

DESARROLLO DE UNA DIETA ARTIFICIAL PARA CRIA DE *Caloptilia* sp. Y EFECTO DE ECOTIPOS RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES DE *Stylosanthes* SOBRE LA BIOLOGIA DEL INSECTO

Miguel Santiago Serrano R. (1)
Mario Calderón C. (2)

RESUMEN

Se estableció una metodología de cría eficiente para *Caloptilia* sp. barrenador del tallo de *Stylosanthes* spp., sobre dietas artificiales elaboradas a base de harina de la planta hospedante. Cuando se prepararon dietas a base de un ecotipo resistente (*S. capitata* CIAT 1019) se obtuvieron insectos de menor tamaño y en algunos casos con deformaciones, comparados con insectos criados con dieta a base del ecotipo susceptible (*S. guianensis* CIAT 136). Al cruzar hembras y machos provenientes de ambas dietas se encontró un efecto adverso del ecotipo resistente sobre la longevidad, fecundidad y fertilidad del insecto.

SUMMARY

An efficient rearing methodology based on artificial diets was established for the *Stylosanthes* spp stem borer, *Caloptilia* sp; the artificial diets were elaborated with host plant flowers and the results showed that the resistant ecotype (*S. capitata* CIAT 1019) produced shorter and deformed insects when compared with those from the susceptible ecotype (*S. guianensis* CIAT 136). Crosses were made with males and females from both diets and an adverse effect of the resistant ecotype on the longevity, fecundity and fertility of the insects was obtained.

INTRODUCCION

La cría másiva de insectos por medio de dietas artificiales, o sea alimentos elaborados o que no son los que consume el insecto en condiciones naturales, es una técnica de muy buenas perspectivas ya que representa una gran economía en espacio y tiempo para producir las cantidades de insectos que se necesitan.

En este trabajo se desarrolló una metodología de cría para *Caloptilia* sp. (Lepidóptera: Gracillariidae), barrenador del tallo de *Stylosanthes* spp, leguminosa que ha demostrado ser muy promisoría para incorporar en los potreros de gramíneas como suplementación de pasturas, dada su alta calidad alimenticia que permite ganancias de peso de 750 a 800 g/día en la época húmeda y de 450 a 500 g/día en la estación seca (CIAT, 1974, 1975) y porque ofrece enormes rendimientos en materia seca y tolerancia a suelos ácidos con niveles tóxicos de aluminio intercambiable.

Sin embargo, uno de los problemas más limitantes de *Stylosanthes* spp. es *Caloptilia* sp. cuyo estado larval afecta significativamente la duración de las plantas en los potreros (CIAT, 1977).

Medios de control de insectos, tales como el uso de insecticidas químicos o métodos culturales, resultan inoperantes para *Caloptilia* sp. debido a los

efectos secundarios que afectarían las reses en el momento del pastoreo, o que implicarían un manejo inadecuado de las pasturas. Esta situación ha llevado a establecer un programa tendiente a buscar resistencia varietal al insecto mediante la evaluación de germoplasma de *Stylosanthes* spp. en condiciones de campo o invernadero.

Para este último caso, se hace necesario tener una cría del insecto en el laboratorio, lo que se logra con la definición de una dieta artificial para suplir las necesidades alimenticias del insecto en circunstancias que no son su medio natural.

REVISION DE LITERATURA

El barrenador del tallo de *Stylosanthes* spp, fue registrado en 1974 en el Departamento del Meta, Estación Experimental "Carimagua" a 200 m.s.n.m. (CIAT, 1975) y al año siguiente en CIAT (1976) se consigna: "El *S. guianensis* desapareció totalmente hacia el fin de la época seca por efecto del insecto barrenador del tallo". En 1976 (CIAT, 1977) aparece clasificado como cercano al género *Zaratha* (Lepidóptera: Blastodacnidae). En 1977 (Chacón y Calderón, 1979; CIAT, 1978) lo encontraron en la Hacienda "El Limonar" cerca a Santander de Quilichao, Departamento del Cauca, a 990 m.s.n.m. y en El Cerrado, Brasil, atacando varias especies de *Stylosanthes* entre las que se incluyen *S. guianensis* y *S. capitata* y en 1978

1) Biólogo, Entomólogo, Programa de Entomología de Frijol. CIAT, A.A. No. 6713, Cali, Colombia.

2) Entomólogo, Programa de Entomología de Pastos Tropicales, CIAT, A.A. No. 6713, Cali, Colombia.

D.R. Davis del Beltsville Agricultural Research Center, U.S.D.A., lo determinó como *Caloptilia* sp. (Lepidoptera: Gracillariidae).

El barrenador ataca principalmente la parte basal del tallo donde las larvas ocasionan túneles que producen deformaciones en forma de vesículas (CIAT, 1978), debilitando de esta manera la planta, que se torna quebradiza y no soporta la presión del pisoteo del ganado durante el pastoreo (CIAT, 1979; Chacón y Calderón, 1979).

Los estudios de Chacón y Calderón (1979) acerca de la biología del insecto indican que su ciclo de vida a 25°C y 50-60% de humedad relativa, dura un promedio de 87 días, de los cuales, 10 transcurren en el estado de huevo, 53 en el de larva, 17 en el pupa y la longevidad promedio de los adultos es 7 días. Entre los enemigos naturales registraron a *Bracon* sp, *Chelonus* sp. (Hymenoptera: Braconidae) y *Anastatoidea* sp. (Hymenoptera: Eupelmidae).

A través de los estudios de la Sección de Entomología del Programa de Pastos Tropicales del CIAT, se logró establecer que hay ecotipos de *Stylosanthes* que presentan resistencia al barrenador del tallo. (CIAT, 1979, 1980, 1981). Tales resultados muestran alta susceptibilidad del ecotipo de *S. guianensis*, CIAT 136, el cual presenta niveles elevados de ataque y, por el contrario, el ecotipo de *S. capitata*, CIAT 1019 muestra menor intensidad de infestación por el insecto. (CIAT, 1979, 1980).

MATERIALES Y METODOS

Los adultos se colectaron en el campo en parcelas de *Stylosanthes* por medio de jameo manual; se separaron por medio de aspiradoras bucales y se confinaron en el invernadero en jaulas de madera y malla de 55 por 65 cm., en las cuales se colocaron, como sustrato para oviposición, plantas de *Stylosanthes* sembradas en materas de 18 cm. de altura. Además, se colocó un frasco con tapón de algodón con una dilución al 50% de miel de abejas y agua destilada, para alimentación de los adultos.

Para la cría de las larvas de *Caloptilia* sp. se usaron cajas de petri plásticas de 9 cm. de diámetro con 100 g. de dieta sobre la cual se colocaron hasta 25 larvas sin que se presentase canibalismo. Las cajas permitieron observar directamente las larvas alimentándose sin tener contacto con ellas, lo que ayudó a evitar contaminación en la dieta. La dieta se colocó cubriendo completamente la superficie de las cajas y, se hicieron surcos en forma de cuadrícula de aproximadamente un cm.² para facilitar que la larva cavara su túnel (Figura 1).

Las pupas se colocaron en cajas de Petri de 5, 5 cm. de diámetro con papel filtro en el fondo y un frasco de 3 cm. de largo por 0,9 cm. de diámetro sobre la tapa, que contenía agua destilada y un tapón de algodón.

ELABORACION DE LA DIETA ARTIFICIAL

Para la elaboración de la dieta artificial se colectaron tallos y hojas de *S. guianensis* CIAT 136 y *S. capitata* CIAT 1019, los cuales se secaron durante 5 días en un horno de madera con un bombillo encendido a una tem-

peratura de 30°C. Al cabo de ese tiempo se molieron los tallos, usando primero un molino para hacer harina y posteriormente otro de vasos de porcelana para llevarlos a talco.

Al principio se preparó una dieta artificial con base en la literatura (Singh, 1977), seleccionando componentes de fácil consecución y alto valor nutritivo, a la cual se hicieron modificaciones a lo largo del trabajo, hasta determinar la mejor para criar al insecto.

La metodología de preparación de la dieta fue como sigue: todos los ingredientes secos, menos el agar, se disolvieron en la mitad del volumen de agua (187,5 cc) calentada hasta 35°C y se batieron en la licuadora a máxima velocidad durante un minuto. El agar se disolvió en la otra mitad del volumen de agua y se calentó hasta 70-80°C (o simplemente hasta que empezó a gelatinizar) luego se añadieron los otros componentes en la licuadora y se batió a máxima velocidad durante un minuto. La mezcla se colocó en cajas plásticas y se pudo usar al cabo de dos horas. En el desarrollo del trabajo se hicieron variaciones a la composición de la dieta, no así al procedi-

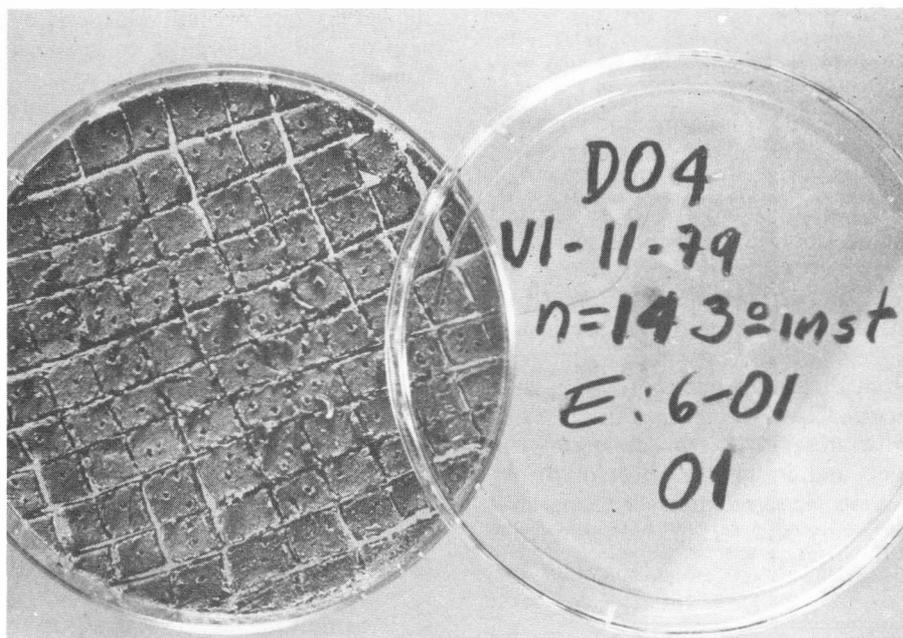


FIGURA 1. Cría de larvas de *Caloptilia* sp. HUBNER sobre dieta artificial en cajas de Petri.

miento de elaboración. El agar es un vehículo nutricionalmente inerte que garantiza que la diete presente la textura adecuada (Villacorta, 1975).

METODOLOGIA DE CRIA

La metodología para criar en el laboratorio a *Caloptilia* sp. que se definió en este trabajo es la siguiente:

- Se capturaron en el campo adultos del insecto, mediante la técnica del jameo manual, se separaron por sexos y colocaron en jaulas en el invernadero. Al cabo de 5 días se contaron los huevos obtenidos.
- Los huevos se colocaron en cajas petri con papel filtro humedecido donde permanecieron hasta la eclosión de las larvas.
- Las larvas recién eclosionadas se colocaron sobre trozos pequeños de tallos de *Stylosanthes* de aproximadamente 10 cm. de longitud, en cajas petri de 15 cm. de diámetro, durante un período de 15 a 20 días (hasta la primera muda).
- Las larvas de segundo instar en adelante se sacaron de los tallos y se colocaron en cajas con dieta (Figura 2). Se hicieron observaciones diarias hasta la aparición de las pupas, llevando registros de actividad del insecto, consumo de alimento, formación de pupas, mortalidad y contaminación de la dieta.
- Los adultos obtenidos se confinaron en jaulas de acuerdo a cruces previamente diseñados. Para garantizar la cópula se colocó el doble de machos respecto a las hembras.
- Los huevos sirvieron para reiniciar el proceso.

Para definir una dieta artificial como en este caso, se hace necesario adicionar y/o suprimir elementos a la dieta básica hasta encontrar aquella que más se acomode a las necesidades nutritivas del insecto y que permita criarlo en condiciones adecuadas y de bajo costo.

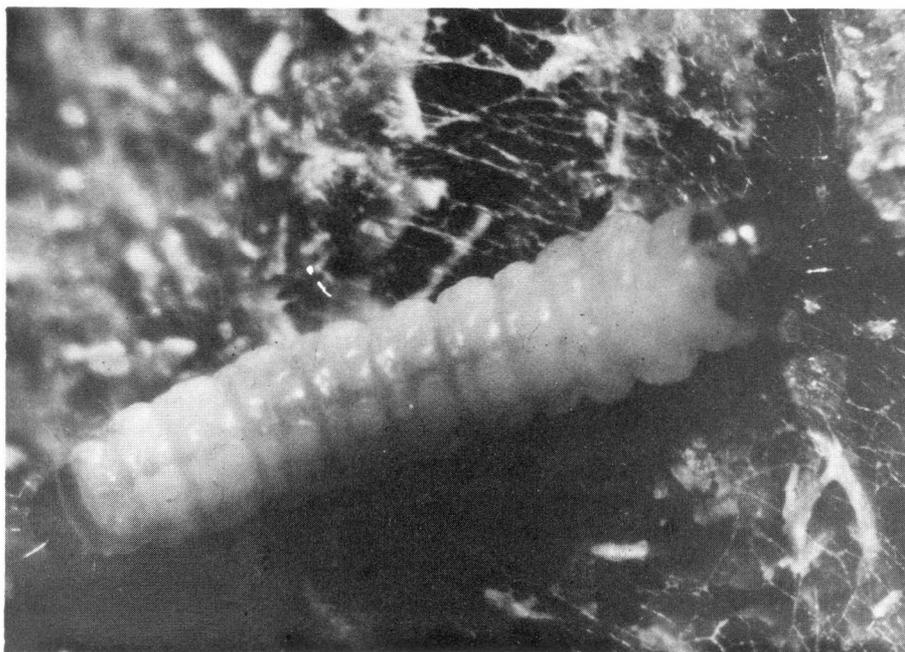


FIGURA 2. Larva de *Caloptilia* sp. alimentándose de dieta artificial. Nótese la producción de seda.

a. Adición de Harina de Fríjol.

Para mejorar la calidad de la dieta original se utilizó harina de fríjol de la variedad Diacol-Calima, como complemento de proteínas y carbohidratos para la nutrición del insecto. Se usaron 17, 21 y 25 grs. de fríjol.

b. Adición de Miel de Abejas y Celulosa.

La miel de abejas es una fuente de carbohidratos y otros nutrientes ricos en energía de fácil consecución y bajo costo que se emplea en muchas dietas artificiales (Singh, 1977), por lo cual se diseñó un experimento para determinar el efecto de la incorporación de miel de abejas a la dieta artificial comparada con una de azúcar químicamente pura, sucrosa, y dos cantidades (10 y 5 g.) de celulosa, la cual además de fuente de carbohidratos y precursores de ellos, esenciales para el insecto, añade consistencia a las dietas (Vanderzant, 1966, 1974).

c. Adición de Complejo Vitamínico.

Debido a la importancia de las vitaminas en el metabolismo general de un ser vivo se propuso la utilización de una mezcla de todas las vitaminas esenciales para la nutrición del insecto. Se probó añadiendo 1 g. de la mezcla producida por Bio-Serv. Inc. French Town, New Jersey, U.S.A. cuya composición fue:

Alfa-Tocoferol	8,0 g/kg
Acido Ascórbico	270,9 g/kg
Biotina	20,0 mg/kg
Pantotenato de Calcio	1,0 g/kg
Cloruro de Colina	50,0 g/kg
Acido Fólico	250,0 mg/kg
i-Inositol	20,0 g/kg
Niacinamida	1,0 g/kg
Piridoxina HCL	250,0 mg/kg
Riboflavina	500,0 mg/kg
Tiamina HCL	250,0 mg/kg
Vitamina B ₁₂ 0,1 ^o /o	2,0 mg/kg

d. Efecto de Ecotipos de *Stylosanthes*.

Una vez establecida una dieta artificial, se diseñaron experimentos con dieta a base de ecotipos resis-

tentes y susceptibles, para establecer de qué forma se afecta la biología de *Caloptilia* sp. al alimentarse del material resistente. Par esto se criaron insectos hasta el estado adulto en dietas artificiales a base de cada ecotipo, los cuales se cruzaron de acuerdo a lo descrito en el Tabla No. 1, para establecer si el efecto se producía sobre la hembra o el macho; en cada cruce se colocó el doble de machos respecto del número de hembras para asegurar la cópula. Los adultos se colocaron en jaulas y para cada cruce se usó como sustrato para oviposición plantas de los dos ecotipos, con 3 repeticiones por cruce.

Todos los procesos de cría y experimentos posteriores se hicieron en el laboratorio a 25°C y 70% H.R. y en invernadero a 26°C y 80% H.R.

RESULTADOS Y DISCUSION

a. En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos al utilizar tres cantidades de harina de fríjol. Cuando se reemplazó la mitad de harina de *Stylosanthes* por harina de fríjol, se redujo el porcentaje de mortalidad de insectos en la dieta lo que significó mejor nutrición del insecto por lo cual se continuó usando 21 g. de fríjol en la dieta artificial para *Caloptilia* sp.

TABLA 1. Cruzamientos de adultos de *Caloptilia* sp. y plantas colocadas como sustrato para oviposición.

Cruce No.	Hembra proveniente de		Macho proveniente de	Sustrato oviposición
1	136*	X	136	136
2	136	X	136	1.019
3	136	X	1.019	136
4	136	X	1.019	1.019
5	1.019**	X	136	136
6	1.019	X	136	1.019
7	1.019	X	1.019	136
8	1.019	X	1.019	1.019

* *S. guianensis* CIAT 136 (susceptible).

** *S. capitata* CIAT 1019 (resistente).

TABLA 2. Evaluación de tres cantidades de harina de fríjol Calima como suplemento en la dieta artificial para *Caloptilia* sp. a 27°C y 70% H.R.

HARINA DE FRIJOL (g)	LARVAS CRIADAS	ADULTOS OBTENIDOS	% MORTALIDAD
21,0	180	148	17,7 a*
17,0	180	97	46,1 b
25,0	180	83	53,8 b
Testigo	180	168	6,6 a

* Promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Duncan)

b. En cuanto a la adición de azúcar y celulosa a la dieta los resultados se presentan en la Tabla 3. Como puede observarse se obtuvo en menor porcentaje la mortalidad de insectos cuando se incorporó celulosa a la dieta. De los dos niveles escogidos, 10 g. mostró más efectividad en cuanto a la producción de adultos. El uso de miel de abejas presentó limitantes en cuanto que facilita la contaminación de la dieta por hongos, por lo que no constituye un componente deseable para incorporar a la dieta. Además, la dificultad en cuanto a pureza de la miel de abejas y las diferencias que presenta de acuerdo a la fuente de que provenga hacen que los datos obtenidos no sean muy confiables respecto a la nutrición del insecto.

c. En cuanto a la adición del complejo vitamínico; la mezcla utilizada no presentó el efecto deseado puesto que aumentó la mortalidad de las larvas a 80,9% en comparación con el testigo donde la mortalidad fue del 20,0%.

Por lo tanto, el uso de la mezcla de vitaminas se eliminó de la dieta artificial. Su efecto negativo obedeció posiblemente a que sus constituyentes son compuestos químicos altamente purificados que (1) no fueron compatibles con otros productos de la dieta o (2) ya estaban presentes en otros constituyentes dietarios alcanzando niveles tóxicos por altas concentraciones.

La composición final de la dieta artificial para cría de *Caloptilia* desarrollada en este estudio es como sigue:

Agar	9,0 g.
Agua destilada	375,0 ml
Acido Sórbico	0,5 g
Acido Ascórbico	1,75 g
Acido Metil-P-Hidroxibenzoico	1,0 g
Nipajín	1,0 g
Celulosa	10,0 g
Gérmen de Trigo	13,0 g
Levadura de Cerveza	16,0 g
Harina de <i>Stylosanthes</i>	21,0 g
Harina de Fríjol Calima	21,0 g

TABLA 3. Comparación de Sucrosa, Celulosa y Miel de Abejas incorporadas a la dieta artificial de *Caloptilia* sp. a 27°C y 70 H.R.

CONTENIDO	LARVAS CRIADAS	ADULTOS OBTENIDOS	°/o MORTALIDAD
Miel de Abejas	85	60	29,4 b*
Sucrosa	90	62	31,1 b
Celulosa 10 g.	87	57	22,2 a
Celulosa 5 g.	85	63	25,9 a
Testigo	90	61	32,2 b

* Promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel 5°/o (Duncan).

d. Efecto de los Ecotipos de *Stylosanthes*.

Una vez definida la dieta artificial se procedió a hacer pruebas de resistencia varietal al insecto. Cuando se compararon dos ecotipos de *Stylosanthes* incorporados a la dieta artificial se encontró (Tabla 4) que el ecotipo resistente (*S. capitata* CIAT 1019) afectó negativamente la producción de pupas, la longitud de éstas (Figura 3) y la cantidad de adultos producidos. Estas observaciones que fueron consistentes con las evaluaciones de campo (CIAT, 1978, 1979, 1980) condujeron a diseñar un experimento más cuidadoso para medir el efecto del ecotipo incorporado a la dieta artificial sobre la fertilidad, la fecundidad y la longevidad del insecto.

Los resultados de los cruces realizados permitieron ver (Tabla No. 5) que el ecotipo resistente, afectó la fertilidad, la fecundidad y la longevidad del barrenador del tallo.

El Ecotipo resistente tuvo un efecto directo sobre la biología del insecto, (antibiosis), afectando sus estados de desarrollo como se observó en el hecho de que sus pupas fueron de menor tamaño y en algunos casos presentaron deformaciones o deficiencias tales co-

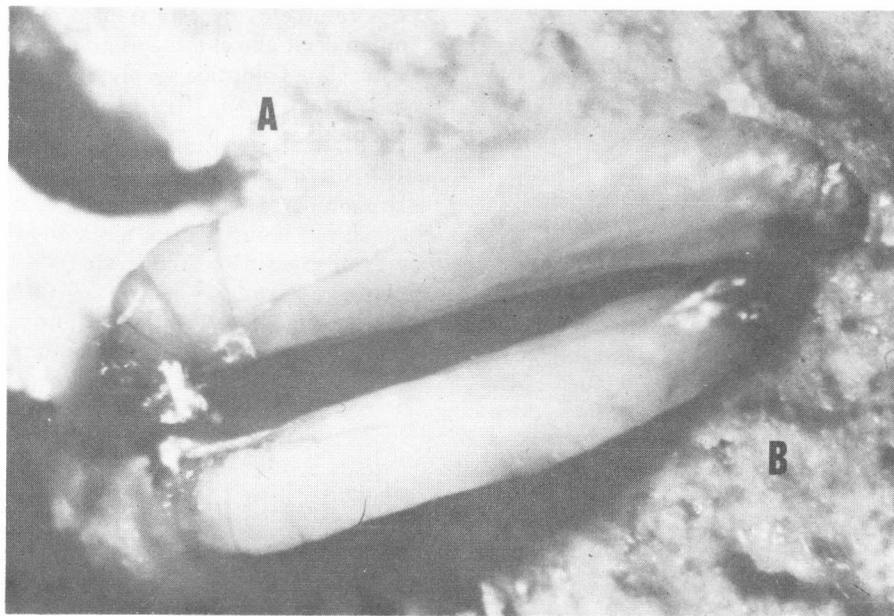
mo el quedarse adheridas por las alas y/o antenas a la exuvia pupal, síntoma típico según la literatura (Vanderzant, 1974) de deficiencias de ácidos grasos, principalmente linolénico y linoléico.

El efecto de *S. capitata* CIAT 1019 se hizo sentir en la progenie de *Caloptilia* sp., pues se halló que aunque la hembra fuera criada en el ecotipo susceptible, al ovipositar sobre el *S. capitata* presentó una reducción en el número de huevos y siempre que una progenie se desarrolló en *S. capitata* se presentó reducción en la fecundidad, fertilidad y longevidad del insecto.

TABLA 4. Comparación de dos Ecotipos de *Stylosanthes* incorporados a la dieta artificial, a 27°C y 80°/o H.R.

	Larvas críaads	Pupas obtenidas	Longitud pupas mm	Adultos obtenidos	°/o mortalidad
<i>S. capitata</i> CIAT 1019 (R)	118	35	4,7 a*	9	92,4 a
<i>S. guianensis</i> CIAT 136 (S)	50	40	5,7 b	31	38,7 b

* Promedios seguidos por la misma letra no difieren al 5°/o (Duncan).

**FIGURA 3. Comparación de las pupas de *Caloptilia* sp.**

A. Obtenida de dieta con base en *S. guianensis* CITA 136.
B. Obtenida de dieta con base en *S. capitata* CIAT 1019.

TABLA 5. Cruzamiento de adultos de *Caloptilia* sp. provenientes de dietas a base de dos ecotipos de *Stylosanthes* y su efecto sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad del insecto.

Cruce No.	Promedio Huevos/♀	% Eclosión	Pupas obtenidas	% sobrevivencia a adulto	Longevidad (días)	Longitud promedio pupas mm
1	10,6 a*	98,1 a	49 a	90,6 a	6,9 a	5,6 a
2	7,8 a	100,0 a	31 a	90,3 a	5,9 a	4,2 b
3	8,2 a	80,7 b	28 a	92,8 a	6,3 a	5,4 a
4	6,0 ab	63,3 b	16 b	93,7 a	6,1 a	4,2 b
5	5,0 b	72,0 bc	17 b	94,1 a	5,0 b	5,0 a
6	3,6 b	66,7 c	9 c	77,7 b	4,9 b	4,1 b
7	4,0 b	55,0 c	9 c	88,8 b	5,1 b	4,0 b
8	3,2 b	50,0 c	7 c	28,6 c	4,3 b	3,9 b

* Promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Duncan).

CONCLUSIONES

1. Se estableció una metodología de cría para *Caloptilia* sp. basada en dietas artificiales que permitió el mantenimiento de colonias del insecto.
2. Al evaluar dietas artificiales con base a un ecotipo de *Stylosanthes* susceptible y otro resistente al ataque

del insecto se encontró que el ecotipo resistente *S. capitata* CIAT 1019 afecta adversamente la longevidad, fertilidad y fecundidad de *Caloptilia* sp.

3. Los resultados de este trabajo permiten decir que el mecanismo de resistencia a *Caloptilia* sp. presente en *S. capitata* CIAT 1019 es del tipo antibiosis.

BIBLIOGRAFIA

CHACON, C., P.; CALDERON, M. Algunos aspectos sobre la biología y posibilidades de control biológico de *Caloptilia* sp. (Lepidoptera: Gracillariidae) barrenador del *Stylosanthes* spp. Revista Colombiana de Entomología V. 5 No. 3 y 4, p. 27-34. 1979.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. CALI (COLOMBIA). Informe Anual 1973. Cali, CIAT, 1974. 284 p.

-----, Informe anual 1974. Cali, CIAT, 1975. 286 p.

-----, Informe anual 1976. Cali, CIAT, 1977, 435 p.

-----, Informe anual 1977. Cali, CIAT, 1978. 435 p.

-----, Informe anual 1978. Cali, CIAT, 1979. 542 p.

-----, Informe anual del Programa de Pastos Tropicales. 1979. Cali, CIAT, 1980. 186 p.

-----, TROPICAL PASTURES PROGRAM. CALI (COLOMBIA). 1980. Annual Report. Cali, CIAT, 1981, 130 p.

SIGH, P. Artificial diets for insects, mites and spiders. New York, Plenum Data, 1977. 594 p.

VANDERZANT, E.S. Defined diets for phytophagous insects. En: Smith, C.N. Eds. Insect colonization and mass production. New York Academic Press, 1966 - p. 373-403.

-----, Development, significance and application of artificial diets for insects Annual Review of Entomology (Estados Unidos) v. 19, p. 139-160. 1974.

VILLACORTA, A. Principios en la elaboración de dietas para insectos. Cali, CIAT, 1975. 27 p.