REVISTA NICARAGUENSE DE ENTOMOLOGIA

N° 188 Enero 2020

Factores que influyen el proceso de metamorfosis de Zophobas sp. (Coleoptera: Tenebrionidae) en sistemas de producción de alimento vivo.

Milton Francisco Úbeda Olivas, José David Quiroz, Gena del Carmen Abarca & Jean-Michel Maes



PUBLICACIÓN DEL MUSEO ENTOMOLÓGICO ASOCIACIÓN NICARAGÜENSE DE ENTOMOLOGÍA LEON - - - NICARAGUA La Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) es una publicación reconocida en la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (Red ALyC) e indexada en los índices: Zoological Record, Entomological Abstracts, Life Sciences Collections, Review of Medical and Veterinary Entomology and Review of Agricultural Entomology. Los artículos de esta publicación están reportados en las Páginas de Contenido de CATIE, Costa Rica y en las Páginas de Contenido de CIAT, Colombia. Todos los artículos que en ella se publican son sometidos a un sistema de doble arbitraje por especialistas en el tema.

The Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) is a journal listed in the Latin-American Index of Scientific Journals. It is indexed in: Zoological Records, Entomological, Life Sciences Collections, Review of Medical and Veterinary Entomology and Review of Agricultural Entomology. Reported in CATIE, Costa Rica and CIAT, Colombia. Two independent specialists referee all published papers.

Consejo Editorial

Jean Michel Maes
Editor General
Museo Entomológico
Nicaragua

José Clavijo Albertos Universidad Central de Venezuela

Weston Opitz
Kansas Wesleyan University
United States of America

Miguel Ángel Morón Ríos & Instituto de Ecología, A.C. México

Julieta Ledezma Museo de Historia Natural "Noel Kempf" Bolivia Fernando Hernández-Baz Editor Asociado Universidad Veracruzana México

Silvia A. Mazzucconi Universidad de Buenos Aires Argentina

Don Windsor Smithsonian Tropical Research Institute, Panama

> **Jack Schuster** Universidad del Valle de Guatemala

> Olaf Hermann Hendrik Mielke Universidade Federal do Paraná, Brasil

Fernando Fernández Universidad Nacional de Colombia

Foto de la portada: Zophobas sp. (foto Milton Úbeda).

Factores que influyen el proceso de metamorfosis de Zophobas sp. (Coleoptera: Tenebrionidae) en sistemas de producción de alimento vivo.

Milton Francisco Úbeda Olivas¹, José David Quiroz², Gena del Carmen Abarca³ & Jean-Michel Maes⁴

RESUMEN

Los insectos del genero Zophobas han sido utilizados desde 1996 para fines de alimentación animal (Reptiles) en Nicaragua. Este es un coleóptero ampliamente distribuido a través de américa y parte de la india. Esta investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Zoocriadero de Reptiles de la UNAN-Managua, Nicaragua. Se usó una muestra aleatoria de 178 larvas de Zophobas producidas en la sección de producción de alimento vivo del Zoocriadero. Los objetivos de esta investigación fueron determinar los factores que influyen en el proceso de metamorfosis de Zophobas sp. en sistemas de crianza. Para ello efectuaron seis experimentos donde a priori se determinó el efecto de cualidades biológicas tales como el tamaño larval, edad larval; además se probó el efecto del tamaño de recipientes en donde se lleva a cabo la metamorfosis. Posteriormente se realizaron los ensayos con factores físicos como temperatura, humedad y luz. Se logró probar que la exposición a ciertos valores de temperatura y humedad ocasiona estrés en la fase larvaria inhibiendo en algunos casos la inducción de la metamorfosis, así como constatar que la luz no influye en la demora del proceso de metamorfosis. Se concluyó que los efectos de los factores puestos a prueba solo tienen efecto en la fase larvaria de la metamorfosis, por lo tanto, la fase puparía es casi constante y no se ve afectada por la interacción con algún factor. La fase puparía solo se ve afectada por la prolongación a valores mayores a 34 grados de temperatura aumentando la mortalidad en un 20 % por cada grado que aumenta la temperatura. Se identificaron factores que inciden en el proceso de metamorfosis con el propósito de aportar al conocimiento de la biología de estas especies en cautiverio, así como crear una metodología estándar para llevar a cabo este proceso en sistemas de crianza.

Palabras claves: Proceso de inducción, insectos, manejo, metamorfosis, factores físicos, Zoocriadero.

¹ milton.ubeda@gmail.com

³ genatortuga@gmail.com

² josequiroz75@hotmail.com

⁴ jmmaes@bio-nica.info

ABSTRACT

Insects of the genus Zophobas have been used since 1996 for entomophagous purposes in Nicaragua. This black beetle is widely distributed throughout America and part of India. The investigation was carried out at the Zoocriadero de Reptiles of UNAN-Managua with a grant of Fondo para Proyectos de Investigation (FPI) of UNAN-Managua. A sample of 178 Zophobas sp. larvae have been reared in the live food production section of the nursery. The objective of the present work was to determine the factors that influenced the metamorphosis process of Zophobas sp. and 6 experiments were carried out to analyze the effect of biological qualities and physical factors, this study was carried out in two phases, first phase was testing biological qualities and later physical factors. We also identify factors that decrease induction success, establishing management alternatives in the method of a metamorphosis induction technique. The results of the study show that the size of the vessels (P = 0.022), larval age (P = 0.0001), larval size (P = 0.020) and humidity had an effect on the larval phase of the metamorphosis (P = 0.05), that is to say its effect was demonstrated in the total duration of the metamorphosis where the value of the calculated statistic was (P <0.05). It was concluded that the larval stage of metamorphosis is the most vulnerable and that it originates the source of variation in the metamorphosis and that the pupal phase is only affected by the prolonged exposure to temperatures higher than 34 C that cause high death rate.

Keywords: Induction success, insect, management, mass rearing, metamorphosis, physical factors, Zoocriadero.

INTRODUCCIÓN

Los insectos son nuestro gran competidor por el alimento, pero "nos proporcionan importantes servicios ecosistémicos ligados a la productividad de los sistemas de cultivo que sustentan la demanda de recursos vitales para la humanidad" (Losey & Vaughan 2006; Price, 2011). La clase insecta es por mucho la más diversa del mundo animal, incluso más que las plantas (Ferrer, 2011) y en esta se agrupa los coleópteros, que conforman el orden más variado y numeroso de los insectos (Price, 2011). En el orden Coleoptera se encuentran los Tenebrionidos (Tenebrionidae) que es una familia ampliamente distribuida por mundo y que engloba las especies de los géneros *Zophobas* y *Macrozophobas* (Ferrer, 2011) las cuales tienen una distribución natural marcada en el continente americano, de donde es originario (Tschinkel & Wilson, 1971) especialmente en todo el Sur de América, Caribe, Centroamérica y México (Tschinkel, 1984).

Algunas especies del genero *Zophobas* pueden mostrar colores llamativos y patrones en sus élitros y pronoto, aunque en su gran mayoría suelen ser de color oscuro, lo que tiende a complicar la diferenciación entre especies. Existe confusión en la clasificación especifica de las especies de *Zophobas* hasta el punto de considerarse una súper-especie compuestas de un gran número de morfoclinas (Endler, 1977), "cuya área de origen y distribución ha sido definitivamente alterada por la acción humana" (Ferrer, 2000), por ello en muchos estudios se nombra *Zophobas* sp. omitiendo su identificación taxonómica exacta.

Las larvas de escarabajos del género *Zophobas* se utilizan desde 1977 para fines de alimentación de animales en cautiverio (Friedrich & Volland 1981) y actualmente se promueve su uso en sistemas de crianza de reptiles en Nicaragua y la región Centroamérica por su fácil manejo y alta productividad. Las *Zophobas* tienen utilidad como alimento vivo para reptiles, artrópodos, mamíferos y aves por su alto contenido proteico, equilibrada composición de nutrientes y buena elegibilidad (Jabir *et al.* 2012, Park *et al.* 2013, Schulte 1996). Estudios recientes reportan que la cría de peces juveniles (*Oreochromis niloticus*) a base de harina de *Zophobas* genera confortables rendimientos en malasia (Mdar *et al.*, 2012).

A pesar del empleo masivo de especies del género *Zophobas* en el comercio, los estudios sobre la biología de sus especies son escasos (Ferrer, 2011). Autores anteriores dedujeron que *Zophobas* sp. es estrictamente dependiente del aislamiento para que inicie su metamorfosis (Quennedey, 1995), sin embargo, no determinaron lo que ocasiona las variaciones en el tiempo que demora dicho proceso.

La inducción de la metamorfosis es un procedimiento de manejo que consiste en aislar las larvas en pequeños recipientes contenedores individuales. Esta práctica tiene como objetivo obtener imagos para que estos se apareen y de esta forma darles continuidad a los ciclos de producción en sistemas de crianza. Cuando se realiza la inducción de metamorfosis existe una gran variabilidad en la duración del proceso. Esta variabilidad genera retraso, muerte y complicaciones de planificación en términos de manejo de la especie en sistemas de crianza, por lo que en este trabajo se enfocó a contrastar la hipótesis que siguiere que las cualidades biológicas y factores físicos a los que se exponen las larvas durante la metamorfosis genera efectos significativos que se ven reflejados en la aceleración o retraso en el proceso de metamorfosis. En el laboratorio se analizaron los efectos a través de una variable continua que estaba constituida por los días que demoraba cada fase de la metamorfosis. El Análisis de Componentes Principales (ACP) y pruebas no paramétricas (KS) permitieron definir el grado de interacción de las variables y la relación entre ellas en un plano geométrico con el fenómeno en cuestión.

Los factores que se pusieron a prueba en este estudio fueron la exposición a la luz, altas temperaturas y humedades relativas, así como dos cualidades biológicas de las larvas; tamaño larvario, edad larvaria y el efecto que generaba el tamaño de los recipientes que se usan para inducir la metamorfosis de las larvas. Los experimentos se realizaron de tal forma que el factor estudiado sea el único valor de contraste y los demás factores (ambientales) sean los mismos para cada tratamiento durante el experimento.

La importancia de nuestro estudio radica en la generación de modelos para resolver los problemas más importantes planteados en la crianza de larvas de este género, así como establecer el método óptimo para llevar a cabo el proceso metamorfosis en corto tiempo. Además, generar conocimiento sobre la dinámica y factores que influyen en la metamorfosis de la especie.

Esta investigación se realizó en el Zoocriadero de Reptiles de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua en el transcurso del año 2017 con el financiamiento del Fondo para Proyectos de Investigación (FPI) de la UNAN-Managua.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la fase inicial del proyecto se criaron las larvas (unidades experimentales) en el laboratorio del Zoocriadero de reptiles de la UNAN-Managua (sección de producción de alimento vivo) bajo estricto control de edad, peso, tamaño e iguales estándares de alimentación, así como la precaución de la combinación de individuos de grupos con edades diferentes para evitar sesgos.

Los experimentos se llevaron a cabo sometiendo larvas a inducción de metamorfosis. Cada experimento fue de 40 larvas (N=40), 10 para cada uno de los tres tratamientos (Tn=10) con diferente intensidad del factor (Edad, Tamaño, Volumen de recipiente, Luz, Humedad y Temperatura) y un grupo control o testigo (C=10).

Donde N= 40; Tn=1,2,3,C, donde Tn=10.

Como variable de respuesta se midió el tiempo que se demoraba cada larva en terminar las fases de la metamorfosis. Se establecieron como fases de primera importancia; fase larvaria (L), fase puparía (Pu) y duración total de la metamorfosis (DT) (ver figura 1).

Se realizaron seis experimentos (edad, tamaño, volumen de recipiente, luz, humedad y temperatura) y un grupo control o testigo (C=10) en dos fases: cualidades biológicas de las larvas y factores físicos.

Para validar los resultados se realizaron dos réplicas. Los tratamientos consisten en diferentes valores o intensidades del factor o cualidad de la larva.



FIGURA 1. Tres fases de la metamorfosis de *Zophobas* sp. consideradas en los experimentos del estudio. A); fase larvaria (L) corresponde a los días que demora desde el día de la inducción hasta la fase puparía (PU); B) tiempo que demora el estadio puparía (PU) hasta que se transforma en imago y C); corresponde a la demora total de la metamorfosis (DT).

Para determinar el efecto de los recipientes en la metamorfosis se procedió a ubicar larvas de la misma edad, tamaño y descendencia, es decir larvas del mismo stock en recipientes de; 1 onza (t1), 2 onzas (t2) y 3 onzas respectivamente (t3). Para el experimento de edad larvaria se utilizaron larvas de 60(t1), 80 (t2) y 90 (t3) días de edad y un grupo control de 110 días. Para el tamaño larvario se clasificaron larvas de la misma edad (120 días) en tres clases diferentes de tamaño (4 - 4.5 cm, 5 - 5.5 cm y 6 a 6.6 cm y el grupo control que consto de larvas elegidas aleatoriamente dentro del mismo stock. Los experimentos no requirieron del control de variables como temperatura y humedad, por ello se llevaron a cabo simultáneamente en condiciones naturales tratando de contrastar únicamente la variable en prueba.

En la segunda fase (factores físicos) se efectuaron las pruebas que corresponden a factores físicos, tales como temperatura entre 30 - 36 grados Celsius, humedad e intensidad de luz sobre el proceso de metamorfosis.

Para los experimentos de exposición a temperatura, se fabricó una incubadora artesanal con ayuda del departamento de Electricidad de la UNAN, Managua.

La incubadora se dividió en secciones donde se establecieron tres intensidades de temperatura con ayuda de la activación de lámparas de filamento al vacío las cuales se controlaron de forma periódica mediante la activación de una alarma de termohigrómetro, termómetros e hidrómetros.

Cada sección de la incubadora tenía un valor de temperatura único el cual se mantenía entre los rangos prestablecidos gracias a la ayuda de ventiladores y un termostato. Los valores eran 30 -32 C, 32 - 34 C y 34 - 36 C. El grupo control estaba determinado por la temperatura ambiente con larvas de la misma población.

Para determinar la influencia de la humedad se sometieron larvas a tres niveles de humedad relativa en el interior del ambiente de cajas de plástico herméticas de 50 cm x 30 cm. En el interior de las cajas contenían esponjas de 50 cm x 6 cm. Se logró establecer tres niveles de humedad mediante a la adición o disminución de agua a las esponjas con ayuda de un atomizador de 500 ml. Los rangos de humedad en el ambiente de cada una de las cajas fueron de 50-56 %, 58-62% y 72-78 %. La humedad relativa del grupo fue de 55%.

Para los tratamientos de intensidad de luz, se confeccionaron tres cajas con iluminación controlada con ayuda de potenciómetros de 1 kilo-ohm (1 k Ω) que regulaban la intensidad que irradiaban las bujías en cada caja. Las bujías eran de tipo led de óptima durabilidad, bajo recalentamiento y de 1140 lúmenes de intensidad máxima a corriente máxima. Las bujías estaban adheridas a una baquelita en la parte superior de las cajas. La iluminación del sistema se alimentó con energía alterna de 12 voltios. Los rangos de iluminación que se establecieron fueron: 41 lux, 369 lux y 717 lux. El grupo control se llevó a cabo con larvas de la misma población a 1-3 lux de luminosidad.

Se realizó un sondeo de la población estudiada que consto con una muestra de 179 unidades experimentales. A partir del cálculo de la varianza y la desviación estándar del tiempo que demoro la metamorfosis se calculó el error permisible aceptable (€) de la muestra y este fue de 1.2 días con una confianza de 1.02 % de error lo que se consideró aceptable para inferir sobre el fenómeno estudiado.

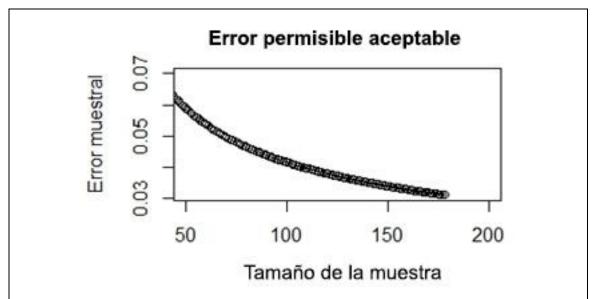


FIGURA 2: Gráfica de acumulación del error permisible aceptable en función del tamaño de muestra y la variancia calculada. NOTA: se puede observar que a mayor número de observaciones el error disminuye.

Con el programa R statistic y la librería (ade4) se procedió a realizar un análisis de componentes principales (ACP) cuyo propósito es entender la direccionalidad de las 19 variables. Se consideraron 3 ACP y se logró extraer el 80.26 % de la variabilidad. Se ordenó la información en un cuadro de datos de los tres componentes y se graficaron para analizar la dimensionalidad de las variables.

Se probó normalidad con una prueba de Kolmogorov-Smirnov (prueba K-S) con datos normalizados con base log 10, sin embargo, los datos no se ajustaron a la curva normal y sus varianzas eran desiguales, por ello se procedió a hacer el análisis de causa y efecto con una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

Efecto del tamaño de los recipientes. Los resultados de la prueba de tamaño de recipientes en la metamorfosis muestran que el tamaño de los frascos solo influye en la fase larvaria del proceso de la metamorfosis (P=0.02). La fase puparía de la metamorfosis no se mostró modificada (P>0.05). Además, El tamaño de los recipientes no repercutió en la duración total de la metamorfosis (DT) (P= 0.051 > 0.05) (ver figura 3 a).

Tamaño de las larvas. Los resultados del análisis mostraron que en la etapa (L) y en (DT) se muestra diferencias significativas entre los tres grupos del experimento (P<0.05). En la etapa larvaria se mostró una diferencia significativa (P=0.02). En esta fase las larvas de diferentes tamaños mostraron rangos muy diferentes expresados en días (Ver figura 3 b). En la fase (PU) se observó que el tamaño larvario no influye en la duración de esta fase (P=0.35 > 0.05) por ende es igual para todos los tamaños larvales.

Edad larvaria en el proceso de metamorfosis. Se afirma con un error (€) estimado de 1.2 días que la edad larvaria influye directamente en el tiempo que demoran las larvas finalizar la etapa larvaria (L) de la metamorfosis (P=<0.05). La edad larvaria correspondiente a las edades de 60, 80 y 90 días tienen un efecto significativo en la duración total de la metamorfosis (P=>0.05) (ver tabla 1). En la etapa puparía las larvas que fueron inducidas no mostraron diferencias entre los tratamientos, lo que refleja que la edad no genera variación en la duración de los estadios púpales (P=0.15).

Temperatura. La tasa de mortalidad disminuyó a medida que la temperatura disminuía y tomaba los valores del ambiente. El efecto de la temperatura se vio más enmarcado en la etapa larval, sin embargo, es evidente que la temperatura adecuada para la inducción de metamorfosis es 29 a 32 °C.

Las temperaturas sobre los 32 °C, ocasionan retardo total de la metamorfosis en la fase larvaria (P=0.02). Las larvas que se inducen a una temperatura en el rango de 28 a 32 °C presentan una mortalidad igual a cero, mientras que las larvas expuestas de manera periódica a una temperatura de 32 a 34 °C, mostraron una mortalidad del 20% que equivale a 6 larvas. A medida que la exposición a la temperatura aumenta la mortalidad tiende a ser mayor. Las larvas del tratamiento que consistió en exponer las larvas a un rango de 34 -36 C, murieron en un 60% que equivalen a 18 larvas de 30. Las larvas expuestas a rangos de 36 a 38 °C murieron en su totalidad (ver figura 3).

Efectos de la intensidad de luz en la metamorfosis. La luz no ocasionó ningún retardo o aceleración en ninguno de los tratamientos. El grupo control consistía en el aislamiento lumínico (1-3 lux aproximadamente). Los resultados para las tres fases estudiadas de la metamorfosis mostraron valores de (P>0.05). El efecto de la luz en la etapa (L) no fue significativo (P=0.80) de igual manera el efecto de la luz no genero variación en las etapas posteriores. La demora de la metamorfosis (DT) fue homogénea para todas las intensidades (P=0.78) (ver fig. 3 d).

Tabla 1: Componentes principales generados mediante el ACP.

Tabla 1: Componentes principales generados mediante el ACP.								
VARIABLE	COMP1	COMP2	COMP3					
V/P	46.89%	24.59%	8.78%					
TAML1	-0.078801*	-0.67912	-0.37913					
TAML2	-0.01485	0.42012	0.42012					
TAML3	0.62387*	-0.02835	-0.02834					
TAMF1	0.11842	-0.59775	-0.05775					
TAMF2	0.48994	-0.12975	-0.12974					
TAMF3	0.29244	-0.05814	-0.05814					
EDAD1	0.11274	0.863191*	-0.41597					
EDAD2	0.54460	0.03182	0.03182					
EDAD3	0.37249	-0.615977*	0.08632					
TEM1	-0.19336	-0.76968*	-0.36968					
TEMAMB	-0.31493	0.31134	0.31134					
LU1	0.16423	-0.09014	-0.09014					
LU2	0.09990	0.03171	0.03171					
LU3	0.6231209*	0.16218	0.16218					
LUCONT	0.16931	0.04649	0.04649					
HUM1	0.08742	-0.44577	-0.14577					
HUM2	-0.02996	0.42596	0.42596					
HUM3	0.716254*	-0.00428	-0.00428					

NOTA: VP: Valores propios explica la variabilidad del fenómeno estudiado. Si los valores propios superan el 80 % de la varianza es confiable analizar el fenómeno mediante esta técnica.

Tabla 2: Valores de los tratamientos y duración de la metamorfosis, representada en días.

Fase	Tratamiento	Promedio (días)	Х	Significancia(P)
L	Frascos pequeños	10.6		0.020 A
	Frascos medianos	12.1	11.05	
	Frascos grandes	9.5	11.05	
	GC (Placas Petri)	13		
PU	Frascos pequeños	11.1		0.66 B
	Frascos medianos	11.6	11.18	
	Frascos grandes	10.7	11.10	
	GC (Placas Petri)	11.18		
	Frascos pequeños	21.7		0.052 B
DT	Frascos medianos	23.7	21.9575	
	Frascos grandes	20.2	21.95/5	
	GC (Placas Petri)	24.18		
	Larvas grandes	13		0.02 A
L	Larvas medianas	12.5	12.63	
	Larvas pequeñas	15.5	12.03	
	GC (Tamaño aleatorio)	9.5		
PU	Larvas grandes	11.8		0.35 B
	Larvas medianas	11.7	11. 50	
	Larvas pequeñas	11.8	11. 30	
	GC (Tamaño aleatorio)	10.7		
DT	Larvas grandes	24.8		0.05 C
	Larvas medianas	24.2	24.13	
	Larvas pequeñas	27.3	24.13	
	GC (Tamaño aleatorio)	20.2		
	Edad 90	9.4		0.001 A
L	Edad 80	10.1	10.22	
L	Edad 60	8.4	10.23	
	GC (110 días)	13		
PU	Edad 90	13.8		0.15 B
	Edad 80	10.9	42 02	
	Edad 60	11.6	12. 03	
	GC (110 días)	11.8	1	

Fase	Tratamiento	Promedio (días)	Х	Significancia(P)
DT	Edad 90	23.2		0.06 B
	Edad 80	21	22.25	
	Edad 60	20	22.25	
	GC (110 días)	24.8		
	Luminosidad Alta	10.8		0.80 A
L	Luminosidad media	11	11.38	
	Luminosidad baja	11.2	11.30	
	GC (1-3 lux)	11.5		
	Luminosidad Alta	9.4		0.56 A
PU	Luminosidad media	8.2	8.4	
	Luminosidad baja	8		
	GC (1-3 lux)	8		
DT	Luminosidad Alta	20.2	19.78	0.78 A
	Luminosidad media	17.7		
	Luminosidad baja	19.2		
	GC (1-3 lux)	19.2		
L	Humedad 50-56%	9.5	11.38	0.05 A
	Humedad 58-62%	9.2		
	Humedad 72-78%	12.5		
	GC (55%)	14.3		
PU	Humedad 50-56%	9.9	- 10.38 0.45 B	
	Humedad 58-62%	10.1		0.45 B
	Humedad 72-78%	11.3		0.43 b
	GC (55%)	10.2		
DT	Humedad 50-56%	19.4	21.44	0.33 B
	Humedad 58-62%	19.3		
	Humedad 72-78%	23.8		
	GC (55%)	24.5		

NOTA: Promedios de días por cada tratamiento; L (fase larvaria); PU (fase pupal); DT (duración total de la metamorfosis) y GC (grupo control). X es el promedio del tratamiento y Significancia(P) es el valor de significancia (p-value).

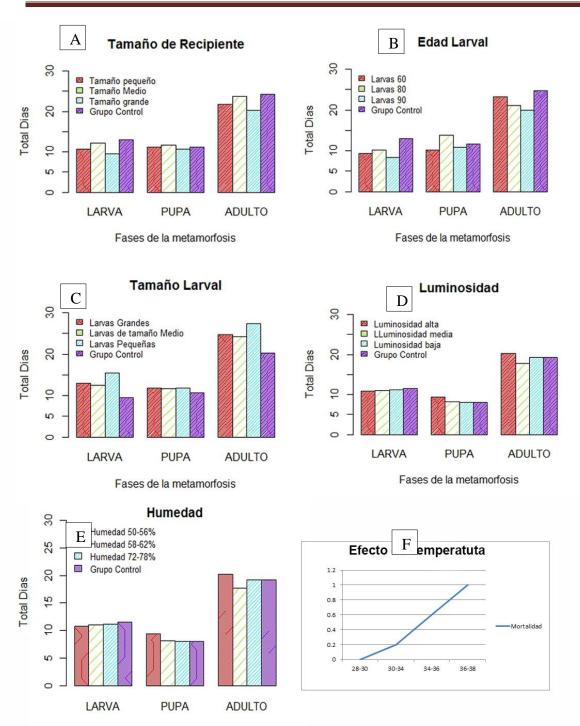


FIGURA 3. Representación gráfica de la duración promedio de las fases por cada tratamiento. Variación del tiempo en el proceso de metamorfosis, donde L= Edad que corresponde del día de inducción hasta fase puparía, Pu = a la duración de la fase puparía. DT= Fase que corresponde a la suma de los días desde la inducción hasta que es escarabajo. En el grafico A) se muestran los valores que tomo cada fase en el experimento de tamaño de los recipientes; B) se muestran los valores que tomo cada fase en el experimento de tamaño larval; C) se muestran los valores que tomo cada fase en el experimento de

edad larval; **D)** se muestran los valores que tomo cada fase en el experimento de luminosidad; **E)** se muestran los valores que tomo cada fase en el experimento de humedad; **F)** se muestran los valores que tomo la curva de mortalidad asociada al incremento de la temperatura.

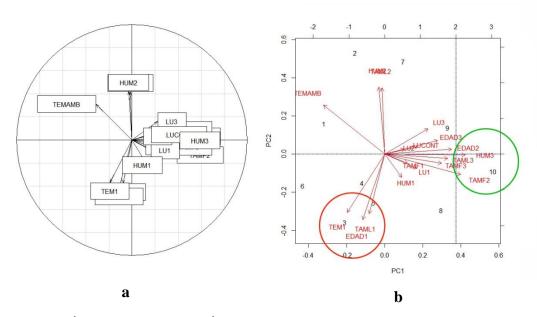


FIGURA 4: Gráfico biplot. Los círculos de color muestran las variables, la dimensionalidad y correlación de las variables de los ACP1 y ACP2. NOTA: Dentro de la circunferencia verde están representadas las variables que presentan valores con correlación positiva sobre la variable de respuesta (Tiempo) de la metamorfosis. Por tanto, esto explica que; a mayor intensidad del factor probado en los tratamientos los valores en la variable de respuesta serán mayores consecuentemente. Las variables contenidas en la circunferencia roja representan los valores que presentan correlación negativa con la variable de respuesta. A mayor intensidad del factor probado la metamorfosis tiende a durar menos.

La Humedad en el proceso de la metamorfosis. La humedad tiene su efecto en la fase larvaria de la metamorfosis (P=0.05), con respecto al grupo control. La metamorfosis no mostró variación dentro de los grupos en fase puparía (P=0.45) que indica que la humedad no afecta la metamorfosis cuando las larvas ya han entrado en su fase puparía (ver tabla 2 y fig. 3f). La DT no se vio afectada por la humedad.

Análisis de componentes principales (ACP). Los resultados del ACP fueron determinantes y de gran importancia para reconocer las variables relacionadas (ver figura 4). De seis 6 variables con tres 3 tratamientos y un control fueron ordenadas para generar 19 variables globales que posteriormente fueron analizadas para obtener tres 3 componentes (ver tabla 1) que explican una proporción acumulada del 80.26% de la varianza del conjunto de variables que explican el fenómeno. Los valores propios superan la unidad por lo tanto es razonable analizar el fenómeno de la variabilidad a través de esta técnica no paramétrica (tabla 1).

DISCUSION

De acuerdo con los resultados obtenidos y una confianza estadística del 95% se acepta la hipótesis que sugiere que el retraso o aceleración de la metamorfosis se debe a la exposición a factores físicos en la etapa de inducción, y a cualidades biológicas de la larva seleccionada para llevar a cabo este proceso de manejo. Esto afirma que la variabilidad es producto del estrés que genera la intensidad del factor, siendo el caso de factores externos. La variabilidad es menor si se inducen larvas de la misma edad y tamaño. Las larvas de mayor tamaño y edad tienden a tener metamorfosis más rápidas y homogéneas (ver tabla 1).

A pesar del uso masivo de *Zophobas* sp. en sistemas de crianza, no encontramos informes donde explique los efectos de factores físicos en la metamorfosis de larvas de Tenebrionidos y otros coleópteros en sistemas de crianza y cómo estos organismos responden en función del gradiente de exposición durante la metamorfosis, sin embargo Ozawa, Ohta, *et al.* (2015) descubrieron que en los escarabajos (Tenebrionidae) el desarrollo larvario puede detenerse en la etapa final del estadio en presencia de larvas conspecíficas para evitar canibalismo, pero los determinantes ambientales críticos y los efectos reales aún no se han dilucidado con total claridad, de tal forma que este estudio aporta a contribuir con el entendimiento del efecto de los factores físicos y biológicos en larvas de insectos de esta numerosa familia.

Los datos de Ozawa, Ohta *et al.* (2015) sugieren que las larvas de *Gnathocerus cornutus* utilizan la estimulación táctil no específica como una señal de decisión para la pupación y que esta tiene un efecto defensivo más amplio contra la depredación heteroespecífica, así como el canibalismo conspecífico. Esto sugiere que la larva determina la inducción de acuerdo a estímulos externos, señales, decisiones y condiciones del medio.

La humedad y la temperatura tienen efectos sobre en el crecimiento poblacional de algunas especies plagas, por ejemplo; *Rhyzopertha dominica* (F.) que es un coleóptero que ataca almacenamientos de arroz molido. Astuti *et al.* (2013) determinaron que la temperatura y humedad del ambiente contribuye con el desarrollo poblacional de *R. dominica*, sin embargo, este estudio se centra principalmente en cómo estos factores atribuyen a generar condiciones óptimas para el desarrollo de la especie para que esta se reproduzca. No abarca de ninguna manera como los factores estudiados influyen en la aceleración o retardo de alguno de sus estadios del ciclo biológico.

Existen un creciente número de estudios que han investigado afondo el efecto de factores físicos en el desarrollo de especies de coleópteros, pero estos tienen un enfoque al manejo de plagas mayores y granos almacenados (Gastón, 2017).

Muy pocos o nulos son los estudios que explican el efecto de la temperatura, humedad y cualidades biológicas sobre la metamorfosis de un insecto hasta el momento, sin embargo existe un estudio realizado por Vicente Marco en el año 2001 donde estudia Modelización de la tasa de desarrollo de insectos en función de la temperatura aplicado al manejo integrado de plagas mediante el método de grados-día, pero las conclusiones que este investigador llega no deslucen el efecto de factores físicos o cualidades bilógicas en la duración de la metamorfosis.

Es importante determinar cómo los factores ambientales tienen relevancia en el desarrollo de los insectos y el que probablemente ejerce mayor efecto es la temperatura. "Ello es debido a su importante incidencia sobre los procesos bioquímicos, por ser organismos poiquilotermos" (Wagner *et al.*, 1984).

Las especies de *Zophobas* son estrictamente dependientes del aislamiento para iniciar metamorfosis (Quennedey, 1995) de tal forma que, es necesario hacer una inducción de metamorfosis para transformar las larvas en pupas y adultos respectivamente. En este proceso no se consideran algunas cualidades de la larva y tampoco un ambiente idóneo, de tal forma que se desconoce la respuesta del animal a tales factores.

Para establecer el método óptimo para llevar a cabo el proceso metamorfosis en corto tiempo, consideramos relevante estudiar el tiempo que demoraba la larva en alcanzar cada fase. La fase larvaria de la metamorfosis se divide intrínsecamente en dos fases, en la fase inicial-larvaria y de prepupa, sin embargo, para el análisis solo se consideró la fase larvaria (inicial-larvaria + pre-pupa) como variable de análisis, es imperativo explicar que cualquier variación en la demora de la fase pre-pupa es explicado de manera explícita en la demora de la fase total (DT).

De acuerdo a los datos analizados, la metamorfosis es un proceso continuo e irreversible, desde la inducción (fase pre-pupa) el proceso no es homogéneo dado variantes fisiológicas de cada animal. Una vez inducidas solo la muerte puede interrumpir dicho proceso. Descubrimos que la variabilidad del proceso radica en la demora de la inducción en fase larvaria. Una vez inducida la larva (pre-pupa) seguirá el proceso fisiológico en un tiempo estándar (19-24 días), por lo tanto, la humedad, la temperatura, luz solo tienen su efecto en los días antes de la inducción.

Si se tomase el tiempo de demora a partir de la fase pre-pupa (primera fase que determina la inducción) la metamorfosis medida en la DT no mostraría variación significativa en ninguno de los experimentos asociados a factores físicos.

Quennedey, (1995) afirma que el éxito de la metamorfosis está en evitar el roce o contacto entre los individuos e incluso destaca que privarles de alimento ayuda a la inducción. La larva entra en estado de supervivencia y aislamiento y es cuando se induce la metamorfosis. Si una larva se encuentra en un espacio reducido donde se priva de movimiento, genera condiciones de aislamiento y seguridad lo que contribuye a que la larva se induzca más rápido y por ende finaliza su metamorfosis en menos tiempo, de lo contrario si la larva se encuentra en un espacio amplio se genera para ella un ambiente de confort, de tal forma que se simula un ambiente de libertad mostrando movilidad evitando así la inducción.

Nuestros resultados mostraron que las pupas no respondieron al efecto que generan los factores puestos a prueba. Tschinkel (1984), afirma que el intercambio fisiológico en estado pupa es casi nulo. Con base a nuestra investigación consideramos que es importante reconocer que las variaciones o efectos en etapa de larva de la metamorfosis repercuten de manera directa en la duración total de la metamorfosis (DT).

El ACP mostro que la edad larvaria presenta correlación negativa con el incremento de la variable de respuesta, lo que explica que a mayor edad menos días demorara la metamorfosis.

El componente (ACP 1) asocia las variables que estaban relacionadas positivamente con el aumento gradual de la intensidad del factor a modo de estrés y que consecuentemente generaron un aumento en la duración de la metamorfosis.

El (ACP 2) asocia todas las variables que tienen un valor negativo en el incremento de los valores de la variable dependiente (tiempo que demora la metamorfosis).

Todos los valores correlacionados negativamente en este componente explican una disminución en la cantidad de días que demora el proceso de metamorfosis con respecto a su medida de tendencia central (mediana, media, moda), comprendiéndose que estos factores explicados en este componente son importante de reconocer en términos de manejo y están asociados a acelerar la metamorfosis (ver figura 4 b) donde se expresan las variables asociadas a la aceleración del proceso de inducción de metamorfosis (círculo rojo) y variables que se categorizan como variables que influyen para que el proceso sea lento (circulo verde). Este conjunto de variables representa valores óptimos de inducción y están representados en el ACP2 (variables catalizadoras del proceso de metamorfosis). Todas las variables que se encuentran en el origen son las variables que se hallan dentro de los valores medios del proceso, por tanto, no se consideran variables catalizadoras.

En el caso de larvas menores a 80 días se comprobó que existe inhibición al pasar de fase (L) (P=0.001) a fase puparía, por tanto, esto prolongó las etapas posteriores. Según la prueba (sobre la edad larval) existió variabilidad significativa en los grupos y su respectivo grupo control con una significancia (P= 0.001(L)). Con base en este resultado podemos confirmar la hipótesis de que los efectos de la variación del tiempo de la metamorfosis se dan en la inducción y que tienen su origen en los primeros días de la metamorfosis. Como lo afirma Quennedey (1995) y lo comprobamos en este estudio; la etapa puparía no mostró diferencia con respecto al grupo control. A medida que aumenta la edad larvaria el porcentaje de larvas que cumple la metamorfosis aumenta de forma gradual.

Los rangos de edad puestos a prueba son lo suficiente distantes entre sí para generar fuente de variación, sin embargo, en la fase larvaria (L) existe una resistencia por parte de las larvas con edad menor a los 60 días de edad aproximada. Es importante reconocer que los retrasos de inducción o de metamorfosis se dan en la fase larvaria (P=0.001) y este efecto repercute atrasando las etapas posteriores. La edad larvaria mostro diferencias significativas con respecto al grupo control y los otros tratamientos del experimento (P<0.05).

Las larvas de mayor tamaño presentan metamorfosis más homogéneas. Basado en el criterio que estipula que "las larvas de mayor tamaño están mejor preparadas para la metamorfosis" es inevitable pensar que el tamaño larvario está asociado a etapa de desarrollo. Existe una cantidad de larvas que aun siendo grandes se resisten a la inducción, pero en general, la inducción con larvas grandes es por mucho más exitosa y los valores oscilan por encima del 92% de toda la población. Las larvas de menor tamaño tienden a resistirse a la inducción. Esta resistencia se asocia a que las larvas a mayor edad podrían alcanzar pesos y tamaños mayores en etapa adulta, de tal forma que, esta condición podría proporcionarles ventajas reproductivas ante competidores sexuales de menor tamaño.

Las larvas de menor tamaño tienden a transformarse en escarabajos de menor tamaño respectivamente. Muchas larvas pequeñas nunca empupan y eso aumenta gradualmente a medida que disminuye la edad a partir de los 60 días (P=0.001) por lo tanto esto genera los criterios de selección de individuos para inducir larvas a metamorfosis. El rango donde existe predisposición larvaria a la metamorfosis está delimitado entre los 60 y 130 días de edad larvaria.

Las larvas grandes (< 5 cm LHT) aunque no sean longevas (>80 días) se inducen más rápido que larvas longevas y pequeñas, lo que indica que, esto está relacionado con algún mecanismo basado en criterios propios de la especie (observaciones propias). Las larvas pequeñas y jóvenes experimentan resistencia en los primeros días después del aislamiento. Cuando las larvas son grandes y longevas que resulta la condición idónea: las larvas en su totalidad se inducen después del cuarto día después del aislamiento y desde entonces el proceso se demora 18 días aproximadamente.

No observamos ningún efecto de la luz sobre la metamorfosis. Determinamos que la luz es un factor que no genera estrés dentro del umbrales máximos de tolerancia menor a 717 lux (valor máximo de exposición y que genero significancia estadística). Muchas de las larvas expuestas a intensidad de luz medias y bajas (menos de 5 lux) no mostraron ningún patrón de letargo o aceleramiento de su metamorfosis. Es importante reconocer que en la fase puparía mostro efecto, aunque no lo suficiente para que la prueba lo considerara, pero desde el punto de vista de manejo es importante mencionarlo. La intensidad de la luz genera actividad en la larva y se logra observar siempre interesada en escapar e incluso se pudo observar que los recipientes ubicados en el tratamiento de mayor intensidad lumínica mostraba los índices mayores de perforación en los contenedores utilizados para la inducción, por lo que se cree que la larva asocia la luminosidad con inseguridad y exposición, debido a que de manera natural la larva cava un agujero y se introduce en ellos para inducirse en ausencia de luz.

Las larvas son susceptibles a morir si estas se exponen a valores fuera del rango de temperaturas medias de países tropicales (Ferrer, 2011). Los efectos de la exposición pueden ser el letargo total de la metamorfosis en estado larvario o en el peor de los casos la muerte de los individuos. Muchos de los resultados se interpretan como variabilidad, pero el efecto de un factor es el resultado de la variabilidad entre ellos. En el caso de la humedad los efectos fueron dados en la etapa larval. La exposición de larvas a valores extremos resulto en resistencia a la inducción en etapa larvaria (L) (P=0.05). La tolerancia de las larvas a la exposición a la humedad fue mejor que otros factores de estrés como la temperatura y luminosidad alta.

La temperatura es uno de los factores de exposición más importantes en cualquier sistema de manejo (Otero, 1996). En la metamorfosis de *Zophobas* sp. la temperatura mostró ser un factor que causaba la muerte de las pupas y larvas a partir de los 34 C de exposición prolongada. En el tratamiento dos del experimento de temperatura, las larvas comienzan a morir a partir del tercer día (36 °C). El 80% de las larvas expuestas a temperaturas mayores a 36 °C nunca iniciaron su metamorfosis, el 20% de las larvas empezaron su metamorfosis, pero murieron días después de haber empezado la fase puparía. La temperatura adecuada de inducción está entre los valores que el medio provee en zonas tropicales, aunque la metamorfosis se da mejor en sitios levemente cálidos como máximo 29 a 32 C.

El adelanto de las estaciones lluviosas trae consigo en muchos ecosistemas el aumento desmesurado de las humedades y pérdida de luminosidad por la nubosidad. Analizando cómo funciona esto, en los bosques es más fácil comprender el efecto que trae a especies de Tenebrionidos que tienen funciones específicas en los ecosistemas como lo son los necrófagos. En cautiverio se ha reconocido a *Zophobas* como una larva muy apetecida casi para cualquier animal que tenga hábitos carnívoros del tipo insectívoro, desde aves, mamíferos pequeños, reptiles y sobre todo otros insectos y arácnidos. Este potencial sumado a la alta tasa de reproducción hace de *Zophobas* una especie sumamente importante.

El efecto de estos factores podría ser igual en la categoría taxonómica estudiada. Se espera que la similitud entre especies del mismo género genere las mismas respuestas en los procesos bioquímicos que constituyen la actividad vital de cada especie, por lo tanto, *Zophobas* de distintas regiones responderían de la misma manera ante la exposición a estas pruebas.

Por muchos años se sostuvo que la especie con la cual se trabajaba era *Zophobas atratus*, sin embargo, nunca se pudo confirmar, las muestras enviadas a México nunca fueron identificadas. Por otro lado, la complejidad del genero hace difícil la identificación, por lo tanto, se consideró pertinente tratar a esa población como *Zophobas* sp.

Al tratarse de un sistema de crianza comercial; hoy en día en Nicaragua se cuenta con muchos stocks de esta población distribuidas por todo el país, muchos de ellos originarios del stock poblacional original comprado en 1996.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizo con financiamiento del Fondo para Proyectos de Investigación (FPI) de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-Managua).

Gabriela Díaz Juárez estudiante de Doctorado de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM-México).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Astuti, L. P., Mudjiono, G., Rasminah, S. & Rahardjo, B. T. (2013). Influencia de la temperatura y la humedad en el crecimiento de la población de *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) sobre el arroz molido. Diario de Entomología, 10: 86-94.

Botanical-Online. Cría de *Zophobas*. http://www.botanical-online.com/animales/zophobas-morio-cria.htm [revisado el 5 de mayo 2015]

Endler, J. A. (1997) Geographic Variation, Speciation, and Clines. Monographs in Population Biology. Princeton University Press., 10: 266 pp.

Ferrer, J. (2011). Revisión del género *Zophobas* Dejean, 1834. Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.), 48: 287–319.

Friederich, U. & Volland, W. (1981). Futtierzucht. Ulmer Verlarg. Stuttgart (Alemania). 168 pp.

- **Losey, J. E. & Vaughan, M.** (2016) The economy value of ecological services provided by insects. Bioscience 56:311-323.
- Maes J. M., Merkl O., Campbell J. M. & Ferrer J. (2012). Familia Tenebrionidae. Leon-Nicaragua. www.Bio-nica.info. 56 pp.
- **Mdar J., Razak S. A. & Vikineswary S.** (2012) Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. Afr. J. Biotechnol., 11: 6592-6598.
- Morote D., K. J. & Bardales, J. V. (2012) Estudio de escarabajo amazonico *Zophobas opacus* (Coleoptera: Tenebrionidae) para incluirlo como alimento vivo en sistemas de crianza de fauna silvestre en cautiverio, peces ornamentales y de consumo. Memorias: Manejo de fauna silvestre en Amazonia y Latinoamérica. Pp.695-205.

- **Otero, C.** (1997). Metodologia de la reproduccion de en cautiverio del coleoptero *Zophobas* sp. Tesis para optar al título de maestría en ciencias bilógicas. UNAN-Managua, Nicaragua.
- **Ozawa, O. K.** *et al.* (2015). Environmental Factors Affecting Pupation Decision in the Horned Flour Beetle *Gnathocerus cornutus*. *Zoological Science*, 32:183-187.
- Park H. C., Jung B. H., Han T. M., Lee Y. B., Kim S. H. & Kim N. J. (2013) Taxonomy of introduced commercial insect, *Zophobas atratus* (Coleoptera; Tenebrionidae) and a comparison of DNA barcoding with similar tenebrionids, *Promethis valgipes* and *Tenebrio molitor* in Korea. J. Seric. Entomol. Sci., 51(2): 185-190.
- **Price, R. F.** (2011). Insect Ecology: Behavior, Populations and Communities. Cambridge University: Cambridge University Press, New York. 12. 816pp.
- **Quennedey, A.** *et al.* (1995). Postembryonic Development of *Zophobas atratus* Fab. (Coleopetra: Tenebrionidae) under crowded or isolated conditions and effects of juvenile hormone analogue application. J. Insect Physiol, 41(2): 143-152.
- **Schulte, R.** (1996). El manejo de *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) en climas tropicales húmedos. Folia amazónica, 8(2): 47-75. Iquitos, Perú.
- **Tschinkel, W. R.** (1984). *Zophobas atratus* and *Z. rugipes* are the same species. Coleopterists Bulletin, 38:325-333.
- **Tschinkel, W. R.** (1971). Larval dispersal and cannibalism in a natural population of *Zophobas atratus* (Coleoptera, Tenebrionidae). Animal Behavior, 29: 990-996.
- Wagner, T. L., Wu, H., Sharpe, P. J. H., Schoolfield, R. M. & Coulson, R. N. (1984). Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. Ann. Entomol. Soc. Am., 77: 208-225.
- **Weischner, M.** (1989). Der Grösse Schwarzkäfer als Futterinsekt, *Zophobas morio*. Gefiederte Welt, 113(3): 89.

La Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) es una publicación de la Asociación Nicaragüense de Entomología, aperiódica, con numeración consecutiva. Publica trabajos de investigación originales e inéditos, síntesis o ensayos, notas científicas y revisiones de libros que traten sobre cualquier aspecto de la Entomología, Acarología y Aracnología en América, aunque también se aceptan trabajos comparativos con la fauna de otras partes del mundo. No tiene límites de extensión de páginas y puede incluir cuantas ilustraciones sean necesarias para el entendimiento más fácil del trabajo.

The Revista Nicaragüense de Entomología (ISSN 1021-0296) is a journal of the Nicaragua Entomology Society (Entomology Museum), published in consecutive numeration, but not periodical. RNE publishes original research, monographs, and taxonomic revisions, of any length. RNE publishes original scientific research, review articles, brief communications, and book reviews on all matters of Entomology, Acarology and Arachnology in the Americas. Comparative faunistic works with fauna from other parts of the world are also considered. Color illustrations are welcome as a better way to understand the publication.

Todo manuscrito para RNE debe enviarse en versión electrónica a: (Manuscripts must be submitted in electronic version to RNE editor):

Dr. Jean Michel Maes (Editor General, RNE)

Museo Entomológico, Asociación Nicaragüense de Entomología
Apartado Postal 527, 21000 León, NICARAGUA

Teléfono (505) 2311-6586

jmmaes@bio-nica.info
jmmaes@yahoo.com

Costos de publicación y sobretiros.

La publicación de un artículo es completamente gratis.

Los autores recibirán una versión pdf de su publicación para distribución.