

Dieta artificial con carne de res, hojas de mora (*Morus alba*), sales de Wesson y yema de huevo de gallina para *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)

.....

Artificial diet with cow meat, *Morus alba* leaves, Wesson's salt and chicken's egg yolk for *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)

.....

Jorge L. Saavedra Díaz¹

José C. Zanuncio²

Teresinha V. Zanuncio²

Fernando Cantor²

Resumen

Este trabajo tuvo el objetivo de estudiar el efecto de la adición de hojas de mora (*Morus alba*), sales de Wesson y yemas de huevo de gallina, a una dieta a base de carne e hígado de res, además de sacarosa, para la cría del predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, $60 \pm 10\%$ de humedad relativa y fotoperíodo de 12 horas. Aunque la dieta con sales de Wesson y yemas de huevo presentó buenos resultados, los predadores alimentados con larvas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) alcanzaron mayor peso y porcentaje de sobrevivencia, además de menor duración en el período del segundo al cuarto estadio. La duración de los estadios y el peso de las ninfas resultaron ser características buenas para la diferenciación de las dietas.

Palabras claves: Predador, Asopinae, Control Biológico, Ecosistema forestal.

Summary

The objective of this research was to study the effect of *Morus alba* leaves, Wesson's salt and chicken's egg yolk aditioned to an artificial diet, based on cow meat, on the development of *Podisus nigrispinus* (Dallas) under $25 \pm 2^\circ\text{C}$ of temperature, $60 \pm 10\%$ of relative humidity and 12 h photophase. Eventhoug diets with Wesson's salt and chicken's egg yolk showed better results, predators fed with *Musca do-*

mestica L. (Diptera: Muscidae) showed higher weight, better survival and lower duration from second to fourth instar. Instar duration and nymph weight are good characteristics to differentiate between diets.

Key words: Predator, Asopinae, Biological Control, Forest Ecosystem.

Introducción

La existencia de dietas artificiales nutricionalmente adecuadas para la producción masiva de predadores representa un avance importante en los programas de control biológico, eliminando la necesidad de cría de presas vivas. Predadores, en general oligófagos o polífagos, cumplen un papel importante en ecosistemas agrícolas y forestales, pudiendo retardar el crecimiento de la densidad de población de muchas especies fitófagas. Varias presas alternativas han sido utilizadas para la cría de hemípteros predadores (Grazia *et al.* 1985; Barcelos *et al.* 1991; Zanuncio *et al.* 1990, 1991, 1992a, 1992b). Sin embargo, pocos trabajos se refieren a estudios sobre dietas artificiales para estos enemigos naturales (Cohen 1981, 1985; Adidharma 1986; De Clercq y Degheele, 1992; Saavedra *et al.* 1992a, 1992b).

Según De Clercq y Degheele (1992), dietas a base de carne e hígado de res y sacarosa han presentado buenos resultados para *Geocoris punctipes* (Say) (Cohen, 1985) (Heteroptera: Lygaeidae), *Podisus maculiventris* (Say) y *Podisus sagita* (= *Podisus nigrispinus*, Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). Saavedra *et al.* (1992a) adicionaron larvas molidas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) a la dieta establecida por Cohen (1985) y consiguieron buen desarrollo ninfal de *P. nigrispinus*, predador de larvas desfoliadoras en bosques cultivados con *Eucalyptus* spp., en Brasil (Zanuncio *et al.* 1993).

Con el objetivo de conseguir una dieta artificial, libre de tejidos de insectos, para *P. nigrispinus*, se hicieron modificaciones a las dietas señaladas por Cohen (1985) y De Clercq y Degheele (1992), estudiándose la adición de hojas de mora (*Morus alba*), sales de Wesson y yemas de huevo de gallina a esas dietas. Las hojas de moreira son hospederas naturales de *B. mori*, presa preferida en laboratorio por el predador en estudio (Barcelos *et al.* 1991). Así, en esta investigación se desarrolló una dieta adecuada para la alimentación de *P. nigrispinus*, especialmente durante sus fases iniciales. Después de esta etapa el predador puede ser liberado en programas de control biológico aplicado.

Materiales y Métodos

El experimento fue realizado en el laboratorio de control biológico del Núcleo de Biotecnología Aplicada a la Ciencia Agropecuaria (BIOAGRO) de la Universidad Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, $60 \pm 10\%$ de humedad relativa y fotoperíodo de 12 horas.

Los individuos de *P. nigrispinus* provenían de la cría del Laboratorio de Entomología Forestal de la UFV, que periódicamente recibe especímenes de campo para aumentar la variabilidad genética de esta población de predadores. Los ingredientes básicos de las dietas utilizadas fueron: 100 gramos de carne de res con aproximadamente 15% de grasa, 100 gramos de hígado de res y 25 ml de una solución de sacarosa al 5%. Estos se licuaron durante cuatro minutos hasta obtener una pasta. Seguidamente se adicionaron varios ingredientes para diferenciar las dietas (Tabla 1).

Para obtener la dieta A, previamente se licuaron larvas de *B. mori*, de quinto estadio, congeladas cuatro meses atrás; se mezclaron 20 g de este macerado con 80 g de la pasta mencionada anteriormente. Para lograr la dieta B, la pasta sólo recibió los antimicrobianos (nipagin y tetraciclina) usados en las otras dietas, siendo por esto semejante a la dieta preparada por Cohen (1985). Para conseguir la dieta C se licuaron 97 g de la pasta con 3 g de hojas tiernas de *M. alba*, previamente desinfectadas con solución de hipoclorito de sodio al 0.5%. Para la dieta D se homogenizaron 93.5 g de la pasta con 6 g de yema de huevo de gallina y 0.5 g de sales de Wesson, siendo semejante a la dieta elaborada por De Clercq y Degheele (1992). Las dietas se empacaron en bolsas plásticas pequeñas, se rotularon, se envolvieron en papel aluminio y se almacenaron en el congelador. Este proceso se repitió semanalmente.

Con la ayuda de jeringas de 10 ml, sin aguja, la dieta descongelada se colocó sobre trozos

1 Departamento de Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa. 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

2 Departamento de Biología Animal. Universidade Federal de Viçosa. 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. E-mail: zanuncio@mail.ufv.br

de Parafilm M elaborando artificialmente formas, imitando larvas, que tenían tres a cuatro veces su ancho normal. Finalmente, las "larvas artificiales" se sellaron (Cohen 1985).

El bioensayo se inició con ninfas de segundo estadio y cada tratamiento estuvo constituido de ocho repeticiones, con cinco ninfas en cada una. Cada repetición fue representada por recipientes plásticos de 500 ml con tapa, provistos de un sistema de humedad mantenido por tubos de vidrio (descartados de anestesia dental), con un pedazo de algodón en su parte interior. Los tubos se encajaron en un orificio al lado de la tapa del recipiente. La dieta artificial o testigo constituida por larvas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) se colocó dentro de cada recipiente y se cambió diariamente.

La duración y sobrevivencia de cada estadio ninfal se registraron. Veinticinco días después de iniciada la alimentación se culminó el experimento y se registraron los porcentaje de individuos que aún permanecían en la fase final y de aquellos que habían llegado al estado adulto; los insectos de cada repetición se pesaron en conjunto.

El diseño experimental empleado fue de bloques completamente al azar. Se realizó análisis de varianza para cada característica evaluada, seguida de la prueba de Dunnett, al nivel de 5%, para comparar el testigo con cada una de las dietas artificiales, y la prueba de Tukey, al nivel de 5%, para comparación aislada entre dietas artificiales.

Resultados y Discusión

Todas las dietas fueron aceptadas por las ninfas de *P. nigrispinus*, especialmente en el segundo estadio, aunque en menor intensidad que la dieta testigo (larvas de *M. domestica*). La duración del segundo estadio se destacó con la dieta testigo; esta fue significativamente menor (3.7 días) (Tabla 2). La duración del segundo estadio ninfal, al considerar las dietas artificiales, fue de 5 días para la dieta C, 6.4 días para la dieta A y 8.5 días para la dieta B.

La adición de hojas tiernas de *M. alba* (dieta C) mejoró la aceptación de la dieta. Este hecho puede estar relacionado con el hábito parcialmente fitófago de hemípteros predadores (Ruberson *et al.* 1986; O'Neil y Wiedenmann 1990; Zanuncio *et al.* 1993). A partir del tercer estadio, el beneficio de las hojas de *M. alba* en la dieta C no fue aparente, observándose similitud en la duración y sobrevivencia de tercero y cuarto estadios, en relación con la dieta B.

Con las dietas B y C no se obtuvieron adultos (Fig. 1) y el peso por unidad experimental, a los 25 días fue inferior (Fig. 2).

Las dietas A y D se destacaron por la obtención de 20% de adultos (Fig. 1). Aunque inferiores

Tabla 1. Ingredientes y cantidades de cuatro dietas artificiales para *Podisus nigrispinus*, a 25 ± 2°C, 60 ± 10% H.R. y fotofase 12 h.

Ingrediente (1)	Dieta A	Dieta B	Dieta C	Dieta D	Testigo
(2)	80g	100g	97g	93.5g	
Larvas de <i>Bombyx mori</i>	20g	0	0	0	Larvas
Hojas tiernas de <i>Morus alba</i>	0	0	3g	0	de
Yema de huevo de gallina	0	0	0	6g	<i>Musca domestica</i>
Sales de Wesson	0	0	0	0.5g	

- (1) Todas las dietas recibieron el antioxidante ácido ascórbico (0.25%) y los preservativos nipagin (0.5%) y tetraciclina (0.05%).
- (2) Pasta obtenida licuando carne gorda de res, hígado de res y solución a 5% de sacarosa en las proporciones 4:4:1

Tabla 2. Duración y sobrevivencia ninfal de *Podisus nigrispinus* en cuatro dietas artificiales, a 25 ± 2°C, 60 ± 10% H.R. y fotofase 12 h.

Característica	Dietas (1)				Testigo
	A	B	C	D	
Duración del segundo estadio días (2)	6.4 b*	8.5 c*	5.0 a*	6.1 ab*	3.7
Duración del tercero estadio días (3)	7.4 ab*	9.6 b*	7.8 ab*	6.6 a*	4.0
Duración del cuarto estadio días (3)	5.6 a	7.1 ab*	9.0 b*	7.1 a*	4.9
Sobrevivencia del segundo estadio (%) (4)	87.5 ab	82.5 b*	90.0 ab	100.0 a	100.0
Sobrevivencia del tercero estadio (%) (4)	70.0 a	73.1 a	72.5 a	85.0 a	95.0
Sobrevivencia del cuarto estadio (%) (4)	65.9 a	19.1 b*	37.3 ab*	70.3 a	92.5

- (1) Para cada característica, en las líneas, dietas con la misma letra no difieren significativamente entre sí por la prueba de Tukey al nivel de 5% de probabilidad. * = dietas que difieren significativamente del testigo por la prueba de Dunnett al nivel de 5% de probabilidad.
- (2) Datos originales transformados a raíz de X+0.5 para análisis.
- (3) No fue hecho el análisis de varianza por muerte total de ninfas en algunas unidades experimentales.
- (4) Datos originados transformados a arcoseno de la raíz de X/100.

Tabla 3. Correlación de Pearson entre características biológicas de *Podisus nigrispinus* en cuatro dietas artificiales, a 25 ± 2°C, 60 ± 10% H.R. y fotofase 12 h.

Característica	25 días desde el inicio de la alimentación			
	Estadio	Viabilidad (%)	Adultos (%)	Peso (mg)
Duración (días)	2° (1)	-0.2181	-0.1390	-0.4371
	3° (1)	-0.0378	-0.2740	-0.2581
	4°	-0.4084 *	-0.4608 *	-0.4314 *
Sobrevivencia (%)	2° (2)	0.2685	0.1466	0.2300
	3° (2)	0.3083 *	0.1970	0.4073 *
	4° (2)	0.5834 **	0.5757**	0.7635 **

- (1) Datos originales transformados a raíz de X+0.5
- (2) Datos originales transformados a arcoseno (raíz X/100). * Significativo por la prueba de "t" al nivel de 5%. ** Significativo por la prueba de "t" al nivel de 1%.

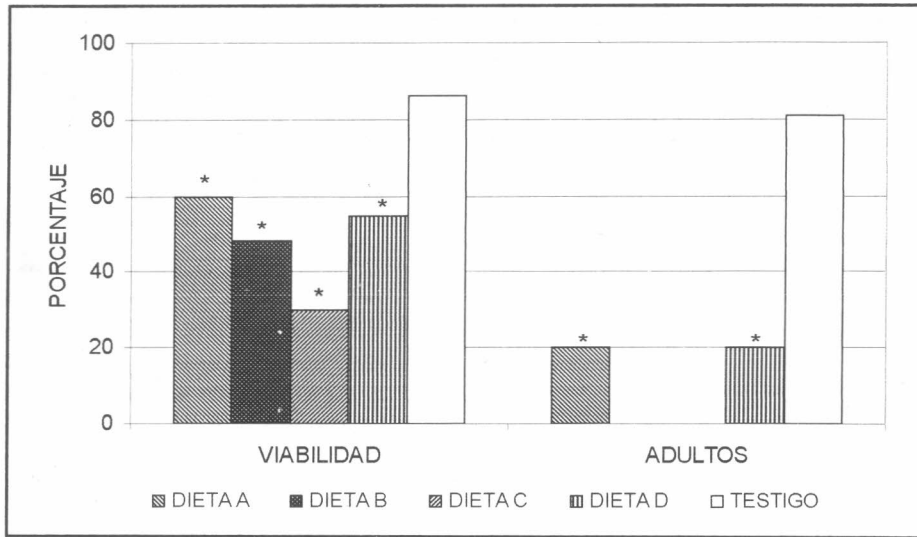


Figura 1. Porcentaje de ninfas y adultos de *Podisus nigrispinus* vivos a los 25 días de alimentación, en cuatro dietas artificiales, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ H.R. y fotofase 12 h.

Dietas seguidas por la misma letra no presentan diferencia significativa por la prueba de Tukey al nivel de 5%.

* = Dietas significativamente diferentes del testigo por la prueba de Dunnet al nivel de 5%.

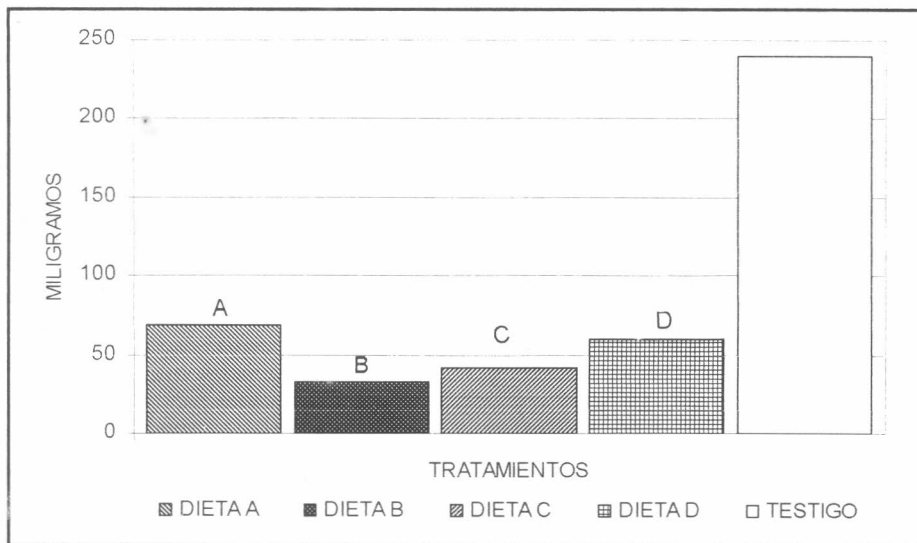


Figura 2. Peso (mg) por unidad experimental de *Podisus nigrispinus* a los 25 días de alimentación, en cuatro dietas artificiales, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ H.R. y fotofase 12 h.

Dietas seguidas por la misma letra no presentan diferencia significativa por la prueba de Tukey al nivel de 5%.

* = Dietas significativamente diferentes del testigo por la prueba de Dunnet al nivel de 5%.

al testigo en la mayoría de las características evaluadas, el peso de las ninfas en las dietas A y D fue significativamente superior al peso de aquellas en las dietas B y C (Fig. 2). Los resultados de la dieta A fueron semejantes a aquellos de la dieta elaborada por Saavedra *et al.* (1992a, 1992b) quienes utilizaron larvas frescas de *B. mori* y obtuvieron 90% de adultos. En el presente trabajo el resultado fue

menor, con el empleo de larvas congeladas, probablemente por la alteración de nutrientes y/o fagosestimulantes durante el largo período de congelamiento de las larvas de *B. mori*. Estos resultados son similares a los de Barcelos *et al.* (1991) quienes encontraron mayor duración del período ninfal y menor sobrevivencia de *Brontocoris tabidus* (Signoret) (Hemiptera: Pentatomidae) al ser

alimentado con larvas previamente congeladas que con larvas vivas de *B. mori*. Es interesante el hecho de haberse obtenido adultos en la dieta D, la cual no presenta tejidos de insectos entre sus ingredientes. Significa que la adición de sales de Wesson (mezcla equilibrada de sales inorgánicas) y yemas de huevo de gallina aumentaron la aceptación y/o nutrición de la dieta básica con hígado y carne de res (Cohen 1985). Esta dieta ha tenido mayor éxito para la cría de *P. maculiventris* y *P. sagitta* (De Clercq y Degheele 1992). Estos resultados indican que la dieta D, con modificaciones posteriores, podría resultar más exitosa para la cría de *P. nigrispinus*.

Los análisis de correlación entre las características evaluadas en las dietas artificiales indicaron correlación positiva, en el caso de la sobrevivencia de los estadios ninfales, y negativa para la duración de los mismos con el porcentaje de adultos y con el peso a los 25 días del inicio de la alimentación (Tabla 3). Lo anterior abre la posibilidad para futuros trabajos de seleccionar dietas artificiales de este tipo, mediante evaluaciones minuciosas en el inicio de la fase ninfal, disminuyendo así el tiempo para conseguir éxito en esta clase de investigaciones.

Conclusiones

- El predador *P. nigrispinus* completó su ciclo de vida en dieta artificial cuyos componentes no presentan tejidos de insectos vivos, lo que evita la dependencia de una cría paralela de presa viva para la producción de este predador. Sin embargo, son necesarios estudios posteriores para conseguir una mayor sobrevivencia de *P. nigrispinus*.
- Dada la correlación entre la duración de los estadios ninfales y la sobrevivencia de cada uno de ellos, se deben realizar trabajos posteriores para seleccionar otros componentes a ser adicionados a la dieta artificial que puedan contribuir, parcialmente, con el desarrollo del inicio del período ninfal.

Agradecimientos

Para el Núcleo de Biotecnología Aplicado a la Ciencia Agropecuaria (BIOAGRO/UFV), a las entidades financieras brasileñas CAPES, CNPq, FAPEMIG, y a la Sociedad de Investigaciones Forestales (SIF).

Bibliografía

- ADIDHARMA, D. 1986. The development and survival of *Podisus sagittus* (Hemiptera: Pentatomidae) on artificial diets. Australian Journal of Entomology Society 25 (1): 15-16.
- BARCELOS, J. A. V.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, G. P.; REIS, F. P. 1991. Viabilidade da criação em laboratório de *Podisus nigrolimbatus*

- (Spinola, 1852) (Hemiptera: Pentatomidae) sobre duas dietas. *Revista Árvore* 15 (3): 316-322.
- COHEN, A. C. 1981. An artificial diet for *Geocoris punctipes* (Say). *The Southwestern Entomologist* 6 (2): 10-113.
- COHEN, A.C. 1985. Simple method for rearing the insect predator *Geocoris punctipes* (Heteroptera: Lygaeidae) on a meat diet. *Journal of Economic Entomology* (78): 1173-1175.
- DE CLERCQ, P.; DEGHEELE, D. 1992. A meat-based diet for rearing the predatory stinkbugs *Podisus maculiventris* and *P. sagitta* (Heteroptera: Pentatomidae). *Entomophaga* 37 (1): 149-157.
- GRAZIA, J.; VECCHIO, M. C. del; HILDERBRAND, R. 1985. Estudo das ninfas de heterópteros predadores: I- *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Pentatomidae: Asopinae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 14 (2): 303-314.
- O'NEIL, R.J.; WIEDENMANN, R.N. 1990. Body weight of *Podisus maculiventris* (Say) under various feeding regimens. *Canadian Entomologist* (122): 285-294.
- RUBERSON, J.R.; TAUBER, M.J.; TAUBER, C.A. 1986. Plant feeding by *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae): Effect on survival, development and pre-oviposition period. *Environmental Entomology* 15 (4): 894-897.
- SAAVEDRA, J. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; VILELA, E. F. 1992a. Dieta artificial para criação de *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Turrialba* (42): 258-261.
- SAAVEDRA, J. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; REIS, F. P. 1992b. Efeito da dieta artificial na fecundidade e fertilidade do predador *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 21 (2): 69-76.
- ZANUNCIO, J.C.; ALVES, J.B.; LEITE, J.E.M.; SILVA, N.R.; SARTÓRIO, R.C. 1990. Desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com dois hospedeiros alternativos. *Revista Árvore* 14 (2): 164-174.
- ZANUNCIO, T. V.; BATALHA, V. C.; ZANUNCIO, J. C.; SANTOS, G. P. 1991. Parâmetros biológicos de *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae) em alimentação alternada com lagartas de *Bombyx mori* e larvas de *Musca domestica*. *Revista Árvore* 15 (3): 308-316.
- ZANUNCIO, J. C.; FREITAS, M. F.; ALVES, J. B.; LEITE, J. E. M. 1992a. Fecundidade de fêmeas de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) em diferentes hospedeiros. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 20 (2): 369-378.
- ZANUNCIO, J. C.; DIDONET, J.; SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, T. V. 1992b. Determinação da idade ideal para acasalamento de fêmeas de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae) visando uma criação massal. *Revista Árvore* 16 (3): 362-367.
- ZANUNCIO, J. C.; FERREIRA, A. T.; ZANUNCIO, T. V.; GARCIA, J. F. 1993. Influence of feeding on *Eucalyptus urophylla* seedlings on the development of the predatory bug *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*. 58/2^a: 469-475.