

EFECTO DEL ALIMENTO Y EL TIEMPO DE ENFRIADO EN LA LONGEVIDAD Y EXPECTATIVA DE VIDA DE TRES ESPECIES DE MOSCAS DE LA FRUTA (DIPTERA: TEPHRITIDAE) UTILIZADAS EN LA TÉCNICA DEL INSECTO ESTÉRIL

Emilio Hernández, Bigail Bravo, Arseny Escobar, Moisés Romero y Pablo Montoya

Programa Moscamed-Moscafrut SENASICA-SAGARPA. Central Poniente No. 14. Col Centro, C.P. 30700. Tapachula Chiapas

EFECTO DEL ALIMENTO Y EL TIEMPO DE ENFRIADO EN LA LONGEVIDAD Y EXPECTATIVA DE VIDA DE TRES ESPECIES DE MOSCAS DE LA FRUTA (DIPTERA: TEPHRITIDAE) UTILIZADAS EN LA TÉCNICA DEL INSECTO ESTÉRIL

RESUMEN: Se evaluaron cuatro formulaciones de alimento para el empaque y liberación de adultos estériles de *Ceratitis capitata*, *Anastrepha ludens* y *A. obliqua*: 1) azúcar en agar, 2) azúcar+proteína en agar, 3) azúcar + Secante 770 sobre papel y 4) azúcar + Maizena® + proteína sobre papel. Estos alimentos fueron suministrados durante seis y siete días (*C. capitata* y *Anastrepha* spp., respectivamente), hasta que las moscas alcanzaron su madurez sexual. Después de este período las moscas fueron sometidas al proceso de enfriamiento (3° C durante 45 min) antes de iniciar las evaluaciones. La longevidad y expectativa de vida se determinaron bajo condiciones de estrés (sin agua y sin alimento) y bajo condiciones relajadas (con agua y con alimento) hasta que la última mosca murió. Para las tres especies, los valores más altos de longevidad en condiciones de estrés se presentaron con azúcar + Maizena® + proteína sobre papel (*C. capitata* [23.9 h], *A. ludens* [51 h] y *A. obliqua* [48 h]), mientras que en condiciones relajadas solo en los casos de *C. capitata* (22.5 d) y *A. ludens* (33.4 d) esta formulación resultó mejor, ya que en *A. obliqua* el azúcar + Secante 770 sobre papel proporcionó una mayor longevidad (27.1 d). Se determinó que los tiempos de enfriado de 135, 90 y 45 minutos no presentaron ningún detrimento sobre la longevidad y expectativa de vida de los adultos evaluados. Estos resultados apoyan la propuesta de utilizar proteína hidrolizada para alimentar las moscas estériles durante su tiempo de permanencia en los centros de empaque, pues de acuerdo con la evidencia documental existente, las moscas alimentadas con proteína presentan una mayor competitividad sexual.

PALABRAS CLAVE: Alimento para adultos, longevidad, tiempo de enfriado, *Ceratitis capitata*, *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua*.

EFFECT OF THE FOOD TYPE AND CHILLING TIME ON THE LONGEVITY AND LIFE EXPECTANCY OF THREE SPECIES OF FRUIT FLIES (DIPTERA: TEPHRITIDAE) USED IN THE STERILE INSECT TECHNIQUE

ABSTRACT: Four different food formulations were evaluated in sterile adults of *Ceratitis capitata*, *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* packed for release: 1) sugar in agar, 2) sugar + protein in agar, 3) sugar + Wrappable dryer 770 on paper, and 4) sugar + Maizena® + protein on paper, which were proportioned to the flies during six and seven days (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha* spp. respectively) until they reached their sexual maturity. After this period, the flies were cooled at 3° C by 45 min before running the tests. Longevity and life expectancy were determined under stress conditions (neither water nor food) and under relaxed conditions with food and water, until the last fly died. In all cases the highest longevities under stress conditions were obtained using sugar + Maizena® + protein on paper (for *C. capitata* [23.9 h], *A. ludens* [51 h] and *A. obliqua* [48 h]). In relaxed conditions only in the cases of *C. capitata* (22.5 d) and *A. ludens* (33.4 d) the sugar + Maizena® + protein on paper provided the highest longevity, but in *A. obliqua* (27.1 d), was sugar + Wrappable dryer 770 on paper. It was determined that the cooling times of 135, 90, and 45 minutes did not cause any damage on the longevity and life expectancy of the sterile adults of these species. These results support the propose of using hydrolyzed protein

to fed sterile flies during their permanency in the packing centers, since according to the current documental evidence, the fruit flies feed with protein show a higher sexual competitiveness.

KEY WORDS: Adult food, longevity, cooling time, *Ceratitis capitata*, *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua*.

INTRODUCCIÓN

La Técnica del Insecto Estéril (TIE) se aplica en México desde 1979 contra *Ceratitis capitata* (Wied.) (Hendrichs *et al.*, 1983; Enkerlin, 2005), desde 1994 contra *Anastrepha ludens* (Loew) (Reyes *et al.*, 2000) y desde el 2001 contra *A. obliqua* Macquart (Artiaga-López *et al.*, 2004). La fase final de la TIE es la liberación de moscas estériles en el campo para lo cual existen tres sistemas de empaque y liberación: 1) adulto enfriado, 2) adulto en bolsas de papel y 3) adulto en cajas de cartón (Villaseñor, 1985; Dowell *et al.*, 2005).

El sistema de adulto frío es el de mayor uso actualmente (Dowell *et al.*, 2005), ya que favorece una distribución más homogénea del material estéril en el campo y se evita diseminar residuos indeseables (i.e., restos de bolsas y puparios) durante el proceso de liberación. En este sistema de empaque se utilizan cajas de plástico tipo "PARC" (53 × 32 × 46 cm, 1 × h × a) para permitir la emergencia y maduración sexual de las moscas, en las cuales se puede proporcionar alimento en bloques de agar o en tiras de papel. Previo a su liberación, las moscas son sometidas a un proceso de enfriamiento durante 45 min a 3° C hasta alcanzar un grado de inmovilidad total, lo cual permite la ejecución de las maniobras necesarias para su liberación en campo. Sin embargo, el tiempo que los insectos permanecen bajo el efecto de las bajas temperaturas puede ser variable, pues depende del tiempo de transporte del material biológico del centro de empaque al aeropuerto y del tiempo de vuelo para su liberación.

La aplicación exitosa de la TIE empleando este sistema, puede ser influenciada por el tipo

de alimento que se les proporciona a los insectos durante el tiempo requerido para su maduración sexual, ya que éstos requieren ser alimentados previamente a su liberación a fin de evitar el uso de sus reservas energéticas (Warburg y Yuval, 1996). Actualmente la mayoría de los centros de empaque y liberación de moscas de la fruta solo proporcionan azúcar y agua (Barnes *et al.*, 2004; Dantas *et al.*, 2004; Smallridge y Hopkins, 2004); sin embargo, el uso de proteína hidrolizada como alimento puede ser altamente recomendable, pues proporciona una cantidad importante de aminoácidos que al ser absorbidos a través de la pared intestinal contribuyen en la síntesis de diversos compuestos y refuerzan el desarrollo fisiológico de los insectos (Kaspi y Yuval, 2000; Kaspi *et al.*, 2000). Se ha determinado que el consumo de proteína incrementa el peso de los adultos, aumenta la producción de feromona sexual e induce el apareamiento de manera más eficiente (Yuval *et al.*, 2002; Maor *et al.*, 2004). Los machos de *C. capitata* alimentados con proteína realizan el llamado sexual más temprano durante el día (Kaspi *et al.*, 2000), y participan más activamente en la formación de leks (Yuval *et al.*, 1998). Sin embargo, Shelly *et al.* (2006), no reportan diferencias en la inducción de esterilidad entre machos alimentados con proteína y machos alimentados con azúcar solamente.

También se ha reportado que machos alimentados con proteína durante los primeros cuatro días de edad y posteriormente ayunados por 24 horas, presentan una tasa de mortalidad mayor que los machos alimentados solamente con azúcar (Müller *et al.*, 1997; Kaspi y Yuval, 2000; Carey *et al.*, 2002); pero si estos machos son ca-

paces de encontrar alimento en el campo durante los cuatro días posteriores a su liberación, el consumo previo de proteína no afectará su supervivencia (Maor *et al.*, 2004).

El aletargamiento por frío para el manejo de las moscas previo a la liberación puede causar daño metabólico si el enfriado se lleva a cabo con temperaturas menores a 0° C (Yonggyun y Song, 2000; Turnock y Fields, 2005). El daño relacionado con el tiempo de enfriado se puede dividir en: 1) choque a baja temperatura por corto tiempo de exposición (minutos, horas), en el cual las membranas celulares pueden ser dañadas, y 2) daño por tiempo largo de exposición (días) en el cual ocurre mortalidad (Yonggyun y Song, 2000). El efecto del enfriado depende del grado con que las moléculas del agua corporal sean absorbidas por compuestos coloidales (i.e., glicerol, sorbitol, trealosa), evitando el choque osmótico (dado por el agua libre) en respuesta a las temperaturas bajas (Wigglesworth, 1972; Reyes, 1989). En términos operativos para liberación de moscas estériles, 3° C se considera como la temperatura adecuada a la cual no ocurren daños que se relacionen al sistema de enfriado que se utiliza.

Dado el contexto anterior, en este trabajo evaluamos diferentes tipos de alimentos a base de azúcar y proteína, y el efecto de diferentes tiempos de enfriamiento durante el empaque preliberación de los adultos estériles de *C. capitata*, *A. ludens* y *A. obliqua*. Para ello se determinó la longevidad y expectativa de vida de los adultos tanto en condiciones de estrés (sin agua y sin alimento) como en condiciones relajadas con agua y con alimento. Se discuten las ventajas sobre el uso de proteína y del papel como sustrato para proveer el alimento, así como del efecto del enfriado sobre los parámetros referidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico. Los machos estériles de *C. capitata* (cepa *tsl*) fueron proporcionados por la

Planta Moscamed y producidos mediante la técnica descrita por Cáceres *et al.* (2000). Los adultos de *A. ludens* y *A. obliqua* se obtuvieron del material producido en la Planta Moscafrut DGSV-SAGARPA bajo las metodologías descritas por Stevens (1991) y Artiaga-López *et al.* (2004) respectivamente. Ambas plantas se encuentran ubicadas en Metapa de Domínguez, Chiapas. Las actividades de empaque, alimentación y enfriado de las moscas bajo experimentación se realizaron en el Centro de Empaque de Adulto Frío (CEDAF) DGSV-SAGARPA ubicado en Tapachula, Chiapas.

Pruebas con alimentos. Para determinar el efecto sobre la longevidad y expectativa de vida de las moscas enfriadas para liberación, se evaluaron cuatro tipos de alimento cuya preparación se realizó de la siguiente manera:

Azúcar en agar (AA). Se disolvieron 3.85 g de agar-agar (Agarmex, Tlalnepantla, México) en 421.5 ml de agua caliente, se dejó enfriar hasta 50° C y se agregaron 74.61 g de azúcar (Ingenio Huixtla, Chiapas, México) y 0.05 g de nipagín (Mallinckrodt Speciality, Chemicals Co. St. Louis Miss.). La mezcla se vació en moldes rectangulares de 20 × 2 × 20 cm. Por cada repetición se utilizó un bloque de agar. Este tratamiento contiene agua en forma disponible (en el agar), por lo que no se incluyó en la caja PARC una fuente alternativa.

Azúcar + proteína en agar (APA). Se disolvieron 3.85 g de agar-agar en 447 ml de agua caliente, se dejó enfriar hasta 50° C y se agregaron 50 g de azúcar, 0.07 g de nipagín y 49 g de proteína hidrolizada (ICN, Nutritional Biochemicals, Cleveland, Ohio). La mezcla se vació en moldes rectangulares de 20 × 2 × 20 cm. Por cada repetición se utilizó un bloque de agar. El tratamiento contiene agua en forma disponible, por lo que no se incluyó en la caja PARC una fuente alternativa.

Azúcar + Secante 770 sobre papel (ASP). Este alimento se elaboró calentando en forma gradual la mezcla de 50 ml agua, 50 g de azúcar y 3.3 g de Secante 770 (formulado comercial de sólidos de jarabe de maíz, almidón de maíz y agar, Get Import and Export, Brownsville Tx. USA) hasta formar una pasta homogénea que se aplicó con brocha (6 pulgadas, cerda de fibra natural) sobre la superficie de papel estraza. El tratamiento no contiene agua en forma disponible, por lo que se incluyó en la tapa de la caja PARC una esponja saturada de agua + goma guar (1%) para evitar el escurrimiento. Por cada repetición se utilizó una tira de papel de 45 x 34 cm.

Azúcar + Maizena® + Proteína sobre papel (AMPP). La mezcla de 60 ml agua, 100 g de azúcar, 4.2 g de proteína hidrolizada y 4 g de Maizena® (fécula de maíz, Unilever de México, S. de R.L. de C.V. Tultitlán, México) se calentó gradualmente hasta formar una pasta homogénea que se aplicó con brocha sobre la superficie de papel estraza. En la tapa de la caja PARC se agregó una esponja saturada de agua + goma guar para evitar el escurrimiento. Por cada repetición se utilizó una tira de papel de 45 x 34 cm.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y 16 repeticiones por tratamiento. En cada repetición se utilizó una caja PARC con 70,000 pupas de machos *tsl* para *C. capitata*, y 40,000 pupas (machos y hembras) de *A. ludens* y *A. obliqua*, distribuidas en seis bolsas de papel Kraft (Dowell *et al.* 2005). Cada repetición correspondió a un lote diferente de moscas. Las cajas con adultos emergidos fueron mantenidas por seis días para *C. capitata*, y siete días para *A. ludens* y *A. obliqua* en la sala de emergencia a 21°C. Durante este tiempo los adultos emergidos se alimentaron y maduraron sexualmente. Las moscas fueron enfriadas a 3° C durante 45 min utilizando la metodología descrita por Dowell *et al.* (2005).

Después del enfriado se tomaron las muestras para determinar longevidad y expectativa de vida en condiciones de estrés sin agua y sin alimento, y en condiciones relajadas con agua y con alimento. Cada muestra consistió en 100 individuos tomados en forma aleatoria de la caja PARC para cada repetición por tratamiento.

Efecto del tiempo de enfriado. Para la realización de esta prueba se utilizó el alimento a base de Azúcar + Maizena® + Proteína sobre papel (AMPP), por ser el alimento con el que se obtuvieron los mejores resultados en la etapa preliminar. Las moscas se enfriaron a 3° C de acuerdo a Dowell *et al.* (2005). Los tratamientos estuvieron definidos por los tiempos de enfriado, 0 (testigo), 45, 90 y 135 minutos, tomados a partir del tiempo mínimo necesario para inmovilizar a los insectos, hasta un tiempo máximo determinado por las maniobras de traslado y liberación de los insectos en el campo, el cual puede variar dependiendo de la ubicación de la zona de trabajo. Para cada repetición por tratamiento se utilizó una caja PARC con 70,000 pupas de machos *tsl* en el caso de *C. capitata*, y 40,000 pupas (machos y hembras) de *A. ludens* y *A. obliqua*, siguiendo la metodología descrita en la sección anterior. La influencia del tiempo de enfriado sobre la longevidad y expectativa de vida se determinó mediante un diseño completamente al azar empleando los tiempos de enfriado de 0, 45, 90 y 135 minutos. Por cada tratamiento se realizaron 6 repeticiones.

Obtención de datos. En ambos experimentos, la longevidad y la expectativa de vida fueron determinadas colocando 100 adultos (Hernández *et al.*, 2005) por cada repetición en jaulas de plexiglass de 30 x 40 x 30 cm, de acuerdo con el Manual de Control de Calidad de la FAO/IAEA/USDA (2002). En condiciones de estrés el número de moscas muertas se cuantificó cada ocho horas. En condiciones relajadas la cuantificación

fue cada 24 horas, en ambos casos hasta que la última mosca murió. La expectativa de vida fue estimada para cada repetición de cada tratamiento de acuerdo a Carey (1989).

Análisis estadístico. Las diferencias entre tratamientos para longevidad y expectativa de vida se determinaron para cada especie en forma independiente, a través de un análisis de varianza y comparación de medias por el método de Tukey-Kramer HSD ($\alpha = 0.05$) (Zar, 1984). Para el análisis se utilizó el JMP Statistical Discovery Software (SAS Institute, 2003). En el caso de *C. capitata*, los datos corresponden a solamente machos, en virtud de la cepa sexada genéticamente que se utilizó. En los casos de *A. ludens* y *A. obliqua*, el análisis se presenta sobre datos de ambos sexos combinados, ya que no se presentaron diferencias entre machos y hembras.

RESULTADOS

Pruebas con alimentos

Efecto sobre la longevidad. En las tres especies los valores más altos de longevidad en condicio-

nes de estrés se observaron con el tratamiento de Azúcar + Maizena[®] + Proteína/ Papel (AMPP), los cuales correspondieron a 51.0 ± 2.4 horas para *A. ludens* ($F = 2.71$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0528$), 48.0 ± 4.8 horas para *A. obliqua* ($F = 3.61$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0184$) y 23.9 ± 2.2 horas ($F = 2.01$; g.l. = 3, 60; $P = 0.1216$) para *C. capitata* (Cuadro 1). En el caso de la longevidad bajo condiciones relajadas, se observó la misma tendencia en *C. capitata* ($F = 13.42$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0001$) y *A. ludens* ($F = 2.64$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0002$), donde los valores más elevados correspondieron al mismo tipo de alimento (AMPP), no así en *A. obliqua* donde el alimento a base de Azúcar + Secante 770/Papel (ASP) presentó el valor más alto (27.1 ± 1.6 días) aunque sin diferencias con azúcar + Maizena[®] + Proteína sobre papel (AMPP) ($F = 5.81$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0015$).

Efecto sobre la expectativa de vida. Bajo condiciones de estrés, las tres especies presentaron una expectativa de vida más alta con el AMPP: *C. capitata* = 27.0 ± 3.1 horas, la cual no fue significativa ($F = 1.64$; g.l. = 3, 60; $P = 0.19$); *A. obliqua* = 37.4 ± 3.9 horas ($F = 9.03$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0001$), y *A. ludens* = 38.7 ± 2.2 horas, aun-

Cuadro 1

Longevidad de tres especies de moscas de la fruta con cinco tipos de alimento bajo condiciones de estrés (sin agua y sin alimento) y relajadas (con agua y alimento)

Tipo de alimento	<i>Ceratitis capitata</i>		<i>Anastrepha ludens</i>		<i>Anastrepha obliqua</i>	
	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)
Azúcar / agar	18.6 ± 1.1 a	16.4 ± 0.6 b	45.0 ± 2.7 ab	28.2 ± 1.0 ab	37.5 ± 3.1 ab	19.0 ± 1.2 b
Proteína + azúcar / agar	18.5 ± 1.1 a	16.0 ± 0.8 b	43.5 ± 2.1 ab	22.9 ± 2.15 b	43.5 ± 2.9 ab	22.0 ± 1.7 ab
Azúcar + Secante 770 / papel	21.0 ± 2.4 a	17.8 ± 0.5 b	42.0 ± 2.4 b	32.4 ± 1.2 a	33.0 ± 2.7 b	27.1 ± 1.6 a
Azúcar + Maizena [®] + Proteína / papel	23.9 ± 2.2 a	22.5 ± 1.2 a	51.0 ± 2.4 a	33.4 ± 2.3 a	48.0 ± 4.8 a	24.6 ± 1.3 a

Valores en las columnas con la misma letra no son significativos ($P = 0.05$); h = horas; d = días.

Efecto del alimento y tiempo de enfriado en moscas de la fruta

que sin diferencias significativas ($F = 1.61$; g.l. = 3, 60; $P = 0.1964$).

En la expectativa de vida con presencia de agua y alimento, el mejor resultado para *C. capitata* se obtuvo con AMPP (22.4 ± 0.5 días) con diferencias estadísticas ($F = 17.92$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0001$) entre tratamientos. Para *A. ludens* nuevamente el AMPP (34.7 ± 1.8 días) resultó estadísticamente mejor ($F = 10.80$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0001$), para *A. obliqua* no se encontró diferencia estadística (18.7 ± 1.8 días) ($F = 1.11$; g.l. = 3, 60; $P = 0.3530$) (Cuadro 2).

Efecto del tiempo de enfriado. El efecto del tiempo de enfriado sobre la longevidad de las tres especies bajo estudio se presenta en el Cuadro 3, donde es posible observar que aparentemente no existe ningún efecto deletéreo sobre la longevidad de las moscas, pues las diferencias solo se marcan significativas en el caso de *A. ludens* para el tiempo de 45 min. bajo condiciones relajadas (longevidad más baja) ($F = 8.16$; g.l. = 3, 60; $P = 0.0010$), y para *A. obliqua* en el tiempo de 135 min. bajo condiciones relajadas como la mejor longevidad (32.0 ± 4.2 días) ($F = 3.94$, g.l. = 3, 20 y $P = 0.0232$).

Cuadro 2

Expectativa de vida (e_0) de tres especies de moscas de la fruta con cinco tipos de alimento bajo condiciones de estrés (sin agua y sin alimento) y relajadas (con agua y alimento)

Tipo de alimento	<i>Ceratitis capitata</i>		<i>Anastrepha ludens</i>		<i>Anastrepha obliqua</i>	
	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)
Azúcar / Agar	20.2 ± 2.3 a	16.0 ± 0.5 c	37.6 ± 2.4 a	26.8 ± 0.8 bc	23.8 ± 0.4 b	14.5 ± 1.4 a
Proteína + Azúcar / Agar	21.2 ± 0.9 a	17.8 ± 0.5 bc	35.1 ± 1.0 a	22.7 ± 1.9 c	29.1 ± 2.1 ab	18.5 ± 2.2 a
Azúcar + Secante 770 / Papel	24.8 ± 2.8 a	19.0 ± 0.9 b	35.5 ± 1.9 a	30.6 ± 1.5 ab	22.5 ± 0.8 b	18.4 ± 2.2 a
Azúcar + Maizena® + Proteína / papel	27.0 ± 3.1 a	22.4 ± 0.5 a	38.7 ± 2.2 a	34.7 ± 1.8 a	37.4 ± 3.9 a	18.7 ± 1.8 a

Valores en las columnas con la misma letra no son significativos ($P = 0.05$); h = horas; d = días.

Cuadro 3

Longevidad media de tres especies de moscas de la fruta expuestas a diferentes tiempos de enfriado bajo condiciones de estrés (sin agua y sin alimento) y relajadas (con agua y alimento).

Tiempo de enfriado (min)	<i>Ceratitis capitata</i>		<i>Anastrepha ludens</i>		<i>Anastrepha obliqua</i>	
	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)
0	21.8 ± 1.5 ab	11.8 ± 0.7 a	48.0 ± 6.2 a	50.0 ± 1.9 bc	30.0 ± 2.8 a	25.2 ± 2.5 ab
45	20.4 ± 0.8 b	13.0 ± 0.6 a	53.2 ± 3.9 a	46.4 ± 2.2 c	33.0 ± 3.0 a	18.0 ± 2.5 b
90	23.8 ± 1.2 ab	11.2 ± 0.7 a	52.8 ± 3.9 a	58.0 ± 2.1 ab	30.8 ± 3.2 a	25.0 ± 1.4 ab
135	26.6 ± 1.6 a	13.2 ± 0.9 a	43.6 ± 4.0 a	58.6 ± 2.2 a	35.2 ± 2.6 a	32.0 ± 4.2 a

Valores en la columna con la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0.05$). n=6. h = horas; d = días.

En la expectativa de vida bajo condiciones de estrés (Cuadro 4), podemos observar que solamente para *C. capitata* se presentaron diferencias significativas con el valor más alto correspondiente al tiempo de 135 min. (27.4 ± 3.2 horas) ($F = 5.51$, g.l. = 3,20 y $P = 0.0063$). En la expectativa de vida bajo condiciones relajadas, ningún tratamiento ejerció un efecto significativo sobre *C. capitata* ($F = 0.43$; g.l. = 3, 60; $P = 0.7362$) y *A. ludens* ($F = 1.27$; g.l. = 3, 60; $P = 0.3122$); mientras que para *A. obliqua* el valor significativamente mayor ($F = 5.0$, g.l. = 3,20 y $P = 0.0095$) correspondió a 29.7 ± 2.3 días obtenido en el tiempo de 90 min.

En la Figura 1 se presenta la expresión gráfica del comportamiento de la proporción de sobrevivientes y expectativa de vida de los adultos de las tres especies alimentados con AMPP y enfriados por 90 min. En esta figura podemos notar la edad a la cual permanece el 50% de los individuos vivos para cada especie (índice *a*) y el valor de la expectativa de vida (b) para el 50% de los individuos que alcanzaron ese nivel.

DISCUSIÓN

Alimentos. La adición de proteína en el alimento de los adultos empacados para liberación pre-

sentó los mejores resultados en la longevidad y expectativa de vida de las tres especies bajo las condiciones en que se desarrolló este estudio. Lo anterior resulta de primera importancia ya que de acuerdo con Blay y Yuval (1997), Kaspi *et al.* (2000), Kaspi y Yuval (2000) y Yuval *et al.* (2002), el consumo de proteína incrementa la competitividad sexual de los machos que se puede ver reflejada en: 1) aumento en la producción de feromona, 2) llamado sexual más temprano, y 3) participación más activa en la formación de leks, todo lo cual representa algunos de los grandes retos que estos insectos deben enfrentar una vez que se encuentren en el campo. En contraposición, Shelly *et al.* (2006) cuestionan el uso de proteína en este tipo de dieta, pues no encontraron diferencias significativas en la inducción a la esterilidad con relación al uso de azúcar solamente, aunque ellos no evaluaron el comportamiento de formación de leks ni la producción de feromona.

Nuestros datos sobre longevidad con agua y alimento son congruentes con el criterio expresado por Maor *et al.* (2004), en el sentido de que si los adultos alimentados con proteína durante el tiempo de su maduración sexual son capaces de encontrar alimento al ser liberados en el campo, la supervivencia no se verá afectada. La longevidad de los adultos de las tres especies que se

Cuadro 4

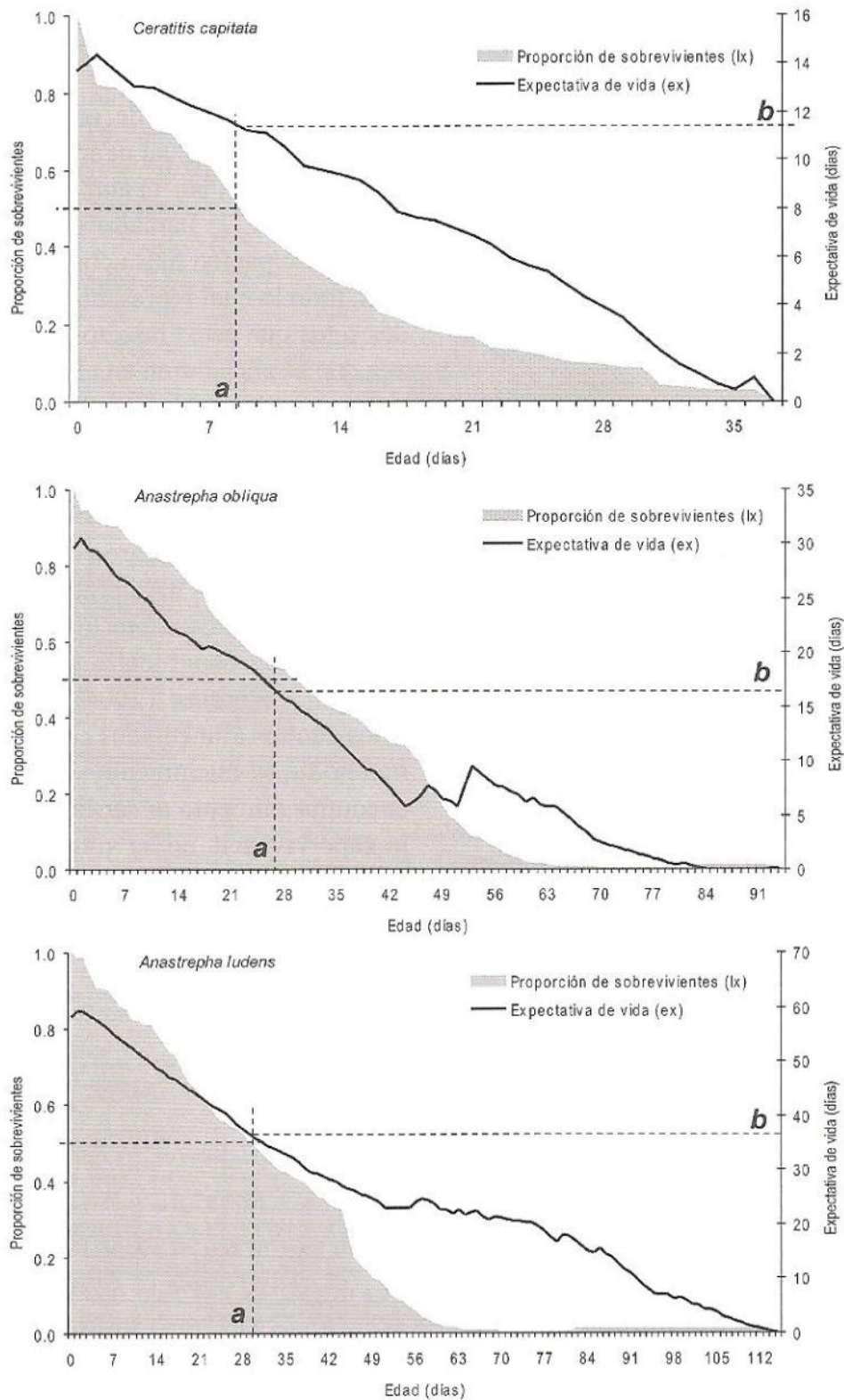
Expectativa de vida (e_0) de tres especies de moscas de la fruta expuestas a diferentes tiempos de enfriado bajo condiciones de estrés (sin agua y sin alimento) y relajadas (con agua y alimento).

Tiempo de enfriado (min)	<i>Ceratitis capitata</i>		<i>Anastrepha ludens</i>		<i>Anastrepha obliqua</i>	
	estrés (h)	relajada (d)	estrés (h)	relajada (d)	estrés(h)	relajada (d)
0	19.6 ± 1.0 b	12.4 ± 1.4 a	45.3 ± 8.7 a	52.7 ± 2.8 a	28.1 ± 1.5 a	25.5 ± 1.6 ab
45	18.1 ± 0.9 b	13.5 ± 1.2 a	50.7 ± 10.1 a	47.6 ± 2.7 a	36.1 ± 9.8 a	20.2 ± 1.7 b
90	21.3 ± 4.2 b	13.8 ± 1.8 a	61.3 ± 10.2 a	58.3 ± 3.2 a	30.8 ± 2.8 a	29.7 ± 2.3 a
135	27.4 ± 3.2 a	12.0 ± 0.6 a	57.9 ± 13.8 a	53.5 ± 6.0 a	34.1 ± 4.9 a	24.8 ± 1.1 ab

Valores en la columna con la misma letra no son significativamente diferentes ($P=0.05$). n=6. h = horas; d = días.

Efecto del alimento y tiempo de enfriado en moscas de la fruta

Figura 1. Proporción de sobrevivientes y expectativa de vida de *Ceratitis capitata*, *Anastrepha ludens* y *A. obliqua* alimentados con Proteína + Azúcar + Maizena® / Papel y enfriados para liberación por 90 min a 3° C. (a) Edad hasta la cual permanecen el 50% de los individuos vivos, (b) Valor de la expectativa de vida para el 50% de los individuos que alcanzaron la edad *a*.



alimentaron con azúcar y proteína en agar, no presentó diferencia con la longevidad de aquellos individuos alimentados solamente con azúcar en agar. Esto coincide con Shelly y McInnis (2003), quienes no encontraron diferencia en la longevidad de los adultos al incorporar o no proteína en la dieta, pero difiere con lo reportado por Kaspi y Yuval (2000), quienes determinaron que machos alimentados con proteína durante los primeros cuatro días después de la emergencia y posteriormente ayunados por 24 horas, presentaron una mortalidad mayor que machos alimentados solamente con azúcar. En este sentido la concentración de la proteína en la dieta que se proporciona a los insectos (9% en el caso de Kaspi y Yuval [2000]; 2.5% en nuestro caso) puede tener especial relevancia, pues de acuerdo con Cresoni-Pereira y Zucoloto (2001), la concentración óptima de proteína en el alimento del adulto oscila entre 2.5 y 6.5%, ya que valores superiores a 8.5 % disminuyeron la longevidad en hembras de *A. obliqua*.

En nuestros resultados observamos que cuando la proteína fue aplicada sobre papel, los adultos de *C. capitata* y *A. ludens* vivieron más tiempo que cuando fue proporcionada en el agar. La ventaja de utilizar papel como sustrato alimenticio radica en que éste ofrece una mayor superficie de exposición (1530 cm²) en relación con el agar (400 cm²), lo cual permite que un mayor número de moscas se alimenten al mismo tiempo y que la distribución del alimento por individuo sea mejor. Lo anterior puede funcionar como un tipo de restricción alimenticia al consumir cada individuo una cuota de alimento mas equitativa, lo que de acuerdo con Carey *et al.* (2005), contribuye a un incremento en la expectativa de vida. Una ventaja adicional de la formulación proteica evaluada sobre papel en comparación con la evaluada sobre el agar, es su bajo costo operativo, ya que no se requiere del uso de conservadores además de la diferencia natural de costos entre el papel y el agar.

De acuerdo con los datos descritos en el manual de control de calidad de la FAO/IAEA/USDA (2002), la longevidad durante la maduración sexual en las salas de emergencia para liberación masiva de insectos estériles puede disminuir entre 30 y 50% (diferencia entre los valores de longevidad post-emergencia y longevidad post-liberación). Sin embargo, de acuerdo con Hernández *et al.* (2002) las curvas de supervivencia en condiciones de campo de adultos estériles de *A. obliqua*, indicaron que el 50% de la población liberada vive al menos 3 días, mientras que para *A. ludens* la expectativa de vida después de su liberación fue estimada en 9.8 días (Thomas y Loera-Gallardo, 1998). Lo anterior también representa un indicio de que las moscas estériles fueron capaces de encontrar alimento en el campo (Maor *et al.*, 2004), ya que vivieron más tiempo del que habrían vivido si no se hubieran alimentado.

Tiempo de enfriado. Los tiempos de enfriado tampoco mostraron un efecto aparente sobre la longevidad y expectativa de vida de las moscas alimentadas con azúcar, proteína y maizena sobre papel. La temperatura de enfriamiento que se usó siempre estuvo por encima de los 0° C, con lo cual se evitó que las moscas presentaran daño metabólico (Danks *et al.*, 1994; Turnock y Fields, 2005). Estos resultados son congruentes con los reportados por Harris *et al.* (1965), quienes demostraron que *C. capitata* puede ser mantenida a 5° C durante 24 h sin causar algún efecto adverso aparente, y con Hopper (1970), quien también concluyó que el uso del frío en *C. capitata* durante un tiempo prolongado, no representó ningún efecto deletéreo sobre la longevidad y fecundidad de los adultos. Lo anterior proporciona amplia certidumbre en programas que aplican la TIE con respecto a los tiempos de vuelo con duración variable en la liberación aérea de los insectos.

Podemos concluir que el alimento preparado con azúcar, proteína y maizena sobre papel, proporciona a las moscas los nutrimentos necesarios para obtener valores altos de longevidad y expectativa de vida, y que los tiempos de enfriado no presentaron ningún detrimento en la longevidad y expectativas de vida de las tres especies bajo evaluación. Estos resultados contribuyen a brindar un mejor sustento a la Técnica del Insecto Estéril, pues de acuerdo con varios autores (Yuval *et al.*, 1998, 2002; Kaspi *et al.*, 2000, Maor *et al.*, 2004, entre otros), las moscas alimentadas con proteína presentan una mayor competitividad sexual.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos la revisión y sugerencias de los Dres. Francisco Díaz-Fleischer (LABIOTECA, Universidad Veracruzana) y Jorge Toledo Arreola (El Colegio de la Frontera Sur), a versiones tempranas de este manuscrito.

LITERATURA CITADA

- ARTIAGA-LÓPEZ, T., E. HERNÁNDEZ, J. DOMÍNGUEZ-GORDILLO, D. S. MORENO AND D. OROZCO-DÁVILA. 2004. Mass-production of *Anastrepha obliqua* at the Moscafrut Fruit Fly Facility, Mexico, pp. 389-392. In: B. N. Brian (ed.). *Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance*. Heriotdale, Johannesburg, South Africa.
- BARNES, B. N., D. K. EYLES AND G. FRANZ. 2004. South Africa's fruit fly SIT programme- the Hex River Valley pilot project and beyond, pp. 131-141. In: B. N. Brian (ed.). *Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance*. Heriotdale, Johannesburg, South Africa.
- BLAY, S. AND B. YUVAL. 1997. Nutritional correlates of reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Animal Behavior* 54: 59-66.
- CÁCERES, C., K. FISHER AND P. RENDÓN. 2000. Mass rearing of the Medfly temperature sensitive lethal genetic sexing strain in Guatemala, pp. 551-558. In: K. H. Tan (ed.). *Area-Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests*. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang.
- CAREY, J. R. 1989. Demographic analysis of fruit flies, pp. 253-265. In: A. S. Robinson and G. H. S. Hopper (eds.). *Fruit Flies, Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol. B. Elsevier, Amsterdam.
- CAREY, J. R., P. LIEDO, L. HARSHMAN, Y. ZHANG, H. G. MÜLLER, L. PARTRIDGE AND J. L. WANG. 2002. Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction. *Aging Cell*, 1:140-148.
- CAREY, J. R., P. LIEDO, H. G. MÜLLER, J. L. WANG, Y. ZHANG AND L. HARSHMAN. 2005. Stochastic dietary restriction using a Markov-chain feeding protocol elicits complex, life history response in medflies. *Aging Cell*, 4: 31-39.
- CRESONI-PEREIRA, C. AND F. S. ZUCOLOTO. 2001. Influence of quantities of brewer yeast on the performance of *Anastrepha obliqua* wild females (Diptera: Tephritidae). *Iheringia, Série Zoologia*, 91:53-60.
- DANKS, H. V., O. KUKAL AND R. A. RING. 1994. Insect cold-hardiness: Insights from the artic. *Artic*, 47: 391-404.
- DANTAS, L., R. PEREIRA, N. SILVA, A. RODRIGUES AND R. COSTA. 2004. The SIT control programme against Medfly on Madeira Island, pp. 127-130. In: B. N. Brian (ed.). *Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance*. Heriotdale, Johannesburg, South Africa.
- DOWELL, R. V., J. WORLEY AND P. J. GOMES. 2005. Sterile insect supply, emergence, and release, pp. 297-324. In: V. A. Dyck, J. Hendrichs and A. S. Robinson (eds.). *Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. IAEA. Springer. Netherlands.
- ENKERLIN, W. R. 2005. Impact of fruit fly control programmes using the sterile insect technique, pp. 651-676. In: V. A. Dyck, J. Hendrichs and A. S. Robinson (eds.). *Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. IAEA. Springer. Netherlands.
- FAO/IAEA/USDA. 2002. Manual for Product Quality Control and Shipping Procedures for Sterile Mass-Reared Tephritid Fruit Flies, Version 5.0. *International Atomic Energy Agency*, Vienna, Austria. 85 pp.
- HARRIS, R. L., E. D. FRAZAR AND R. A. HOFFMAN. 1965. Chilling others methods of immobilizing flies. *Journal of Economic Entomology*, 58: 379-380.
- HENDRICHS, J., G. ORTIZ, P. LIEDO AND A. SCHWARZ. 1983. Six years of successful medfly program in Mexico and Guatemala, pp. 353-365. In: R. Cavalloro (ed.), *Proceedings Symposium: Fruit Flies of Economic Importance*. CEC/IOBC International Symposium, 16-19 November 1982, Athens Greece. A.A. Balkena, Rotterdam, The Netherlands.
- HERNÁNDEZ, E., S. FLORES-BRECEDA, M. DE LA L. SOSA-ITURBE Y H. EZQUIVEL. 2005. Tamaño de unidad muestral

- y número de repeticiones para la estimación de los parámetros de desarrollo de *Anastrepha obliqua* y *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Folia Entomológica Mexicana*, 44: 155-164.
- HERNÁNDEZ, E., M. ROMERO, B. BRAVO, L. TIRADO, J. P. RIVERA Y J. CELAYA. 2006. Efecto de la forma de suministro de la proteína sobre la supervivencia del macho de *Ceratitis capitata*, pp. 1016-1021. En: E. G. Estrada V., J. Romero N., A. Equihua M., C. Luna L. y J. L. Rosas A. (eds.). *Entomología Mexicana* Vol. 5. Sociedad Mexicana de Entomología, Colegio de Postgraduados. Texcoco, México.
- HERNÁNDEZ, O., E., J. L. CANCINO-ARGUELLO, D. OROZCO, S. FLORES Y T. ARTIAGA. 2002. Dispersión y longevidad de moscas silvestres y de laboratorio de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) en el Soconusco, Chiapas, pp. 108-111. En: J. Romero N., E. G. Estrada V. y A. Equihua M. (eds.). *Entomología Mexicana* Vol. 1. Sociedad Mexicana de Entomología, Colegio de Postgraduados, Texcoco, México.
- HOOPER, G. H. S. 1970. Use of carbon dioxide, nitrogen, and cold to immobilize adults of the Mediterranean fruit fly. *Journal of Economic Entomology*, 63: 1962-1963.
- KASPI, R. AND B. YUVAL. 2000. Post-teneral protein feeding improves sexual competitiveness but reduces longevity of mass-reared sterile male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93: 949-955.
- KASPI, R., P. W. TAYLOR AND B. YUVAL. 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology*, 5: 279-284.
- MAOR, M., B. KAMENSKY, S. SHLOUSH AND B. YUVAL. 2004. Effects of post-teneral diet on foraging success of sterile male Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 110: 225-230.
- MÜLLER, H. G., J. L. WANG, W. B. CAPRA, P. LIEDO, AND J.R. CAREY. 1997. Early mortality surge in protein-deprived females causes reversal of sex differential of life expectancy in Mediterranean fruit flies. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 94: 2762- 2765.
- REYES V. F. 1989. *Apuntes de Autoecología de Insectos*. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L. 92 pp.
- REYES, F. J., G. SANTIAGO M. AND P. HERNÁNDEZ M. 2000. The Mexican fruit fly eradication programme, pp. 377-380. In: K. H. Tan (ed.). *Area-Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests*, Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang.
- SAS INSTITUTE. 2003. *JMP Statistical Discovery Software, Version 5.0.1*. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- SHELLY, T. E., J. EDU AND E. PAHIO. 2006. Dietary protein and mating competitiveness of sterile males of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): Measurements of induced egg sterility in large fields enclosures. *Florida Entomologist*, 89 (2): 277-278.
- SHELLY, T. E. AND D. O. MCINNIS. 2003. Influence of adult diet on the mating success and survival of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) from two mass-rearing strains on field-caged host trees. *Florida Entomologist*, 86: 340-344.
- SMALLRIDGE, C. J. AND D. C. HOPKINS. 2004. Preventative sterile fly release for the management of a Mediterranean fruit fly outbreak in South Australia, pp. 213-215. In: B. N. Brian (ed.). *Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance*. Heriotdale, Johannesburg, South Africa.
- STEVENS, L. 1991. *Manual of Standard Operating Procedures (SOP) for the Mass-rearing and Sterilization of the Mexican Fruit Fly, Anastrepha ludens (Loew)*. USDA-APHIS, South Central Region, Mission Texas. 39 pp.
- THOMAS, D. B. AND J. LOERA-GALLARDO. 1998. Dispersal and longevity of mass-released, sterilized Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Environmental Entomology*, 27: 1045-1052.
- TURNOCK, W. J. AND P. G. FIELDS. 2005. Winter climates and coldhardiness in terrestrial insects. *European Journal of Entomology*, 102:561-576.
- VILLASEÑOR, C. A. 1985. Comparación de tres sistemas de liberación aérea para mosca del Mediterráneo estéril, *Ceratitis capitata* (Wied.). Tesis. Universidad Autónoma de Chiapas, Área de Ciencias Agrícolas. Huehuetán, Chiapas. 95 pp.
- WARBURG, M. S. AND B. YUVAL. 1996. Effects of diet and activity on lipid levels of adult Mediterranean fruit flies. *Physiological Entomology*, 21: 151-158.
- WIGGLESWORTH, V. B. 1972. *The principles of insect physiology*. Chapman and Hall. London. 827 pp.
- YUVAL, B., R. KASPI, S. SHLOUSH AND M.S. WARBURG. 1998. Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology*, 23: 211-215.
- YUVAL, B., R. KASPI, S. A. FIELE, S. BLAY AND P. TAYLOR. 2002. Effects of pos-teneral nutrition on reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 85: 165-170.
- YONGGYUN, K. AND W. SONG. 2000. Effect of thermoperiod and photoperiod on cold tolerance of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 29: 868-873.
- ZAR, J. H. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey. 718 pp.