

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



Partenogénesis en *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera:Dactylopiidae)

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

JUAN ANTONIO PALAFOX LUNA

ZAPOPAN, JALISCO, JUNIO DE 2014



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología

C. Juan Antonio Palafox Luna
PRESENTE

Manifetamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción **TESIS** con el título: "**Partenogénesis en *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae)**", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como director de dicho trabajo: **Dra. Ana Lilia Viguera Guzmán** y como asesores **Dr. Liberato Portillo Martínez**.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 23 de septiembre de 2013


DRA. GEORGINA ADRIANA QUIROZ ROCHA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN





M.C. VERÓNICA PALOMERA ÁVALOS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


Dra. Georgina Adriana Quiroz Rocha.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Licenciatura en Biología.
 CUCBA.
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, **MODALIDAD TESIS E INFORMES**, opción **TESIS** con el título: "**Partenogénesis en *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae)**" que realizó el pasante **Juan Antonio Palafox Luna** con número de código **304491688** consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

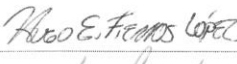
Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente
 Las Agujas, Zapopan, Jal., 05 de mayo del 2014.

Firma 
 Nombre: Ana Lilia Vigueras Guzmán
 Directora del trabajo

firma 
 Nombre: Liberato Portillo Martínez
 Asesor



Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
José Luis Navarrete Heredia		08/Mayo/2014
Claudia Aurora Uribe Mú		5/Mayo/2014
Hugo Eduardo Fierros López		08/Mayo 2014
Supl. Liberato Portillo Martínez		05. mayo. 2014



Se reconoce al COECYTJAL por el apoyo económico otorgado en la Convocatoria "FONDO COECYTJAL-UDEG 2010" y en especial al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Jalisco y el proyecto con folio: 5-2010-1-807 .

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por su apoyo incondicional que me permitió llegar al nivel de educación profesional y concluirlo y a toda mi familia en general.

A mi directora de tesis la Dr. Ana Lilia Viguera Guzmán y mi asesor el Dr. Liberato Portillo Martínez por su apoyo y contribución en mi formación profesional y por alentarme a realizar postgrados.

A la maestra María Concepción que fue mi maestra de biología en la preparatoria y que fue la única persona que en esa etapa observó mi gusto y talento en la biología y me motivó a esforzarme para conseguir mis metas.

A la Dr. Anne Santerre, Patricia Castro y el maestro Hugo Fierros por su apoyo en mi formación académica y por motivarme en mi elección del área de interés.

A mis compañeros de laboratorio, Pollo, Arturo, Enhé, el pequeño Juan, Mony y Alvaro por hacer más ameno el proceso de elaboración de tesis.

A la Universidad de Guadalajara por su apoyo en mi educación durante todos los años que fui beneficiado del programa Estímulos económicos para estudiantes sobresalientes.

CONTENIDO

RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	11
Breve historia del descubrimiento de partenogénesis	11
Partenogénesis en el orden Hemiptera	11
Familia Aphididae	12
Familia Aleyrodidae	12
Superfamilia Coccoidea	12
Familia Pseudococcidae	13
Familia Eriococcidae	13
Familia Coccidae	13
Familia Dactylopiidae	13
Importancia de <i>D. opuntiae</i>	14
Ciclo de vida de <i>D. opuntiae</i>	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
JUSTIFICACIÓN	16
HIPÓTESIS	17
OBJETIVOS	17
METODOLOGÍA	18
Cría de <i>D. opuntiae</i> (Cockerell) (cochinilla silvestre)	18
Evaluación y determinación del tipo de partenogénesis	20
Evaluación de las diferencias en la progenie de hembras fecundadas y hembras partenogénicas	21

Evaluación del efecto de la partenogénesis en la biología de <i>D. opuntiae</i>: duración del ciclo biológico y posibles cambios físicos en las hembras partenogénicas	22
Diseño experimental	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Evaluación y determinación del tipo de partenogénesis tomando en cuenta las proporciones sexuales	23
Evaluación de las diferencias en el número de progenie de hembras fecundadas y hembras partenogénicas durante tres ciclos biológicos consecutivos	28
Evaluación del efecto de la partenogénesis en la biología de <i>D. opuntiae</i>: duración del ciclo biológico y posibles cambios físicos en las hembras partenogénicas	29
CONCLUSIONES	32
LITERATURA CITADA	33

RESUMEN

El término partenogénesis es descrito como el desarrollo de individuos a partir de huevos no fecundados. En algunas especies es obligatoria como en áfidos, sin embargo, la mayoría de ocasiones es de manera facultativa, cuando hay presiones ambientales desfavorables para la fecundación como en hemípteros (cocoideos) y ortópteros (chapulines).

El objetivo del presente trabajo fue comprobar el tipo de partenogénesis que presenta *D. opuntiae* así como aportar información sobre las implicaciones que tiene en la biología del insecto, como lo son, el número de progenie, duración del ciclo biológico y cambios físicos que pudiera presentar el insecto.

Fueron seleccionados seis cladodios de la especie *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, los cuales se colocaron dentro de jaulas con malla protectora mesh 40, cada uno fue infestado con tres hembras próximas a ovipositar (oviplenas). Se llevó a cabo una generación de reproducción sexual (testigo) en donde no fueron eliminados los machos. Posteriormente se llevaron a cabo tres generaciones consecutivas en ausencia de machos, durante las cuales se revisaron las jaulas dos veces por semana y se eliminaron los capullos (machos) observados. Durante todas las generaciones se registró el número de días entre cada estadio biológico hasta completar el estado adulto, se contabilizaron hembras y capullos (machos) por jaula, además de que se obtuvo la proporción sexual y el número de ninfas producidas por hembra. El análisis estadístico empleado fue T de Student para evaluar las diferencias en el número de individuos entre los tratamientos.

Las hembras en ausencia total de machos produjeron ninfas que posteriormente se desarrollaron en machos y hembras, por lo tanto la partenogénesis es deuterotoca. Los resultados del análisis de T Student muestran que no se presentaron diferencias significativas entre las tres generaciones partenogénicas y la generación de reproducción sexual en el número de machos y hembras, sin embargo, para el caso de las ninfas (progenie) si se obtuvo diferencia significativa entre las generaciones partenogénicas y la generación de reproducción sexual, sumado a que en el ciclo biológico se incrementó en número de días en la etapa de preoviposición, a su vez, también se observó una reducción de la mitad del tamaño de las hembras partenogénicas con respecto de las hembras fecundadas.

INTRODUCCIÓN

Gran parte del enorme éxito que han tenido los insectos se debe a las características reproductivas que poseen y que consisten básicamente en una combinación de un corto periodo de tiempo entre generaciones, una alta fecundidad y una alta sincronización de las poblaciones con su medio. Por lo que en los periodos que se dan condiciones más propicias de temperatura, humedad y alimento para su desarrollo son capaces de responder a tales condiciones con una sorprendente rapidez (Gullan y Cranston, 2005).

La temperatura es uno de los factores que tienen mayor impacto en el índice de natalidad, mortalidad y desarrollo del insecto (Vigueras, 2010), así como la duración del ciclo biológico, puesto que al incrementarse la temperatura el ciclo biológico se demora menos días (Morales, 1994). Asimismo Sullivan, (1990) señala que los miembros de la superfamilia Coccoidea (entre otros), los aumentos en la temperatura producen una disminución en el número de machos y aumento en el número de hembras y la disminución en temperatura aumenta el número de machos y disminuye el de hembras.

Dado que el nopal se localiza donde la temperatura es relativamente alta y las especies de la familia Dactylopiidae son parásitos del nopal, se esperaría que en campo, (entiéndase como plantaciones de nopal), sea mayor la proporción de hembras que de machos por la influencia que tiene este factor abiótico en la proporción sexual.

Aunando en la anterior observación, en primavera y verano cuando la temperatura promedio es superior a las otras estaciones, se esperaría que la población de machos disminuyera a un número en ocasiones insuficiente para fecundar a todas las hembras.

Adicionalmente, Mann (1969) en Mathenge *et al.* (2009), mencionan que el macho adulto tiene un periodo de vida muy corto con respecto al de la hembra, además que el macho presenta una capacidad para volar poco eficiente.

Por lo tanto, Mann (1969) citado en Mathenge *et al.* (2009) plantea que todas las cochinillas presentan partenogénesis, sin embargo, Mathenge *et al.* (2009) hace la mención que es necesario evaluar en cada especie la existencia de este proceso para poder hacer una aseveración más precisa.

El termino partenogénesis es descrito como el desarrollo de individuos a partir de huevos no fecundados (Chapman, 1975). Es una adaptación bastante común que se presenta en distintos ordenes de insectos aunque por diversas razones, por ejemplo en los ordenes

Hemiptera, Coleoptera, Hymenoptera, Orthoptera y Phasmatodea (Brusca y Brusca, 2005), este proceso puede variar en su ocurrencia durante el ciclo de vida y en el sexo de su descendencia, dependiendo de la especie, cuando se producen solamente machos se llama arrenotoca, cuando son solamente hembras se conoce como telitoca y cuando se producen ambos sexos es deuterotoca. (Lanteri *et al.*, 2010).

ANTECEDENTES

Breve historia del descubrimiento de la partenogénesis

En 1745 fue publicada la obra *Traité d'insectologie*, donde se describe el experimento *Observations sur les pucerons* realizado por Charles Bonnet (Figura 1) en el cual acuña por primera vez el término partenogénesis al observar a las hembras de pulgones que producen descendencia sin ser fecundadas en una etapa de su ciclo biológico (Ruíz-Medrano *et al.*, 2013) y (Bellés, 2005).

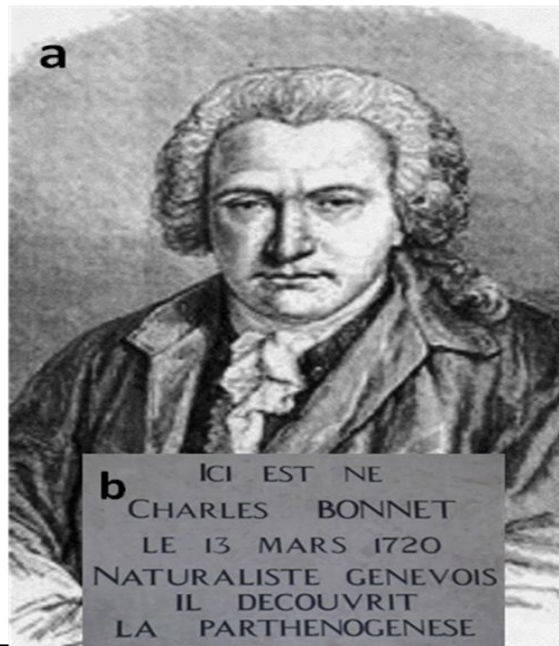


Figura 1. Charles Bonnet a) Charles Bonnet, descubridor de la partenogénesis. b) Placa conmemorativa dedicada a Charles Bonnet, la cual se encuentra en su antigua residencia en Ginebra. Imagen tomada de Ruiz-Medrano *et al.* (2013).

Partenogénesis en el orden Hemiptera

La especie objeto de este estudio *D. opuntiae* pertenece al orden Hemiptera, a la superfamilia Coccoidea y a la familia Dactylopiidae (Guerra y Kosztarab, 1992); dentro del orden se presentan muchos casos de partenogénesis, así como ausencia de ésta, por lo tanto es necesario hacer mención de algunos trabajos realizados con el orden, principalmente de los grupos más cercanos a la superfamilia Coccoidea.

Familia Aphididae

Los áfidos o pulgones son de los insectos fitófagos más comunes y ello se debe principalmente a que han tenido éxito por su alta fecundidad, partenogénesis, viviparidad y polimorfismo (Dughetti, 2010). Lanteri *et al.* (2010) señalan que presentan partenogénesis obligatoria en su ciclo de vida y de tipo telitoca, confirmando el primer reporte sobre partenogénesis hecho por Charles Bonnet, con la diferencia de que él no pudo observar distintos tipos de partenogénesis.

Asimismo, se hace la mención sobre la bacteria *Wolbachia*, la cual es capaz de modificar la reproducción sexual y sustituirla por partenogénesis en los insectos infectados, dando lugar a partenogénesis telitoca e individuos solamente hembras, debido a que la bacteria sólo se transmite de madre a hija de acuerdo con Lanteri *et al.* (2010).

Se estima que la mayor parte de los insectos que exhiben este tipo de partenogénesis han sido infectados por dicha bacteria (Lanteri *et al.*, 2010).

Familia Aleyrodidae

A las especies de esta familia se les conoce comúnmente con el nombre de mosca blanca, son muy similares entre sí a simple vista. Estos insectos en su mayoría presentan partenogénesis arrenotoca (solo machos), con machos haploides (Bueno *et al.*, 2005), que es el mismo caso que se da con himenópteros. El anterior reporte es confirmado por Cabello *et al.* (1996), quienes mencionan que las especies *Trialeurodes vaporariorum* Westwood y *Bemisia tabaci* Gennadius tienen reproducción por partenogénesis arrenotoca de forma alternativa a la sexual.

Superfamilia Coccoidea

En este grupo están todas las especies de cochinillas, el fenómeno de partenogénesis es bastante común en esta superfamilia, sin embargo son pocos los estudios enfocados en evaluar si realmente existe esta adaptación. De esta superfamilia se destacan cuatro familias por su importancia económica: Pseudococcidae, Coccidae, Eriococcidae y Dactylopiidae (Pellizari y Germain, 2010) (cuadro 1).

Cuadro 1. Trabajos sobre partenogénesis en familias de Coccoidea.

Familia / especie	Tipo de partenogénesis	Autor(es) del trabajo	Aportación
Pseudococcidae / <i>Phenacoccus solenopsis</i> Tinsley	No menciona	Sahito <i>et al.</i> (2010)	Único trabajo que se logró localizar referente a este tema
Eriococcidae / <i>Apiomorpha gullanae</i> Cook	telitoca	Cook (2003)	Menciona que no se cuenta con ningún dato del macho de esta especie
Coccidae / <i>Coccus hesperidum</i> Linneo y <i>Saissetia coffeae</i> (Walker)	telitoca	Nur (1979)	Propone criterio para distinguir tipos de partenogénesis telitoca

Familia Dactylopiidae

Al ser la familia con mayor importancia, hay más trabajos acerca de aspectos reproductivos de sus especies.

Dactylopius opuntiae Cockerell es una de las diez especies pertenecientes a la familia monogénica Dactylopiidae (Pérez, 1991; Van Dam y May, 2012).

Mann (1969) citado en Mathenge *et al.* (2009), concluye que las especies pertenecientes a la superfamilia Coccoidea presentan partenogénesis, debido al corto periodo de vida de los machos es posible que no tengan tiempo suficiente para lograr fecundar a todas las hembras. Además, su débil capacidad de vuelo hace que se desplacen mayormente utilizando sus apéndices locomotores.

Sin embargo, Marín y Cisneros (1977) y Guerra y Kosztarab (1992) reportaron que las hembras de *D. coccus* requieren ser fecundadas por los machos para que éstas tengan descendencia. Otros estudios reportaron que *D. austrinus* De Lotto, *D. ceylonicus* Green, y *D. tomentosus* (Lamarck) tampoco presentan partenogénesis (Moran y Cobby 1979; Sullivan, 1990; Mathenge *et al.*, 2009).

Estos reportes contradicen la afirmación hecha por Mann (1969) en Mathenge *et al.* (2009) hacen que se considere una excepción y no la regla dentro de la familia con los reportes que se tienen hasta la fecha.

La excepción se encuentra en la especie *D. opuntiae*, de la que Flores-Hernández *et al.* (2006) reporta haber encontrado diferencias significativas entre el tratamiento de hembras fecundadas y hembras no fecundadas por lo que concluye que la especie presenta partenogénesis pero no es su reproducción principal pero no mencionan el tipo de partenogénesis.

Importancia de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell)

D. opuntiae es la especie que se presenta con mayor frecuencia en los estados donde se cultiva nopal para verdura, tuna y forraje y el estado de Jalisco no es la excepción. Al igual que otras especies del género, posee una gran capacidad de generar descendencia, que sumado a su hábito alimenticio tan especializado a especies de *Opuntia* y *Nopalea*, hace que se constituya como una importante plaga del nopal.

Los daños que ocasiona son: amarillamiento, clorosis y debilitamiento en cladodios y fruto, al debilitar la planta favorece la infección por fitopatógenos, además provoca su caída prematura (Vanegas-Rico *et al.*, 2010).

Estos daños se agravan en temporadas secas en que las plantas se encuentran estresadas por la escasez de agua e incremento de temperatura (Bailey, 2007), por lo que disminuye la rentabilidad de este cultivo (Cruz, 1994).

En algunos países *D. opuntiae* tiene importancia económica por su utilidad como control biológico de poblaciones de *Opuntia* (Morán y Zimmerman, 1991).

Ciclo de vida de *D. opuntiae*.

La biología de las especies del género *Dactylopius* así como su ciclo de vida (que puede variar en función de la temperatura ambiental) y sus características morfológicas generales son muy similares (Mathenge *et al.*, 2009).

La siguiente descripción del ciclo biológico de *D. opuntiae* se obtuvo de Morales, 1994, en la cual distingue los siguientes estadios durante su ciclo: ninfa I móvil, ninfa I fija, ninfa II, capullo, macho adulto y hembra adulta.

En ocasiones los huevos son difíciles de observar porque eclosionan dentro del cuerpo de la hembra, pero un patrón normal es que formen aglomeración de huevos, en horas eclosionen y se observen las ninfas.

El género *Dactylopius* se considera hemimetábolo al igual que otros géneros del orden Hemiptera, sin embargo, dentro de este género los machos se asemejan más a holometábolos debido a que después de pasar por el estadio juvenil generan una “pupa” o capullo de seda para después emerger como machos adultos, de menor tamaño que las hembras (Portillo y Viguera, 2008). Sin embargo, la estructura sedosa en la que se envuelven no está considerada como una verdadera pupa, ya que es propia de insectos holometábolos.

Para el caso de *D. opuntiae*, las hembras adultas permanecen en estado de preoviposición de 19 a 25 d, posteriormente comienzan a segregar una gota de líquido viscoso, color ámbar en la abertura del aparato reproductor, esta gota se va oscureciendo a medida que la hembra adulta entra en el periodo de oviposición, el cual perdura aproximadamente de 13 a 31 d.

Cuando emergen las ninfas, buscan el lugar apropiado en el cladodio para insertar su estilete con el que se alimentan y los insectos quedan fijas durante todo el ciclo, la etapa de ninfa I dura de 17 a 23 d; en esta etapa no se diferencian hembras de machos.

Posteriormente las ninfas comienzan a cubrirse de cera algodonosa color blanco y aumentan ligeramente de tamaño, la etapa de ninfa II es de 12 a 16 d; a partir de este punto, las ninfas que son hembras continuarán aumentando de tamaño y cubriéndose de cera algodonosa hasta llegar a estado adulto.

Los machos se envuelven con cera y forman un capullo, esta etapa tiene una duración de 11 a 15 d, y posteriormente emergen los machos adultos, los cuales poseen alas, carecen de aparato bucal y son aproximadamente un tercio del tamaño de la hembra, en estado adulto únicamente viven de 3 a 5 d (Morales, 1994).

La duración de cada estadio puede variar como se mencionó, conforme aumenta la temperatura el ciclo es más corto, mientras que cuando la temperatura disminuye el ciclo se alarga en duración.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que *D. opuntiae* tiene gran importancia económica en países donde se cultiva nopal, ya que puede ser una de las principales plagas de este cultivo (Cruz, 1994), al igual que uno de los principales agentes de control biológico (Morán y Zimmerman, 1991), es necesario poseer información completa sobre su reproducción para llevar a cabo un efectivo plan de manejo.

Sólo se cuenta con el trabajo de Flores-Hernández *et al.* (2006) que aborda la reproducción de *D. opuntiae* el cual menciona a grandes rasgos que el método principal de reproducción de la especie es sexual, pero que puede realizar partenogénesis como método alternativo, sin embargo, el experimento se realizó únicamente durante una generación en ausencia de machos, por lo que no mencionan si las hembras son capaces de realizar este proceso de manera consecutiva y no brindan más detalles sobre el tipo de partenogénesis ni las implicaciones que tiene este proceso en la biología de las hembras.

JUSTIFICACIÓN

Con base en que sólo existe un trabajo sobre la especie *D. opuntiae* y brinda pocos detalles sobre la partenogénesis en esta especie, se hace necesario evaluar este fenómeno en más de una generación de manera consecutiva con la finalidad de verificar la capacidad adaptativa de las hembras.

Sumado a esto, no se proporciona mayor información en cuanto a las implicaciones del fenómeno en la biología del insecto, que incluye su efecto en el ciclo biológico así como diferencias morfológicas de las hembras que son fecundadas, con respecto a las que no lo son; por todo lo anterior, es importante investigar este fenómeno que presenta *D. opuntiae* tal como lo recomienda Mathenge *et al.* (2009).

La presente investigación permitirá aclarar dudas relacionadas a la partenogénesis e incorporarla en métodos más efectivos de control para evitar el uso de insectos estériles e insecticidas que interfieren con hormonas sexuales puesto que no resultarían efectivos con hembras que generan descendencia sin ser fecundadas.

Adicionalmente, también se podría incluir los resultados obtenidos en planes de manejo enfocados hacia el control biológico puesto que si temperaturas altas incrementan el número de hembras y los machos no son indispensables para la reproducción se podría incrementar rápidamente el número de individuos de esta especie en lugares donde las instalaciones permitan controlar la temperatura a voluntad.

HIPÓTESIS

Si la presencia de ambos sexos hembra:macho de la descendencia se mantiene constante a lo largo de sucesivas generaciones, aun cuando las hembras de la especie *D. opuntiae* no son fecundadas por machos, entonces se corroborará la presencia de partenogénesis deuterotoca en esta especie, así como su capacidad para llevarla a cabo en generaciones consecutivas.

OBJETIVO GENERAL

Comprobar el tipo de partenogénesis que presenta *D. opuntiae* (Cockerell) tomando en cuenta la evaluación de las proporciones sexuales.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar durante tres ciclos biológicos consecutivos, las diferencias en la progenie producida por hembras fecundadas y hembras partenogénicas.
2. Evaluar si la presencia de partenogénesis afecta la biología de *D. opuntiae*, los días de duración del ciclo biológico así como cambios físicos que pudieran presentar las hembras partenogénicas.

METODOLOGÍA

El experimento se llevó a cabo en un invernadero de cría de grana cochinilla, del departamento de Botánica y Zoología de la U. de G. bajo condiciones semi-controladas, donde se midió la temperatura durante toda la investigación que inició en marzo del 2012 y finalizó en marzo del 2013.

Cría de *D. opuntiae* (Cockerell) (cochinilla silvestre)

Se utilizaron seis jaulas de plástico (15.5 x 15.5 y 20.4 x 20.4 cm) con una ventana cubierta con malla mesh No. 40 (para evitar el ingreso externo de algún otro artrópodo) (Figura 2).



Figura 2. Jaula con malla protectora.

En cada jaula se colocó un cladodio de la especie *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller de aproximadamente 18 meses de edad, los cuales se acomodaron de manera horizontal, uno por jaula, para adoptar ésta modalidad de cría se consideró la información descrita por Portillo y Viguera (2008).

Para iniciar el experimento se utilizaron hembras de *D. opuntiae* de varios cladodios infestados y se eligieron únicamente las que presentaron características de estar próximas a oviposición, es decir las que presentaron una gota color ámbar o rojizo oscuro en un extremo o que se observó estaban en proceso de liberación de huevos (Figura 3).

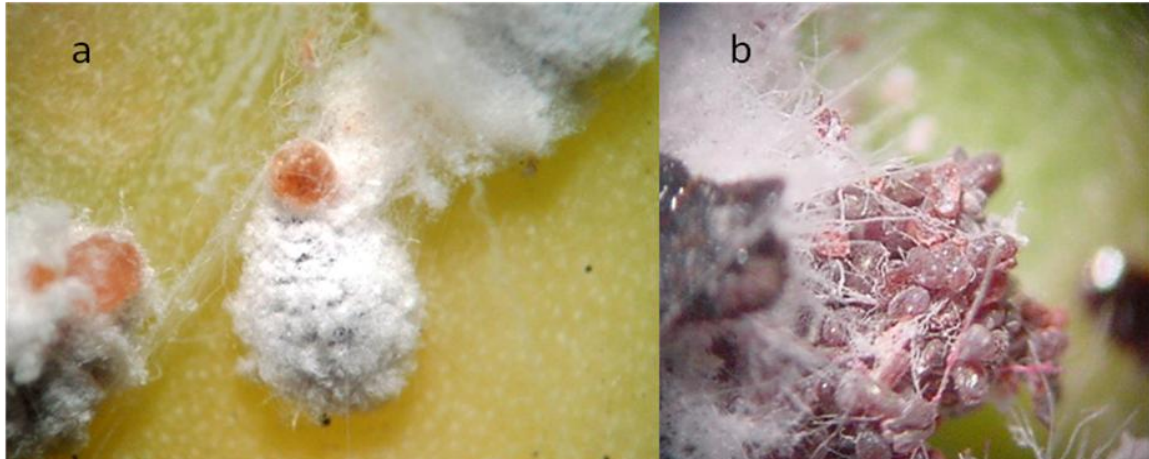


Figura 3. Hembras utilizadas para infestación a) Hembra comenzando etapa de oviposición. b) huevos de donde surgirán las ninfas (Foto: A. L. Vigueras).

Se colocaron tres hembras por cladodio (con las condiciones anteriores descritas), por lo que se contó con 18 hembras adultas en oviposición (Figura 4), las cuales se dejaron sobre los cladodios durante una semana y después se dejó sólo a las ninfas I móviles, que se les permitió alcanzar el estado adulto.



Figura 4. Infestación de cladodios a) Colocación de las 3 hembras por cladodio para iniciar la infestación. b) Disposición de las 6 jaulas utilizadas en cada generación, en la imagen se observan los cladodios completamente infestados.

Evaluación y determinación del tipo de partenogénesis

Se inició con una generación de reproducción sexual, considerada como generación testigo, en la cual los machos fecundaron a las hembras. Una vez que las cochinillas alcanzaron el estado adulto, del tratamiento de generación testigo se seleccionaron 18 hembras adultas, próximas a ovipositar, para iniciar las generaciones partenogénicas consideradas como tratamientos uno, dos y tres. Cabe señalar que la descendencia de las 18 hembras que conformaron las generaciones partenogénicas no estuvo en contacto con machos adultos.

Posteriormente, se inició con las generaciones partenogénicas de manera consecutiva. En estas generaciones los capullos de los machos, fueron retirados con un pincel (Figura 5) sucesivamente hasta que dejaron de presentarse, de manera que las hembras no fueron fecundadas.

En todas las generaciones, tanto testigo como en los tratamientos se contabilizó el número de machos y de hembras adultas por jaula. Estos datos se utilizaron para capturarlos en un programa estadístico y para la obtención de las proporciones sexuales.

La proporción de hembras es el número de hembras en relación a la población total, se obtiene dividiendo el número de hembras entre el número total de individuos (machos y hembras); por lo tanto, la proporción de machos se obtiene de la misma manera sustituyendo únicamente por el dato del número de machos (Zapata, 1970 citado en Vargas, 1988), como se muestra en la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Número total de hembras}}{\text{Número total de machos} + \text{Número total de hembras}}$$

Fórmula usada para obtener las proporciones.
--



Figura 5. Forma de retirar las pupas de los machos con el pincel.

Para determinar el tipo de partenogénesis, se observó el sexo en el que se diferenció la progenie producida en ausencia total de machos adultos y se estimaron las proporciones sexuales en comparación con la generación testigo.

Evaluación de las diferencias en la progenie de hembras fecundadas y hembras partenogénicas

Se seleccionó una hembra oviplena al azar de cada jaula para cada uno de los tratamientos, las cuales se aislaron individualmente en cajas de Petri, posteriormente, se contabilizó el número de ninfas en su totalidad y se obtuvieron los números totales de crías producidos por hembra (Figura 6), los cuales se capturaron en un programa estadístico para evaluar si hay diferencia significativa en el número de descendencia entre generación testigo y tratamientos.

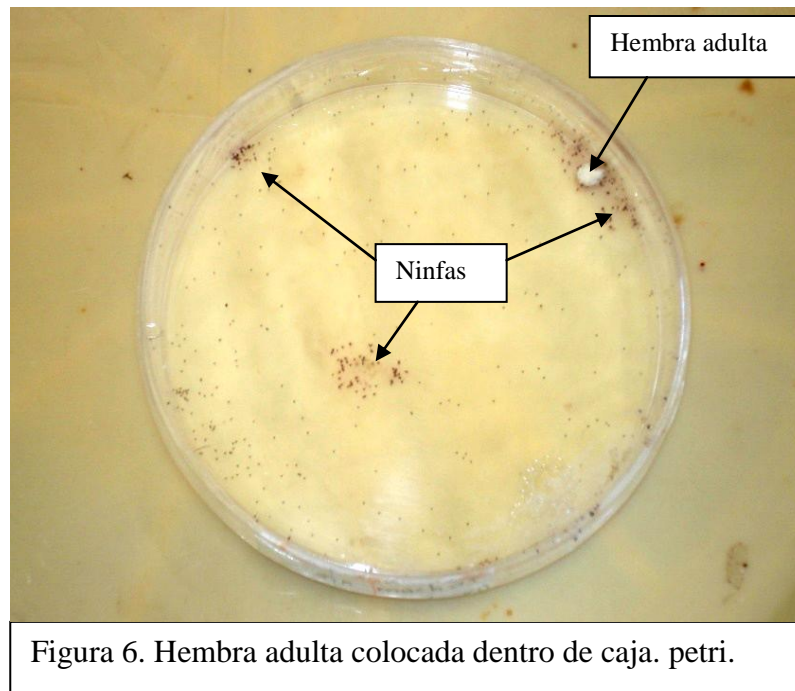


Figura 6. Hembra adulta colocada dentro de caja. petri.

Evaluación del efecto de la partenogénesis en la biología de *D. opuntiae*: duración del ciclo biológico y posibles cambios físicos en las hembras partenogénicas

Para corroborar este aspecto, se contabilizaron los días de duración de cada estadio del ciclo biológico de la generación testigo y de los tratamientos en ausencia de machos, por lo que se consideró el efecto de la partenogénesis como un aumento o disminución en número de días en alguna etapa del ciclo, siempre y cuando en los tres tratamientos se presentara el cambio en la misma etapa y en número similar de días.

Además, se observaron las condiciones físicas de las hembras testigo y de las hembras de los tratamientos con el fin de evaluar si se presentó algún cambio producto de la partenogénesis, por lo tanto, de ser así dicho cambio sería uniforme en toda la generación.

Diseño experimental

En los tratamientos uno y dos con ausencia de machos se lograron infestar dos jaulas, por lo que se eligieron al azar dos jaulas del tratamiento con machos (testigo) y del tercer tratamiento sin machos, con el fin de dejar todos los tratamientos con la misma cantidad de repeticiones.

Se realizaron comparaciones entre la generación de reproducción sexual con las tres generaciones partenogénicas. Cada generación inició con seis unidades experimentales (jaulas). Para estimar la media de la población y error estándar dado que el tamaño de muestra fue pequeño, se empleó la prueba de T de Student; los datos fueron analizados con el programa SAS[®].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación y determinación del tipo de partenogénesis tomando en cuenta las proporciones sexuales

Las hembras partenogénicas produjeron ninfas que posteriormente dieron origen a hembras y machos al igual que las hembras testigo, por lo que se concluye que esta especie tiene partenogénesis de tipo deuterotoca, debido a que se tiene la certeza que ningún macho estuvo presente en jaulas de hembras partenogénicas.

Este resultado difiere a lo reportado en otros trabajos realizados con familias del mismo orden (Hemíptera), en donde la progenie son solamente hembras (partenogénesis telitoca), tal es el trabajo de Dughetti (2010), en el cual mencionan que en Aphididae se generan hembras, asimismo Bueno *et al.* (2005) reportan que Aleyrodidae produce solo machos (arrenotoca).

También difiere de trabajos previos realizados con especies del género *Dactylopius*, como el de Marín y Cisneros (1977) y Guerra y Kosztarab (1972) que trabajaron con *D. coccus*, Moran y Cobby (1979) que trabajaron con *D. austrinus*, Sullivan (1990) que trabajó con *D. ceylonicus* y Mathenge *et al.* (2009) que trabajaron con *D. tomentosus*, en todas estas investigaciones reportan ausencia de partenogénesis.

Algunos autores reportan las causas que originan la partenogénesis, como es el caso de Hodkinson y Bird (2006) quienes mencionan que los factores ambientales como altitud y temperatura, aunado a cuestiones nutricionales de las plantas hospedadoras en insectos fitófagos, son algunas de las causas que podrían activar el mecanismo de la partenogénesis. Sin embargo, Martínez-Rodríguez *et al.* (2013) y Hales *et al.* (1997) mencionan que para el caso de la familia Aphididae, la partenogénesis se debe a mecanismos citogenéticos en

donde influye el modo en que sucede la meiosis, los cuales intervienen en la determinación del sexo y que todavía no se conocen en su totalidad.

En la presente investigación, se observó en el transcurso de todo el experimento, que el factor determinante para que se presente partenogénesis fue la ausencia de machos adultos en contacto con hembras adultas, dado que se presentó este fenómeno en los tres tratamientos sin machos adultos tomando en cuenta que sucedieron en estaciones distintas del año cuando la temperatura sufre variaciones en cada estación (Figura 7).

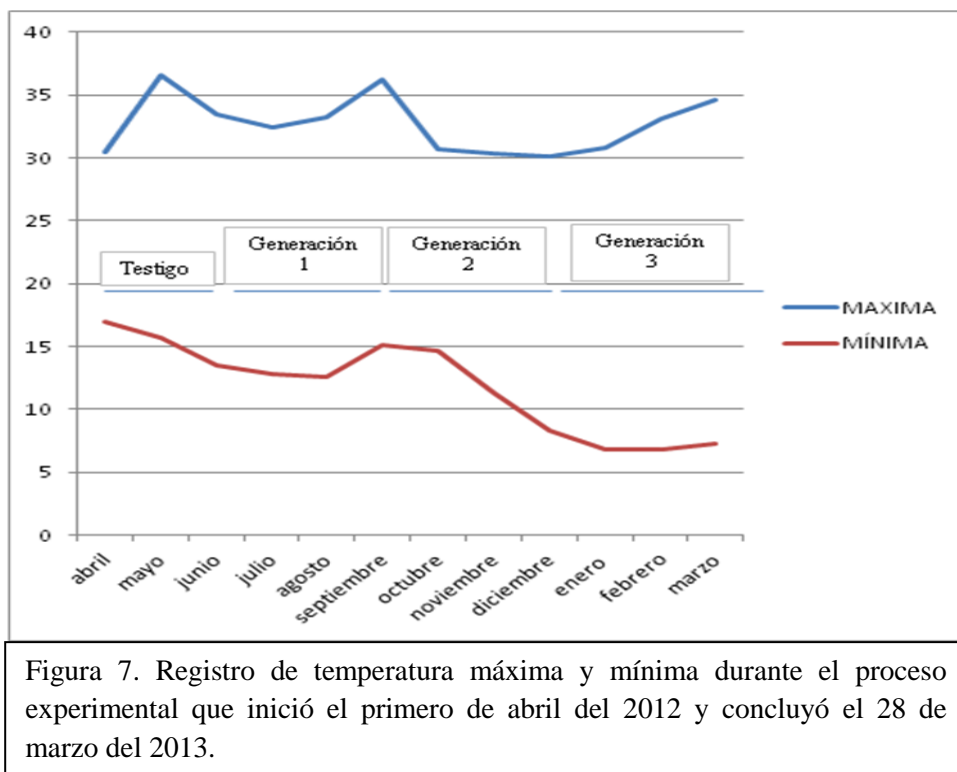


Figura 7. Registro de temperatura máxima y mínima durante el proceso experimental que inició el primero de abril del 2012 y concluyó el 28 de marzo del 2013.

Por lo tanto, aunque en este experimento se excluyeron los machos de manera intencional, se estima que en plantaciones de nopal, los machos tienden a disminuir en número por efecto de la temperatura (como se mencionó en la introducción) y al no haber suficientes machos que fecunden, las hembras realizan partenogénesis para la supervivencia de la población en circunstancias adversas. Sin embargo, hay otros factores como la luminosidad que no se aborda en esta investigación y que se deberá aclarar en trabajos posteriores.

En cuanto a la proporción hembra:macho se obtuvieron los resultados presentados en el cuadro 2, aunque dicha proporción nunca se mantuvo en todos los tratamientos, se observó que en el tratamiento testigo y el tratamiento tres ambos sexos predominaron una vez en alguna de las jaulas, mientras que en los tratamientos uno y dos solo uno de los sexos fue predominante sobre el otro en ambas jaulas. Aunque los tratamientos sin machos adultos mostraron diferencias en la proporción con respecto al tratamiento testigo, estas no representan una tendencia que sea uniforme en todos los tratamientos, incluso en el tratamiento tres se obtuvieron valores totalmente orientados en ambos extremos, por lo tanto, la partenogénesis no es factor determinante que modifique la proporción de sexos en esta especie. Sin embargo, puede haber o hay otros factores involucrados como se mencionó anteriormente (luminosidad, temperatura, nutrición del cladodio, etc.).

Cuadro 2. Proporción en la generación con fecundación en las tres generaciones de estudio.

TRATAMIENTOS	PROPORCIÓN HEMBRA:MACHO
Tratamiento testigo con machos	0.66:0.34 y 0.38:0.62
Tratamiento 1 sin machos adultos	0.53:0.47 y 0.95:0.05
Tratamiento 2 sin machos adultos	0.45:0.55 y 0.33:0.67
Tratamiento 3 sin machos adultos	1:0 y 0.07:0.93

Debido a que la temperatura no se mantuvo constante en el invernadero de cría, las diferencias observadas en la proporción entre los tratamientos no descartan la posible influencia de la temperatura, sumado a factores como la capacidad reproductiva de las hembras o las cuestiones nutricionales de los cladodios utilizados, como lo han sugerido algunos estudios como el de Hodkinson y Bird (2006).

Según Zapata (1970) citado por Vargas (1988) en la broca del café (*Hypothenemas hampey* Ferrari, Coleoptera:Curculionidae) hay nueve hembras por cada macho, además que los pulgones presentan proporción de 9:1, sin embargo, también menciona que la proporción de sexos en un periodo de tiempo determinado depende de la fecundidad y de la duración del ciclo biológico de la especie; la cual es variable según la especie de que se trate, esto concuerda con lo que menciona el mismo Vargas (1988), quien reporta sobre la especie *D. coccus* que presenta una proporción de 8:1; esta última afirmación es apoyada

por Sullivan (1990), ya que en su trabajo menciona que en la superfamilia Coccoidea la proporción de sexos varía según la especie e influye mucho la temperatura.

Para balancear correctamente el análisis estadístico debido a que en tratamiento uno y dos se lograron infestar sólo dos jaulas, se capturaron datos de dos jaulas por tratamiento en el programa estadístico, es decir, ocho jaulas en total.

Los resultados estadísticos muestran que no hay diferencia significativa entre la generación testigo y las tres generaciones de partenogénesis (Cuadro 3 y 4), es decir que aunque hay cambios con partenogénesis, no aumenta ni disminuye considerablemente el número de machos y hembras, por lo que su comportamiento es similar (Figura 8 y 9), lo que indica que cuando ocurre la partenogénesis, la descendencia no obtiene ningún cambio que le perjudique y por lo tanto puede sobrevivir cuando haya escasez de machos en ambientes naturales.

Cuadro 3. Probabilidades obtenidas en análisis de machos de la prueba T de student al comparar tratamientos con testigo.

TRATAMIENTOS	Pr > F	Pr > t
Tratamiento 1 sin machos adultos	0.5206	0.1552
Tratamiento 2 sin machos adultos	0.9791	0.5587
Tratamiento 3 sin machos adultos	0.6169	0.6872

Cuadro 4. Probabilidades obtenidas en análisis de hembras de la prueba T de student al comparar tratamientos con testigo.

TRATAMIENTOS	Pr > F	Pr > t
Tratamiento 1 sin machos adultos	0.3679	0.0739
Tratamiento 2 sin machos adultos	0.6830	0.1097
Tratamiento 3 sin machos adultos	0.6267	0.3372

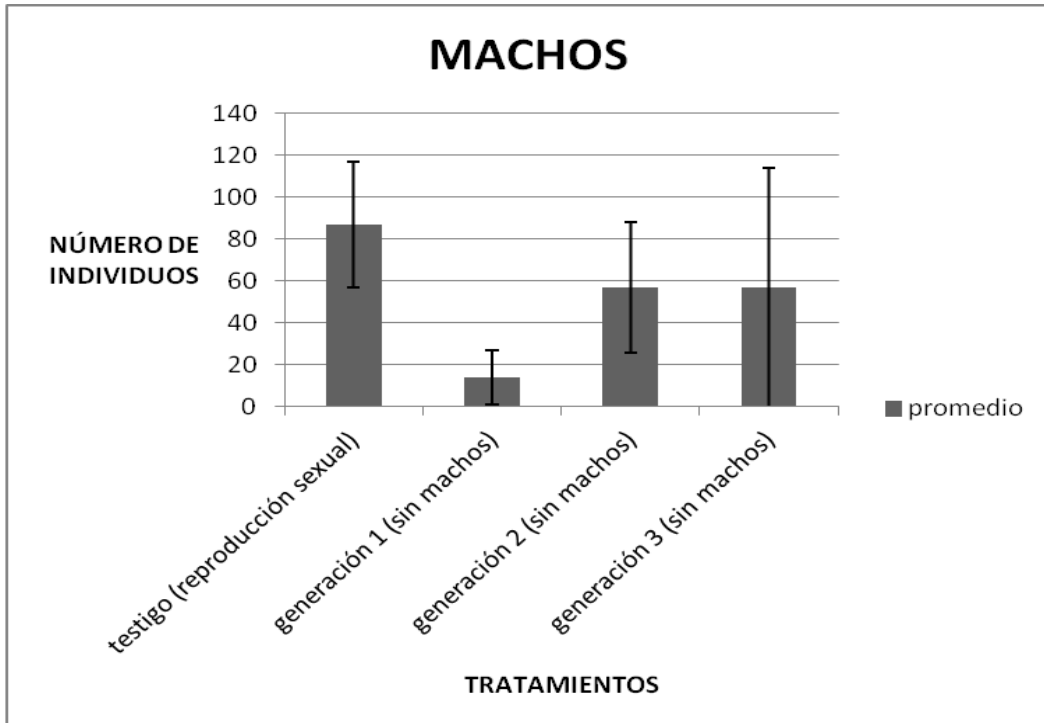


Figura 8. Promedio de machos adultos de *D. opuntiae* de generación testigo y los capullos de machos de generaciones partenogénicas obtenido con el programa estadístico SAS.

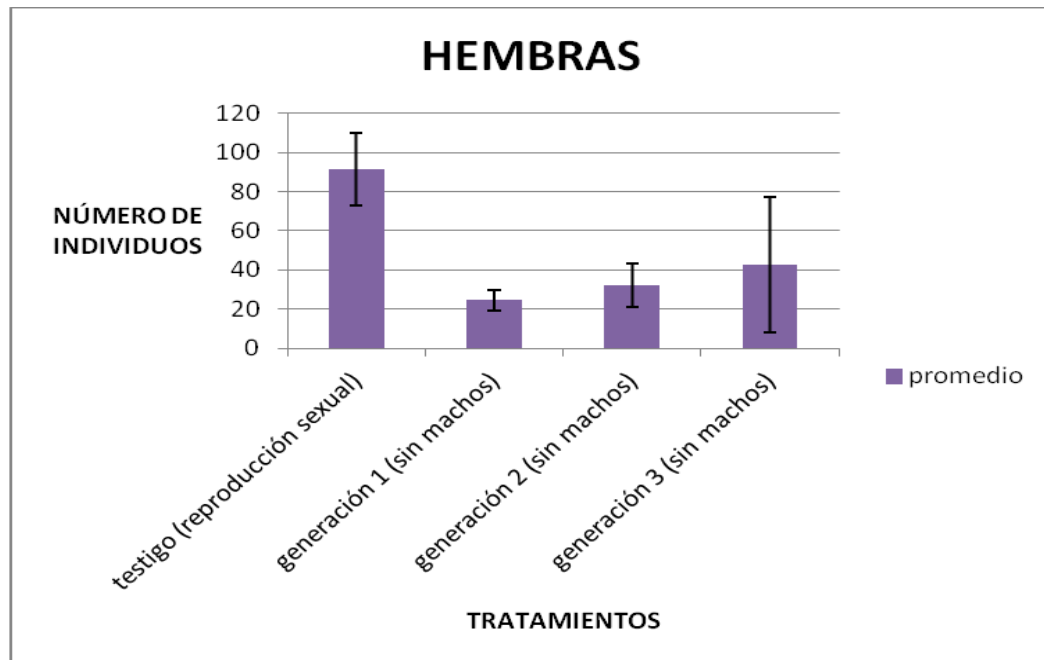


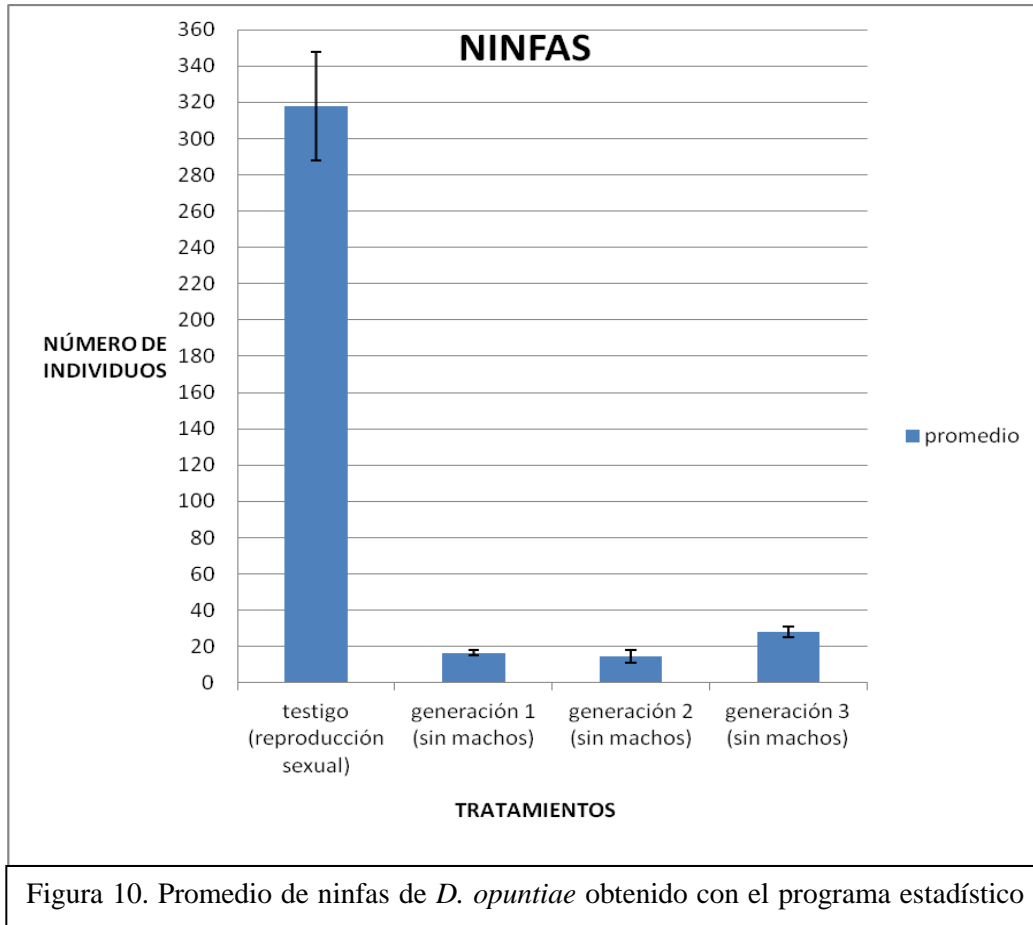
Figura 9. Promedio de hembras de *D. opuntiae* obtenido con el programa estadístico SAS.

Evaluación de las diferencias en el número de progenie de hembras fecundadas y hembras partenogénicas durante tres ciclos biológicos consecutivos

En cuanto al número de ninfas producidas por hembra, se obtuvo una diferencia significativa entre las hembras partenogénicas y las hembras fecundadas (Cuadro 5), lo cual indica que las hembras fecundadas por machos produjeron una cantidad significativamente mayor de ninfas comparadas con las hembras partenogénicas (Figura 10). Este resultado es similar a los que se han obtenido en los trabajos encontrados de Marín y Cisneros (1977) con *D. coccus*, Guerra y Kosztarab (1992) también con *D. coccus*, Moran y Cobby (1979) con *D. austrinus*, Sullivan (1990) con *D. ceylonicus* y Mathenge *et al.* (2009) con *D. tomentosus*, debido a que también reportan un gran número de ninfas producidas por hembras fecundadas. Cabe mencionar que este es el primer trabajo donde se contabilizó el número de ninfas por hembra individual en la especie *D. opuntiae*, puesto que aunque Morales (1994) y Flores-Hernández *et al.* (2006) mencionan datos sobre promedio de ninfas, ellos contabilizaron la producción de ninfas de un conjunto de hembras.

Cuadro 5. Probabilidades obtenidas en análisis de ninfas de la prueba T de student al comparar tratamientos con testigo.

TRATAMIENTO	Pr > F	Pr > t
Tratamiento 1 sin machos	0.0636	0.0625
Tratamiento 2 sin machos	0.1479	0.0098
Tratamiento 3 sin machos	0.1269	0.0106



Evaluación del efecto de la partenogénesis en la biología de *D. opuntiae*: duración del ciclo biológico y posibles cambios físicos en las hembras partenogénicas

En las observaciones registradas durante el ciclo biológico de *D. opuntiae* se observó que en los tratamientos sin machos, la etapa de preoviposición duró en el primer tratamiento 17 d, en el segundo 20 d y en el tercero 18 d, a diferencia de la generación testigo la cual duró 13 d en preoviposición, estos días son los que duraron las hembras desde que dejaron de presentarse capullos de machos hasta que emergió la primera ninfa (Figura 11).

De acuerdo a Morales (1994) la temperatura también incide en la duración del ciclo puesto que cuando disminuye, todos los estadios demoran más días, caso contrario de cuando la temperatura aumenta los estadios demoran menos.

En los resultados obtenidos con *D. opuntiae* respecto al número de días de duración de cada estadio, la etapa de preoviposición fue la única que presentó una diferencia notablemente mayor en aumento de días en los tratamientos sin machos con respecto al tratamiento testigo y a lo reportado en Morales (1994).

Aunque la temperatura si influyó la duración de los ciclos (Figura 7) puesto que ninguno de los tratamientos sin machos coincide en número de días en la etapa de preoviposición, estos tres tratamientos se asemejan más entre sí que al tratamiento testigo, por lo que se consideró que la partenogénesis influye en la duración del ciclo biológico y aumenta los días de duración de la etapa de preoviposición.

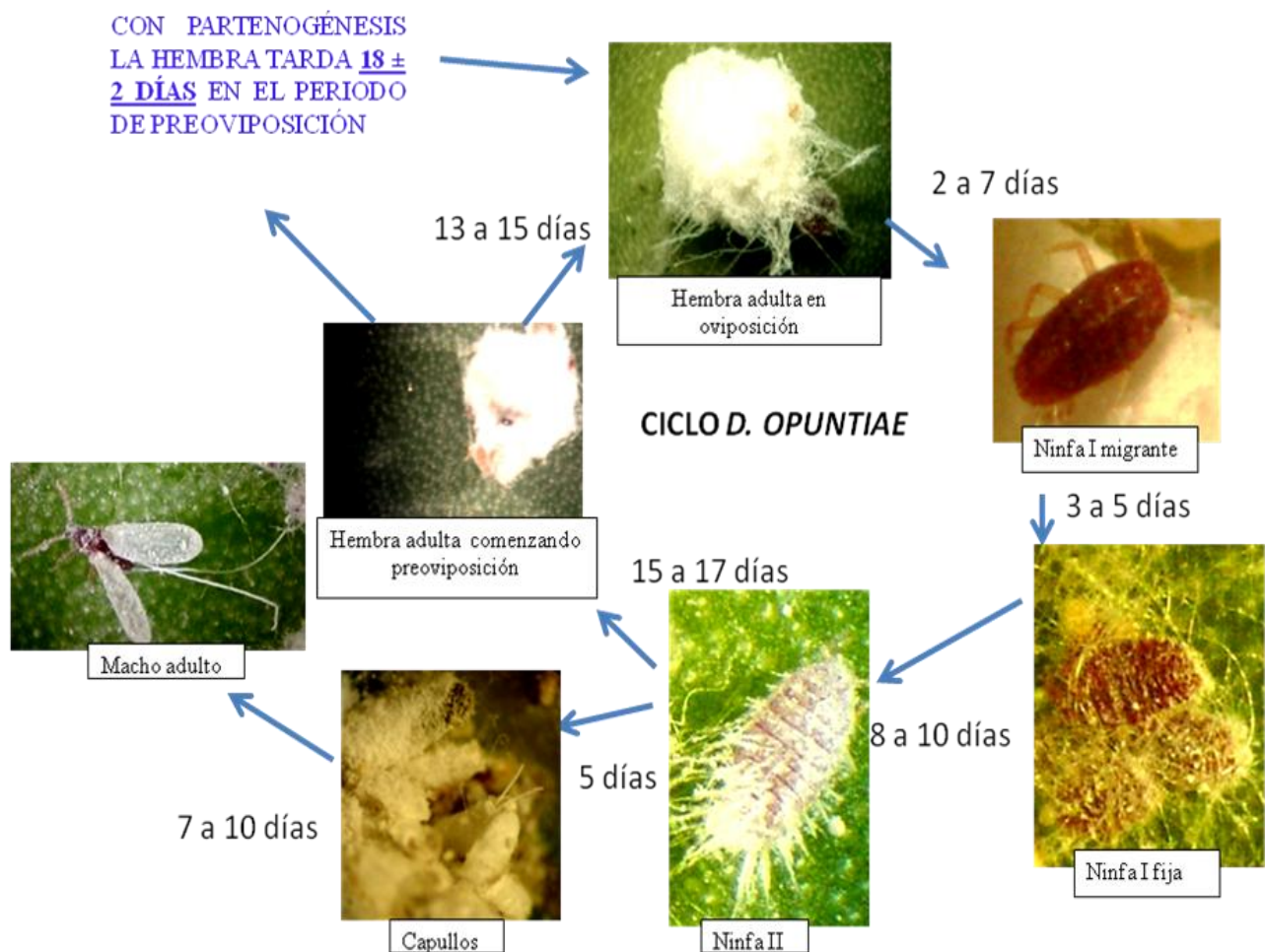


Figura 11. Comparación del ciclo de vida entre hembras con fecundación sexual (letras negras) y hembras partenogénicas (letras de color).

Al concluir con su ciclo el tratamiento tres sin machos, se observó en todas las jaulas un notable cambio en las dimensiones de las hembras, por lo que se procedió a comparar visualmente una hembra adulta de *D. coccus*, una hembra adulta de *D. opuntiae* fecundada y una hembra adulta partenogénica del tratamiento tres (Figura 12). Se observó que la hembra de *D. coccus* tiene el doble del tamaño de la hembra fecundada de *D. opuntiae* y esta última tiene el doble del tamaño de la hembra partenogénica.

Asimismo, se procedió a obtener medidas morfométricas de dos hembras adultas de *D. opuntiae* fecundadas y dos hembras partenogénicas del tercer tratamiento con ayuda de un vernier y se obtuvo que ambas hembras fecundadas midieron 5 mm de longitud y ambas hembras partenogénicas 3 mm, por lo que la reducción de tamaño observada fue de 2 mm (Figura 13).

Cabe mencionar que se observó uniformidad en la reducción de tamaño de las hembras partenogénicas del tratamiento tres en todas las jaulas con respecto a hembras fecundadas. Este es el primer reporte sobre reducción de tamaño en esta especie y en el género, por lo que no hay trabajos previos con los cuales comparar y por lo mismo amerita que se investigue más a fondo este fenómeno.



Figura 12. Comparación de tamaño entre la cochinilla fina (*D. coccus*), cochinilla silvestre fecundada (*D. opuntiae*) y cochinilla silvestre (partenogénica).

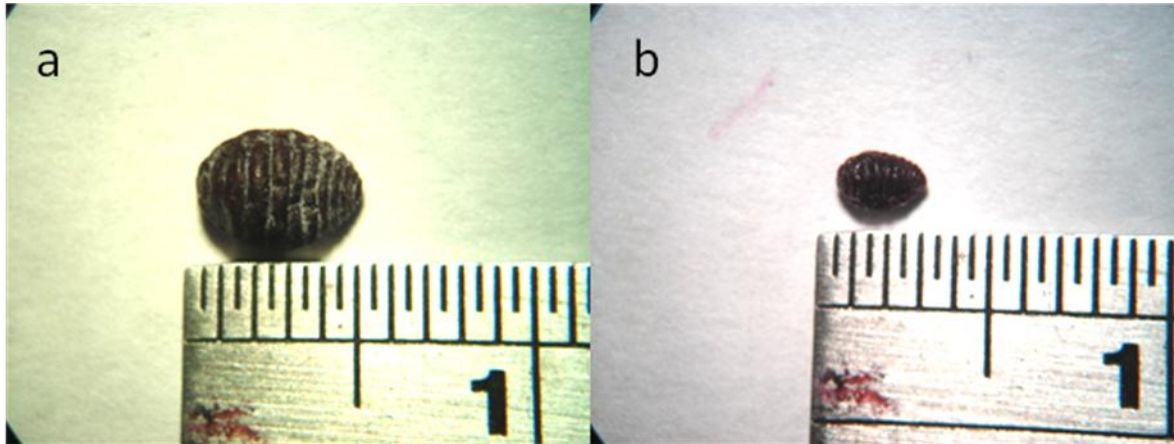


Figura 13. Tamaño corporal de hembras adultas. a) hembra fecundada de la generación testigo y b) hembra partenogénica de la tercer generación.

CONCLUSIONES

1. La especie *D. opuntiae* presenta partenogénesis facultativa de tipo deuterotoca.
2. Las proporciones sexuales mostraron diferencias en todas las generaciones pero no forman una tendencia, por lo tanto la partenogénesis por sí misma no modifica la proporción de sexos.
3. La progenie producida por hembras de *D. opuntiae* disminuye significativamente cuando realizan partenogénesis con respecto a cuando son fecundadas.
4. El ciclo de vida de *D. opuntiae* con ausencia de machos aumenta de 3 a 5 d en la etapa de preoviposición.
5. Las hembras partenogénicas tuvieron una reducción de tamaño con respecto de las fecundadas.

LITERATURA CITADA

- Agustí, N. y R. Gabarra. 2009. Puesta a punto de una cría masiva del polífago *Dyciphus tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae). Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas. 35(2): 205-218.
- Bailey, P. T. 2007. Pests of field crop and pastures: Identification and control. CSIRO Publishing. Australia. pp. 389.
- Bellés, X. 2005. Precursores y fundadores de la Entomología: Charles Bonnet (1720-1793), descubridor de la partenogénesis. Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (36): 136.
- Brusca, R. y G. Brusca. 2005. Invertebrados 2da edición. Mc Graw Hill. Madrid, España. 1005 pp.
- Bueno, J. M., C. Cardona y P. Chacón. 2005. Fenología, distribución espacial y desarrollo de métodos de muestreo para *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) en habichuela y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Colombiana de Entomología 31(2): 161-170.
- Cabello García, T., I. Carricondo Martínez, L. Justicia Del Rio y J. E. Belda Suarez. 1996. Biología y control de las especies de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Gen.) y *Bemisia tabaci* (West.) (Homóptera: Aleyrodidae) en cultivos hortícolas e invernaderos. Dirección General de Investigación Agraria. Sevilla, España. 96 pp.
- Chapman, R. 1975. The Insects: structure and function. Elsevier. Londres, Inglaterra. 819 pp.
- Cook, L. G. 2003. *Apiomorpha gullanae* sp. an unusual new species of gall-inducing scale insect (Hemiptera: Eriococcidae). Australian Journal of Entomology 42(4): 327-333.
- Dughetti, A. 2010. Pulgones, clave para identificar las formas ápteras que atacan los cereales. Red de Información Agropecuaria Nacional. Buenos Aires, Argentina. 44 pp.
- Flores-Hernández, A., B. Murillo-Amador, E. O. Rueda-Puente, J. C. Salazar-Torres, J. L. García-Hernández y E. Troyo-Diéguéz. 2006. Reproducción de cochinilla silvestre

- Dactylopius opuntiae* (Homóptera:Dactylopiidae). Revista Mexicana de Biodiversidad 77(1): 97-102.
- Gullan, P. J. y P. S. Cranston. 2005. The Insects. Blackwell Publishing. Hoboken, EUA. 511 pp.
- Hales, D. F., J. Tomiuk, K. Woehrmann y P. Sunnucks. 1997. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: A review. European Journal of Entomology 94(1): 1-55.
- Hodkinson, I. D. y J. M. Bird. 2006. Facultative parthenogenesis in *Cacopsylla myrtilli* (Wagner) (Hemiptera: Psylloidea) in northern Sweden: possible explanations for the occurrence of males. Entomologisk Tidskrift 127(4): 157-160
- Lanteri, A., V. Confalonieri y M. Rodríguez. 2010. Formas curiosas de reproducción animal: la partenogénesis. Revista Ciencia Hoy en línea 20(119): 15-22.
- Marín, R. y F. Cisneros. 1977. Biología y morfología de la cochinilla del carmín *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae). Revista Peruana de Entomología 20(1): 115-120.
- Martínez-Rodríguez, P., J. Sarasa, B. Peco, B. M. Jauregui, D. Rivera y J. L. Bella. 2013. Endosymbiont-free ants: Molecular biological evidence that neither *Wolbachia*, *Cardinium* or any other bacterial endosymbionts play a role in thelytokous parthenogenesis in the harvester ant species, *Messor barbarus* and *M. capitatus* (Hymenoptera: Formicidae). European Journal of Entomology 110(2): 197-204.
- Mathenge, C. W., P. Holford, J. H. Hoffmann, R. Spooner-Hart, G. A. Beattie y H. G. Zimmermann. 2009. The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera:Dactylopiidae). Bulletin of Entomological Research 99(6): 551-559.
- Morales, M. 1994. Estudio del ciclo biológico de la cochinilla silvestre (*Dactylopius* sp.). Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad de Guadalajara, Guadalajara México. 41 pp.
- Moran, V. C. y B. S. Cobby. 1979. On the life-history and fecundity of the cochineal insect, *Dactylopius austrinus* De Lotto (Homoptera:Dactylopiidae), a biological control agent for the cactus *Opuntia aurantiaca*. Bulletin of Entomological Research 69(4): 629-636.

- Moran, V. C. y H. G. Zimmermann. 1991. Biological control of cactus weeds of minor importance in South Africa. *Agriculture, Ecosystems and Environments* 37(1): 37-55.
- Nur, U. 1979. Gonoid thelitoky in soft scale insects (Coccidae: Homoptera). *Chromosoma* 72(1): 89-104.
- Pellizari, G. y G. Jean-Francois. 2010. Scales (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). *BioRisk* 4 (número especial): 475-510.
- Pérez, G. M. 1991. Biosystematics of the family Dactylopiidae (Homoptera: Coccinea) with emphasis on the life cycle of *Dactylopius coccus* Costa. Tesis de doctorado de Filosofía en Entomología. Facultad del Instituto Politécnico de Virginia. Virginia, EUA. 168 pp.
- Portillo, L. y A. L. Viguera. 2008. Cría de Grana Cochinilla. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México. 32 pp.
- Ruiz-Medrano, J., E. Santos-Bueso y J. García-Sánchez. 2013. Charles Bonnet y sus teorías. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología* 88(1): 1-2.
- Sahito, H. A., G. Hussain Abro, R. Dino Khuhro, A. Ghani Lanjar y R. Mahmood. 2010. Biological and morfological studies of cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemíptera: Pseudococcidae) development under laboratory environment. *Pakistan Journal of Entomology, Karachi* 25(2): 131-141.
- Sullivan, P. R. 1990. Population growth potential of *Dactylopius ceylonicus* Green (Hemiptera:Dactylopiidae) on *Opuntia vulgaris* Miller. *Australian Journal of Entomology* 29(2): 123-129.
- Vanegas-Rico, J. M., J. R. Lomeli-Flores, E. Rodriguez-Leyva, G. Mora-Aguilera y J.M. Valdez. 2010. Enemigos naturales de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller en el centro de México. *Acta Zoológica Mexicana* (ns) 26(2): 415-433.
- Vargas Gastelú, F. N. 1988. Biología de la cochinilla del carmín *Dactylopius coccus* Costa, bajo condiciones de laboratorio en Pampa del Arco (2,750 m.s.n.m) Ayacucho. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga, Ayacucho, Perú. 72 pp.

Vigueras, A. L. 2010. Aspectos bióticos y abióticos que influyen en la cría de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa). pp. 87-100. En: Portillo L. y A.L. Vigueras (eds.). Conocimiento y aprovechamiento de la grana cochinilla. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México.