

**IRRADIACIÓN DE LARVAS DE ANASTREPHA LUDENS (LOEW)  
(DIPTERA: TEPHRITIDAE) PARA INHIBIR LA EMERGENCIA DE  
MOSCAS EN LA CRÍA DEL PARASITOIDE DIACHASMIMORPHA  
LONGICAUDATA (ASHMEAD) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)**

**JORGE CANCINO\*, LÍA RUIZ\*, YEUDIEL GÓMEZ\* Y JORGE TOLEDO\*\***

\*Subdirección de Desarrollo de Métodos. Programa Moscamed, SAGARPA. Apartado Postal 368. C. P. 30,700. Tapachula, Chiapas, México. jcancino@prodigy.net.mx

\*\*Departamento de Entomología Tropical. El Colegio de la Frontera Sur. Apartado Postal 36. C. P. 30,700. Tapachula, Chiapas, México. jtoledo@tap-ecosur.edu.mx

Cancino, J., L. Ruiz, Y. Gómez y J. Toledo. 2002. Irradiación de larvas de *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) para inhibir la emergencia de moscas en la cría del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Folia Entomol. Mex.*, 41(2): 195-208.

**RESUMEN.** Larvas de *Anastrepha ludens* de 8 días de edad fueron irradiadas con rayos gamma de Cobalto 60 en un intervalo de dosis de 0.5 a 7.5 Krad en un irradiador Gamacell 220 y posteriormente evaluadas como hospedero en la cría del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata*. Las larvas irradiadas se separaron en dos subgrupos, las del primer subgrupo fueron expuestas a parasitoides y las del segundo no se expusieron a parasitación. Los resultados indicaron que con 1.5 Krad se inhibió la emergencia de moscas y los parasitoides emergidos de esas larvas tratadas no presentaron una reducción en sus parámetros biológicos. Los parasitoides emergidos de las larvas irradiadas tuvieron valores de supervivencia y fecundidad similares a la que se observó en parasitoides provenientes de larvas sin irradiar. En cambio, las moscas emergidas de larvas irradiadas con 0.5 y 1.0 Krad tuvieron menor fertilidad y supervivencia comparadas con las moscas provenientes de larvas no irradiadas. En la segunda etapa, se irradiaron con 2.0, 3.0 y 4.0 Krad, volúmenes de 1 litro de larva y posteriormente se evaluaron en la cría del parasitoide, en donde hubo 4.0% y 0.7% de emergencia de moscas a partir de larvas tratadas con 2.0 y 3.0 Krad, respectivamente; a 4.0 Krad se inhibió totalmente la emergencia de moscas. En la fase confirmatoria, utilizando un irradiador panorámico modelo JS-7400 con fuente de Cobalto 60, se irradiaron volúmenes de 2.5 millones de larvas en dos tiempos, el primero fue con una dosis promedio de 2.0 Krad, y el segundo hasta alcanzar 4.5 Krad. En esta etapa, para inhibir la emergencia de moscas fue necesario aplicar una dosis igual o superior a 4.5 Krad, con lo que se determinó que con esta dosis se puede irradiar larvas de *A. ludens* y utilizarla como hospedero para la cría de *D. longicaudata* sin que su calidad se vea afectada.

**PALABRAS CLAVES:** Control biológico, *Diachasmimorpha longicaudata*, irradiación, cría masiva, hospedero.

Cancino, J., L. Ruiz, Y. Gómez and J. Toledo. 2002. Irradiation of *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) larvae to inhibit the emergence of flies in the mass rearing of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Folia Entomol. Mex.*, 41(2): 195-208.

**ABSTRACT.** In this research *Anastrepha ludens* 8-d old larvae were irradiated with Cobalt 60 gamma rays before being offered as host of parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*. Doses used ranged from 0.5 to 7.5 Krad. The irradiated larvae were separated in two subgroups; one subgroup was exposed to *D. longicaudata*, while the second subgroup of larvae was left as control without exposition to the parasitoids. A dose of 1.5 Krad inhibited *A. ludens* emergence and *D. longicaudata* emerged from these treated larvae did not show any reduction in their fertility and fecundity as compared with parasitoids emerged

from non irradiated larvae. Doses of 0.5 and 1.0 Krad affected the fertility and survival of *A. ludens* emerged from treated larvae. In a second phase, larvae were irradiated at doses of 2.0, 3.0 and 4.0 Krad per liter of larvae. Only 4.0% and 0.7% of adults emerged from larvae treated at 2.0 and 3.0 Krad, respectively. The dose of 4.0 Krad inhibited adult emergence totally. A confirmatory phase was carried out exposing to radiation 2.5 millions of *A. ludens* larvae at two times, during the first time larvae were irradiated at average dose of 2.0 Krad, and in the second time until a dose of 4.5 Krad. The dose of 4.5 inhibited totally the flies emergence. This dose was determined as optimal for irradiating *A. ludens* larvae without damaging the quality of the parasitoid *D. longicaudata*.

KEY WORDS: Biological control, *Diachasmimorpha longicaudata*, irradiation, mass rearing, host.

Las moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) representan una seria limitación para el desarrollo de la industria frutícola, por lo que en México se ha establecido un programa de manejo con un enfoque integral. Como parte de las actividades de control se realizan liberaciones de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), que por su amplio rango de hospederos, su efectividad y por su adaptabilidad al proceso de cría masiva es el parasitoide más utilizado en los programas de control biológico (Cancino *et al.*, 1992; Sivinski *et al.*, 1996).

En algunos estados de la Unión Americana como Hawai y Florida, y en algunos países Latinoamericanos, se ha empleado por más de 40 años en el control de la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wied.) y de otras especies de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Sivinski *et al.*, 1996; Cancino, 1997; Ovruski, 1997). En donde se ha logrado establecer en las zonas de liberación, lo cual ha sido comprobado mediante la recuperación de larvas parasitadas de *C. capitata*, *Toxotrypana curvicauda* (Gerstaecker) y *Anastrepha* spp. (Wharton *et al.*, 1981; Jirón y Mexzon, 1988; Aluja *et al.*, 1990; Eskafi, 1990; Baranowski *et al.*, 1993).

La cría masiva de este parasitoide data de la década de los 50's (Marucci y Clancy, 1950). Pero a partir de los 80's, con el impulso que empezó a tener el control biológico, cobró mayor interés por hacerla más eficiente. En México, la cría de este parasitoide se ha desarrollado exitosamente utilizando larvas de *A. ludens* como hospedero. El desarrollo y optimiza-

ción de las técnicas de cría masiva han conllevado a la producción de varios millones de parasitoides por semana (Cancino, 1997), lo que ha demandado desarrollar técnicas de liberación a gran escala (Sivinski *et al.*, 1996; Montoya *et al.*, 2000). Debido a que en un proceso de cría normal es difícil obtener el 100% de parasitismo, entonces la presencia sincrónica por la emergencia de parasitoides y de moscas adultas provenientes de aquellas larvas que no fueron parasitadas ocasionan problemas en la liberación en campo (Wong y Ramadan, 1992). Por lo que existe la prioridad de desarrollar una estrategia de liberación solamente de parasitoides. A pesar de que se ha comprobado que la radiación inhibe la emergencia de adultos de *A. suspensa* (Wied.) utilizada en estado larvario como hospedero en la cría masiva, y la calidad del parasitoide no se ve afectada (Sivinski y Smittle, 1990). Pero como la respuesta del hospedero hacia la radiación depende de la edad y de la especie (Benschoter y Telich, 1964; Bustos *et al.*, 1992), y como cada especie de mosca de la fruta tiene diferente ciclo biológico (Liedo y Carey, 1996), surgió la necesidad de conocer la respuesta fisiológica de las larvas de *A. ludens* a la radiación.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue determinar la dosis efectiva para inhibir la emergencia de moscas al irradiar larvas de *A. ludens* de 8 días de edad, utilizadas como hospedero en el proceso de cría del parasitoide *D. longicaudata*, sin afectar su fecundidad y supervivencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material biológico y condiciones ambientales:** Las larvas de *A. ludens* se obtuvieron de la planta de cría del Programa Moscafruit (SAGARPA-IICA), en donde se desarrollaron en dieta larvaria artificial de acuerdo al proceso y condiciones ambientales establecidas para su cría (Domínguez *et al.*, 2000). Los parasitoides fueron seleccionados del pie de cría del laboratorio del Departamento de Control Biológico dependiente de la Subdirección de Desarrollo de Métodos, Programa Moscamed (SAGARPA), en Metapa, Chiapas, México. Las condiciones ambientales que prevalecieron durante el desarrollo del estudio fueron de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa y un fotoperíodo de 12: 12 h L: O.

**Parasitismo en larvas irradiadas por *D. longicaudata*:** Larvas de 8 días de edad de *A. ludens* fueron irradiadas con rayos gamma de Cobalto 60 en un irradiador Gammacell 220 a dosis de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 y 7.5 Kilorads (Krad), y expuestas al parasitoide *D. longicaudata*, manejando como hospedero testigo larvas no irradiadas.

El experimento consistió en un diseño con distribución completamente al azar. Con un total de 9 tratamientos incluyendo el testigo y cada uno con 30 repeticiones. En cada repetición se emplearon 200 larvas, las cuales fueron separadas en subgrupos de 100. Las larvas de un subgrupo se mezclaron con dieta larvaria para que continuaran alimentándose mientras estuvieron expuestas a parasitación. Las otras 100 larvas del segundo subgrupo, se mezclaron con dieta larvaria pero no se expusieron a los parasitoides.

Como unidades de parasitación se utilizaron las tapas inferiores de cajas de Petri (100 x 15 mm), con una cubierta de tela organza retenida en un aro circular de plástico cerrada a presión. En el interior de estas unidades se colocaron las

larvas mezcladas con dieta larvaria artificial para su desarrollo. Se confinaron 35 parejas de parasitoides en cada jaula denominada "tipo Hawai", hecha de madera y cubierta con tela mosquitera de plástico (Malla 18), cuyas medidas son de 30 x 30 x 30 cm. Cada jaula posee en la parte inferior una base de madera con una perforación en forma elíptica (20 x 10 cm) en donde se colocaron las unidades de parasitación. El tiempo de exposición de las larvas fue de 6 h en un ambiente de  $21^\circ\text{C}$ . Después de esta actividad, las larvas con la dieta se depositaron en recipientes de plástico (12.5 x 13 cm) por 2 días para que finalizaran su desarrollo larvario.

Posteriormente, las larvas se colocaron en recipientes con vermiculita húmeda como sustrato de pupación, en donde permanecieron durante 15 días aproximadamente a  $26^\circ\text{C}$ . Por último se registró el total y la proporción sexual de parasitoides y/o moscas emergidos en cada tratamiento.

En el caso de las larvas que fueron irradiadas y no se expusieron a los parasitoides, se manejaron de la misma forma, pero solamente se registró el total de moscas emergidas en cada tratamiento.

Con una muestra de los insectos emergidos se determinó la supervivencia y fecundidad por tratamiento. En el caso de parasitoides, de cada tratamiento se seleccionaron tres muestras de 30 hembras y 30 machos, los cuales fueron confinados en jaulas Hawai. Se midió la mortalidad diaria contabilizando el número de insectos muertos (hembras y machos) durante 30 días. La fecundidad de las hembras se midió por medio de la exposición de 400 larvas de *A. ludens* en unidades de parasitación tipo caja de Petri durante 6 h. Las exposiciones se hicieron a partir de que los insectos tenían 5 días de edad, y continuaron hasta los 15 días. Las larvas que se expusieron fueron sujetas al mismo manejo antes descrito, hasta la emergencia de los parasi-

toides.

Para el caso de las moscas adultas de los tratamientos en donde hubo emergencia a partir de larvas irradiadas, se separaron por sexo después de 24 h de emergidas. De cada tratamiento se seleccionaron 3 muestras de 10 hembras y 10 machos y se confinaron en jaulas de vidrio de 27 dm<sup>3</sup> con la finalidad de permitir su apareamiento y determinar el número de huevos ovipositados (fecundidad) y la viabilidad de los mismos (fertilidad). Los adultos fueron alimentados con una mezcla de levadura hidrolizada enzimáticamente (ICN, Biomedical, Inc.) + sacarosa (1:3) en estado sólido. El alimento se colocó sobre tapas de cajas de Petri, mientras que el agua se les proporcionó en tubos de ensaye cubiertos con torundas de algodón. Después de que los adultos se aparearon (12 días después de emergidos) se colgó de la parte superior de cada jaula como dispositivo de oviposición, una esfera de agar (3 l de agua: 80 g de agar) de 2 cm de diámetro, teñidas de color verde con colorante vegetal y envueltas en parafilm (Boller, 1968; Freeman y Carey, 1990). Las esferas fueron remplazadas cada 24 h. Las que se retiraban de las jaulas fueron disectadas para extraer y cuantificar el número de huevos ovipositados por día, actividad que se realizó durante 5 días. De los huevos extraídos, diariamente se seleccionó una muestra de 100 y se colocaron en hilera sobre un recorte de tela negra húmeda dentro de una caja Petri. Para conservar la humedad de la tela, se colocó abajo de ésta una esponja con agua a punto de saturación. Las muestras se incubaron a 26 °C y 70% de H. R., después de 6 días se cuantificó el número de larvas eclosionadas, de donde se obtuvo el porcentaje de fertilidad.

El registro de la mortalidad de las moscas obtenidas de los tratamientos de 0.5 y 1.0 Krad, así como del testigo se hizo durante 16 días.

#### **Irradiación de larvas a mayor volumen para**

**la cría del parasitoide:** Volúmenes de 1 litro de larva (~32,000 larvas) de *A. ludens* de 8 días de edad fueron irradiados a 2.0, 3.0 y 4.0 Krad utilizando el irradiador Gammacell 220. Se seleccionaron estas dosis debido a que no hubo emergencia de moscas y permitió el desarrollo del parasitoide en el estudio anterior. El experimento consistió en un diseño con distribución completamente al azar. Con un total de 4 tratamientos incluyendo el testigo y cada uno con 15 repeticiones. Por cada tratamiento y repetición se seleccionaron muestras de 100 larvas y se expusieron a parasitación. El proceso de cría y el manejo del material biológico fue similar al descrito previamente. En esta fase se evaluó la emergencia y la proporción sexual de parasitoides emergidos.

**Fase confirmatoria de irradiación del hospedero para la cría masiva de parasitoides:** En este caso el estudio consistió de 10 repeticiones, cada repetición fue un lote de larva procedente de una fecha de siembra diferente. Las evaluaciones se realizaron con una distribución completamente al azar.

El proceso de irradiación se hizo en un irradiador panorámico tipo industrial modelo JS-7400 con fuente de rayos gamma de Co60, cuya actividad al 1 de junio de 1994 fue de 18,500 curies. La larva se colocó en botellones de plástico de 25 cm de alto x 15 cm de diámetro, con capacidad para 5 litros de larva. Para ser irradiados se acomodaron en dos filas de dos niveles cada una y cuatro botellones por nivel. Una fila, con cuatro botellones, se colocó sobre la base de la mesa de irradiación sosteniendo a los otros cuatro botellones. En la parte posterior se colocaron los botellones de la otra fila con una distribución similar a la anterior, en total fueron 16 botellones (80 litros de larva, aproximadamente 2.5 millones de larvas). Las filas de botellones fueron colocadas a una distancia de 30 y 50 cm, respectivamente de la fuente de Co-

balto 60.

El proceso de irradiación se hizo en dos tiempos, con el objetivo de alcanzar una dosis acumulativa de radiación lo más homogénea posible. En el primer tiempo se aplicó una dosis media de 2.0 Krad y al concluir el segundo tiempo se acumuló una dosis promedio de 4.5 Krad. Para ello se cambió la distribución de los botellones, al concluir el primer tiempo de irradiación, se les dio un giro de 180° a los botellones, quedando la parte frontal de cada uno como parte posterior y viceversa. Además se cambió la posición de los botellones, los que estaban arriba en la línea posterior hacia la parte de abajo en la línea anterior y viceversa, y los botellones de arriba en la línea anterior hacia abajo en la línea posterior y viceversa. La verificación de la dosis promedio recibida se determinó colocando en el interior de cada botellón, un dosímetro con solución Fricke (Zavala *et al.*, 1985). Cuando finalizó el primer tiempo, al azar se retiraron ocho dosímetros a la vez que se tomó una muestra de 100 larvas por botellón, y al finalizar el segundo tiempo se retiraron los otros dosímetros y a la vez que también se tomó una muestra de 100 larvas por botellón. Los dosímetros fueron leídos en un espectrofotómetro marca Perking Elmer modelo 550 a una longitud de onda de 305 nm, con el objeto de verificar la dosis absorbida por muestra.

Las muestras de 100 larvas irradiadas fueron sometidas a parasitación en jaulas Hawai, en dos exposiciones secuenciales de 6 h cada una. El material parasitado se manejó hasta la emergencia de los adultos como en los casos anteriores. Al final se obtuvo el porcentaje de emergencia y la proporción sexual, tanto de moscas como de parasitoides.

**Análisis estadístico:** Los valores de los parámetros observados expresados en porcentajes de emergencia de parasitoides y de moscas fueron analizados completamente al azar (Cochran y

Cox, 1983). La comparación de promedios en cada parámetro estudiado se realizaron utilizando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (SAS Institute, 1992). Para determinar la supervivencia (lx) y fecundidad (mx) de la progenie de parasitoides y de las moscas provenientes de larvas irradiadas se utilizó un análisis demográfico (Carey, 1993).

## RESULTADOS

**Parasitismo en larvas irradiadas por *D. longicaudata*:** Los datos correspondientes a la emergencia total de parasitoides y de moscas se reportan en el Cuadro 1. Aunque el porcentaje de emergencia fue menor en el testigo y presentaron ligeras variaciones, estas no fueron significativas ( $F = 31.61$ ;  $gl = 8, 261$ ;  $P > 0.05$ ). En las larvas que fueron irradiadas en el intervalo de dosis de 1.5 a 7.5 Krad y se expusieron a parasitación solamente hubo emergencia de parasitoides.

La emergencia de moscas, tanto en larvas expuestas como no a parasitación, disminuyó a medida que las larvas se irradiaron con mayores dosis. En larvas irradiadas con 0.5 y 1.0 Krad hubo 13.8% y 3.8% de emergencia de moscas, respectivamente; mientras que en el testigo fue de 16.6%, las diferencias que se observaron sí fueron significativas ( $F = 52.64$ ;  $gl = 2, 87$ ;  $P < 0.05$ ) (Cuadro 1). Cuando las larvas se trataron con 1.5 Krad, se obtuvo 61.4% de emergencia exclusivamente de parasitoides.

La tendencia observada en las larvas irradiadas que no fueron expuestas a parasitación fue muy similar, en las cuales se inhibió totalmente la emergencia de moscas cuando se irradiaron a 1.5 Krad. Las larvas que se manejaron como testigo registraron 76.6% de emergencia de moscas, mientras que cuando se irradiaron con 0.5 Krad ocurrió 73.3% de emergencia de moscas, esa pequeña diferencia que se registró no fue significativa ( $P > 0.05$ ). Con la dosis de 1.0

**Cuadro 1**

Emergencia de adultos de *Diachasmimorpha longicaudata* y *Anastrepha ludens* a partir de larvas irradiadas con diferentes dosis de Cobalto 60 y expuestas a parasitación. (N = 30 repeticiones/tratamiento).

| Tratamientos (Krad) | Emergencia de parasitoides y moscas a partir de larvas irradiadas y expuestas a parasitación (% ± E. S.) |              | Emergencia de moscas a partir de larvas irradiadas sin exponerse a parasitación (% ± E. S.) |
|---------------------|--|--------------|---|
|                     | Parasitoides   | Moscas       |   |
| Testigo             | 59.6 ± 3.7 a   | 16.6 ± 2.6 a | 76.6 ± 3.4 a  |
| 0.5                 | 65.6 ± 3.2 a   | 13.8 ± 2.3 a | 73.3 ± 4.8 a  |
| 1.0                 | 65.2 ± 3.7 a   | 3.8 ± 0.9 b  | 26.3 ± 3.7 b  |
| 1.5                 | 61.4 ± 3.8 a   | 0            | 0   |
| 2.0                 | 63.7 ± 3.8 a   | 0            | 0   |
| 3.0                 | 64.9 ± 4.6 a   | 0            | 0   |
| 4.0                 | 66.1 ± 3.1 a   | 0            | 0   |
| 5.0                 | 60.1 ± 3.9 a   | 0            | 0   |
| 7.5                 | 62.6 ± 3.5 a   | 0            | 0   |

Los valores promedios en cada columna seguidos por una misma letra no son diferentes significativamente (Prueba de Tukey,  $P < 0.05$ ).

Krad, hubo 26.3% de emergencia de moscas, la diferencia que hubo con respecto al testigo y al tratamiento con 0.5 Krad sí fueron significativos ( $P < 0.05$ ). En el intervalo de dosis de 1.5 a 7.5 Krad no hubo emergencia de moscas (Cuadro 1).

Con respecto a la supervivencia de los parasitoides adultos obtenidos de larvas irradiadas presentaron un decremento paulatino, aunque la mortalidad fue más notable entre los 6 y 16 días de edad (Figura 1). A los 20 días de edad, el porcentaje de parasitoides vivos obtenidos de los tratamientos fue menor con respecto al testigo. Sin embargo, no se registró una relación directa entre la disminución de la supervivencia con el incremento de la dosis de radiación.

La fecundidad promedio de los parasitoides progeñe de los diferentes tratamientos no presentaron diferencias notables. Los valores más

altos se registraron en los parasitoides obtenidos de larvas irradiadas con 1.0 y 5.0 Krad. La fecundidad en las hembras del testigo fue muy similar a la observada en hembras provenientes de larvas hospederas tratadas con diferentes dosis de radiación (Figura 2).

Solamente hubo emergencia de moscas en los tratamientos con dosis de 0.5 y 1.0 Krad. Las cuales manifestaron una menor supervivencia y fertilidad de los huevos a medida que se incrementó la dosis. El daño más drástico se observó en los adultos emergidos a partir de larva tratada con 1.0 Krad (Cuadro 2). En donde hubo 90% de mortalidad de adultos a los 16 días de edad y además no ovipositaron. En cambio, los adultos que correspondieron al testigo registraron una mortalidad a los 16 días de edad de 20% y la eclosión de los huevos fue de 79.2 ± 6.1% (Cuadro 2 y Figura 3).

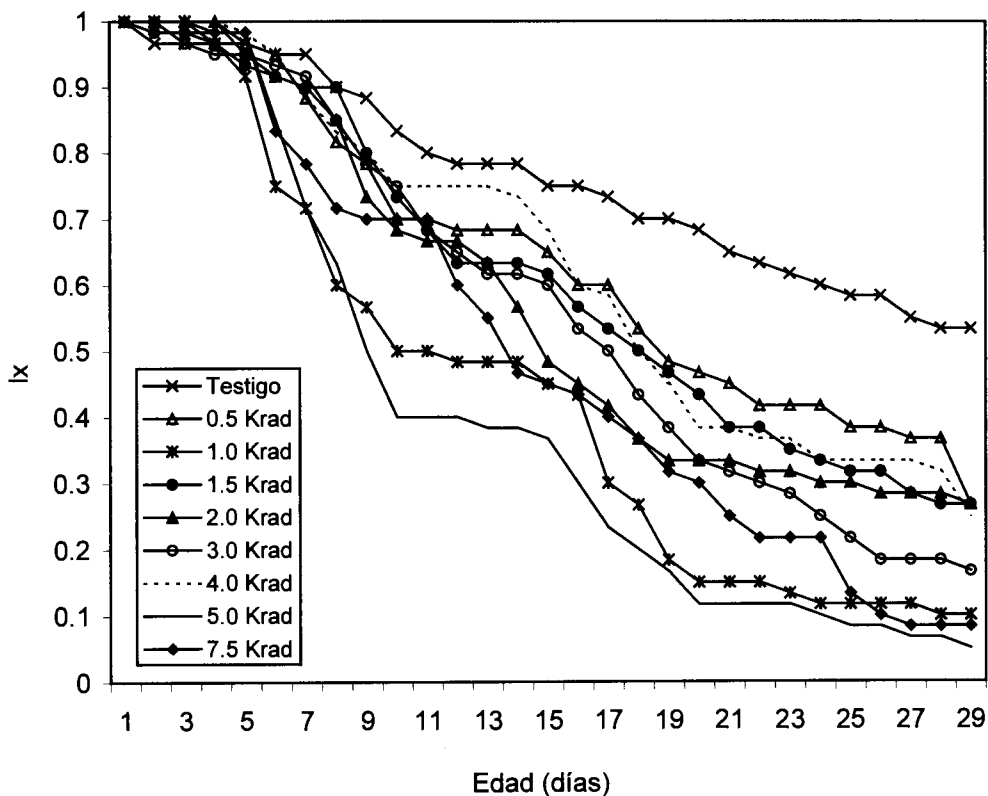


Figura 1. Supervivencia ( $lx$ ) de la progenie de *Diachasmimorpha longicaudata* emergidos de larvas de *Anastrepha ludens* irradiadas a diferentes dosis con Cobalto 60.

### Cuadro 2

Mortalidad y fertilidad de adultos de *Anastrepha ludens* provenientes de larvas irradiadas con 0.5 y 1.0 Krad con Cobalto 60. ( $N = 30$  hembras y 30 machos/tratamiento).

| Tratamiento<br>(Krad) | Mortalidad a los 15 días<br>(%) | Eclosión<br>(% $\pm$ E. S.) |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Testigo               | 20.0                            | 79.2 $\pm$ 6.1 a            |
| 0.5                   | 55.0                            | 46.2 $\pm$ 15.0 b           |
| 1.0                   | 90.0                            | 0                           |

Los valores promedios seguidos por una misma letra no son diferentes significativamente ( $P < 0.05$ ).

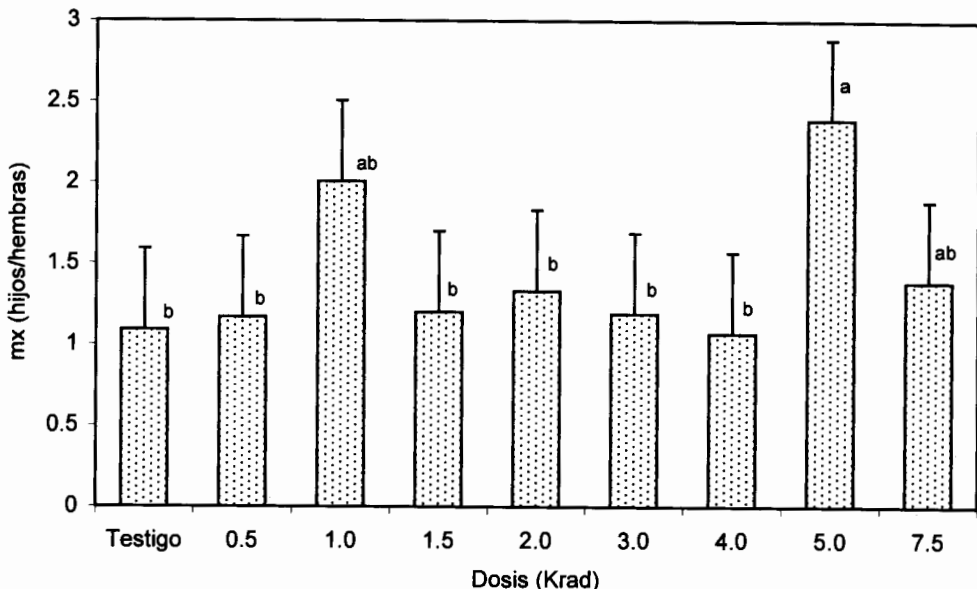


Figura 2. Fecundidad (mx= número de hijos/hembra) de adultos del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* emergidos de larvas de *Anastrepha ludens* irradiadas a diferentes dosis con Cobalto 60.

### Cuadro 3

Emergencia de adultos de *Diachasmimorpha longicaudata* y *Anastrepha ludens* a partir de larvas irradiadas en volúmenes de un litro con tres diferentes dosis de Cobalto 60 y expuestas a parasitación. (N = 15 repeticiones/tratamiento).

| Tratamientos<br>(Krad) | Parasitoides<br>(% ± E. S.) | Moscas<br>(% ± E. S.) |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Testigo                | 55.5 ± 4.1 a                | 17.3 ± 3.9 a          |
| 2.0                    | 57.8 ± 3.9 a                | 4.0 ± 1.5 b           |
| 3.0                    | 59.9 ± 4.2 a                | 0.7 ± 0.3 c           |
| 4.0                    | 58.6 ± 4.9 a                | 0                     |

Los valores promedios en cada columna seguidos por una misma letra no son diferentes significativamente ( $P \leq 0.05$ ).

**Irradiación de larvas a mayor volumen para la cría del parasitoide:** La emergencia de parasitoides a partir de larvas irradiadas con 2.0, 3.0 y 4.0 Krad fluctuó entre 57.8 a 59.9%, las pequeñas diferencias que se registraron no fueron significativas ( $P > 0.05$ ). En el tratamiento testigo se obtuvo 55.5% de emergencia, que correspondió al valor más bajo con respecto a los ob-

servados cuando la larva fue irradiada. Pero de acuerdo al análisis estadístico esta diferencia no fue significativa ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 3).

Con respecto a las moscas, hubo una emergencia de 17.3% en el testigo. Cuando las larvas se irradiaron con 2.0 Krad se registró 4.0%, y a 3.0 Krad fue de 0.7%. Solamente cuando las larvas fueron tratadas con la dosis de 4.0 Krad



se inhibió totalmente la emergencia de adultos. En este caso las diferencias que se observaron sí fueron significativas ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 3).

**Fase confirmatoria de irradiación del hospedero para la cría de parasitoides a gran escala:** En los resultados de la fase confirmatoria, cuando se irradiaron grandes volúmenes de larva para utilizarse en la cría del parasitoide a gran escala, con la aplicación del primer tiempo se alcanzó una dosis que fluctuó entre 1.5 a valores cercanos a 4.0 Krad, esta heterogeneidad del proceso hizo que se registrara en ocasiones esporádicas la emergencia de moscas que fluctuaron de 1.5 a 1.8%. Este porcentaje de emergencia es muy reducido pero pone en riesgo la

efectividad de las liberaciones del parasitoide a nivel masivo, principalmente en aquellas áreas de baja prevalencia de la plaga.

Cuando la irradiación se hizo con los dos tiempos, la dosis aplicada tuvo un valor acumulado  $\geq 4.5$  Krad, presentándose una supresión total en la emergencia de moscas, y un promedio de  $44.3 \pm 3.3\%$  de parasitoides emergidos para la primera exposición, en tanto que para la segunda exposición el porcentaje de parasitoides emergidos fue de  $38.8 \pm 3.6\%$ . No hubo diferencia significativa en este parámetro entre los tratamientos evaluados ( $F = 28.8$ ;  $gl = 3, 36$ ;  $P > 0.05$ ) (Cuadro 4).

**Cuadro 4**

Emergencia de adultos de *Diachasmimorpha longicaudata* y de *Anastrepha ludens* a partir de larvas irradiadas con Cobalto 60 en dos tiempos. ( $N = 10$  repeticiones/tratamiento)

| Proceso de Irradiación    | Primera exposición |        | Segunda exposición |        |
|---------------------------|--------------------|--------|--------------------|--------|
|                           | Parasitoides       | Moscas | Parasitoides       | Moscas |
| Primer tiempo < 4.5 Krad  | $37.8 \pm 3.3$ a   | 1.5    | $34.1 \pm 3.2$ a   | 1.8    |
| Segundo tiempo > 4.5 Krad | $44.3 \pm 3.3$ a   | 0      | $38.8 \pm 3.6$ a   | 0      |

Los valores promedios en cada columna seguidos por una misma letra no son diferentes significativamente ( $P \geq 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

El uso de la radiación empieza a despertar interés para aplicarse e inhibir la emergencia de adultos de algunas especies de hospederos utilizados en la cría masiva de parasitoides. Larvas de *A. suspensa* fueron irradiadas y utilizadas para la cría de *D. longicaudata*, encontrando que la radiación inhibió la emergencia de adultos de dicha especie de mosca y los parasitoides emergidos de esas larvas registraron buena calidad (Sivinski y Smittle, 1990).

En este estudio, los adultos de *D. longicaudata*

no registraron algún comportamiento adverso para aceptar larva irradiada como hospedero, considerando que dicha especie cuenta en el ovipositor con las estructuras morfofisiológicas para analizar y reconocer a un hospedero adecuado (Greany *et al.*, 1977). La radiación provoca en la larva hospedera diferentes cambios, entre los que destaca el desdoblamiento de compuestos proteínicos a compuestos más sencillos que impide un desarrollo adecuado de la larva. La mortalidad ocurre durante los primeros días de formada la pupa, es decir, cuatro o cinco días

después de que las larvas fueron parasitadas. Sin embargo, en larvas sin irradiar que han sido parasitadas no se ha podido detectar el momento exacto en que ocurre la muerte del hospedero. Se presume que la muerte del hospedero ocurre después de que la larva del parasitoide eclosiona (dos días después de haber sido parasitada). Si la dosis de radiación con que fue tratado el hospedero es la adecuada y ocasiona una muerte lenta del hospedero, entonces le permite al parasitoide completar su desarrollo de manera nor-

mal y las larvas que no fueron parasitadas no darán origen a moscas.

El parasitoide *D. longicaudata* ha sido estudiado en lo que corresponde al control que toma sobre el hospedero para no tener problemas durante su desarrollo, este tipo de ventajas que presenta son comunes en diferentes especies de endoparasitoides. Pero en este caso no manifiesta cambios evidentes de sus características sobre el hospedero, que permitan atribuirle un dominio total para asegurar su desarrollo (Lawrence,

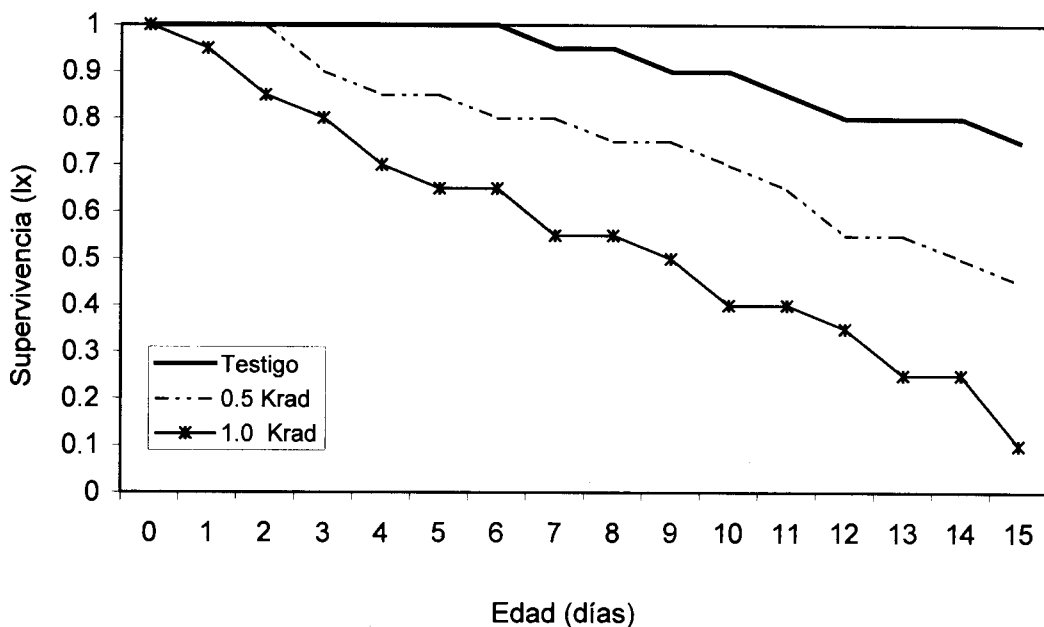


Figura 3. Supervivencia (lx) de adultos de *Anastrepha ludens* provenientes de larvas irradiadas a 0.5 y 1.0 Krad con Cobalto 60.

1986). Los resultados que se observaron sobre la supervivencia y fecundidad de los parasitoides progenie no expresaron efectos negativos, lo que indicó que las principales características biológicas que le confieren buena eficiencia, no se ven afectadas al desarrollarse en un hospedero irradiado.

Las moscas provenientes de larvas tratadas con dosis de 0.5 Krad presentaron mayor mortalidad y menor fecundidad, características que se acentuaron en los adultos que se obtuvieron de la dosis de 1.0 Krad, en donde las moscas fueron estériles. Una explicación de esto puede ser que al momento en que se trataron las larvas, las células que originan el sistema reproductivo se encontraban en plena actividad de división celular, esta fase resulta más susceptible a los efectos de la radiación. En general, se puede afirmar que en este estudio hubo menor emergencia de adultos de *A. ludens* debido a que cuando las muestras se sometieron a tratamiento, la larva estaba iniciando el tercer estadio y resulta más afectado. En cambio, cuando la larva de esta misma especie de mosca de la fruta fue irradiada en tercer estadio tardío fue menos susceptible, pues hubo emergencia de adultos cuando se irradió hasta con 4.0 Krad (40 Greys) (Toledo *et al.*, 2001).

Está demostrado que las fases jóvenes de cualquier etapa biológica de los insectos son más susceptibles (Benschoter y Telich, 1964). Cuando se aplicó la radiación como un método cuarentenario contra la palomilla de la manzana, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), la fase larvaria más joven fue la más susceptible. Además, el porcentaje de adultos emergidos decreció significativamente a medida que se incrementó la dosis y se registró un incremento en la formación de adultos y específicamente de machos deformes (Burditt y Hungate, 1989). Con moscas de la fruta se han hecho varios estudios pero solamente para diferenciar

larvas irradiadas de las no irradiadas, en donde se ha observado que el tamaño del ganglio supraesofágico se reduce y la actividad de la enzima fenoloxidasa disminuye (Rahman *et al.*, 1990; Mansour y Franz, 1996). Cuando la radiación pasa a través del integumento del insecto e interacciona con las moléculas se forman iones, los cuales por su inestabilidad se descomponen rápidamente en radicales libres. Estos a su vez reaccionan con moléculas de DNA que son susceptibles de romperse, el daño que provocan en el DNA afecta la división de las células reproductivas, lo que provoca la esterilidad o la muerte del insecto (LaChance *et al.*, 1967). Pero se desconoce el efecto al nivel de carbohidratos y proteínas en las larvas que pudiera afectar el desarrollo normal de los parasitoides. Con pequeños volúmenes de larva, los resultados indicaron que la dosis de 1.5 Krad es la cantidad mínima de radiación que se necesita para inhibir totalmente la emergencia de adultos del hospedero y se obtiene buena emergencia de parasitoides. La calidad de la larva irradiada para la cría de *D. longicaudata* se mantiene hasta la dosis más alta, la cual fue de 7.5 Krad, sin haberse observado en los parasitoides emergidos un efecto negativo en su calidad y eficiencia.

Los resultados obtenidos en la primera evaluación fueron más homogéneos y precisos por la exactitud de la aplicación de la dosis, ya que el volumen de la muestra que se empleó fue pequeño, por lo que el tratamiento fue más homogéneo y constante en toda la muestra. La aplicación de esta dosis a grandes cantidades de larva, aunado la gran heterogeneidad en la distribución de la dosis del irradiador no permitió una aplicación homogénea y centralizada de la radiación en los recipientes con larvas. Como consecuencia de ello cada volumen de larva no recibió una dosis igual o mayor a 1.5 Krad.

Resultados muy similares se observaron con las dosis de 2.0, 3.0 y 4.0 Krad, aplicadas a

volúmenes de un litro de larva. A pesar de que estas dosis fueron letales cuando se trataron muestras pequeñas de larvas, pues impidieron el desarrollo y formación de las moscas hacia el estado de adultos, se registró una emergencia de 4.0% y de 0.7% cuando se aplicaron 2.0 y 3.0 Krad, respectivamente. Con 4.0 Krad se inhibió totalmente la emergencia de adultos del hospedero. Esto no indica que dosis menores resulten poco efectivas, sino que debido a la aplicación de dosis heterogéneas sobre la superficie ocasiona una gran variabilidad en los resultados. Una situación similar ocurre durante el proceso de irradiación de las pupas para esterilizar el estado de adulto, en los programas que utilizan la Técnica del Insecto Estéril (T. I. E.) para el control de moscas de la fruta, en donde se ha observado una gran variabilidad en la calidad y esterilidad de los insectos a liberar (Gomes, 1993). Una forma de no poner en riesgo la seguridad de este método de control de plagas, es aplicando una dosis mayor que asegure la esterilidad y sacrificar un poco la calidad del insecto.

Cuando el proceso de irradiación se realizó en el irradiador panorámico JS-7400, cuya fuente de Cobalto 60 es de mayor actividad y se utiliza para irradiar grandes cantidades de material biológico, los resultados también fueron muy similares a los obtenidos cuando se trataron volúmenes de un litro de larvas. Esto ocasionó que en algunos lotes de larvas tratadas hubiera emergencia de moscas, aun cuando se aplicaron dosis hasta de 4.0 Krad.

Las variaciones y la ampliación de los rangos de dosis recibidas con volúmenes mayores de larva se pueden deber a diferentes causas. La principal es la dificultad de homogenizar las dosis en objetos con movimiento como el caso de las larvas, lo cual se acentúa cuando se utilizan grandes volúmenes de larva. Además, se debe considerar el hecho de que las larvas de *A. ludens* que se destinaron a la radiación y poste-

riormente exponerse a los parasitoides, fueron separadas de la dieta larvaria por medio de un proceso de lavado con agua (Cancino, 1997), lo que indujo a que las larvas quedaran húmedas. Probablemente esta humedad y el alto contenido de agua que poseen las larvas formen barreras que eviten una penetración homogénea de la radiación, principalmente a la dosis requerida. Los resultados obtenidos bajo las condiciones en que se realizaron las evaluaciones a escala masiva indicaron que 4.5 Krad es la dosis media para inhibir totalmente la emergencia de moscas en el proceso de cría del parasitoide *D. longicaudata*. Con menores dosis y por la heterogeneidad en la distribución de la dosis del irradiador a utilizar, puede ocasionalmente ocurrir emergencia de adultos del hospedero.

En la fase del estudio en donde se manejó y se irradiaron mayores volúmenes de larvas, disminuyó el porcentaje de emergencia de parasitoides. Pero esta disminución en la emergencia pudo estar ligada a que hubo mayor manejo de la larva antes y durante el tratamiento. Esto es, para que recibieran las dosis establecidas requirieron de mayor tiempo de exposición, por lo tanto la larva estuvo aglomerada por más tiempo y quizás sufrió problemas de respiración, estrés, sobrecalentamiento y otros daños físicos. Estos factores con frecuencia son causas de mortalidad larvaria en los laboratorios de cría de insectos (Schwarz *et al.*, 1985).

Es importante considerar que la larva de *A. ludens* sufre más daño por factores físicos que por efecto de la radiación para utilizarse como hospedero en la cría del parasitoide, lo que trae como consecuencia una reducción en la producción. Por otro lado, se puede considerar que las dosis altas utilizadas en esta investigación, son una causa directa de mortalidad del adulto del hospedero, pero la mortalidad larvaria ocurre lentamente que permite al parasitoide llevar a cabo su desarrollo de manera normal y los

adultos no presenten un efecto negativo en su calidad.

Debido a que los resultados de este estudio se van a aplicar en el tratamiento de grandes volúmenes de larva, se sugiere realizar un análisis de la distribución de dosis de la fuente de radiación a utilizar. Como quedó demostrado en esta investigación que con 1.5 Krad se inhibe la emergencia de adultos del hospedero, pero solo cuando se someten pequeñas muestras a tratamiento. Pero esta dosis ya no es funcional cuando se aplica a grandes volúmenes de larva.

La irradiación de larvas de *A. ludens* empleadas en la cría masiva de *D. longicaudata*, se presenta como una técnica sumamente viable que viene a aportar beneficios a la cría masiva y utilización de este parasitoide. La mayor ventaja que se presenta es la facilidad de manejar material biológico en estado de pupa para ser enviadas a regiones distantes para su posterior liberación en campo. Ante la alternativa de este técnica se podrían diseñar otros métodos de liberación de adultos, que sean más prácticos y eficientes, pues ya no existe problema de separar las moscas emergidas de las larvas que no hayan sido parasitadas durante el proceso de cría.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo brindado por el Ing. Jesús Reyes F., Director de la Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta (SAGARPA-IICA). Al Ing. José Luis Zavala y al Dr. Pablo Montoya, las facilidades otorgadas para realizar este trabajo. El apoyo recibido del personal técnico del Área de Irradiación del Programa Moscamed. Se reconoce el invaluable apoyo de los Ings. Francisco García G., Manuel Águila y Manuel Yoc, así como el de la Biol. Flor de María Moreno. A los Tec. Edelfo Pérez E. y Feliciano Ayora, del Departamento de Control Biológico del Programa Moscamed.

#### LITERATURA CITADA

- ALUJA, M., J. GUILLÉN, P. LIEDO, M. CABRERA, E. RÍOS, G. DELA ROSA, H. CELEDONIO AND D. MOTA. 1990. Fruit infesting tephritids (Dipt.: Tephritidae) and associated parasitoids in Chiapas, México. *Entomophaga*, 35: 39-48.
- BARANOWSKI, R., H. GLENN AND J. SIVINSKI. 1993. Biological control of the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *The Florida Entomologist*, 76: 245-251.
- BENSCHOTER, C. A. AND C. TELICH. 1964. Effects of gamma rays on immature stages of the Mexican fruit fly. *Journal of Economic Entomology*. 57: 690-691.
- BOLLER, E. F. 1968. An artificial oviposition device for the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*. *Journal of Economic Entomology*, 61: 850-852.
- BUSTOS, R. E., W. ENKERLIN, J. TOLEDO, J. REYES AND A. CASIMIRO. 1992. Irradiation of mangoes as a quarantine treatment, pp. 77-90. In: *Use of irradiation as a quarantine treatment of food and agricultural commodities*. IAEA. Vienna.
- BURDITT, A. K., JR. AND F. P. HUNGATE. 1989. Gamma irradiation as a quarantine treatment for apples infested by codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 82: 1386-1390.
- Cancino, J., D. Enkerlin, L. Martínez y J. Guillén. 1992. Evaluaciones del efecto de las liberaciones de parasitoides sobre poblaciones de moscas de la fruta, pp. 51-59. In: *Memorias del VI Curso Internacional sobre Moscas de la Fruta*. Centro Internacional de Capacitación en Moscas de la Fruta. Metapa de Domínguez, Chiapas, Mex.
- CANCINO D., J. L. 1997. Procedimientos y fundamentos de la cría masiva de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) parasitoide de moscas de la fruta, pp. 415-423. In: *Memorias del Curso Regional sobre Moscas de la Fruta y su Control en Áreas Grandes con Énfasis en la Técnica del Insecto Estéril*. Centro Internacional de Capacitación en Moscas de la Fruta. Metapa de Domínguez, Chiapas, Mex.
- CAREY, J. R. 1993. *Applied demography for biologists with special emphasis on insect*. Oxford University Press, Inc. New York. 195 p.
- COCHRAN, W. G. Y G. M. COX. 1983. *Diseños experimentales*. Edit. Trillas. México. 661 p.
- DOMÍNGUEZ G., J. C., D. CASTELLANOS H., E. HERNÁNDEZ-ORTIZ Y A. MARTÍNEZ G. 2000. Métodos de cría masiva de moscas de la fruta, pp. 399-414. In: *Memorias del XIII Curso Internacional sobre Moscas de la Fruta*. Centro Internacional de Capacitación en Moscas de la Fruta. Metapa de Domínguez, Chiapas, Mex.
- ESKAFI, F. M. 1990. Parasitism of fruit flies *Ceratitis capitata* and *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Guatemala. *Entomophaga*, 35: 355-362.
- FREEMAN, R. AND J. R. CAREY. 1990. Interaction of host stimuli in the ovipositional response of the Mediterranean

- fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Environmental Entomology*, 19: 1075-1080.
- GOMES, P. J. 1993. New dosimetry method to assess the quality of irradiated insect, pp. 23-36. In: G. NICOLI, M. BENUZZI AND N. C. LEPPLA (eds.). *Quality Control of Mass Reared Arthropods*. 7<sup>th</sup> Workshop of the IOBC Global Working Group. Rimini, Italy.
- GREANY, P. D., S. D. HAWKE, T. C. CARLYSLE AND D. W. ANTHONY. 1977. Sense organs in the ovipositor of *Biostes longicaudatus*, a parasite of the caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Annals of the Entomological Society of America*, 70: 319-321.
- JIRÓN, L. F. AND R. G. MEXZON. 1988. Parasitoid hymenopterans of Costa Rica: Geographical distribution of the species associated with fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Entomophaga*, 33: 79-86.
- LACHANCE, L. E., C. H. SCHMIDT AND R. C. BUSHLAND. 1967. Radiation-induced sterilization, pp. 147-196. In: W. W. KILGORE AND R. L. DOUTT (eds.). *Pest control: Biological physical and selected chemical methods*. Academic Press, New York.
- LAWRENCE, P. O. 1986. Host-parasite hormonal interactions: An overview. *Journal of Insect Physiology*, 32: 295-299.
- LIEDO, P. AND J. R. CAREY. 1996. Demography of fruit flies and implications to action programs, pp. 299-308. In: B. A. MCPHERON AND G. J. STECK (eds.). *Fruit fly pests: A world assessment of their biology and management*. St. Lucie Press, Fla. USA.
- MANSOUR, M. AND G. FRANZ. 1996. Effect of gamma radiation on phenoloxidase activity in Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 89: 695-699.
- MARUCCI, P. E. AND D. W. CLANCY. 1950. The artificial culture of fruit flies and their parasites. *Proceedings Hawaiian Entomological Society*, 16: 163-166.
- MONTOYA, P., P. LIEDO, B. BENREY, J. CANCINO, J. F. BARRERA, J. SIVINSKI AND M. ALUJA. 2000. Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 18: 216-224.
- OVRUSKI, S. M. 1997. Control biológico de tefritidos plagas. Antecedentes, situación actual y perspectivas futuras. *SIADES*. 1(15): 13-17.
- RAHMAN, R., C. RIGNEY AND E. BUSCH-PETERSEN. 1990. Irradiation as a quarantine treatment against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): Anatomical and cytogenetic changes in mature larvae after gamma irradiation. *Journal of Economic Entomology*, 83: 1449-1454.
- SAS INSTITUTE. 1992. SAS user's guide, version 6.04. SAS Institute, Cary, N. C.
- SCHWARZ, A. J., A. ZAMBADA, D. H. S. OROZCO, J. L. ZAVALA AND C. O. CALKINS. 1985. Mass production of the Mediterranean fruit fly at Metapa, Mexico. *The Florida Entomologist*, 68: 467-477.
- SIVINSKI, J. AND B. SMITTLE. 1990. Effect of gamma radiation on the development of the caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa*, and the subsequent development of its parasite *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 55: 295-297.
- SIVINSKI, J. M., C. O. CALKINS, R. BARANOWSKI, D. HARRIS, J. BRAMBILA, J. DÍAZ, R. E. BURNS, T. HOLLER AND G. DODSON. 1996. Suppression of a Caribbean fruit fly [*Anastrepha suspensa* (Loew) Diptera: Tephritidae] population through augmented releases of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 6: 177-185.
- TOLEDO, J., M. E. BUSTOS Y P. LIEDO. 2001. Irradiación de naranjas infestadas por *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) como tratamiento cuarentenario. *Folia Entomológica Mexicana*. 40 (3): 283-295.
- WHARTON, R. A., F. E. GILSTRAP, R. H. RHODE, M. FISCHER AND W. G. HORT. 1981. Hymenopterous egg-pupal and larval-pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* and *Anastrepha* spp. (Dipt.: Tephritidae) in Costa Rica. *Entomophaga*, 26: 285-290.
- WONG T., T. Y. AND M. M. RAMADAM. 1992. Mass rearing biology of larval parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of tephritid flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii, pp. 405-426. In: T. E. ANDERSON AND N. C. LEPPLA (eds.). *Advances in insect rearing for research and pest management*. Oxford & IBH Publishing Co. UK.
- ZAVALA, J. L., M. M. FIERRO, A. J. SCHWARZ, D. H. OROZCO AND M. GUERRA. 1985. Dosimetry practice for irradiation of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied.), pp. 23-30. In: *High-dose dosimetry*. IAEA. Vienna.

Recibido: 20 de septiembre del 2000  
Aceptado: 25 de abril del 2002