostró un periodo de oviposición de 8 días, el cual fue ligeramente más bajo al reportado por Meneguim y Hohmánn (2007) para *A. sphaleropa* (10 días) y ligeramente más alto al reportado por Nava *et al.* (2006) para *P. rostrana* (6.6 días). Para *B. cranaodes*, el periodo de oviposición fue de 5.5 y 12.7 días en la primavera y verano, respectivamente, cuando las larvas se alimentaron con hojas de vid (Betancourt *et al.* 2004).

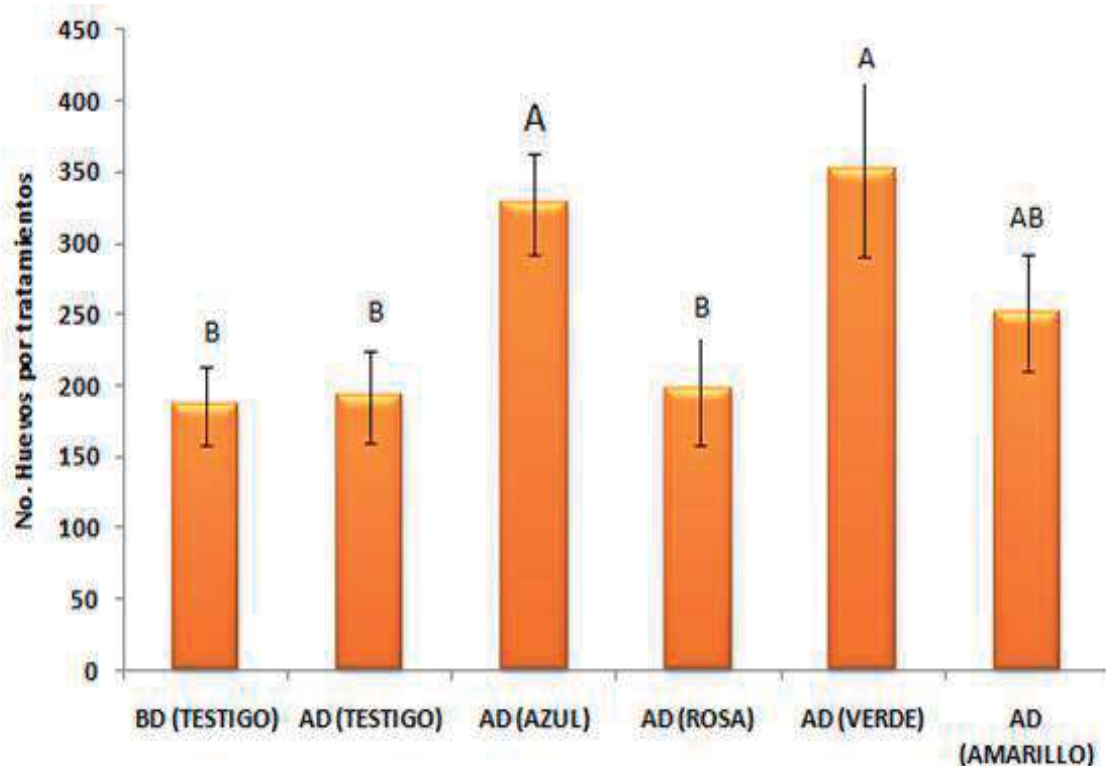
La fecundidad de *A. montezumae* fue de 391 huevos por hembra durante toda su vida (Cuadro 2). Este valor representa 1.2 y 2.1 veces más que la fecundidad obtenida en *P. rostrana* (308 huevos) (Nava *et al.* 2006) y *A. sphaleropa* (181 huevos) (Meneguim y Hohmánn 2007), respectivamente. Las diferencias entre los resultados obtenidos en el presente estudio con los de Nava *et al.* (2006) y Meneguim y Hohmánn (2007) pueden ser debido a factores interespecíficos y a la calidad del alimento que estas especies recibieron cuando se encontraban en su etapa larvaria. A este respecto, es bien conocido que la disponibilidad de los recursos nutricionales (proteínas, carbohidratos y lípidos) tiene gran influencia en el crecimiento, desarrollo, sobrevivencia y fecundidad de los insectos (Joern y Behmer 1997, Awmack y Leather 2002).

Finalmente, la fertilidad de *A. montezumae* fue de 92.24%. Es importante mencionar que en el primer día de registro de emergencia de las larvas (séptimo día después de la colecta de los huevos), se tuvo una eclosión de 74%, mientras que para el segundo y tercer día la emergencia fue de 16 y 3%, respectivamente. La fertilidad de *A. montezumae* registrada en este estudio es más alta que la reportada para la palomilla de la manzana, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), cuando se determinó bajo los siguientes tratamientos: macho de dos días de edad x hembra de dos días de edad (80.7), macho de dos días de edad x hembra de cuatro días de edad (71.3), macho de 6 días de edad x hembra de dos días de edad (83.5), macho de 6 días de edad x hembra de 4 días de edad (78.6). Cabe aclarar que este estudio se realizó en condiciones de laboratorio de 24° C, 60% humedad relativa y 14:10 (Luz: Oscuridad) (Vickers 1997). Cabe aclarar que estos autores realizaron su estudio en el laboratorio de la División de Entomología de la Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisatio (CSIRO), Canberra, Australia.

#### **2.5.6. Influencia del color y densidad del sustrato de oviposición en la fecundidad de *A. montezumae***

Previamente se reportó que el color y densidad de los sustratos pueden tener influencia en la captura y oviposición de los insectos (Renwick y Chew 1994). Al respecto, en huertos de manzano en Moxee, Washington, EUA, Knight y Miliczky (2003) encontraron que las trampas de color verde y naranja capturaron más adultos de la palomilla de la manzana, *C. pomonella*, comparado con las trampas de color blanco. En este estudio, el color y densidad de los plásticos afectaron significativamente ( $F = 1.29$ ;  $gl = 34,5$ ;  $P \leq 0.0001$ ) la fecundidad de *A. montezumae*. Los plásticos de alta densidad de color azul y verde registraron el mayor número de huevos depositados por hembra durante toda su vida con 328 y 352 huevos, respectivamente (Figura 3). Estos dos sustratos no difieren significativamente entre sí, pero ambos son distintos respecto a los plásticos transparentes de baja y alta densidad, así como del plástico de color rosa de alta densidad, en los cuales hubo entre 185 y 197 huevos por hembra. El número de huevos depositados en el plástico de color amarillo (251 huevos/hembra) muestra una posición intermedia entre los

plásticos de color verde y azul y los transparentes de baja y alta densidad y el rosa de alta densidad. Por lo tanto, los colores verde y azul pueden utilizarse indistintamente como sustrato de oviposición en la cría masiva de *A. montezumae* y además indican que podrían usarse como trampas en campo para el monitoreo de este insecto, aunque para ello se deben de realizar previos estudios de atracción.



**Figura 3.** Número de huevos puestos (promedio  $\pm$  error estándar) por hembra de *A. montezumae* sobre diferentes sustratos de oviposición. BD; baja densidad, AD; alta densidad. Barras con la misma letra, no difieren significativamente (LSD) ( $P < 0.05$ ).

Dentro del espectro electromagnético, el visible corresponde a las longitudes de onda entre los 400-700 nanómetros (Henderson 1996). A este respecto, los rangos correspondientes a los colores violeta, azul, verde, amarillo, naranja y rojo están entre 400-450, 450-495, 495-570, 570-590, 590-620 y 620-700 nm, respectivamente (Ashfaq *et al.* 2005). El hecho de que *A. montezumae* haya preferido ovipositar, sobre los colores azul y verde, seguido del amarillo, puede ser debido a que las longitudes de onda de estos colores tienen un rango del espectro

electromagnético muy cercano entre sí, lo que a su vez puede coincidir con el rango del espectro del hospedero del que se alimenta *A. montezumae*. Sin embargo, esto difiere de lo reportado por Rosas y Villegas (2008), quienes encontraron que el plástico transparente de alta densidad fue el sustrato preferido de oviposición por los adultos de *Argyrotaenia* sp.

Renwick y Chew (1994) mencionaron que el color del sustrato probablemente no es importante en el comportamiento de lepidópteros de hábitos nocturnos, ya que *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) y *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) depositaron más huevos en sustratos de color amarillo que de otros colores. En contraste, las hembras del gusano de la col, *Copitarsia decolora* (Gueneé) (Lepidoptera: Noctuidae) prefirieron ovipositar sobre la tela de organza de color negro, seguido de las de color rojo, verde y blanco (Acatitla 2010).

Por otro lado, se ha reportado que la orientación de los insectos hacia una superficie con fines de alimentación u oviposición puede estar influenciada por la visión. A este respecto, Shorey (1964), mencionó que las hembras de *T. ni* depositaron más huevos sobre una superficie de color amarillo comparado con las de colores blanco, rojo, naranja, azul y verde; en todos los casos las superficies de oviposición fueron hechas de papel cartulina y recubiertas con plástico transparente. En otro experimento, este mismo autor evaluó el número de acercamientos de *T. ni* hacia sustratos de diferente color (amarillo, verde, blanco, naranja, azul, morado, rojo y negro) y observó que el mayor número de acercamientos de los adultos de este insecto fue, de igual forma, hacia el sustrato de color amarillo.

Shorey (1964) también mencionó que el acercamiento de *T. ni* a ciertos colores puede ser principalmente una respuesta de alimentación y que las diferencias en la deposición de huevos sobre diferentes colores puede ser debido a otros estímulos no visuales después de que la hembra ha sido atraída estos sustratos.



## 2.5.7. Efecto de dos temperaturas sobre el ciclo de vida y proporción de sexos de *A. cercana a aristoteliae*.

### 2.5.7.1. Ciclo de vida

Oliveira *et al.* (1998) reportaron que la temperatura puede influenciar el desarrollo, fecundidad, mortalidad y proporción de sexos en varias especies de parasitoides. Un incremento en la temperatura, dentro de un rango favorable, puede acelerar el metabolismo de los insectos y consecuentemente incrementar la tasa de desarrollo. En el presente estudio, el ciclo de vida de *A. cercana a aristoteliae* fue de 47.26 y 35.13 días a 20 °C y 25 °C, respectivamente (Cuadro 4). A 20 °C la duración de los estados de huevo-larva, pupa y adulto fue de 21.86, 13.03 y 12.37 días respectivamente, mientras que a 25 °C fue de 15.6, 6.26 y 13.27 días para cada estado de desarrollo, respectivamente.

**Cuadro 4.** Duración promedio (días  $\pm$  ee) de los estados de huevo-larva, pupa y adulto de *A. cercana a aristoteliae* a dos temperaturas.

Estado de desarrollo	Temperaturas	
	20 °C	25 °C
Huevo-Larva	23.08 $\pm$ 0.36a (82)	16.62 $\pm$ 0.35b (89)
Pupa	13.03 $\pm$ 0.23a (94)	6.26 $\pm$ 0.24b (89)
Emergencia del adulto	35.78 $\pm$ 0.44a (165)	22.97 $\pm$ 0.33b (172)
Adulto♀	9.96 $\pm$ 1.16a (20)	14.75 $\pm$ 1.08b (20)
Adulto♂	13.34 $\pm$ 0.90a (60)	12.53 $\pm$ 0.94a (60)
Longevidad Adulto Promedio de ♀ y ♂	12.37 $\pm$ 0.65a (80)	13.27 $\pm$ 0.81a (80)
<b>Duración total</b>	<b>48.15</b>	<b>36.24</b>

Datos en la misma fila seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ; LSD separación de medias). El número entre paréntesis, indica el número de individuos con los cuales se determinó el tiempo de duración de cada estado de desarrollo.

El incremento de temperatura disminuyó significativamente el tiempo de desarrollo de los estados de huevo-larva ( $F = 152.28$ ;  $gl = 169,1$ ;  $P < 0.0001$ ) y pupa ( $F = 419.18$ ;  $gl = 149,1$ ;  $P < 0.0001$ ) de *A. cercana a aristoteliae*. Asimismo, entre 20

°C y 25 °C, el tiempo de desarrollo (desde la parasitación hasta la emergencia del adulto) de este parasitoide fue significativamente diferente ( $F = 537.97$ ;  $gl = 267,1$ ;  $P < 0.0001$ ) ya que transcurrieron 36.0 y 22.97 días para cada temperatura, respectivamente. Por lo tanto, el tiempo de desarrollo de este insecto (desde la parasitación hasta la emergencia del adulto) disminuyó con el incremento de la temperatura. Este efecto también fue observado en *Apanteles gelechiidivoris* (Marsh) (Hymenoptera: Braconidae) (Bajonero *et al.* 2008) y *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) (Nofemela 2004). En ambas especies de parasitoides, el tiempo de desarrollo fue inversamente proporcional al incremento de la temperatura. En *A. gelechiidivoris*, la duración del ciclo de vida fue de 39, 34, 19 y 17 días a 14, 20, 26 y 32 °C, respectivamente (Bajonero *et al.* 2008), mientras que para *C. plutellae* fue de 20, 12, 11 y 11 días a 21, 24, 27 y 30 °C, respectivamente, y con un fotoperiodo de 16:8 (L: O) y humedad relativa de 55% (Nofemela 2004).

De acuerdo con los datos del presente estudio, *A. cercana* a *aristoteliae* puede desarrollarse en temperaturas de 20 y 25°C. Por lo tanto, en posteriores estudios se debe de evaluar cuáles son los umbrales mínimos y máximos de temperatura de desarrollo de este parasitoide. El ciclo de vida (36.24 días) (incluyendo longevidad del adulto) de *A. cercana* a *aristoteliae* a 25 °C fue muy similar al reportado para *Apanteles taragamae* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae) (37.85 días) a una temperatura de  $30 \pm 2$  °C y humedad relativa de  $80 \pm 5\%$  (Mohan y Sathiamma 2007) sobre *Opisina arenosella* (Walker) (Lepidoptera: Oecophoridae). En contraste, el ciclo de vida de *A. cercana* a *aristoteliae* a 20 y 25 °C fue 1.4 y 1.9 veces mayor que el observado en *A. gelechiidivoris* a 20 y 26 °C (Bajonero *et al.* 2007) (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Comparación en días de los parámetros de vida de tres especies del género *Apanteles* y la especie *C. plutellae*, indicando las condiciones de humedad y fotoperiodo para cada especie.

Parámetros de vida	Bajonero <i>et. al.</i> (2007)	Mohan y Sathiamma (2007)	Uçkan y Ergin (2003)	Nofemela (2004)	Presente estudio
	<i>A. gelechiidivoris</i> 12:12 h (L: O)	<i>A. taragamae</i> 80 ± 5 % HR	<i>A. galleriae</i> 60 ± 5% HR, fotoperiodo de 12:12 h (L: O)	<i>C. plutellae</i> Entre 50 y 60 ±5% HR, fotoperiodo16:8 h (L: O)	60 ± 5% HR, fotoperiodo 16:8 h (L: O)
Días en emerger los adultos parasitoides	31.6, 27, 14.2 y 11.6 días a 14, 20, 26 y 32 °C, respectivamente.	23.3 y 20.0 días a 30 °C en <i>C. cephalonica</i> y <i>O. arenosella</i> , respectivamente.		20.54, 11.98, 10.60, 10.96 y 9 días a 21, 24, 27, 30 y 33 °C, respectivamente.	35.78 y 22. 97 días a 20 y 25 °C, respectivamente.
Ciclo de vida	39, 34, 19 y 17 días a 14, 20, 26 y 32 °C, respectivamente.	37.85 días y 31.65 en <i>C. cephalonica</i> y <i>O. arenosella</i> , respectivamente.			48.15 y 36.24 días a 20 y 25 ± 2 °C, respectivamente.
Longevidad ♀ y ♂	7.4, 7.0 , 4.8 y 2.4 días a 14, 20, 26 y 32 °C, respectivamente.*	13.8 y 15.3 en <i>C. cephalonica</i> y 11.0 y 12.3 en <i>O. arenosella</i> .	13.9 y 13.4 a 10 °C 15.5 y 14.9 a 20°C		9.96 y 13.34 días a 20 °C 14.75 y 12.53 a 25 °C
Proporción sexual ♀:♂	1:1 a 20 °C y 26 °C	1:0.9 a 30 °C			1:1.15 a 20 °C y 1:2.90 a 25 °C

Días en emerger = tiempo desde huevo hasta pupa (no incluye longevidad).

Ciclo de vida = tiempo desde huevo hasta la longevidad del adulto. \*En este caso, la longevidad es para adultos en general y a que no se registró la longevidad por cada sexo. Para las demás especies, los datos de longevidad corresponden hembras y machos, respectivamente

### 2.5.8. Longevidad.

La temperatura afectó significativamente la longevidad por sexo de los adultos de *A. cercana* a *aristoteliae*. Hubo diferencias significativas ( $F= 9.09$ ;  $gl = 1, 52$ ;  $P = 0.004$ ) en la longevidad de las hembras, pero no para los machos ( $F= 0.38$ ;  $gl = 1, 117$ ;  $P = 0.5$ ), en las temperaturas estudiadas de 20°C y 25°C (Cuadro 4). La longevidad de las hembras fue de 9.96 y 14.75 días a 20 y 25 °C, respectivamente, mientras que la de los machos fue de 13.34 y 12.53, para cada temperatura, respectivamente. En contraste, en *A. gelechiidivoris* (a temperaturas de 14 y 20, 26 y 32 °C) y *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) (a temperaturas de 0, 10, 20, 30 y 40 °C) no se reportaron diferencias significativas en la longevidad de los adultos por sexo (Bajonero *et al.* 2008, Uçkan y Ergin 2003). Por otro lado, los valores de longevidad para machos y hembras encontrados en el presente estudio, difieren con los reportados por Bajonero *et al.* (2008). Estos autores reportaron que la longevidad de adultos, sin especificar por sexo, de *A. gelechiidivoris* fue de 7.4, 7, 4.8 y 2.4 días a 14 y 20, 26 y 32 °C, respectivamente. Según Escobar *et al.* (2004), la longevidad de *A. gelechiidivoris* a 24°C es de 10 días.

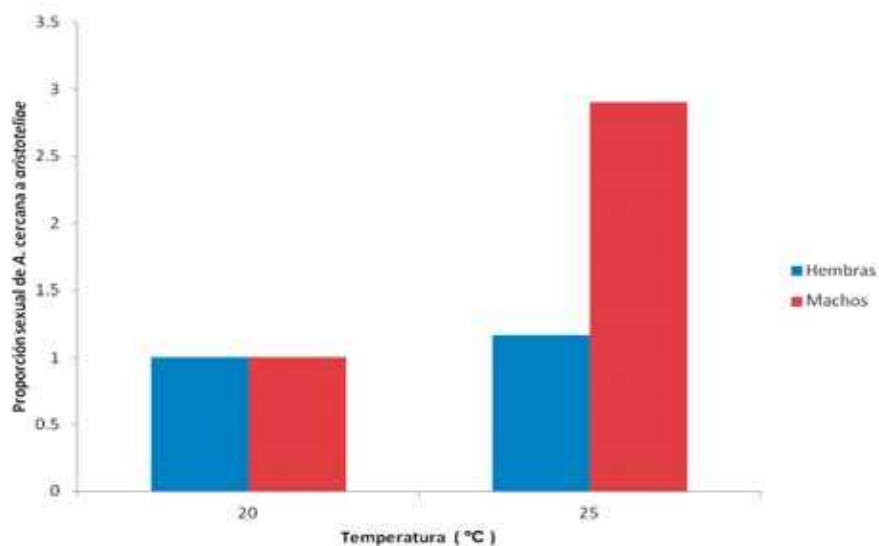
Por otro lado, cuando los adultos de *A. galleriae* se alimentaron con miel al 100%, la longevidad de las hembras fue de 13.9 y 15.5 días a 10 y 20 °C, respectivamente; mientras que la de los machos fue de 13.4 y 14.9 días, respectivamente, para cada temperatura, respectivamente (Uçkan y Ergin 2003). En este caso, los autores no reportaron diferencias significativas entre sexos en las dos temperaturas ensayadas, lo que es similar a lo encontrado en el presente estudio, al menos para machos, los cuales vivieron 13 días a 20 y 25 °C. Por otro lado, al considerar la longevidad de los adultos en general (promedio de hembras y machos) en cada temperatura (13.65 y 15.2 días a 10 y 20 °C, respectivamente), Uçkan y Ergin (2003) también observaron que no hubo diferencias significativas entre ambas temperaturas (10 y 20°C), lo que es similar a lo encontrado en el presente trabajo, donde los adultos (promedio hembras y machos) de *A. cercana* a *aristoteliae* vivieron el mismo tiempo a 20 y 25°C (12.37 y 13.27 días, respectivamente).

Los valores de longevidad encontrados en el presente trabajo también son similares a los valores de longevidad reportados para *A. taragamae*, donde la

longevidad de las hembras y machos fue de 11 y 12 días, respectivamente, sobre *O. arenosella*. Sin embargo, la longevidad de las hembras y machos fue de 14 y 15 días, respectivamente, cuando se desarrollaron sobre *C. cephalonica*. Esto indica que este parámetro de vida de los parasitoides también está influenciado por su hospedero.

### 2.5.9. Proporción de sexos.

La temperatura afectó significativamente ( $F = 12.07$ ;  $gl = 1, 24$ ;  $P = 0.0006$ ) la proporción de sexos en *A. cercana* a *aristoteliae*. La proporción de sexos de este parasitoide fue de 1:1.16 ( $n = 115$  individuos) y 1:2.90 ( $n = 121$  individuos) (hembras: machos) a 20 °C y 25 °C, respectivamente (Figura 4).



**Figura 4.** Proporción sexual de *A. cercana* a *aristoteliae* provenientes de dos temperaturas.

Además de la temperatura, otros factores tales como la luz, fotoperiodo y tamaño de las larvas del hospedero, pueden influenciar la proporción de sexos de los insectos (Nofemela 2004). Al respecto, la proporción de sexos del parasitoide *A. taragamae* fue de 1:0.9 (machos: hembras) a 30 °C y 80 ± 5% de HR (Mohan y Sathiamma 2007), mientras que para *A. gelechiidivoris* fue 1:1 (hembras: machos) a 14, 20 y 26 °C; 67% HR y un fotoperiodo de 12:12 h (Luz: oscuridad) (Bajonero *et al.*

2008). Los resultados de Mohan y Sathiamma (2007) y Bajonero *et al.* (2008) difieren de los obtenidos en el presente estudio, al menos a 25 °C, donde se obtuvieron más machos (3) que hembras (1).

Por otro lado, la proporción de sexos de *Apanteles rubecula* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae) fue de 1:1 (hembras: machos) a 22-24 °C (Parker y Pinnell 1970) y para *C. plutellae* fue de 1.79:1, 1.47:1, 1.46:1, 1.22:1 y 1.5:1 (machos: hembras) a 21, 24, 27, 30 y 33 °C, una humedad relativa entre 50%-60% y un fotoperiodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad), respectivamente (Nofemela 2004), por lo que en esta última especie, el incremento de la temperatura no afectó la emergencia de machos, como sucedió con *A. cercana* a *aristoteliae*, donde a 25 °C se obtuvieron 3 veces más machos que hembras.

En el presente trabajo, a la temperatura de 25 °C, la presencia de más machos que hembras fue un problema muy importante en la cría de *A. cercana* a *aristoteliae*, lo cual también ha sido reportado para otras especies de parasitoides. Por ejemplo, en la cría de *Hyposoter didymator* (Thunberg) (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoide de noctuidos, se presentó una proporción sexual de 9:1 (machos: hembras), aunque en este caso fue atribuido a la pérdida de la variabilidad genética de la población (Bahena *et al.* 1998).

#### **2.5.10. Influencia de dos métodos de apareamiento en *A. cercana* a *aristoteliae* sobre la proporción sexual.**

El método de apareamiento no afectó significativamente ( $F = 0.01$ ;  $gl = 1$ , 272;  $P = 0.93$ ) la proporción de sexos de *A. cercana* a *aristoteliae*, ya que se tuvo 1:2.66 y 1:3.21 (hembras: machos) en los métodos *sin* y *con separación de sexos antes de la copulación*, respectivamente (Cuadro 6). Estos resultados difieren de lo reportado para *C. melanoscela*, donde siguiendo el método de separación de sexos, combinado con variaciones en la alimentación y aislamiento de los adultos en la oscuridad a 19 °C, para después aparearlos en la luz natural, se obtuvo una proporción de sexos de 1:0.92 (hembras: machos) (Webb *et al.* 1997). Las diferencias de los resultados obtenidos en el presente estudio con los de Webb *et al.* (1997), pueden ser debido a los diferentes escenarios utilizados en la realización de

los experimentos y a las diferentes especies de parasitoides utilizados. Sin embargo, más estudios al respecto deben de realizarse para determinar las causas de estas diferencias.

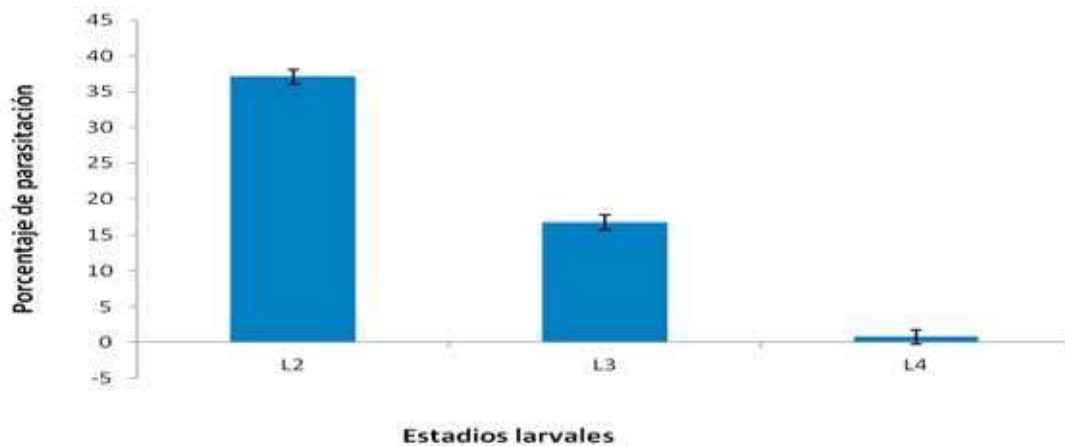
**Cuadro 6.** Porcentaje de machos y hembras de *A. cercana* a *aristoteliae* obtenidos en laboratorio a 25 °C utilizando dos métodos de apareamiento.

<b>Proporción de sexos</b>			
<b>Método utilizado</b>	<b>(n)</b>	<b>Hembras</b>	<b>Machos</b>
Sin separación de sexos	140	1a	2.66a
Con separación de sexos	135	1a	3.21a

Datos en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ; LSD separación de medias).

#### **2.5.11. Preferencia de parasitismo de *A. cercana* a *aristoteliae* sobre *A. montezumae***

En los parasitoides de larvas de lepidópteros, la selección de sus hospederos no sólo dependen del estadio de desarrollo de éstas, sino también del estado fisiológico del parasitoide y de la información que éste percibe en el lugar de forrajeo –sitio de búsqueda del hospedero y alimentación- (Rivero 2000). En el presente estudio, el estadio larval de *A. montezumae* mostró una influencia altamente significativa ( $F= 22.44$ ;  $gl = 2, 36$ ;  $P < 0.0001$ ) sobre el porcentaje de parasitismo de *A. cercana* a *aristoteliae*. Este parasitoide mostró preferencia por las larvas de segundo estadio, seguido por las de tercero y cuarto, con 37%, 17 y 0.8% de parasitismo, respectivamente (Figura 5). De igual forma, el porcentaje de parasitismo de *C. plutellae* también fue inversamente proporcional al incremento del estadio larval de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). En este caso, los porcentajes de parasitación fueron de 90%, 60% y 0% para las larvas de segundo, tercero y cuarto estadio, respectivamente (Nofemela 2004).



**Figura 5.** Porcentajes de parasitismo (promedio  $\pm$  ee) de diferentes estadios larvares de *A. montezumae* expuestos a hembras de *A. cercana* a *aristoteliae*.

En el presente estudio se observó que las larvas de cuarto estadio registraron el menor porcentaje de parasitismo (0.3%) por parte de *A. cercana* a *aristoteliae*. Esto es similar a lo reportado por Mohan y Sathiamma (2007), quienes observaron que las larvas de mayor edad (> 22 días de edad) de *C. cephalonica*, tuvieron el menor porcentaje de parasitismo (3%) comparado con las de menor edad (8-14 días de edad) donde se observó 67%. La preferencia de parasitismo que tuvo *A. cercana* a *aristoteliae* por las larvas de segundo estadio, seguido por las de tercero y cuarto, puede ser debido a que, aunque los parasitoides se pueden desarrollar exitosamente en diferentes estadios larvales del mismo hospedero, el costo del parasitismo puede variar entre éstos (Godfray 1994). Sin embargo, las larvas más grandes pueden defenderse con mayor facilidad de los parasitoides y por ello son menos parasitadas. Los hospederos, particularmente larvas de lepidópteros, no son necesariamente las víctimas indefensas de sus parasitoides (Godfray 1994). Una de las respuestas más comunes de los hospederos a los ataques de los parasitoides es retorcerse violentamente y este movimiento puede ser suficiente para alejarlos y evitar la oviposición (Godfray 1994).

Por otro lado, la preferencia de parasitismo no se puede basar sólo en el tamaño del hospedero, ya que las hembras de los parasitoides pueden usar otros criterios cualitativos, los cuales permanecen en gran parte desconocidos (Rivero



2000). Sin embargo, el tamaño de la larva es la estimación más fácil de medir y por lo tanto la más comúnmente encontrada en la literatura como el factor principal que puede influenciar la preferencia de parasitismo. En los parasitoides, sin embargo, la calidad del hospedero puede variar independientemente del tamaño de la larva o la biomasa total (Sequeira y Mackauer 1992).

## 2.6. CONCLUSIONES

Actualmente, *A. montezumae* no causa daños económicos sobre los cultivos de zarzamora, *Rubus* sp. Sin embargo, es importante conocer sus parámetros de vida con el fin de desarrollar técnicas para su monitoreo antes de que este insecto pueda convertirse en una plaga primaria. En el presente estudio se presentan por primera vez los parámetros de vida de *A. montezumae*, los cuales a su vez complementan los resultados preliminares sobre el ciclo de vida de este insecto reportados por Juárez (2011). De igual forma, se proporcionan datos importantes sobre la influencia de la temperatura (20 y 25 °C), así como del método de apareamiento (sin y con separación de sexos antes de la copulación) sobre los parámetros de vida del parasitoide *A. cercana* a *aristoteliae*. La proporción de sexos (3:1, macho: hembra) de este parasitoide fue uno de los principales problemas durante el desarrollo de la presente investigación. Por lo tanto, se deben de realizar más estudios sobre su biología, parámetros reproductivos (fecundidad y fertilidad), comportamiento y capacidad de búsqueda a diferentes densidades del hospedero. Finalmente, se propone evaluar si la calidad de la dieta (artificial y natural) del hospedero causa algún efecto en la proporción de sexos del parasitoide, como ha sucedido en *A. galleriae* (Uçkan y Ergin 2002). Actualmente, está en proceso la corroboración de la especie a la cual pertenece *A. cercana* a *aristoteliae*.

## 2.8. AGRADECIMIENTOS

Ornella Barreto Barriga agradece la beca CONACYT (No. Expediente: 239191). A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por financiar esta investigación a través del proyecto *Identificación, fluctuación poblacional, ciclo y parámetros de vida del gusano telarañero (Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de zarzamora: Identificación de sus parasitoides* y al Centro Regional Universitario Centro Occidente de la Universidad Autónoma Chapingo a través del proyecto: *Hacia un Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades de la Zarzamora en Michoacán*, financiado por la Fundación Produce Michoacan.

## 2.9. LITERATURA CITADA

- Acatitla, T. C. 2010. ***Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) Guenée: Su preferencia por brocolí, col y coliflor, su caracterización molecular y tres de sus himenópteros parasitoides.** Tesis de Doctorado. Colegio de posgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 81 pp..
- Awmack, C. S. y Leather, S. R. 2002. **Host plant quality and fecundity in herbivorous insects.** *Annual Review of Entomology* 47: 817-844.
- Ashfaq, M., A. K. Rashid, A. M. Khan, F. Rasheed y S. Hafeez. 2005. **Insect orientation to various color lights in the agricultural biomes of Faisalabad. Pakistan.** *Entomologist* 27: 49-52.
- Bahena, F., A. Adan, M. González, E. Viñuela y P. del Estal. 1998. **Método de cría de *Hyposoter didymator* (Thunberg) (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoide de noctuidos de importancia agrícola.** *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas* 24: 975-984.
- Bajonero, J., N. Córdoba, D. Rodríguez y J. R. Cure. 2008. **Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae).** *Agronomía Colombiana* 26: 417-426.
- Betancourt, C. M., I. B. Scatoni, A. González y J. Franco. 2004. **Ecology, Behaviour and Bionomics. Biology of *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) on seven natural foods.** *Neotropical Entomology* 33:299-306.
- Brown, W. J. y A. Cramer. 1999. **Five new species of *Argyrotaenia* sp. Tortricidae: Archipini) from Mexico and the southwestern United States.** *Journal of Lepidopterists' Society* 53: 114-125.
- Calvo, D. y J. M. Molina. 2008. **Head capsule width and instar determination for larvae of *Streblote panda* Hübner (Lepidoptera: Lasiocampidae).** *Journal Economic Entomology* 1001: 881-886.
- Chapman, R.F. 1998. **The insects structure and function.** Cambridge. University Press, England. pp.374.

- Dyar and Rhinebeck 1890. **The number of moles of lepidopterous larvae.** *Psyche*. 5: 420-422.
- Esperk, T., T. Tammaru y S. Nylin. 2007. **Intraespecific variability in number of larval instars in insects.** *Journal Economic of Entomology* 100: 627-645.
- Fisher, G. C. 1991. **Leafrollers.** En: Ellis, M. A, R. H. Converse, R. N. William y B. Williamson, (Eds.). **Compendium of raspberry and blackberry disease and insects.** APS Press. Minn, USA. pp.100.
- Gilligan, T. M. y M. E. Epstein. 2009. **LBAM ID, Tools for diagnosing light brown apple moth and related western U. S. leafrollers (Tortricidae: Archipini).** Colorado State University, California. Department of food and agriculture, and center for Plant Health Science and Technology, USDA, APHIS, PPQ. <http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/LBAM/references.html>. (Accesada el 03 de agosto de 2010).
- Godfray, H. C. J. 1994. **Parasitoids: Behavioural and evolutionary.** Princeton University Press, New Jersey. pp.355.
- Gruys, P. y F. Vaal. 1984. **Colpoclypeus florus, an eulophid parasite of tortricids in orchards: rearing biology and use in biological control.** *Entomologia Experimentalis et Applicata* 36: 31-35.
- Harrington, S. A., N. H. Hutchinson, E. Dutch, P. J. Lawrence y P. J. Michael. 1993. **An efficient method of mass rearing two introduced parasitoids of noctuids (Lepidoptera: Noctuidae).** *Australian Journal of Entomology* 32: 79-80.
- Joern, A. y Behmer, S. T. 1997. **Importance of dietary nitrogen and carbohydrates to survival, growth, and reproduction in adults of the grasshopper Ageneotettix deorum (Orthoptera: Acrididae).** *Oecologia* 112: 201-208.
- Juárez, G. A. C. 2011. **Estudios preliminares del establecimiento de la cría y ciclo de vida del enrollador de las hojas, Argyrotaenia montezumae (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae).** Tesis de Licenciatura. Facultad

- de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, Mexico. 45 pp.
- Knight, A. L. y B. A. Croft. 1987. **Regional population dynamics and seasonal spatial patterns of *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae) as measured by a pheromone trap grid and larva sampling.** *Environmental Entomology* 16: 59-67.
- Knight, A. L., E. Miliczky. 2003. **Influence of trap colour on the capture of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae), Honeybees, and non-target flies.** *Journal of the Entomological Society of British Columbia* 65-70.
- López, C. I. 2009. **Identificación, dinámica poblacional y parasitoides de dos lepidópteros plaga de zarzamora, *Rubus fruticosus* L., en tres regiones productoras del estado de Michoacán.** Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México 61 pp.
- Meneguim, M. A. y C. L. Hohmann. 2007. ***Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) in citrus in State of Paraná, Brazil.** *Neotropical Entomology* 36: 317-319.
- Mohan, C. y B. Sathiamma. 2007. **Potential for lab rearing of *Apanteles taragamae*, the larval endoparasitoid of coconut pest *Opisina arenosella*, on the rice moth *Corcyra cephalonica*.** *BioControl* 52: 747-752.
- Nava, D. E., P. Fortes, D.G. De Oliveira, F.T. Vieira, T. M. Ibelli, J. V. Guedes C. y J. R. P. Parra. 2006. ***Platynota rostrana* (Walker) (Tortricidae) and *Phidotriza erigens* Raganot (Pylalidae): artificial diet effects on biological cycle.** *Brazilian Journal of Biology* 66: 1037-1043.
- Nofemela, S. R. 2004. **Studies on parasitoids of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), in South Africa.** Submitted in fulfilment of the requirements for the degree of master of science of Rhodes University. 92 pp.
- Oliveira, L., R. Meloy y J. Tavares. 1998. **Response of *Glyptapanteles militaris* (Walsh) (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of the armyworm,**

- Mythimna unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae), to different temperatures.** *Journal of Hymenoptera Research* 7: 268-273.
- Podoler, H, and M. Klein. 1978. **Distance between frontal setae: a new tool for determining caterpillar instars.** *Journal of Natural History.* 12: 341-347.
- Razowski, J. y V. O. Becker. 2000. **Revision of the neotropical *Argyrotaenia Stephens*, with notes on *Diebra Rubinoff & Powell* (Lepidoptera: Tortricidae).** *Acta Zoologica Cracoviensia* 43: 307-332.
- Reinert, J. A. 1975. **Life history of the striped grassworm, *Mocis latipes*.** *Annals of the Entomological Society of America* 68(2): 201-204.
- Renwick, J. A. A. y F. S. Chew. 1994. **Oviposition behavior in Lepidoptera.** *Annual Review. Entomology.* 39: 377-400.
- Rivero, A. 2000. **The relationship between host selection behaviour and offspring in a koinobiont parasitoid.** *Ecological Entomology* 25: 467-472
- Rosas, G. N. M. y J. M. Villegas M. 2008. **Bionomics of a novel species of *Argyrotaenia* (Lepidoptera: Tortricidae) presents in mexican avocado orchards.** *Acta Zoológica Mexicana* 24: 129-137.
- Ruíz, M. C. y P. J. Cervantes M. 2007. **Reporte de una nueva plaga sobre zarzamora (*Rubus sp.*) en Coatepec, Veracruz, México.** XXX Congreso Nacional de Control Biológico-Simposio de IOBC, Mérida Yucatán. Noviembre de 2007. p. 336-339.
- Sánchez, G. J. A., S. Pineda, A. M. Martínez, A. Rebollar-Alviter, A. C. Juárez-Gutiérrez, I. López Cruz, y J. I. Figueroa. 2011. **A new species of *Colpoclypeus Lucchese* (Hymenoptera: Eulophidae) from Mexico.** *Zootaxa* 2830: 64-68.
- Sannino, L., A. Balbiani y B. Espinosa. 1987. **Osservazioni morfobiologiche su alcune specie del genere *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) e rapporti di parasitismo con la coltura del tabacco in Italia.** *Informatore fitopatológico* 11(87): 29-40.
- SAS Institute (2000) SAS/STAT user's guide, release 6.03 ed. SAS Institute. Cary, NC.

- Shafiei, M., A. P. Moczek y H. F. Nijhout. 2001. **Food availability controls the onset of the metamorphosis in the dung beetle *Onthophagus Taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae).** *Physiological Entomology* 26: 173-180.
- Shorey. H. H. 1964. The **biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). III. Response to the oviposition substrate.** *Annals of the entomological society of America*.57: 165-170.
- Slansky, F. y J. Scriber. 1985. **Food consumption and utilization.** En: Kerkut, G. A. y L. I. Gilbert. (Eds.), **Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology.** Pergamon Press, Oxford. (4): 87-163.
- StatSoft, Inc., 2003. STATISTICA (data analysis software system), Version 7. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Trematerra, P. y J. W. Brown. 2004. **Argentine *Argyrotaenia* (Lepidoptera: Tortricidae): Synopsis and descriptions of two new species.** *Zootaxa* 574:1-12.
- Uçkan, F. y E. Ergin. 2003. **Temperature and food Source effects on adult longevity of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae).** *Environmental Entomology* 32: 441-446.
- Uçkan, F. y E. Ergin. 2002. Effect of Host Diet on the Immature Developmental Time, Fecundity, Sex Ratio, Adult Longevity, and Size of *Apanteles galleriae* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology* 31(1):168-171.
- Vickers, R. A. 1997. **Effect of delayed mating on oviposition pattern, Fecundity and fertility in codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae).** *Australian Journal of Entomology* 36: 179-182.
- Walker, R. K. y C. S. Welter. 2004. **Biological control potential of *Apanteles aristoteliae* (Hymenoptera: Braconidae) on populations of *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in California apple orchards.** *Environmental Entomology* 33: 1327-1334.
- Webb, R. E., L. Venables y K. W. Thorpe. 1997. **Improved rearing and release procedures for *Cotesia melanoscela* (Hymenoptera: Braconidae) an early season parasitoid of *Lymantria dispar* (Lep: Lymantridae).** *Entomophaga* 42: 471-481.



- Whitfield, J. B. 1997. **Subfamilia Microgastrinae**. Chapter 29, 33-364 En: Wharton, R. A., P. M. Marsh y M. J. Sharkey. (Eds). **Manual of the new world Genera of the Family Braconidae (Hymenoptera)**. International Society of Hymenopterists. Special publication. pp. 439.
- Yu, D. S., C. V. Achterberg y K. Horstmann. 2005. **World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, biology, morphology and distribution (Braconidae)**. Taxapad 2005 (Scientific names for information management) Interactive catalogue on DVD/CDROM. Vancouver.

**CAPÍTULO 3: Parasitoides asociados a dos especies de enrolladores de hojas de zarzamora (Lepidoptera: Tortricidae), en dos localidades del estado de Michoacán, México.**

### 3.1 RESUMEN

Las larvas de enrolladores de hojas, *Argyrotaenia montezumae* Walsingham y otra especie de tortricídeo desconocida, se alimentan de las hojas tiernas en formación. Su presencia se manifiesta como un enrollamiento en forma de empanada en las hojas, lo cual es típico en estas especies. En este estudio se analiza y compara la abundancia y diversidad de parasitoides asociados a las dos especies de enrolladores en plantaciones de zarzamora variedad Tupi de los municipios de Peribán y Los Reyes, Michoacán. Para ello se realizaron visitas de campo para recolectar brotes vegetativos con signos de enrollamiento, durante el periodo comprendido entre agosto y noviembre de 2010. Los brotes recolectados se individualizaron en cajas Petri de plástico y las larvas contenidas continuaron su desarrollo hasta la obtención de los adultos, tanto de los enrolladores como de los parasitoides. Por la similitud en sus hábitos de alimentación de las dos especies de enrolladores, fue difícil conocer la procedencia de los parasitoides, por lo que el porcentaje de parasitismo se calculó como si hubieran parasitado una sola especie. De la misma manera en este trabajo de investigación se conoció también la frecuencia, estacionalidad, y la condición gregaria o solitaria de las especies de parasitoides que se encontraron. Un total de 1,682 larvas de enrolladores se recolectaron en los dos sitios de estudio (873 de Huatarillo y 809 de El Guayabo), de donde emergieron 994 ejemplares de cuatro especies de parasitoides. Respecto al número de parasitoides, el más abundante fue *Chelonus* sp. (41.6%), seguido por *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (34.2%), *Colpoclypeus michoacanensis* Sánchez y Figueroa (23.1%) y *Bracon* sp. (1%). En relación al número de parasitoides emergidos por localidad, Huatarillo fue la que presentó 1.7 más emergencia de parasitoides que El Guayabo. La especie de parasitoide *A. cercana a aristoteliae* fue la especie que registró el porcentaje de parasitismo más alto y el que se presentó con mayor frecuencia en el periodo de estudio. *Chelonus* sp. y *C. michoacanensis* no se descartan como candidatos para un programa de control biológico de enrolladores de hojas en zarzamora, dado que estas especies tienen la ventaja de ser parasitoides gregarios.

**Palabras Clave:** Control biológico, parasitismo, *Rubus* sp., Braconidae, Eulophidae.

### 3.2. ABSTRACT

Leafroller larvae, *Argyrotaenia montezumae* Walsingham (Lepidoptera: Noctuidae) and another unknown species of tortricid, feed on tender leaves. Their presence is manifested when the leaves are rolled into empanada shape, which is typical in these species. In this study, we analyzed and compared the abundance and diversity of parasitoids associated to two leafroller species in blackberry plantations, c.v. Tupi, of municipalities Los Reyes and Periban, Michoacan. With this purpose, from August to November 2010, we made field trips to collect vegetative buds with rolled leaves. The field-collected buds were individually placed into a plastic Petri dish where the leafroller larvae continue their development until to get either leafrollers adults or parasitoids. Due to the two leafroller species have similar feeding habits it was difficult to determine the procedence of parasitoids, therefore, the percentage parasitism was estimated as if they emerged of a single leafroller species. In addition, we also knew the frequency, seasonality, and the gregarious or solitary condition of parasitoids. A total of 1,682 leafroller larvae were collected in the two localities (873 from Huatarillo and 809 from El Guayabo), of which emerged 994 parasitoids of four species. Respect to the number of parasitoids, the most abundant species was *Chelonus* sp. (41.6%), followed by *Apanteles* near *aristoteliae* (34.2%), *Colpoclypeus michoacanensis* Sánchez y Figueroa (23.1%) and *Bracon* sp. (1%). With respect to the number of parasitoids emerged by locality, Huatarillo showed 1.7 times more parasitoids than El Guayabo. *Apanteles* near *aristoteliae* was the species that recorded the highest percentage of parasitism and occurred with more frequency. Both *Chelonus* sp. and *C. michoacanensis* could also be candidate agents for biological control of leafrollers in blackberry crops due to their gregarious nature.

**Keywords:** biological control, parasitism, *Rubus* sp, Braconidae, Eulophidae.

### 3.3. INTRODUCCIÓN

Los frutos de zarzamora, *Rubus* sp., son apreciados por su alto valor nutritivo, color, aroma y sabor. En México, el cultivo de la zarzamora representa una derrama económica muy importante debido a que genera miles de empleos directos en su producción y comercialización (Sánchez 2008). En los últimos 10 años, la producción de zarzamora, así como el área dedicada a su cultivo, se incrementó exponencialmente. Al respecto en los años 2000, 2004, 2006 y 2007, la producción de este cultivo fue de 13,534; 26,696; 40,841 y 42,000 toneladas, respectivamente. Entre los principales estados productores de zarzamora destacan Michoacán, Guanajuato, Hidalgo y Estado de México (Sánchez 2008). En México, el estado de Michoacán concentra el 97% de la producción total nacional (Sánchez 2008) y se considera, además, como el primer productor y exportador de zarzamora a nivel mundial. En el año 2009, en este estado de la República, se sembraron 7,803.25 hectáreas de zarzamora, de donde se obtuvo una producción de 112,310.13 ton y una captación de divisas de \$ 2, 703,420.180 (SIAP 2009). Actualmente, en zarzamora se registran especies de insectos que se asocian al cultivo, ya sea para alimentarse de alguna parte vegetativa, buscar a sus presas u hospederos (depredadores o parasitoides) y/o que son visitantes ocasionales. Uno de ellos son los enrolladores de hojas, aparentemente del género *Argyrotaenia* (Stephens) (Lepidoptera: Tortricidae), cuyas larvas se alimentan de las hojas tiernas en formación. En campo, su presencia es inconfundible, debido a que se puede apreciar un enrollamiento en forma de empanada en las hojas, lo cual es típico en estas especies.

Actualmente en Michoacán, el combate implementado contra enrolladores de hojas está basado principalmente en insecticidas químicos de amplio espectro. Sin embargo, esta medida de control puede reducir las poblaciones nativas de parasitoides y depredadores, contaminar el medio ambiente y provocar el desarrollo de resistencia de estos insectos. Por esta razón surge la necesidad de buscar alternativas ecológicas, tales como el uso de parasitoides, que sean efectivas contra

estos insectos y que además sean compatibles con las prácticas de manejo integrado de plagas. Al respecto, y para nuestro conocimiento, en el estado de Michoacán sólo existen los trabajos de López (2009) y Juárez *et al.* (2010) en los cuales se menciona la presencia de parasitoides que atacan al enrollador de hojas de zarzamora. No obstante, estos trabajos no proporcionan datos biológicos adicionales de los parasitoides que dieran un indicio para proponerlos o iniciar una posible cría de las especies que tengan mejores atributos. Ante esta situación, en el presente trabajo de investigación se realizaron colectas sistematizadas en el cultivo de zarzamora con el propósito de conocer la frecuencia y estacionalidad de las especies de parasitoides, así como los porcentajes de parasitismos que ejercen sobre larvas de enrolladores.

### **3.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.4.1. Sitio de trabajo.**

Este trabajo se realizó en dos plantaciones de zarzamora variedad Tupi, de los sitios conocidos como rancho Huatarillo (19° 34'07" N, 102° 27' 37" O, 1,350 msnm) y rancho El Guayabo (19° 34'31" N, 102° 27'46" O, 1351 msnm), en los municipios de Peribán y Los Reyes, Michoacán, respectivamente, y con 2 kilómetros de distancia entre ambos. El primer sitio de estudio presentó característica de ser una parcela abandonada y el segundo una parcela con manejo convencional. En estos sitios mencionados, durante el periodo comprendido entre agosto y noviembre de 2010, se recolectaron siete muestras por localidad (aproximadamente una cada 15 días). Cabe aclarar que una muestra representa a un determinado número de brotes vegetativos con signos de enrollamiento que fueron recolectados en una localidad y una fecha específica. Para obtener una muestra, se eligió por localidad y fecha una superficie de 1 ha de cultivo, cuyos surcos se recorrieron en zig zag para obtener brotes vegetativos con larvas. Todos los brotes se colocaron en contenedores de plástico de 26 x 18 x 4.5 cm y se trasladaron al Laboratorio de Entomología (LE) del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) en Morelia, Michoacán.

#### **3.4.2. Acondicionamiento de los brotes.**

En el laboratorio, los brotes traídos de campo se acondicionaron de manera individual en cajas Petri de plástico de 32 x 22 x 6 cm y se mantuvieron en condiciones controladas de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad). Para evitar la deshidratación de los brotes, individualmente se les colocó algodón húmedo en su base cada dos días. El desarrollo de las larvas se siguió hasta la obtención de los adultos, tanto de los enrolladores como de los parasitoides, en caso de que estuvieran parasitadas.

### **3.4.3. Determinación taxonómica y porcentaje de parasitismo.**

En este trabajo se colectaron dos especies de enrolladores de hojas; una de ellas es *A. montezuma*E, la cual fue identificada por el Dr. John W. Brown (Departamento de Agricultura de Estados Unidos, ARS-USDA) (López 2009). La otra especie, aún se encuentra sin determinar su identidad taxonómica. Dada la poca experiencia que se tuvo, durante el desarrollo del presente trabajo, no fue posible diferenciar las dos especies en estado de larva, por lo que los parasitoides emergidos no se pudieron asociar a una especie de enrollador en particular. Sin embargo, con el propósito de conocer la diversidad de parasitoides que atacan a enrolladores en zarzamora, así como datos biológicos adicionales (porcentaje de parasitismo, abundancia y estacionalidad), se consideró en este escrito como si hubieran parasitado una sola especie de enrollador. Por lo tanto, los porcentajes de parasitismo se determinaron de la siguiente manera: en parasitoides solitarios, el parasitismo se determinó con base al número de parasitoides emergidos entre el total de larvas colectadas por muestra. En el caso de los parasitoides gregarios se consideró el número de larvas parasitadas entre el total de larvas recuperadas por muestra.

Todos los parasitoides emergidos se colocaron en frascos con alcohol al 70% y se procesaron para su preservación y montaje. La determinación taxonómica de cada uno de los parasitoides se realizó con los trabajos de Muesebeck (1920), Mason (1974), Whitfield (1997), Shaw (1997) y Sánchez *et al.* (2011). Todos los ejemplares se depositaron en la colección "Himenóptera Parasítica" del IIAF-UMSNH.



### 3.5. RESULTADOS

Se recolectaron un total de 1,682 larvas de diferentes estadios de enrolladores en las siete salidas de campo, 873 se obtuvieron de Huatarillo (24, 104, 299, 156, 39, 136 y 115 larvas/muestra, respectivamente) y 809 de El Guayabo (175, 141, 85, 97, 169, 142 y 0 larvas/muestra, respectivamente). Del total de larvas llevadas a laboratorio, hubo emergencia de 994 ejemplares de cuatro especies de parasitoides. De ellos, el 34.2% correspondieron a *Apanteles* cercana a *aristoteliae*, 1% a *Bracon* sp., 41.6% a *Chelonus* sp. y 23.1% a *Colpoclypeus michoacanensis*. Las dos primeras especies son parasitoides solitarios y las dos últimas son gregarios (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número y especies de parasitoides emergidos por localidad estudiada.

Parasitoides			Huatarillo	El Guayabo	Total (%)
			No. Ejemplares	No. ejemplares	
Familia	Especie	Hábito			
Braconidae	<i>Apanteles</i> cercana a <i>aristoteliae</i>	Solitario	200	140	340 (34.2%)
	<i>Bracon</i> sp.	Solitario	9	1	10 (1.0%)
	<i>Chelonus</i> sp.	Gregario	221	193	414 (41.6%)
Eulophidae	<i>Colpoclypeus michoacanensis</i>	Gregario	195	35	230 (23.1%)
			<b>625</b>	<b>369</b>	<b>994</b>

En relación al número de parasitoides emergidos por localidad, Huatarillo fue la localidad que presentó 1.7 más emergencia de parasitoides que El Guayabo (Cuadro 1). En lo que se refiere al número de larvas parasitadas, en Huatarillo se contabilizaron 249 larvas y en El Guayabo 167, por lo tanto el número de larvas parasitadas fue 1.5 veces mayor en Huatarillo. La presencia de dos especies de parasitoides gregarios imposibilitó que el número total de larvas parasitadas fuera similar al número total de parasitoides emergidos. Por ejemplo, en Huatarillo los 221 individuos de *Chelonus* sp. y 195 de *C. michoacanensis* emergieron de 23 y 17 larvas de enrolladores, respectivamente. En el caso de El Guayabo, los 193 individuos de *Chelonus* sp. y 35 de *C. michoacanensis* emergieron, respectivamente, de 21 y 5 larvas de enrolladores. En términos generales, para las especies gregarias

de *Chelonus* sp. y *C. michoacanensis* la emergencia promedio de individuos por larva parasitada fue de nueve y 10 individuos, respectivamente.

### 3.5.1. Porcentajes de parasitismos ejercidos por especie y sus frecuencias

#### 3.5.1.1. *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (Figura 1)



Figura 1. Vista lateral de *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (Braconidae).

Todas las colectas, excepto la del 20 de agosto y 11 de septiembre, procedentes de Huatarillo mantuvieron un porcentaje de parasitismo superior a lo registrado en cada una de las recolectas procedentes de El Guayabo (Figura 2). De esta manera en Huatarillo, el porcentaje de parasitismo más alto correspondió a 26.9% y el más bajo a 4.2%. En cambio, en El Guayabo el porcentaje de parasitismo más alto fue de 22% y el más bajo de 14.1%. La misma figura ilustra una coincidencia en los picos más altos de parasitismo que tuvieron ambos sitios de estudios, el cual correspondió a la fecha del 28 de agosto de cada sitio. En relación a la frecuencia en que aparecen los parasitoides en el periodo de estudio y en ambos sitios, en todas las recolectas se obtuvieron parasitoides, lo que indica que *A. cercana a aristoteliae* tiene presencia en el cultivo de zarzamora desde agosto a noviembre. Por otro lado, hay que resaltar que este parasitoide resultó ser la especie que ejerció el porcentaje de parasitismo más elevado (26.9%), comparado con los porcentajes de parasitismo más elevado de *Bracon* sp. (2.7%, figura 4), *Chelonus* sp. (6.5%, figura 6) y *C. michoacanensis* (3.8%, figura 8).

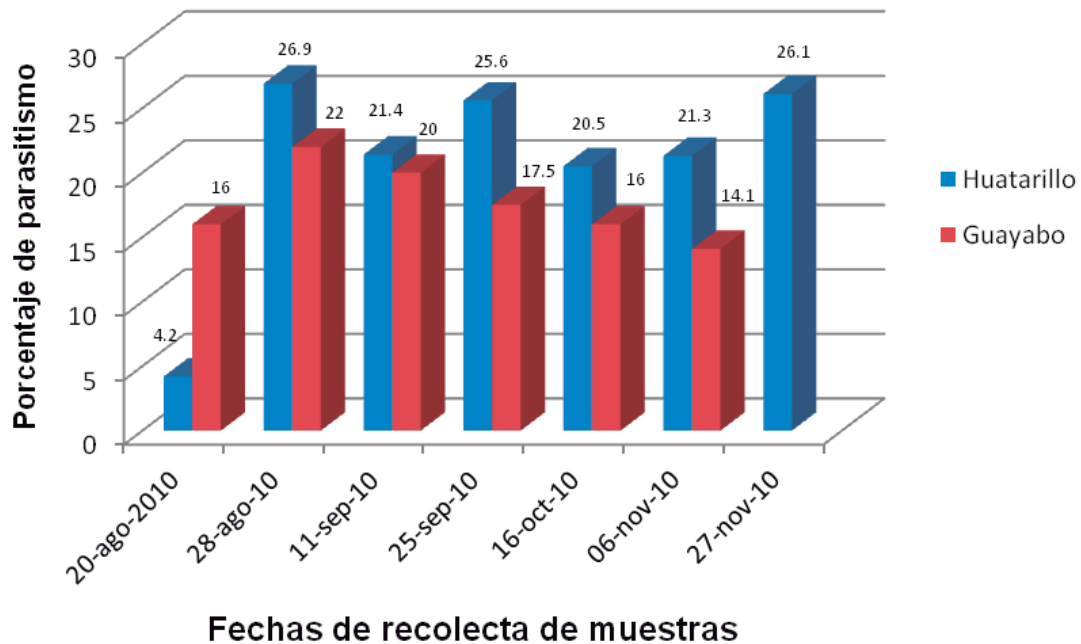


Figura 2. Porcentajes de parasitismos de *Apanteles cercana* a *aristoteliae* sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.

### 3.5.1.2. *Bracon* sp. (Figura 3)



Figura 3. Vista lateral de *Bracon* sp. (Braconidae)

La especie *Bracon* sp. ejerció parasitismo en solo dos muestras de Huatarillo y una del Guayabo (Figura 4). En Huatarillo ocurrió en las muestras del 11 de septiembre (2.7%) y 6 de noviembre (0.7%), mientras que en la localidad de El Guayabo sólo

hubo parasitación en la muestra del mes de agosto (0.7%). De acuerdo a lo anterior se puede decir que no se registró la presencia de *Bracon* sp. en la mayoría de las muestras de los dos sitios estudiados.

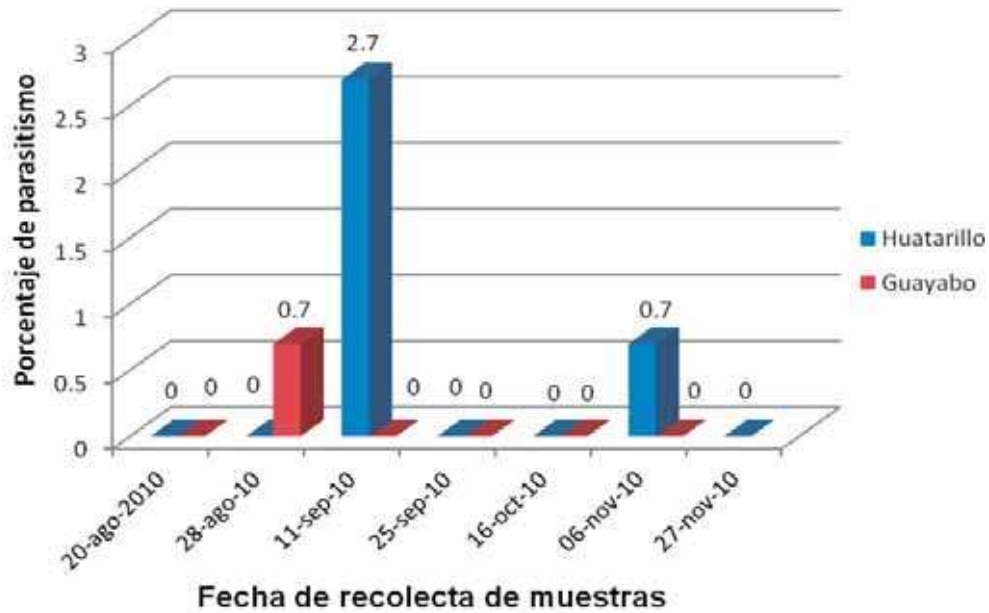


Figura 4. Porcentajes de parasitismos de *Bracon* sp. sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.

### 3.5.1.3. *Chelonus* sp. (Figura 5)



Figura 5. Vista lateral de *Chelonus* sp. (Braconidae).

A diferencia de las otras especies de parasitoides encontradas, *Chelonus* sp. fue la única especie que ejerció el porcentaje de parasitismo más alto en El Guayabo, debido a que las tres especies restantes lo hicieron en Huatarillo. El porcentaje de parasitismo más alto de El Guayabo correspondió a 6.5% de la muestra del día 16 de octubre, mientras que el porcentaje de parasitismo más alto registrado en Huatarillo fue de 4.7% de la muestra del 11 de septiembre (Figura 6). En lo referente a la frecuencia de aparición de *Chelonus* sp., también se observa en la figura 6, que para el caso de El Guayabo no hubo parasitismo en las recolectas del 28 de agosto y del 27 de noviembre, mientras que en Huatarillo no hubo parasitismo en las recolectas del 20 de agosto y 6 de noviembre. Lo que quiere decir que las poblaciones de *Chelonus* sp. están presentes desde septiembre hasta noviembre en las dos localidades, independientemente que no se encuentre en muestras intermedias para una u otra localidad, como es el caso del 6 de noviembre en Huatarillo (Figura 6).

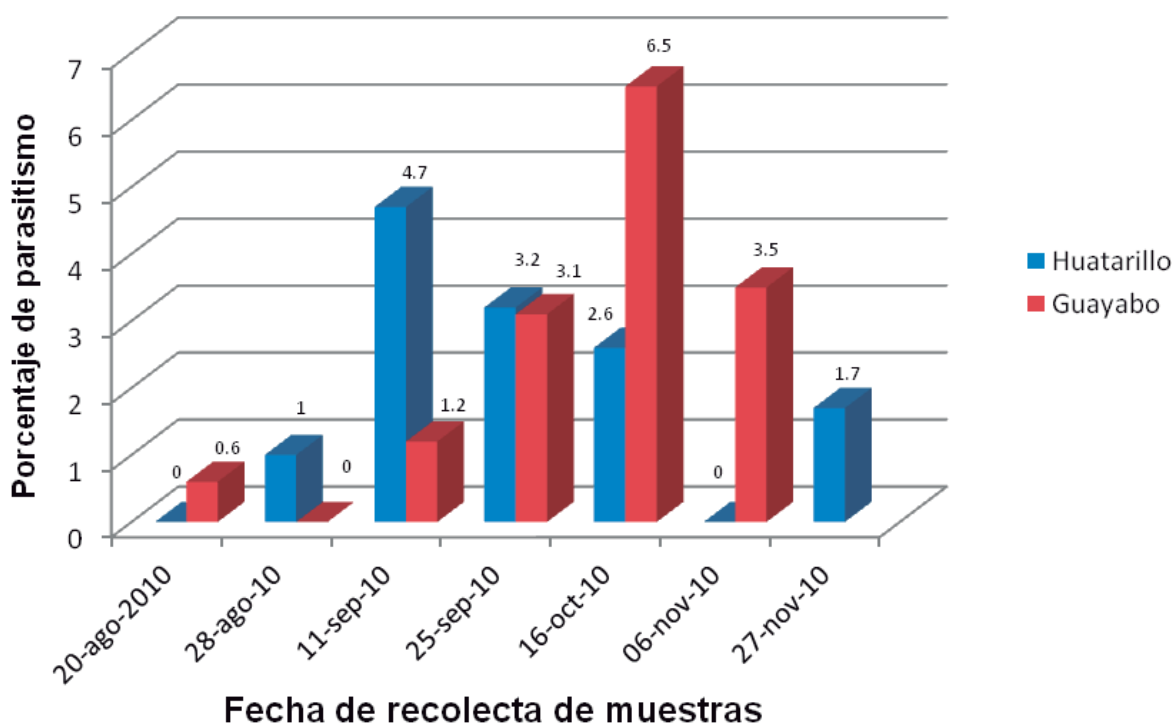


Figura 6. Porcentajes de parasitismos de *Chelonus* sp. sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.

#### 3.5.1.4. *Colpoclypeus michoacanensis* (Figura 7)



Figura 7. Vista lateral de *Colpoclypeus michoacanensis* (Eulophidae).

De acuerdo a la figura 8, en los dos sitios de estudio se encontró a *C. michoacanensis* parasitando a los enrolladores de hojas, pero en Huatarillo se registró la muestra con el porcentaje de parasitismo más alto (3.8%), comparado con el porcentaje más alto de El Guayabo (2.1%). En relación a la frecuencia en que aparecen los parasitoides en el periodo de estudio, en ambos sitios aparecieron en tres ocasiones; en el primer sitio hubo parasitismo en dos muestras del mes de septiembre y una muestra de noviembre, mientras que en el segundo sitio, hubo parasitismo en una muestra de agosto, octubre y noviembre; lo que indica que *C. michoacanensis* tiene presencia en el cultivo de zarzamora desde agosto a noviembre, independientemente de que no se observó parasitismo en muestras intermedias.

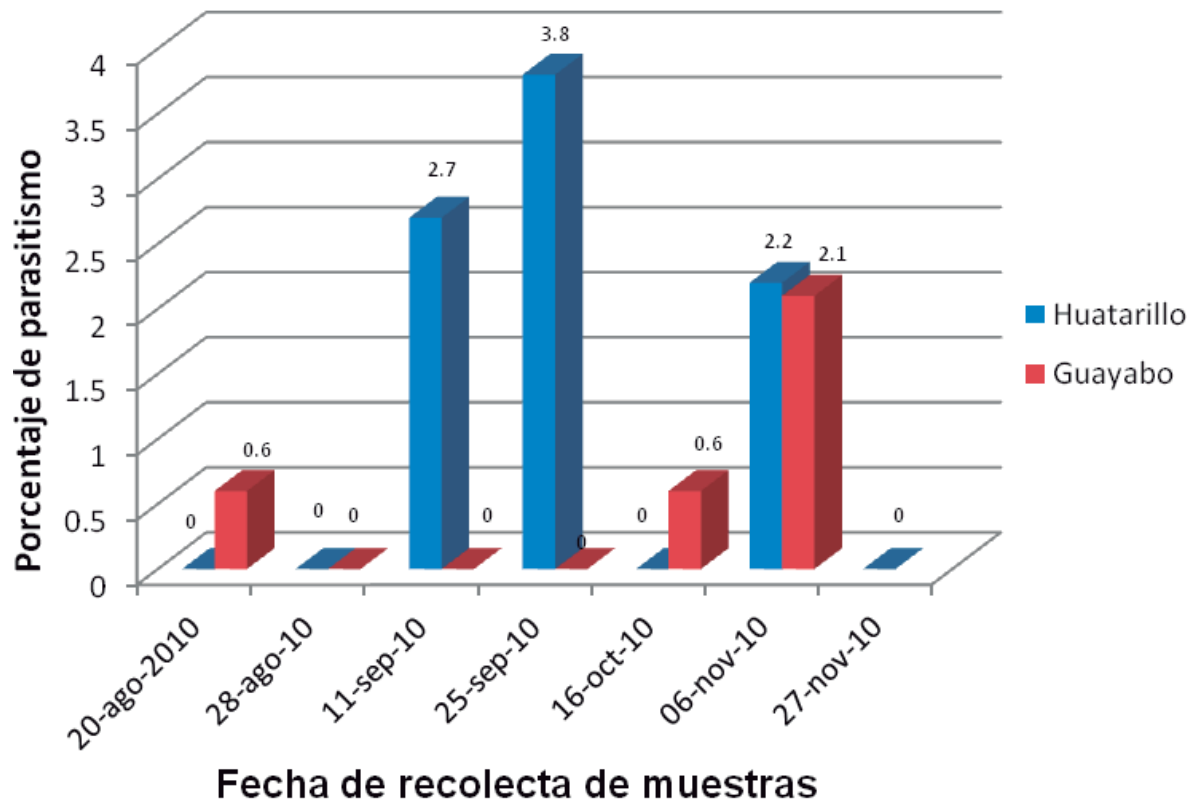


Figura 8. Porcentajes de parasitismos de *C. michoacensis* sobre larvas de enrolladores por fecha de recolecta y sitio de estudio.

### 3.6. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran claramente que el sitio Huatarillo fue 1.7 veces más abundante en el número de parasitoides encontrados comparado con el sitio El Guayabo. La explicación a esta variación se debe a que en Huatarillo se tomó como sitio experimental una parcela abandonada y consecuentemente sin aplicaciones de insecticidas químicas, lo que favorece la presencia de mayor diversidad de insectos (Hagley *et al.* 1991). Prueba de ello, es que en este sitio y en casi todas las muestras, se colectó mayor cantidad de larvas de enrolladores que en El Guayabo. Trabajos similares que tuvieron como propósito conocer especies de parasitoides asociados a tortricidos entre dos tipos de huertos (orgánicos y convencionales), fueron realizados por Li *et al.* (1999) y Walker y Welter (2004). El primer trabajo fue conducido por Li *et al.* (1999) en Columbia Británica, Canadá, con el enrollador de frambuesa, *Choristoneura rosaceana* (Harris), en parcelas abandonadas y comerciales. Estos autores registraron 14 especies de parasitoides (13 himenópteros y 1 díptero) en los dos tipos de huertos, siendo el braconido *Macrocentrus nigradorsis* Viereck el más abundante. Estos mismos autores también resaltan que en parcelas abandonadas encontraron los más altos porcentajes de parasitismos (~ 30%) y la más alta diversidad de parasitoides, similar a lo que ocurrió en el presente estudio. El segundo trabajo fue realizado por Walker y Welter (2004) en huertos orgánicos y convencionales en California, E.U.A., cuyo propósito fue conocer la diversidad de parasitoides que atacaron al enrollador de hojas del manzano, *Argyrotaenia citrana* (Fernald). A diferencia del trabajo de Li *et al.* (1999), Walker y Welter (2004) no aclaran lo que obtuvieron por tipo de huerto; sin embargo, enlistaron las especies de himenópteros *Apanteles aristoteliae*, *Diadegma interruptum pterophorae* (Ashmead), *Exochus nigripalpis subobscurus* (Walsh) y *Glypta variegata* Dasch, así como también al díptero *Actia interrupta* Curran. Estos últimos autores reportaron que de las cinco especies encontradas, *A. aristoteliae* fue la más abundante, tal y como sucedió en nuestro estudio con la especie *Apanteles* cercana a *aristoteliae*, que fue la que parasitó mayor número de larvas de enrolladores. De los dos estudios citados, sólo Li *et al.* (1999) reportaron como



parasitoide gregario a *Macrocentrus nigridorsis* Viereck, cuya emergencia promedio de individuos por larva parasitada fue de casi 36.

Entre otros trabajos que registraron parasitoides de enrolladores, pero no realizan comparación con huertos orgánicos y convencionales, se puede citar a Kido *et al.* (1981). En Soledad y Greenfield, Valle Salinas, California, EUA, estos autores encontraron en el cultivo de la vid, *Vitis vinifera* L., a cuatro especies de parasitoides que atacaron a *A. citrana*. De igual forma, en el estado de Michigan, EUA, Wilkinson *et al.* (2004) registraron en huertos comerciales de manzano a 20 especies de parasitoides que se asociaron a *C. rosaceana*.

La presencia de dos especies de enrolladores de hojas (tortrícidos) con la misma sintomatología de alimentación en un mismo cultivo parece ser común. En nuestro estudio fue difícil separar por especie a los enrolladores, especialmente porque ellos se envuelven con las hojas. En Columbia, Británica, Canada, Cossentine *et al.* (2004) también reportaron dificultad al identificar larvas de los enrolladores *C. rosaceana* y *Pandemis limitata* (Robinson) en huertos con manejo orgánico de manzano. Por lo mismo, estos autores no pudieron asociar las especies de parasitoides que atacaron de forma separada a cada una de estas especies de tortrícidos, similar a como se reporta la presencia de parasitoides en el presente estudio. Estos mismos autores reportaron 30 especies de parasitoides que atacaron a *C. rosaceana* y *P. limitata*; entre las especies más abundantes estuvieron el ichneumónido *Apophua simplicipes* (Cresson), los braconidos *Macrocentrus linearis* (Nees), *Meteorus trachynotus* Viereck, *Apanteles polychrosidis* Viereck, *Apanteles atra* (Ratzeburg), *Microgaster epagoges* Gahan y el eulófido *Colpoclypeus florus* (Walker).

### **3.6.1. *Apanteles cercana a aristoteliae***

Los parasitoides obtenidos de esta especie están ubicados en la subfamilia Microgastrinae de la familia Braconidae. Su determinación taxonómica a nivel de especie aún se encuentra en proceso; sin embargo, con base en el trabajo de Muesebeck (1920), los parasitoides encontrados están muy cercanos a la especie *A. aristoteliae*. El género *Apanteles* Foerster es muy diverso ya que comprende

alrededor de 1000 especies en América (Whitfield 1997). Whitfield (1997) comenta sobre la importancia de revisar este género, ya que existen muchas especies aún sin describir en las áreas neotropicales. Según este mismo autor, la mayoría de las especies que pertenecen a este género son parasitoides solitarios de larvas de microlepidópteros y unas pocas especies son parasitoides gregarios de macrolepidópteros. Al menos en el trabajo de Whitfield (1995) se enlistan 46 especies, entre ellas *A. aristoteliae*, que atacan a microlepidópteros. Por su parte, Walker y Welter (2004) resaltan la importancia de *A. aristoteliae* sobre *A. citrana*, quienes registraron porcentajes de parasitismos de 14.5% en huertos de manzanos en California, E.U.A. En los municipios de Guerrero y Cuauhtemoc, Chihuahua, México, Quintana (2010) reportó en huertos de manzanos a *Apanteles* sp. atacando en un 3% de parasitismo a *C. rosaceana*. Cabe aclarar que en México, esta especie de trotrícido está regulada por la norma 007/FITO 1995.

De la especie de *Apanteles* encontrada en este trabajo de investigación no se conocía información básica (porcentaje de parasitismo y estacionalidad) que dieran un indicio de ser un buen candidato para un programa de control biológico. No obstante, los resultados obtenidos proporcionan la pauta para pensar que esta especie sería la más indicada para iniciar una posible cría, dado que fue la especie que presentó los más altos porcentajes de parasitismos (arriba del 20%), inclusive rebasa los porcentajes de parasitismo (14.5%) de *A. aristoteliae* sobre *A. citrana* en huertos de manzanos en California, E.U.A. (Walker y Welter 2004). En este estudio, los porcentajes de parasitismos obtenidos en la mayoría de las muestras de los dos sitios estuvieron entre 14 a 27%, los cuales son superiores a los porcentajes registrados por el resto de los parasitoides encontrados (*Bracon* sp., *Chelonus* sp. y *C. michoacanensis*). Estas cifras son un indicador de que *A. cercana* a *aristoteliae* sería la especie más indicada para emplearlo en un programa de control biológico de los enrolladores de hojas de zarzamora. Es importante resaltar que *A. cercana* a *aristoteliae* ejerció estos altos porcentajes de parasitismo en dos especies de enrolladores, pero si se estudiara por especie de enrollador seguramente dichos porcentajes se duplicaría. Actualmente, se están realizando colectas de larvas de ambos enrolladores para tener con exactitud los porcentajes de parasitismo

provocados por especie de parasitoide y especie de enrollador, esto debido a que se tiene experiencia de cómo separar las especies de enrolladores en estado de larva (Juárez Gutiérrez, Ana C., datos sin publicar. Estudiante del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo).

En lo que se refiere a la frecuencia y tiempo en que están presentes los parasitoides, es lógico suponer que ellos aparecerán conforme existan hospederos disponibles. *Apanteles* cercana a *aristoteliae* se encontró durante todo el periodo de estudio, no obstante es necesario buscar hospederos alternantes en otros periodos de tiempo. Cossentine *et al.* (2004) mencionaron que las especies de parasitoides son estacionales, ya que en un periodo determinado de tiempo algunas especies aparecen con mayor frecuencia, mientras que en un periodo diferente la abundancia de las mismas especies se puede revertir, lo cual debería de atribuírsele a la disponibilidad de larvas del hospedero principal y a la existencia de hospederos alternantes, puesto que estos últimos podrían incrementar la abundancia de otras especies de parasitoides.

### **3.6.2. *Bracon* sp.**

La determinación taxonómica a nivel de especie de los ejemplares de *Bracon* que se obtuvieron en esta investigación no se realizó, tal como ocurrió en el trabajo de Mullinix *et al.* (2011). La dificultad en su identificación estriba en la diversidad de especies que posee dicho género y por la existencia de muchas especies no descritas en las regiones neotropicales. Según Yu *et al.* (2006) el género *Bracon* está conformado por 17 subgéneros y más de 1726 especies, su distribución es mundial pero su mayor diversidad se encuentra en las regiones paleárticas y neotropicales. Los trabajos taxonómicos del género *Bracon* que pueden ayudar a determinar a nivel de subgénero son los de Abdinbekova (1975), Belokobylskij y Tobias (2000), Fahringer (1928), Telenga (1936) y Tobias (1976, 1986).

En esta investigación, los porcentajes de parasitismos que ejerció *Bracon* sp. en los dos sitios de estudio resultaron ser los más bajos (máximo valor obtenido 2.7 %), comparados con los encontrados en *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (valor

máximo obtenido 26.9%), *Chelonus* sp. (valor máximo obtenido 6.5%) y *C. michoacanensis* (valor máximo registrado 3.8%), lo que indica que *Bracon* sp. no sería un candidato prometedor para iniciar una cría en laboratorio. En los municipios de Guerrero y Cuauhtemoc, Chihuahua, México, Quintana (2010) reportó el 7.38% de parasitismo de *Bracon* sp. sobre *C. rosaceana*. Otros estudios que no miden niveles de parasitismo pero registran a tortrícidos enrolladores de hojas como hospederos de *Bracon* son los trabajos de Marsh (1979), Mullinix *et al.* (2011) y Beyarslan y Çetin (2011).

Respecto al hábito de *Bracon* sp., la especie que se obtuvo en este trabajo de investigación correspondió a ser una especie solitaria. Sin embargo, existen especies de *Bracon* que se reportan como gregarias, como sucedió con *Bracon* sp. reportada por Quintana (2010). Así mismo, Milonas (2005) cita a *Bracon hebetor* (Say) como una importante especie gregaria que ataca al tortrícido *Adoxophyes orana* (Fischer von Röslerstamm) en noreste de Grecia.

### **3.6.3. *Chelonus* sp.**

Las especies que pertenecen al género *Chelonus* Panzer están ubicadas en la subfamilia Cheloninae de la familia Braconidae. Es un género que está subdividido en los subgéneros *Microchelonus* Szépligeti y *Chelonus* (Shaw 1997). La especie encontrada en el presente trabajo se ubica en el subgénero *Microchelonus*, del cual existen aproximadamente 111 especies descritas para Norteamérica y muchas especies sin describir de las regiones neotropicales, lo que puntualiza la dificultad para su identificación (McComb 1968). Las especies de *Microchelonus* atacan principalmente a lepidópteros de las familias Coleophoridae, Cosmopterygidae, Elachistidae, Gelechiidae, Momphidae, Oecophoridae, Tortricidae y Pyralidae, cuyas larvas tienen el hábito de ocultarse para su alimentación (Shenefelt 1973, Tobias 1986, Papp 2004). De los dos subgéneros que se conocen, el trabajo de Shaw (1997) sólo registra a *Microchelonus* asociado a especies de Tortricidae, sin embargo existen especies del subgénero *Chelonus* que parasitan también a tortrícidos, tal es el caso de *Chelonus oculator* Panzer que ataca a *Zeiraphera isertana* F. en Turquía (Tunca y Ozkan 2010).

En lo que se refiere a la especie de *Microchelonus* que se obtuvo en esta investigación, hasta ahora no se ha encontrado algún estudio similar que reporten *Microchelonus* parasitando a tortricídeos enrolladores, no obstante, hay trabajos parecidos que evalúan parasitismos de especies del subgénero *Chelonus*, como es el caso de *Chelonus insularis* Cresson, que ataca al gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Por ejemplo, en el estudio realizado por García *et al.* (2010) se reportan 16% de parasitismo de *C. insularis* sobre *S. frugiperda*.

En esta investigación, *Chelonus* sp. fue la segunda especie más importante, dado que ejerció el segundo valor más alto de parasitismo (6.5%), después de *Apanteles* cercana a *aristoteliae* (que obtuvo 26.9%). Sin embargo, su condición de ser un parasitoide gregario lo exhibe también como un candidato prometedor para iniciar una cría en laboratorio. Se desconoce la razón del por qué se registró el porcentaje de parasitismo más alto en la parcela con manejo convencional, sin embargo pudiera considerarse como un indicio de que *Chelonus* sp. se adapta al manejo convencional que le proporcionan a las parcelas de zarzamora.

#### **3.6.4. *Colpoclypeus michoacanus***

Las avispas parasitoides del género *Colpoclypeus* Lucchese están ubicados taxonómicamente en la subfamilia Eulophinae. La posición del género a un nivel taxonómico superior es controversial debido a que algunos autores lo colocan ya sea en la tribu Eulophini o Cirrospilini, especialmente porque este género posee caracteres intermedios. Previo al año 2010, *Colpoclypeus florus* era la única especie reconocida, pero recientemente Sánchez *et al.* (2011) describieron a *C. michoacanus* como la segunda especie en el género. En lo que se refiere a los porcentajes de parasitismo que ejerció *C. michoacanus* en los dos sitios de estudio, dichos porcentajes realmente resultaron ser muy bajos (0.6 a 3.8%), por lo que pareciera que *C. michoacanus* no sería un candidato idóneo para emplearlo en un programa de control biológico de enrolladores, sin embargo, habría que recordar que el número total de larvas recuperadas por muestra correspondieron a dos especies de enrolladores, lo que posiblemente hizo que el porcentaje de parasitismo se diluyera y no provocara mucho impacto. Por su parte, *C. florus* parece tener hasta un

95% de parasitismo en diversos cultivos con problemas de tortricidos de Europa, donde representa el principal agente de control biológico (Evenhuis 1974, Gruys y Vaal 1984, van Veen y Wijk 1987). Por otro lado, en cuanto al número de individuos que emergen por larva parasitada, *C. michoacanensis* también presenta datos diferentes a lo reportado con *C. florus*. El número de individuos emergidos en *C. florus* es por arriba de los 50 ejemplares en promedio por larva parasitada (Brunner 1996, Dijkstra 1986), en cambio en *C. michoacanensis* dicho número osciló entre 5 a 30 individuos. Este parámetro, aunque menor a lo que presenta *C. florus*, es un atributo deseable en un parasitoide gregario debido a que existe la posibilidad de emerger más de dos hembras en una segunda generación y por consecuencia existirán más individuos de tortricidos parasitados en las próximas generaciones.

En lo que se refiere a la frecuencia y tiempo en que están presentes los parasitoides, es lógico suponer que ellos aparecerán conforme existan hospederos disponibles, como sucede con *C. florus*. Pfannenstiel *et al.* (2010) realizaron en los estados de Washington y Oregon un estudio detallado con *C. florus* sobre la utilización de hospederos alternantes en ausencia de los hospederos potenciales. *Colpoclypeous florus* parasita a sus principales hospederos, *C. rosaceana* y *Pandemis pyrusana* Kearfott (Lepidoptera: Tortricidae) en huertos de manzanos en estado en Washington, EUA, en los meses de abril a julio (Pfannenstiel y Unruh 2004), mientras que en los periodos donde no existen estos hospederos (septiembre a noviembre), este parasitoide utiliza a hospederos alternos como *Ancylis comptana* (Froelich) (Tortricidae), *Xenotemna pallorana* (Robinson) (Tortricidae) y *Syndemis* sp. (Tortricidae), *Filatima* sp. (Gelechiidae) y *Caloptilia burgessiellia* (Zeller) (Gracillariidae), también en los estados de Washington y Oregon (Pfannenstiel *et al.* 2010). Esta situación muestra claramente que *C. florus* parasita a diversos hospederos en un amplio periodo de tiempo, el cual va desde abril a noviembre; en cambio *C. michoacanensis*, en este estudio únicamente se encontró desde agosto a noviembre y únicamente atacando a las dos especies de enrolladores de hojas. Estudios futuros sobre la búsqueda de hospederos alternantes de *C. michoacanensis* en áreas aledañas a los cultivos de zarzamora son necesarios para entender qué hospederos utiliza en periodos donde no existen enrolladores de hojas de zarzamora.

### 3.7. CONCLUSIÓN

En conclusión, de las cuatro especies de parasitoides encontrados solamente *A.* cercana a *aristoteliae* sería la más indicada para iniciar su cría en laboratorio, aunque es necesario realizar estudios adicionales en laboratorio para conocer más detalles de su biología, así como también estudios en campo para investigar su comportamiento y tolerancia a insecticidas. En segundo término, *Chelonus* sp. y *C. michoacanensis* también podrían representar buenos candidatos para un programa de control biológico de enrolladores de hojas en zarzamora, dado que estas especies tiene la ventaja de ser parasitoides gregarios. Finalmente, para conocer con precisión los porcentajes reales de parasitismos que ejercieron las cuatro especies de parasitoides será necesario analizar un segundo trabajo que detalle lo que se obtiene por especie de enrollador, ya que en este estudio los porcentajes de parasitismos se obtuvieron mezclando las dos especies. De la misma manera, también será necesario realizar estudios similares en los meses de marzo-mayo, que es la otra temporada de producción del cultivo de zarzamora, para conocer más sobre el comportamiento de las poblaciones de las cuatro especies encontradas.

### 3.8. AGRADECIMIENTOS

Ornella Barreto Barriga agradece la beca CONACYT (No. Expediente: 239191). A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por financiar los proyectos de investigación: 1) “Identificación, fluctuación poblacional, ciclo y parámetros de vida del gusano telarañero (Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de zarzamora: Identificación de sus parasitoides” y 2) “Revisión taxonómica de especies mexicanas del género *Paroligoneurus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae). Así mismo, a la Fundación Produce Michoacán por el financiamiento del proyecto “Hacia un Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades de la Zarzamora en Michoacán” realizado en el Centro Regional Universitario Centro Occidente (CRUCO) de la Universidad Autónoma Chapingo.



### 3.9. LITERATURA CITADA

- Abdinbekova, A. A. 1975. **Braconids (Hymenoptera, Braconidae) of Azerbaidjan. Akademii Nauk Aserbaid SSR. Inst. Zool. ELM. Baku, 323. (In Russian)**
- Belokobylskij, S. A., Tobias, V.I. 2000. **Braconinae.** 109–192. En: Ler P.A. (ed.), *Opredelitel nasekomykh Dalnego Vostoka Rossii. T. IV. Setchatokryloobraznye, skorpionnitsy, pereponchatokrylye. Ch. 4. [Key to the insects of Russian Far East. Vol. IV. Neuropteroidea, Mecoptera, Hymenoptera. Pt 4.]*, Dalnauka, Vladivostok, 651.
- Beyarslan A. y Ö. Çetin ErdoĖan. 2011. **Subgenus Osculobracon (Hymenoptera: Braconidae: Bracon) of Turkey: New distribution records and keys to subgenera and species.** *Journal of Entomological Research Society* 13(1): 69-76.
- Brunner, J. F. 1996. **Discovery of *Colpoclypeus florus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) in apple orchards of Washington.** *The Pan Pacific Entomologist* 72(1): 5-12.
- Consentine, J., L. Jensen, E. Deglow, A. Bennett, H. Goulet, J. Huber y J. O'Hara. 2004. **The parasitoid complex affecting *Choristoneura rosaceana* and *Pandemis limitata* in organically managed apple orchards.** *Biocontrol* 49: 359-372.
- Dijkstra, L.J. 1986. **Optimal selection and exploitation of hosts in the parasitic wasp *Colpoclypeus florus* (Hym.,Eulophidae).** *Netherlands Journal of Zoology* 36: 177-301.
- Evenhuis, H.H. 1974. ***Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae), an important potential parasite of *Adoxophyes orana* (Lepidoptera: Tortricidae) in apple orchards.** *Mededelingen van Faculteit van de Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 39: 769-775.
- Fahringer, J.,1928, **Opuscula braconologica. Band 1. Palaearktischen Region. Lieferung 7-9. Opuscula braconologica.** Fritz Wagner, Wien, 433-606.
- García, P. F. 2010. **Parasitismo natural sobre el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en el estado**

- de Morelos.** En: Cruz, M. S. G., J. Tello, F., A. Mendoza, E. y A. Morales M (Eds). *Entomología mexicana* 9:99-103.
- Gruys, P. y F. Vaal. 1984. ***Colpoclypeus florus*, an eulophid parasite of tortricids in orchards: rearing biology and use in biological control.** *Entomologia Experimentalis et Applicata* 36: 31-35.
- Hagley, E.A.C. y D.R. Barber. 1991. **Foliage-feeding lepidoptera and their parasites from unmanaged Apple orchards in southern Ontario.** *Proceedings of the Entomological Society of Ontario* 122: 1-7.
- Juárez-Gutiérrez A.C., S. Pineda, A.M. Martínez, J.A. Sánchez-García, Á. Rebollar-Alviter, I. López Cruz, J. M. Coronado Blanco y J.I. Figueroa. 2010. **Parasitoides asociados a un enrollador de hojas del cultivo de zarzamora, en dos localidades del estado de Michoacán.** 3er Encuentro nacional sobre ciencia, tecnología e innovación en México durante la última década: una visión crítica la futuro y 6to. *Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología. Michoacán.*
- Kido, H., D.L. Flaherty, Kennett C.E., N.F. McCalley y D.F. Bosch. 1981. **Seeking the reasons for differences in orange tortrix infestations.** *California Agriculture* 35(7): 27-28.
- López, C. I. 2009. **Identificación, dinámica poblacional y parasitoides de dos lepidópteros plaga de zarzamora, *Rubus fruticosus* L., en tres regiones productoras del estado de Michoacán.** Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 61 pp.
- Li, S. Y., S. M. Fitzpatrick, J.T. Troubridge, M. J. Sharkey, J. R. Barron y J. E. O'Hara. 1999. **Parasitoids reared from the obliquebanded lefroller (Lepidoptera: Tortricidae) infesting raspberries.** *The Canadian Entomologist* 131 (3): 399-404.
- Marsh, P. M., R. W. Carlson. 1979. **Superfamily Ichneumonoidea.** Pages 143-144. En Krombein, K.V., P.D. Hurd, D.R. Smith y B.P. Burks (Eds.) *Catalog of Hymenoptera in America north of Mexico.* Vol. 1. Smithsonian Institution press, Washington, D.C., USA. 1198 pp.

- Mason, W.R.M. 1974. **The *Apanteles* species (Hymenoptera: Braconidae) attacking Lepidoptera in the micro-habitat of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae).** *The Canadian Entomologist* 106: 1087-1102.
- Milonas, P.G. 2005. **Influence of initial egg density and host size on the development of the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* on the different host species.** *BioControl* 50: 415–428.
- Muesebeck, C.F.W. 1920. **A revision of the north american species of Ichneumon-flies belonging to the genus *Apanteles*.** *Proceedings of the United States National Museum* 58(2349): 483-576.
- Mullinix, K. y J. F. Brunner. 2011. **Apple leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) populations and parasitism in an orchard managed with either a grass or alfalfa cover and without insecticides over four growing seasons.** *International Journal of Fruit Science* 99-110.
- Ozkan, C. y H. Tunca. 2005. **A new laboratory host record, *Ephestia cautella* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) for an egg-larval parasitoid, *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae) and a possible rearing method of the parasitoid on the new host.** *International Journal of Zoological Research* 70-73.
- Tunca, H., C. Ozkan y N. Kilincer. 2010. **Temperature dependent development of the egg-larvalparasitoid *Chelonus oculator* on the factitious host, *Ephestia cautella*.** *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 34 (2010) 421-428.
- Papp, J. 2004. **Revision of Szépligeti's *Microchelonus* species described from Hungary (Hymenoptera: Braconidae: Cheloninae).** *Annales Historico Naturales Musei Nationalis Hungarici* 96: 225-259.
- Pfannenstiel, R.S., Unruh T.R y Brunner J.F. 2010. **Overwintering hosts for the exotic leafroller parasitoid, *Colpoclypeus florus*: Implications for habitat manipulation to augment biological control of leafrollers in pome fruits.** *Journal of Insect Science* 10(75): 1-13.
- Pfannenstiel, R.S. y Unruh T.R. 2004. **Conservation of leafroller parasitoids through provision of alternate hosts in near-orchard habitats.** En: Van

- Driesche R. G (Ed.). Proceedings of the International Symposium on Biological Control of Arthropods. USDA, Forest Service. Honolulu, Hawaii . pp. 256-262.
- Quintana, L. E. 2010. **Parasitoides de enrolladores de la hoja (Lepidoptera: Tortricidae) del manzano en Chihuahua.** En: Coria, A. V. M., B. N. Lara, C., G. Orozco, G., H. J. Muñoz, F. y R. Sánchez, M. (eds.). Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Control biológico. Uruapán, Michoacán. pp.145-148.
- Sánchez, R. G. 2008. **La red de valor de la zarzamora. El clúster de Los Reyes, Michoacán, un ejemplo de reconversión competitiva.** Primera edición. Fundación PRODUCE Michoacán, A.C. Morelia, Michoacán, México. pp.116
- Sánchez, G. J.A., S. Pineda, A.M. Martínez, A. Rebollar-Alviter, A.C. Juárez-Gutiérrez, I. López Cruz, and J.I. Figueroa. 2011. **A new species of *Colpoclypeus* Lucchese (Hymenoptera: Eulophidae) from Mexico.** *Zootaxa* 2830: 64-68.
- Shaw, S.R. 1997. **Subfamily Cheloninae.** En: Wharton R.A., Marsh P. M., Sharkey M. J. (Editores). **Manual of the new world genera of the family Braconidae (Hymenoptera), Washington:** International Society of Hymenopterist, Special Publication Number 1.
- Shenefelt, R.D. 1973. **Catalogus Hymenopterorum, Braconidae 6. Cheloninae.** Dr. W. Junk B. V. The Haque. *Hymenopterum Catalogus* 813-936.
- SIAP, 2009. **Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola.** <http://www.siap.gob.mx>. Accesada en 20 de agosto del 2010.
- Telenga, I. A. 1936. **Nasekomye pereponchatokrylie, sem. Braconidae, pedsem. Braconinae, Sigalphinae.** *Fauna SSSR* 5(3):450.
- Tobias, V.I. 1976. **Braconids of the Caucasus (Hymenoptera, Braconidae).** Opred. Faune SSSR. Nauka Press. 110: 1-286. (In Russian)
- Tobias, V.I. 1986. **Opredelitel' nasekomykh Evrope ĭsko ĭ chasti SSSR, Tom III, Pereponchatokrylye, chetvertya chast'.** Nauka, Leningrad, 500. [Keys to the Insects of European Part of the USSR, 3 (4) (Hymenoptera, Braconidae). Science Publ., Inc. 52 LaBombard Road North Lebanon, New Hampshire 03766 USA, 94-149 (English translation)].

- Van Veen, J.C. y M.L.E. Wijk. 1987. **Parasitization strategy in the non-paralyzing ectoparasitoid *Colpoclypeus florus* (Hym., Eulophidae) towards its common summer host *Adoxophyes orana* (Lepidoptera: Tortricidae).** *Journal of Applied Entomology* 104: 402-417.
- Walker, K. R. y S.C. Welter. 2004. **Biological control potential of *Apanteles aristoteliae* (Hymenoptera: Braconidae) on populations of *Argyrotaenia citrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in California apple orchards.** *Environmental Entomology* 33:1327-1334.
- Wilkinson, J., A.L. Douglas y J.G. Larry. 2004. **Parasitism of Obliquebanded Leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) in commercially managed Michigan apple orchards.** *Journal Economic of Entomology* 97(5): 1524-1530.
- Whitfield, J. B. 1995. **Annotated checklist of the Microgastrinae of North America north of Mexico (Hymenoptera: Braconidae).** *Journal of the Kansas Entomological Society*, 68(3): 245-262.
- Whitfield, J. B. 1997. **Subfamily Microgastrinae.** En: Wharton R.A., Marsh P.M. y Sharkey M.J. (Eds). **Manual of the new world genera of the family Braconidae (Hymenoptera).** International Society of Hymenopterists. Special Publication No. 1, pp. 333–364.
- Yu, D. S., van Achterberg, C., Horstmann, K. 2006. **World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, Biology, Morphology and Distribution(Braconidae).** Taxapad 2005 (Scientific Names for Information Management) Interactive Catalogue on DVD/CDROM. Vancouver.