

PUPACIÓN, EMERGENCIA DE ADULTOS Y OVIPOSICIÓN DE *Comadia redtenbacheri* (LEPIDOPTERA: COSSIDAE) EN VIVERO

PUPATION, ADULT EMERGENCE AND OVIPOSITION OF *Comadia redtenbacheri* (LEPIDOPTERA: COSSIDAE) IN THE NURSERY

Isis Delgado-Tejeda¹, Celina Llanderal-Cázares^{1*}, Kalina Miranda-Perkins², Héctor M. De los Santos-Posadas¹

¹Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. 56230. Montecillo, Estado de México.
(llcelina@colpos.mx). ²Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Avenida Insurgentes Sur
1582. 03940. Colonia Crédito Constructor, Delegación Benito Juárez, CDMX.

RESUMEN

Para determinar las condiciones para el establecimiento de cultivos en vivero de *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt) se hicieron pruebas de producción del insecto. En macetas con suelo franco y cinco plantas de agave, de aproximadamente tres años, se liberaron larvas, con peso >0.30 g, se indujo la pupación y emergencia de los adultos. Las larvas se colocaron a densidades de 200, 400 y 600 por maceta con tres repeticiones distribuidas al azar. Para cuantificar la emergencia de los adultos y oviposición sobre los agaves se contaron las exuvias pupales y se pesaron las masas de huevos. El número de adultos emergidos fue diferente: 15.9 % en las macetas con 600 larvas, 1.1 % con 400 larvas y 5.3 % con 200 larvas ($p \leq 0.05$). Las masas ovipositadas también fueron diferentes: 0.9609 g con 600 larvas, 0.1257 g con 400 y 0.2694 g para 200 larvas ($p \leq 0.05$).

Palabras clave: *Comadia redtenbacheri*, *Agave salmiana*, gusano rojo de maguey, entomofagia, cría de insectos.

INTRODUCCIÓN

Around 1900 species of insects are used as food around the world (van Huis, 2013) and contribute significantly to local economies (DeFoliart, 1999). In Mexico, 535 insect species are reported to be edible (Ramos-Elorduy *et al.*, 2008). Among these is *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt), a lepidopteran of the Cossidae family, which is one of the four major wood borer families (Kalisch and Baxendale, 2010). *C. redtenbacheri* is the only species of the family reported in Mexico (Brown, 1976). Its main host species are pulque agaves, *Agave salmiana* Otto ex Salm, *A. mapisaga* Trel. and *A. atrovirens* Karw. ex Salm (Camacho *et al.*, 2003). Female *C. redtenbacheri*

ABSTRACT

To determine conditions for establishing *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt) cultures in a nursery, tests on production of the insect were conducted. Pots that contained loam soil and five agave plants approximately three years old were used. On these plants, larvae (>0.30 g) were released to induce pupation and adult emergence. The larvae were placed at densities of 200, 400 and 600 per pot with three replications distributed at random. To quantify adult emergence and oviposition on the agaves, pupal exuviae were counted and egg masses were weighed. Numbers of emerged adults were different: 15.9 % in pots with 600 larvae, 1.1 % with 400 larvae and 5.3 % with 200 larvae ($p \leq 0.05$). Weight of egg masses were also different: 0.9609 g with 600 larvae, 0.1257 g with 400 larvae and 0.2694 g with 200 larvae ($p \leq 0.05$).

Key words: *Comadia redtenbacheri*, *Agave salmiana*, maguay red worm, entomophagia, insect rearing.

INTRODUCTION

around 1900 insect species are used as human food around the world (van Huis, 2013) and contribute significantly to local economies (DeFoliart, 1999). In Mexico, 535 insect species are reported to be edible (Ramos-Elorduy *et al.*, 2008). Among these is *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt), a lepidopteran of the Cossidae family, which is one of the four major wood borer families (Kalisch and Baxendale, 2010). *C. redtenbacheri* is the only species of the family reported in Mexico (Brown, 1976). Its main host species are pulque agaves, *Agave salmiana* Otto ex Salm, *A. mapisaga* Trel. and *A. atrovirens* Karw. ex Salm (Camacho *et al.*, 2003). Female *C. redtenbacheri*

*Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: abril, 2016. Aprobado: diciembre, 2016.

Publicado como NOTA CIENTÍFICA en Agrociencia 51: 447-454. 2017.

de la madera (Kalisch y Baxendale, 2010). Las principales especies hospedantes de *C. redtenbacheri* son los magueyes pulqueros *Agave salmiana* Otto ex Salm, *A. mapisaga* Trel. y *A. atrovirens* Karw. ex Salm (Camacho *et al.*, 2003). Las hembras de *C. redtenbacheri* ovipositan masas de huevos en la base de las hojas del agave y el periodo de incubación es 30 a 35 d. Despues de la eclosión, las larvas se establecen en el rizoma del agave donde completan su desarrollo (Granados, 1993) pasando a través de siete instares larvales (Hernández-Livera *et al.*, 2005) en un periodo de cinco meses en invernadero y ocho en campo (Llanderal-Cázares *et al.*, 2007). La larva de *C. redtenbacheri*, llamada gusano rojo del maguey, es apreciada para el consumo humano y en laboratorio el período de pupación es cinco meses, en un sustrato de una mezcla a partes iguales de suelo y vermiculita de 5 cm de profundidad (Miranda-Perkins *et al.*, 2013). La longevidad de los adultos es sólo 3 a 5 d, porque su aparato bucal es atrofiado y no pueden alimentarse (Hernández-Livera *et al.*, 2005; Llanderal-Cázares *et al.*, 2007).

El gusano rojo del maguey en la zona turística de Otumba y Teotihuacán, Estado de México, tiene un precio en estado fresco de \$500.00 kg⁻¹ en temporada de recolección y \$700.00 kg⁻¹ en los meses de producción escasa (Miranda *et al.*, 2011). Pero Camacho *et al.* (2005) reportan precios de \$800.00 a \$1000.00 kg⁻¹.

La mayoría de los insectos comestibles se cosechan de poblaciones silvestres (van Huis, 2013) y del gusano rojo del maguey en temporada de lluvias de julio a septiembre, se aprovecha su comportamiento natural para la recolección, ya que el agua estimula a las larvas de último instar que están listas para pupar a salir del maguey. Pero el procedimiento típico de recolección es localizar las plantas infestadas y extraer las larvas aunque no hayan terminado su desarrollo, lo cual reduce la población silvestre (Granados, 1993; Miranda *et al.*, 2011). Además, el procedimiento afecta las poblaciones del agave, ya que los daña y no hay prácticas de replantación (Ramos-Elorduy, 2006; Llanderal-Cázares *et al.*, 2010).

Nolasco *et al.* (2002) y Camacho *et al.* (2005) intentaron establecer, en condiciones controladas, diferentes estados de desarrollo de *C. redtenbacheri*. Llanderal-Cázares *et al.* (2010) reportan el establecimiento y desarrollo de las fases larvarias de *C. redtenbacheri* hasta el estado de pupa en plantas de

oviposit masses of eggs at the base of the agave leaves. The period of incubation is 30 to 35 d. After hatching, the larvae establish in the agave rhizome where they complete their development (Granados 1993), passing through seven larval instars (Hernández-Livera *et al.*, 2005) over a period of five months in a greenhouse and eight in the field (Llanderal-Cázares *et al.*, 2007). *Comadia redtenbacheri* larvae, called maguey red worm, is regarded as human food and in the laboratory the pupation period is five months in a 5-cm deep substrate of equal parts of soil and vermiculite (Miranda-Perkins *et al.*, 2013). Adult longevity is only 3 to 5 d because their mouth apparatus is atrophied and they cannot feed (Hernández-Livera *et al.*, 2005; Llanderal-Cázares *et al.*, 2007).

The fresh maguey red worm in the tourist area of Otumba and Teotihuacán, Estado de Mexico, has a price of \$500.00 pesos a kilogram during the collection season and \$700.00 during the months of low production (Miranda *et al.*, 2011). But Camacho *et al.* (2005) report prices of \$800.00 to \$1000.00 kg⁻¹.

Most edible insects are harvested from wild populations (van Huis, 2013), and in the case of the maguey red worm, gatherers take advantage of its natural behavior for harvesting the worm during the rainy season from July to September, when the water stimulates the last instar larvae, ready to pupate, to leave the maguey. But the typical gathering procedure is to locate infested plants and extract the larvae even though they have not finished their development, causing wild populations to diminish (Granados, 1993; Miranda *et al.*, 2011). The procedure also affects the agave populations; plants are damaged and replanting practices are non-existent (Ramos-Elorduy, 2006; Llanderal-Cázares *et al.*, 2010).

Nolasco *et al.* (2002) and Camacho *et al.* (2005) attempted establishing *C. redtenbacheri* at different development stages under controlled conditions. Llanderal-Cázares *et al.* (2010) reported establishment and development of *C. redtenbacheri* larval stages up to the pupation stage on agave plants grown in a greenhouse. In the laboratory, the processes of pupation, mating, oviposition and hatching were obtained (Miranda-Perkins and Llanderal-Cázares, 2013; Miranda-Perkins *et al.*, 2016).

van Huis *et al.* (2013) believe that insect rearing under controlled conditions can help to prevent

agave en invernadero. En laboratorio se obtuvieron los procesos de pupación, apareamiento, oviposición y eclosión (Miranda-Perkins y Llanderal-Cázares, 2013; Miranda-Perkins *et al.*, 2016).

van Huis *et al.* (2013) opinan que la cría de insectos en condiciones controladas podría evitar su sobreexplotación en la naturaleza y proponen que en los trópicos el énfasis debe ser optimizar la productividad de los sistemas tradicionales, con el desarrollo de procedimientos para manejar el recurso en instalaciones de cría a pequeña escala.

Así, el objetivo de este estudio fue establecer condiciones de cultivo de *C. redtenbacheri* en macetas con plantas establecidas de agave *A. salmiana*, para evaluar el número de larvas liberadas por maceta que permita obtener los mayores porcentajes de pupación, emergencia de adultos y oviposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Recolección y establecimiento de plantas de *A. salmiana*

En Teotihuacán, Estado de México ($19^{\circ} 41' 23''$ N y $98^{\circ} 39''$ O, altitud 2272 m), se recolectaron 45 plantas de *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck, de una edad aproximada de tres años, que por lo general tienen infestación por larvas de *C. redtenbacheri* en el campo. Los agaves presentaban signos de debilidad como hojas pálidas, amarillentas o secas, que de acuerdo con Kalisch y Baxendale (2010) hacen que los barrenadores prefieran a un hospedero. Algunos de ellos también fueron elegidos por presentar algunas hojas periféricas en descomposición.

En febrero de 2014 se establecieron los agaves en un vivero en el Campus Montecillo del Colegio de Postgrados, Estado de México, cubierto con malla de 40 % de sombreo. Los 45 agaves fueron replantados en nueve macetas de plástico de $122 \times 122 \times 30$ cm, con suelo franco hasta una altura de 20 cm, procedente del mismo vivero, ya que Miranda-Perkins *et al.* (2013) compararon diferentes sustratos para la pupación y emergencia del gusano rojo del maguey, y observaron que las larvas tienen una alta capacidad para pupar en diversos tipos de sustratos. Las macetas fueron colocadas sobre mesas a 1.10 m de altura para mantenerlas alejadas de depredadores durante la experimentación. El riego se aplicó una vez por semana durante tres semanas para el establecimiento de las plantas, y se suspendió cuando se comprobó que los agaves comenzaban a enraizarse. Las plantas de maguey se mantuvieron ocho meses expuestas al ambiente hasta su utilización.

overexploitation in nature and propose that in the tropics emphasis should be on optimizing the productivity of traditional systems by developing procedures for managing the resource in small-scale rearing installations.

Thus, the objective of this study was to establish *C. redtenbacheri* rearing conditions in pots in which *A. salmiana* agave plants had been established to determine what number of larvae released per pot would obtain the highest percentages of pupation, adult emergence and oviposition.

MATERIALS AND METHODS

Biological material

Collection and establishment of *A. salmiana* plants

In Teotihuacán, Estado de Mexico ($19^{\circ} 41' 23''$ N and $98^{\circ} 51' 39''$ W, altitude 2272 m), 45 *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck plants approximately three years old were collected. These plants are generally infested by *C. redtenbacheri* larvae in the field. The agaves exhibited signs of weakness, such as pale, yellowing or dry leaves, which, according to Kalisch and Baxendale (2010), make them preferred hosts of the borers. Some of them were also selected because some of their peripheral leaves were decomposing.

In February 2014 the agaves were established in a nursery covered with 40 % shade cloth on the Montecillo Campus of the Colegio de Postgrados, Estado de Mexico. The 45 agaves were replanted in nine plastic pots, $122 \times 122 \times 30$ cm, containing loam soil up to 20 cm. The soil was from the same nursery, since Miranda-Perkins *et al.* (2013) compared different substrates for pupation and adult emergence of the maguey red worm and observed that the larvae are highly capable of pupating in different types of substrates. The pots were placed on 1.10 m high tables to keep them far from predators during experimentation. Irrigation was applied once a week for three weeks during plant establishment and was suspended when the agaves began to root. The maguey plants were kept outdoors for eight months until use.

Procurement and selection of *C. redtenbacheri* larvae

Larvae from Tulancingo, Hidalgo, were acquired on August 26 and September 12, 2014. The sample was classified as commercial, meaning that, according to Miranda-Perkins *et al.* (2013), the organisms were extracted from the agave rhizome and manipulated with no particular care during the process

Obtención y selección de larvas de *C. redtenbacheri*

Larvas de Tulancingo, Hidalgo, se adquirieron el 26 de agosto y el 12 de septiembre de 2014. La muestra se catalogó como comercial lo que implica, según Miranda-Perkins *et al.* (2013), que los organismos fueron extraídos del rizoma del agave y manipulados durante el proceso de recolecta, acopio y distribución sin un cuidado especial. Las larvas seleccionadas tenían un peso >0.30 g (a partir del quinto instar) y, según Miranda-Perkins *et al.* (2013), logran pupar si se les proporciona un sustrato adecuado. Para este estudio se usaron larvas sanas, sin signos de parasitismo o daño por patógenos según los criterios de Zetina y Llanderal (2014), y se mantuvieron en el Laboratorio de Fisiología de Insectos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en charolas con trozos de *A. salmiana* como alimento y se descartaron las que tuvieron comportamiento anormal y las muertas.

Pupación de larvas, emergencia de adultos y oviposición

En septiembre de 2014, las larvas de *C. redtenbacheri* seleccionadas se colocaron en las macetas que contenían los agaves, en densidades de 200, 400 y 600 organismos por maceta, con tres repeticiones distribuidas al azar, bajo el supuesto de que con mayor número de larvas inducidas a pupar, mayor será la emergencia de adultos. El suelo de la maceta fue removido de la superficie con una pala para facilitar el establecimiento de las larvas, que se distribuyeron sobre el suelo en grupos aproximados de 50 individuos hasta cubrir toda la superficie de la maceta. Una vez enterradas, se repetía el procedimiento hasta terminar con el número correspondiente a cada tratamiento. Después, la maceta se cubrió desde la base hasta una altura de 80 cm con una jaula de organza lisa como protección contra depredadores y se retiró cuando las larvas no salieron del suelo.

La pupación dura cinco meses en laboratorio (Miranda-Perkins *et al.* 2013), y después de ese tiempo, en febrero de 2015 se colocaron nuevamente las jaulas de organza para mantener en confinamiento a los adultos que emergieron, ovipositaron y ovipositaron sobre los agaves disponibles. En mayo de 2015, al término de la emergencia y cuando ningún adulto se observó con vida, se retiraron las jaulas y se evaluó la emergencia de los adultos mediante el conteo y el sexado de las exuvias pupales presentes en la superficie del suelo de cada maceta. Además se recolectaron las masas de huevos ovipositadas en la base de las hojas de los agaves elegidos por las hembras, se pesaron por unidad experimental y con base en el peso promedio por huevo se calculó el número de huevos en las masas ovipositadas. Este valor representa el número potencial de individuos para

of gathering, collection and distribution. The selected larvae weighed >0.30 (fifth instar) and, according to Miranda-Perkins *et al.* (2013), can achieve pupation if they are provided with a suitable substrate. For this study, healthy larvae, with no sign of parasitism or damage by pathogens, following the criteria of Zetina and Llanderal (2014), were selected and kept in the Laboratory of Insect Physiology of the Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Pieces of *A. salmiana* in trays were offered as food. Larvae that had abnormal behavior and dead larvae were discarded.

Larva pupation, adult emergence and oviposition

In September 2014, the selected *C. redtenbacheri* larvae were placed in pots containing the agaves at densities of 200, 400 and 600 organisms per pot, with three replications distributed randomly, under the assumption that the larger the number of larvae induced to pupate, the more adults will emerge. Pot soil was removed from the surface with a shovel, and the larvae were distributed over the soil in groups of approximately 50 individuals until the entire surface of the soil in the pot was covered. Once the larvae burrowed into the soil, the procedure was repeated until the number corresponding to each treatment was completed. After this, the pot was covered, from its base to a height of 80 cm with a cage made of smooth organza to protect larvae against predators. The cage was removed once the larvae no longer exited the soil.

Pupation lasted five months in the laboratory (Miranda Perkins *et al.*, 2013), and after this time, in February 2015 the organza cages were again placed over the pots to maintain in confinement the adults that emerged, mated and oviposited on the available agaves. In May 2015, at the end of emergence, when no live adults were observed, the dead were removed from the cages and adult emergence was assessed by counting and sexing the pupal exuviae present on the surface of the soil of each pot. Also, we collected egg masses oviposited at the base of the agave leaves selected by the females, they were weighed for each experimental unit and based on average egg weight, the number of eggs on masses oviposited was calculated. This number represents the potential number of individuals of the following generation. The soil was sifted to locate the remaining larvae or pupae and to detect the reason why adults did not emerge. The experiment was conducted outdoors, and so there was no control of the environmental conditions.

Statistical analyses were carried out with SAS for Windows 9.00 (2002). To compare the number of emerged adults, the Poisson regression was used, estimating maximum likelihood with the GENMOD procedure ($p \leq 0.05$). The data on weight of oviposited egg masses were analyzed with the GLM

la siguiente generación. El suelo se tamizó para localizar a los individuos que permanecieron como larvas o pupas, para detectar el motivo de la no emergencia de adultos. El experimento se realizó a la intemperie, por lo que no hubo control de las condiciones ambientales.

El análisis estadístico se realizó con SAS para Windows 9.00 (2002). Para comparar el número de adultos emergidos se usó una regresión de Poisson estimando la máxima verosimilitud con el procedimiento GENMOD ($p \leq 0.05$). Los datos del peso de masas ovipositadas se analizaron con GLM y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de pupación de *C. redtenbacheri* en vivero comenzó en septiembre de 2014 y concluyó en marzo de 2015, con el inicio la emergencia de los adultos que se prolongó hasta mayo de ese año. Cuando se liberaron 600 larvas/maceta se obtuvo un promedio de emergencia de 15.9 % y fue la mejor condición ($p \leq 0.001$), porque con la densidad de 400 larvas/maceta el promedio fue 1.1% y 5.3 % con 200 individuos/maceta (Cuadro 1).

Mediante el sexado de las exuvias pupales de los adultos emergidos poco más de la mitad fueron hembras para las tres densidades larvarias utilizadas: 48 hembras y 46 machos para 600, 2 hembras y 2 machos para 400 y 6 hembras y 4 machos para la densidad 200 larvas. Si se considera que cada hembra puede dar origen a 104 descendientes en promedio (Ramírez-Cruz y Llanderol-Cázares, 2015), las 48 hembras de la densidad de 600 larvas/maceta, podrían dar origen a 4992 larvas las cuales serían suficientes para infestar los agaves disponibles.

Camacho *et al.* (2003), en un estudio a la intemperie, colocaron larvas de *C. redtenbacheri* para la pupación y obtuvieron 15 % de emergencia e infieren que este bajo porcentaje pudo deberse a los cambios

procedure and means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The pupation process of *C. redtenbacheri* in the nursery began in September 2014 and concluded in March 2015 with the beginning of adult emergence, which lasted until May of the same year. When 600 larvae/pot were released, average emergence of 15.9 % was obtained and this was the best condition ($p \leq 0.001$); with the density of 400 larvae/pot, average emergence was 1.1 % and 5.3 % with 200 larvae/pot (Table 1).

By sexing the pupal exuviae of the emerged adults, we found that a little more than half were females for the three larval densities used: 48 females and 46 males (600), 2 females and 2 males (400) and 6 females and 4 males (200). Considering that each female can produce 104 descendants on average (Ramírez-Cruz and Llanderol-Cázares, 2015), the 48 females in the density of 600 larvae/pot could yield 4992 larvae, sufficient to infest the available agaves.

Camacho *et al.* (2003), in an outdoor study, placed *C. redtenbacheri* larvae to pupate and obtained 15 % emergence; they inferred that the low percentage was due to drastic changes in light and temperature. In our study, the low emergence may have been due to excessive moisture in the pots from water retained by the soil due to rain during the time the experiment lasted, which was difficult to drain because of the size of the pots, and this may have induced the larvae that were inside their cocoons to exit again to search for another site for pupation. Miranda-Perkins *et al.* (2013) reported that when moisture was not provided to the larvae, adult emergence increased 50 %. Another cause of low emergence may have been the origin of the larvae. When larvae are from commercial samples,

Cuadro 1. Número promedio de adultos emergidos por densidad larvaria de *C. redtenbacheri*, mediante la prueba de regresión Poisson.

Table 1. Average number of *C. redtenbacheri* adults emerged, by larval density, using Poisson regression test.

Parámetro	Estimador	Error Estándar	Pr>Z	Media estimada en individuos promedio emergidos
Densidad 600 larvas	4.561	0.0466	<0.0001	95.66
Efecto de densidad 200 larvas respecto a 600	-2.192	0.3575	<0.0001	10.68
Efecto de densidad 400 larvas respecto a 600	-3.020	0.3280	<0.0001	4.66

drásticos de luz y temperatura. En nuestro estudio, la baja emergencia se pudo deber al exceso de humedad en las macetas porque el agua retenida por el suelo debido a las lluvias durante el experimento, era difícil de drenar por el tamaño de las macetas y esto pudo inducir a las larvas que estaban dentro de su capullo a salir de nuevo en busca de otro sitio para la pupación. Miranda-Perkins *et al.* (2013) reportan que al no proporcionar humedad a las larvas de *C. redtenbacheri* la emergencia de adultos aumentó 50 %; pero otra causa de la baja emergencia pudo deberse al origen de las larvas que provenían de muestras comerciales, lo que reduce en 50 % la emergencia de los adultos. En crías de insectos la manipulación directa de las larvas debe ser mínima durante todo su desarrollo, porque les causa estrés (Madrigal 2001).

La presencia de entomopatógenos en el suelo usado como sustrato para la pupación, también pudo tener una función importante en el bajo porcentaje de emergencia. Del suelo tamizado de las nueve macetas se recuperaron 995 individuos en diferentes etapas de desarrollo desde larvas, prepupas en la gran mayoría y pupas a término. Así, es probable que el ataque de entomopatógenos impida que las larvas lleguen al estado de pupa y si se alcanza, eviten el desarrollo completo de los adultos. De individuos recuperados se analizaron 10 muestras y se encontraron hongos de los géneros *Rhizopus*, *Penicillium* y *Aspergillus*, que con frecuencia están como patógenos en crías de insectos (Shapiro, 1984). *Rhyzopus stolonifer* (Ehrenberg: Fries) Vuillemin es saprófito en el suelo y se ha encontrado en dietas para alimentación del gusano de seda *Bombyx mori* L. (Trivedy *et al.*, 2011). Miranda-Perkins *et al.* (2013) registraron cerca de 40 % de larvas de *C. redtenbacheri*, depositadas en suelo para la pupación, infectadas por *Beauveria* spp., y Hernández-Flores *et al.* (2015) reportan asociación de larvas de *C. redtenbacheri* con varios géneros de bacterias.

Aunque la intensidad en la transmisión de las enfermedades en las poblaciones de insectos es proporcional al número de individuos susceptibles y al incremento del estrés asociado con altas densidades de población (Steinhaus, 1958, Vilaplana *et al.*, 2008), hay ejemplos de insectos que muestran plasticidad fenotípica en respuesta a cambios en la densidad poblacional, lo cual se denomina profilaxis denso-dependiente (Simpson *et al.*, 2001). Así, *Schistocerca gregaria* cuando se encuentra en altas densidades

adult emergence is reduced 50 %. In insect rearing direct manipulation of the larvae should be minimal during their entire development to avoid causing stress (Madrigal 2001).

The presence of entomopathogens in the soil used as substrate for pupation may also have had an important role in the low percentage of emergence. When the soil of the nine pots was sifted, we recovered 995 individuals in different stages of development, from larvae, prepupae (the great majority), and pupae to term. It is likely that an attack of entomopathogens would impede larvae from reaching the pupa stage, and if they do pupate, they are prevented from complete development into adults. Of the individuals recovered, 10 samples were analyzed, and fungi of the genera *Rhizopus*, *Penicillium* and *Aspergillus* were found. These are often found as pathogens in insect rearing (Shapiro, 1984). *Rhyzopus stolonifer* (Ehrenberg: Fries) Vuillemin is a saprophyte in the soil and has been found in diets for silk worms *Bombyx mori* L. (Trivedy *et al.*, 2011). Miranda-Perkins *et al.* (2013) recorded that nearly 40 % of the *C. redtenbacheri* larvae deposited in the soil for pupation were infected by *Beauveria* spp., and Hernández-Flores *et al.* (2015) reported *C. redtenbacheri* larvae associated with several genera of bacteria.

Although disease transmission intensity in insect populations is proportional to the number of susceptible individuals and to the increase in stress associated with high population densities (Steinhaus, 1958; Vilaplana *et al.*, 2008), there are examples of insects that exhibit phenotypic plasticity in response to changes in population density, a phenomenon called denso-dependent prophylaxis (Simpson *et al.*, 2001). For example, when *Schistocerca gregaria* are found in high densities, they are more resistant to the fungus *Metarhizium anisopliae* than solitary locusts, due to a potentiated antimicrobial activity in their defense systems (Wilson *et al.*, 2002). This characteristic could have occurred in the case of *C. redtenbacheri*, since a higher rate of emergence occurred at the highest density (600 larvae per pot).

For weight of oviposited egg masses, the best treatment was the density of 600 larvae ($p \leq 0.013$), relative to the other densities evaluated (Table 2), obtaining an average of 0.961 g, which, when divided by the calculated average weight of each egg (0.00056 g), results in an equivalent of 1715 eggs. This translates as the number of potential larvae:

presenta mayor resistencia al hongo *Metarhizium anisopliae* que las langostas solitarias, debido a una actividad antimicrobiana potenciada en sus sistemas de defensa (Wilson *et al.*, 2002). Esa característica pudo presentarse en el caso de *C. redtenbacheri*, ya que la mayor emergencia ocurrió cuando se usó la mayor densidad de 600 larvas por maceta.

Para el peso de masas de huevos ovipositadas el mejor tratamiento fue el establecido con la densidad de 600 larvas ($p \leq 0.013$) con respecto a las otras densidades evaluadas (Cuadro 2), y se obtuvo un promedio de 0.961 g; con base en el peso promedio calculado de cada huevo (0.00056 g) equivale a 1715 huevos. Esto se traduce al mismo número de larvas potenciales y se obtiene casi el total de las larvas utilizadas (95 %) para las tres repeticiones (1800 larvas). Bajo un sistema de manejo, aún si una tercera parte de los huevos no fuera fértil, si las larvas sobrevivientes se establecieran en los agaves y continuaran su desarrollo, en las generaciones siguientes los adultos podrían realizar una nueva infestación de los agaves disponibles en el área destinada para tal fin.

Debido a que los porcentajes más altos de emergencia de adultos y oviposición se observaron en el tratamiento con mayor número de larvas (600), es conveniente en otros experimentos aumentar la densidad de individuos para obtener una producción mayor en la misma superficie. Así el sistema sería más eficiente, además de usar larvas de origen no comercial.

CONCLUSIONES

El establecimiento de *C. redtenbacheri* en vivero fue posible mediante la liberación de larvas en plantas de agave establecidas en macetas y a la intemperie. La pupación, emergencia de los adultos y oviposición sobre los agaves disponibles se logró con las densidades usadas, y el mejor resultado se obtuvo con la densidad de 600 larvas por maceta. En otros estudios la especie debiera continuar su desarrollo, para que en la siguiente generación las larvas que eclosionen de las masas de huevos puedan establecerse por sí mismas en las plantas de agave disponibles. El uso de altas densidades de larvas por unidad de superficie para la infestación inicial, podría resultar en mayor emergencia de adultos y oviposición.

almost the same number (95 %) of the larvae obtained initially in the three replications (1800). Under a management system, even if a third of the eggs were not fertile and if the surviving larvae established in the agaves and continued their development, in the following generations, the adults could accomplish a new infestation of the agaves available in the area destined to that end.

Because the highest percentage of adult emergence and oviposition were observed in the treatment with the largest number of larvae (600), it is advisable to increase the density of individuals in other experiments to obtain higher production in the same area. Thus, the rearing system would be more efficient; besides, non-commercial larvae should be used.

CONCLUSIONS

Comadia redtenbacheri establishment in the nursery was possible by releasing larvae on agave plants growing in pots and kept outdoors. Pupation, adult emergence and oviposition on the available agave plants was achieved with the densities used. The best result was obtained with the density of 600 larvae per pot. In further studies, the species should continue its development so that in the following generation, the larvae that hatch from the egg masses can establish on their own in the available agave plants. The use of higher densities of larvae per unit of area for initial infestation could result in higher adult emergence and oviposition.

—End of the English version—



Cuadro 2. Peso promedio de las puestas ovipositadas por *C. redtenbacheri*, por densidad larvaria.

Table 2. Average weight of egg masses of *C. redtenbacheri*, by larval density.

Densidad	Media (peso total de masas g)	N	Agrupamiento Tukey
600 larvas	0.9609	3	A
400 larvas	0.1257	3	B
200 larvas	0.2694	3	B

Valores con diferente letra son estadísticamente diferentes (Tukey; $p \leq 0.05$). ♦ Values with different letters are statistically different (Tukey; $p \leq 0.05$).

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo a través del proyecto 166898, "Biología de *Comadia redtenbacheri* Hamm."

LITERATURA CITADA

- Brown R., M. 1976. A revision of the North American *Comadia* (Cossidae). J. Res. Lepid. 14: 189-212.
- Camacho, A. D., A. Sánchez H., J. E. Jiménez L., y A. Nolasco M. 2003. Observaciones en condiciones de laboratorio de la biología del "gusano rojo del maguey" *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). Entomol. Mex. 2: 281-287.
- Camacho, A. D., A. Nolasco M., J. E. Jiménez-Luna, y F. Rivera-Torres. 2005. Reintroducción de maguey y cultivo del gusano rojo *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). Entomol. Mex. 4: 599-603.
- DeFoliart, G. R. 1999. Insects as food: why the western attitude is important. Annu. Rev. Entomol. 44: 21-50.
- Granados, D. S. 1993. Los Agaves en México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 252 p.
- Hernández-Flores, L., C. Llanderal-Cázares, A. W. Guzmán-Franco, and S. Aranda-Ocampo. 2015. Bacteria present in *Comadia redtenbacheri* larvae (Lepidoptera: Cossidae). J. Med. Entomol. 52: 1150-1158.
- Hernández-Livera R. A., C. Llanderal-Cázares, E. Castillo-Márquez, J. Valdez-Carrasco, y R. Nieto-Hernández. 2005. Identificación de instares larvales de *Comadia redtenbacheri* (Hamm) (Lepidoptera: Cossidae). Agrociencia 39: 539-544.
- Kalisch, J. A., and F. P. Baxendale. 2010. Insects borers of shade trees and woody ornamentals. EC1518. University of Nebraska, Cooperative Extension. 8 p.
- Llanderal-Cázares C., R. Nieto-Hernández, I. Almanza-Valenzuela, y C. Ortega-Álvarez. 2007. Biología y comportamiento de *Comadia redtenbacheri* (Hamm) (Lepidoptera: Cossidae). Entomol. Mex. 6: 252-255.
- Llanderal-Cázares C., H. M. De los Santos-Posadas, E. I. Almanza-Valenzuela, R. Nieto-Hernández, y C. Castillejos-Cruz. 2010. Establecimiento de larvas de *Comadia redtenbacheri* Hamm. en plantas de maguey en invernadero. Acta Zool. Mex. (n. s.) 26: 25-31.
- Madrigal, A. 2001. Cría de insectos en laboratorio. In: Control Biológico de Plagas. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. pp: 266-295.
- Miranda G., B. Quintero, y B. Ramos. 2011. La recolección de insectos con fines alimenticios en la zona turística de Otumba y Teotihuacán, en el Estado de México. Rev. Turismo y Patrimonio Cultural 9: 81-568.
- Miranda-Perkins K., y C. Llanderal-Cázares. 2013. Cruzas con diferente proporción de sexos en *Comadia redtenbacheri* Hamm. Entomol. Mex. 12: 530-533.
- Miranda-Perkins, K., C. Llanderal-Cázares, H. M. De los Santos-Posadas, L. Portillo- Martínez, and A. L. Vigueras- Guzmán. 2013. *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) pupal development in the laboratory. Fla. Entomol. 96: 1424-1433.
- Miranda-Perkins, K., C. Llanderal-Cázares, M. Cadena-Barajas, and J. López-Sauceda. 2016. Adult emergence and reproductive behavior of *Comadia redtenbacheri* in confinement. Southwestern Entomol. 41: 657-665.
- Nolasco M. A., J. E. Jiménez-Luna., y Camacho A. D. 2002. Inducción a la pupación y colonización del gusano rojo del maguey *Comadia redtenbacheri* H. (Lepidoptera: Cossidae). Entomol. Mex. 1: 125-130.
- Ramírez-Cruz, A., y C. Llanderal-Cázares. 2015. Morfología del sistema reproductor de la hembra de *Comadia redtenbacheri* (Hammerschmidt) (Lepidoptera: Cossidae). Acta Zool. Mex. (n. s.) 31: 431-435.
- Ramos-Elorduy, J. 2006. Threatened edible insects in Hidalgo, México and some measures to preserve them. J. Ethnobiol. Ethnomed. 2: 1-10
- Ramos-Elorduy J., J. M. Pino, y V. H. Martínez C. 2008. Base de Datos de los Insectos Comestibles de México. UNIOBIO-IBUNAM. 78 p.
- SAS Institute. 2002. The SAS system for Windows. Release 6.2.9200. SAS Inst., Cary, NC, USA.
- Shapiro, M. 1984. Microorganisms as contaminants and pathogens in insect rearing. In: King, E. G., and N. C. Leppla (eds). Advances and Challenges in Insect Rearing. USDA. Washington, D. C. pp: 130-142.
- Simpson S. J., E. Despland, B. F Hagele, and T. Dodgson. 2001. Gregarious behavior in desert locusts is evoked by touching their back legs. Proc. Nat. Academy Sci. 98: 3895-3897.
- Stamp, N. E. 1980. Egg deposition patterns in butterflies: Why do some species cluster their eggs rather than deposit them singly? Amer. Nat. 115: 367-380.
- Steinhaus, E. A. 1958. Crowding as a possible stress factor in insect diseases. Ecology 39: 503-514.
- Trivedy, K., K. S Nirmal, N. Vinutha, and S. M. H. Qadri, 2011. *In vitro* testing of common disinfectants used in sericulture to control the growth of fungi in rearing houses. Res. J. Microbiol. 6: 439-465.
- van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annu. Rev. Entomol. 58: 563-583.
- van Huis, A., J. Itterbeek V., H. Klunder, E. Mertens, A. Halloran, G. Muir, and P. Vantomme. 2013. Edible Insects - Future Prospects for Food and Feed Security. FAO Forestry Paper. Roma. 171 p.
- Vilaplana, L., E. M. Redman, K. Wilson, and J. S. Cory. 2008. Density related variation in vertical transmission of a virus in the African armyworm. Oecologia 155: 237-246.
- Wilson, K., M. Thomas, S. Blanford, M. Doggett, S. Simpson, and S. Moore. 2002. Coping with crowds: Density-dependent disease resistance in desert locusts. Proc. Nat. Academy Sci. 99: 5471-5475.
- Zetina, D. H., and C. Llanderal-Cázares. 2014. Signs and symptoms in *Comadia redtenbacheri* Hamm. (Lepidoptera: Cossidae) larvae affected by parasitoids. Southwest. Entomol. 39: 285-290.