

ESTANDARIZACIÓN DE UNA DIETA ARTIFICIAL PARA LA CRÍA DE *Stenoma catenifer* WALSINGHAM (LEPIDOPTERA: ELACHISTIDAE) BAJO CONDICIONES CONTROLADAS

STANDARDIZATION OF AN ARTIFICIAL DIET FOR THE REARING OF *Stenoma catenifer* WALSINGHAM (LEPIDOPTERA: ELACHISTIDAE) UNDER CONTROLLED CONDITIONS

Y.P. Ardila Rios¹, E. Arévalo Peñaranda², M.V. Restrepo Puerta¹, D. David³, D. Pineda³

¹. Dirección Técnica de Epidemiología y Vigilancia Fitosanitaria. Instituto Colombiano Agropecuario – ICA. Rionegro, Antioquia, Colombia.

². Dirección Técnica de Epidemiología y Vigilancia Fitosanitaria. Instituto Colombiano Agropecuario – ICA. Bogotá D.C., Colombia.

³. Tecnoparque Nodo Rionegro. Guarne, Antioquia, Colombia.

RESUMEN

Stenoma catenifer Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae), la polilla de la semilla del aguacate es considerada endémica en Colombia y de importancia económica por las pérdidas en la producción, además de ser considerada una plaga cuarentenaria de control oficial en el país. El presente trabajo tuvo por objeto estandarizar una dieta artificial para la cría de *S. catenifer* bajo condiciones controladas y determinar el comportamiento de parámetros biológicos como la duración del ciclo de vida, duración de cada estadio de desarrollo y tasa de supervivencia en comparación con la metodología de cría natural en semilla de aguacate. La duración de larvas y pupas fue significativamente menor en dieta artificial en comparación con los individuos criados en semilla de aguacate. No obstante, la tasa de supervivencia de larvas y pupas fue significativamente menor en adultos criados en dieta artificial en comparación con la supervivencia de larvas y pupas criados en semilla. El ciclo de vida de huevo a adulto fue menor para los adultos criados en dieta artificial respecto a la duración del ciclo de vida de los individuos criados en semilla. Estos resultados permiten avanzar en el mejoramiento de metodologías para la cría de plagas cuarentenarias bajo condiciones controladas, permitiendo orientar futuros estudios para la evaluación de tratamientos para su control.

Palabras claves: cría, parámetros biológicos, semilla

ABSTRACT

Stenoma catenifer Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae), the avocado seed moth is known as an endemic specie from Colombia. It has a economic impact due to losses in the production. Besides it is considered a quarantine pest of official control in the country. The main objective of this work was to standardize an artificial diet for the rearing of *S. catenifer* under controlled conditions, and to determine the behavior of biological parameters such as the duration of the life cycle, duration of each stage of development, and survival rate in comparison with the methodology of natural rearing in avocado seed. The duration of larvae and pupae was significantly lower in

artificial diet compared to individuals raised in avocado seed. However, the survival rate of larvae and pupae was significantly lower in adults raised on artificial diet compared to the survival of larvae and pupae reared in avocado seed. The life cycle from egg to adult was lower for adults raised in artificial diet with respect to the duration of the life cycle of individuals raised in avocado seeds. These results allow to advance in the improvement of methodologies for the rearing of quarantine pests under controlled conditions, allowing to guide future studies for the evaluation of treatments for their control.

Key Words: biological parameters, rearing, seed,

INTRODUCCIÓN

Recientemente Colombia firmo el Plan Operativo de Trabajo “Enfoque de Sistemas para la Importación de Aguacate Fresco Hass de Colombia a los Estados Unidos Continentales”, que busca garantizar que el aguacate hass destinado al consumo en fresco que se exporta desde Colombia se encuentre libre de la polilla de la semilla del aguacate, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) y otros perforadores. Esto en respuesta a las medidas fitosanitarias que prohíben su ingreso desde Centro y Suramérica, encaminadas a garantizar la no presencia de insectos plaga como la polilla en los Estados Unidos.

El aguacate hass corresponde a cerca del 80% de todos los aguacates que se comen en el mundo (Bernal, J. *et al.*, 2014). Más de 60 países producen aguacate comercialmente; destacándose México, Chile y Estados Unidos (Instituto Colombiano Agropecuario ICA, 2012). Colombia es el tercer productor mundial de aguacate de todos los tipos, pero aún no figura entre los grandes exportadores de este producto. Mientras que en el 2011 se exportaron 171.000 dólares en este producto, en 2015 las ventas se elevaron a los 10,5 millones de dólares; y para el 2016 se alcanzaron 35 millones de dólares. Entre enero y junio de 2017, las exportaciones sumaron 25,2 millones de dólares que corresponden a 13.556 toneladas (Portafolio, 2017).

S. catenifer Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) es una polilla de color café claro, con una longitud promedio de 15 mm, la hembra, y 11 mm, el macho. Las alas anteriores son el doble de largas que anchas. Cuando está en reposo, sobre las alas se observan alrededor de 25 manchas de color negro que forman una “S” acostada (Hohmann *et al.*, 2000). El adulto vive en promedio vive 5,5 días, es de hábito nocturno y oviposita en las noches.

Los huevos son pequeños y ovalados, su tamaño es 0,5 mm de largo por 0,38 mm de ancho (CABI, 2006). La superficie del huevo es rugosa con estrías longitudinales, inicialmente de color verde claro que se torna blanco crema y, próximos a la eclosión, adquieren una tonalidad oscura (Orjuela, 2011). En estado de huevo dura alrededor de 5,5 días. En su estado larval, que dura 18,5 días aproximadamente, pasa por cinco instares sin diferencias de forma marcadas, pero cambia de color: desde blanco, café claro, rosado hasta morado en el dorso y azul en el vientre. En 20 días penetra el fruto y consume la semilla, ataca frutos en cualquier estado de desarrollo (Delgado, 2009; Londoño, 2005), causando ocasionando pérdidas que llegan al 80% de la cosecha (Orjuela, 2011). La pupa mide 10 mm de largo (CABI, 2006). Eventualmente pueden empupar dentro de la semilla de la cual se han alimentado (Hoddle, 2011). El estado de pupa tiene una duración aproximada de 14,1 días (Orjuela, 2011).

La polilla de la semilla se considera endémica en el país y de importancia económica por las pérdidas en la producción, además de ser considerada una plaga cuarentenaria. Normalmente pone huevos, individuales o en grupos, sobre las partes corrugadas y oscuras del pedúnculo y el fruto, como también en la zona de unión. Después de la eclosión del huevo, la larva realiza un recorrido corto para luego perforar al fruto, deja una pequeña cicatriz en la epidermis (orificio de entrada), se dirige hasta la pulpa, pasa a la semilla y la destruye.

Una hembra puede llegar a afectar entre 8 y 12 frutos (Orjuela, 2011). Generalmente se observan larvas, en los tres primeros instares, afectando la corteza y la pulpa; mientras que las larvas del cuarto y quinto instar se encuentran en la semilla. Una vez realizado el daño en la semilla, la larva sale por el mismo orificio de entrada y cae al suelo, donde empupa. Las pupas pueden profundizar hasta un centímetro del suelo.

En su estado larval perfora el fruto e incluso la semilla y genera su caída prematura. En épocas diferentes a la fructificación, puede perforar ramas tiernas y hasta matar árboles pequeños. Genera daños indirectos en frutos por la exudación de savia y por patógenos secundarios, como consecuencia de las lesiones causadas por las heridas de alimentación (Hoddle, 2011).

Entendiendo que, *S. catenifer* tiene la capacidad de desarrollarse en frutos, ramas y semillas bajo condiciones de campo hasta alcanzar el estado de adulto, se requieren hacer estudios que conduzcan a determinar parámetros biológicos y ecológicos. En este sentido, las dietas artificiales han sido empleadas como técnica de cría masal de varias especies de insectos plaga, permitiendo así, avanzar en el conocimiento de la biología, fisiología y ecología, enfocado al desarrollo de nuevas estrategias de control.

Estudios realizados por Nava y Parra (2005) evaluaron parámetros biológicos de *S. catenifer* bajo condiciones de laboratorio, determinando la duración del ciclo de vida, sobrevivencia larval y pupal, fecundidad y longevidad, en dieta artificial y dieta con pulpa y semilla de aguacate, encontrando que, la supervivencia y duración del estadio larval fue más alta en semillas de aguacate (85%) respecto a la dieta artificial (53,5%)

El presente trabajo tuvo por objetivo estandarizar una dieta artificial apropiada para la cría de *S. catenifer* bajo condiciones de laboratorio, determinando parámetros biológicos como la duración de los estadios de desarrollo de esta plaga de importancia cuarentenaria y de acuerdo con las condiciones bioecológicas de las poblaciones presentes en las zonas productivas de Colombia.

MATERIALES Y METODOS

Obtención de posturas de *S. catenifer*. Se obtuvo material de campo de fincas productoras de aguacate Hass del oriente antioqueño y se llevaron al laboratorio de plagas cuarentenarias de la Oficina Local de Instituto Colombiano Agropecuario – ICA ubicadas en el Centro de Investigación La Selva en el municipio de Rionegro, Antioquia. Se procesaron los frutos que presentaran la sintomatología característica asociada a daños de *S. catenifer* y se criaron las larvas hasta la obtención de adultos. Se establecieron unidades de copula siguiendo la metodología establecida por Nava et al. (2005) en tubos de PVC de 20 cm de altura x 15 cm de diámetro, con una toalla absorbente reticulada en la base y en la apertura, proporcionando el medio apropiado para obtener

posturas. Los adultos fueron alimentados con una solución de miel al 10% y las unidades se mantuvieron a una temperatura de 20 °C y 70% de humedad relativa promedio.

Evaluación del desarrollo de *S. catenifer* en semillas de aguacate y dieta artificial. Para la evaluación de la dieta artificial se tomó como tratamiento testigo la cría de *S. catenifer* en semillas de aguacate variedad hass, las cuales fueron dispuestas en cajas plásticas transparentes de 10 cm de largo x 7 cm de ancho x 5 cm de alto con un trozo de toalla de papel absorbente dispuesta en la base. En el caso del tratamiento con dieta artificial modificada, cada unidad experimental consistía de un recipiente plástico blanco de 10 ml con un contenido de 8 g del medio previamente preparado y homogenizado. En ambos tratamientos (testigo y dieta artificial) se tomaron larvas de *S. catenifer* recién eclosionadas (L₀) con la ayuda de un pincel pelo de Martha No 0 humedecido con agua estéril y se ubicó un individuo por unidad. Los tratamientos se ubicaron en cámara bioclimática a 20 °C, humedad relativa del 80% y fotoperiodo de 14 horas.

Teniendo como base el trabajo realizado por Nava y Parra (2005), se realizaron modificaciones en la composición, sustituyendo algunos componentes como la harina de frijol ‘Branco’ por harina de frijol ‘Lima’ y la solución vitamínica por concentrado de trucha (50% de proteína – iniciación). Se adicionaron 4 ml de aceite de aguacate y se omitió la incorporación de Vitagol® (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de la dieta artificial de Nava y Parra (2005) y dieta modificada ICA (2018).

Componente	Dieta Nava y Parra (2005)	Dieta modificada ICA
Harina de frijol ‘Lima’	---	50,0 g
Harina de frijol ‘Branco’	130,0 g	---
Harina de zanahoria	30,0 g	30,0 g
Levadura	20,0 g	20,0g
Concentrado de trucha (50% iniciación)	---	48,0 g
Solución Vitamínica	40,0 g	---
Vitagol ®	2,0 g	---
Acido sórbico	0,6 g	0,6 g
Ácido ascórbico	1,6 g	1,6 g
Metil parahidroxibenzoato (Nipagin)	1,1 g	1,1 g
Acido propiónico	0,4 ml	0,4 ml
Tetraciclina	0,3 mg	---
Amoxicilina	---	12,0 mg
Agar (3%)	21,1 g	15,0 g
Aceite de aguacate	---	4,0 ml
Formaldehído	1,0 ml	1,0 ml
Agua destilada	500 ml	500 ml

Para la preparación del medio artificial y la homogenización de la mezcla se realizó el procedimiento descrito en la figura 1. El proceso para la elaboración del medio artificial se realizó en el laboratorio de biotecnología del Tecnoparque del SENA nodo Guarne.

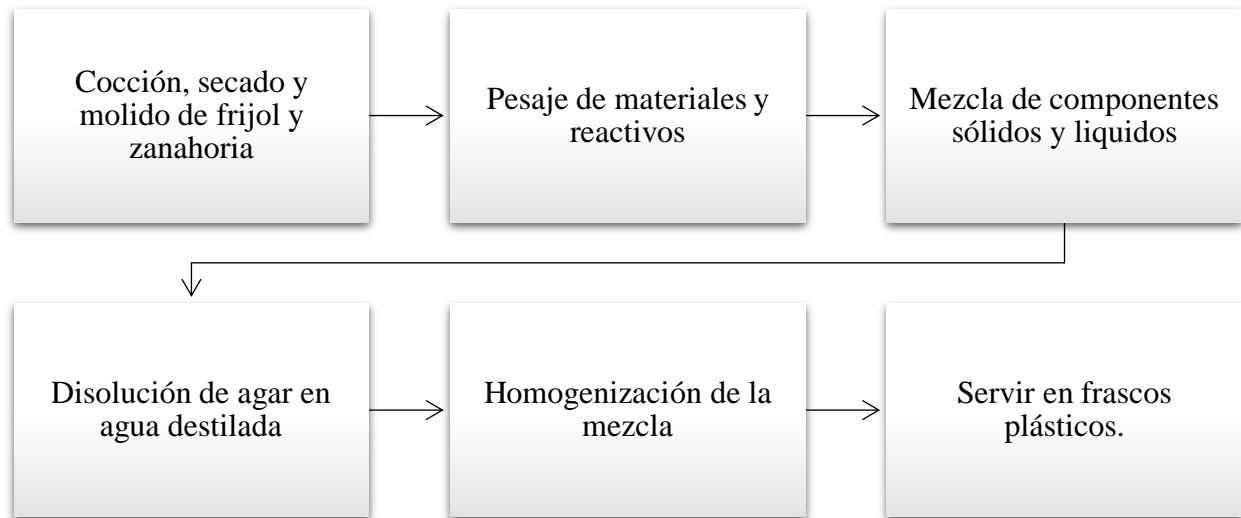


Figura 1. Procedimiento para la elaboración y homogenización de la dieta artificial para la cría de *S. catenifer*

Para cada tratamiento se evaluaron 60 unidades experimentales con una larva por unidad y se evaluó la duración del estadio de larva, pupa y adulto. Se tomaron lecturas con periodicidad de cinco días, en donde se revisó cada unidad experimental y se realizó el conteo del número de individuos vivos para cada estadio de desarrollo, además de revisar la evidencia de consumo y consistencia del medio artificial.

Análisis de datos. Se realizó un diseño completamente al azar y los datos fueron sometidos a análisis de estadística descriptiva con el programa R.

RESULTADOS

Evaluación del desarrollo de *S. catenifer* en semillas de aguacate y dieta artificial. Con las modificaciones realizadas en la dieta artificial se obtuvo un medio de consistencia sólida, firme, con buen contenido de humedad de modo que las larvas de *S. catenifer* lograrán construir galerías internas y desplazarse con facilidad (Figura 2).

El medio artificial debe ser gustoso, poseer excelentes atributos nutricionales (contenido de carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas, minerales etc.), tanto a nivel cualitativo como cuantitativo para satisfacer las necesidades alimenticias requeridas durante las etapas de desarrollo del insecto. Los fagoestimulantes ayudan a promover el consumo y cubrir las demandas alimenticias para obtener adultos viables y fértiles, dentro de un plazo de tiempo razonable (Parra, 2001). En este sentido, se obtuvo consumo del medio al interior de las unidades de cría observando perforaciones y galerías internas, lo que evidencia el consumo y actividad adecuada de las larvas

en el medio artificial (Figura 3). No obstante, se observó una baja sobrevivencia de individuos de larvas y pupas de *S. catenifer* en el medio artificial o interrupción en los procesos de ecdisis, asociada a la presencia de ácaros (*Dermatophagoides* sp.) en las unidades experimentales, razón por la que la emergencia de adultos fue muy baja.

Se tuvo una duración promedio de $20,36 \pm 12,1$ días para el estadio de larvas en medio artificial, considerablemente menor frente al tratamiento testigo, con una duración promedio de $35,2 \pm 17,75$ para el mismo estadio de desarrollo. En relación con el estadio de pupas, se obtuvo una duración promedio de $2,9 \pm 6,2$ para el medio artificial frente a $6,5 \pm 10,44$ para el tratamiento testigo en semilla de aguacate (Tabla 2).



Figura 2. Aspecto del medio artificial elaborado para la cría de *S. catenifer*



Figura 3. Evidencia de consumo, perforación y formación de galerías de *S. catenifer* en el medio artificial.

Tabla 2. Duración de cada estadio de desarrollo de *S. catenifer* en dieta artificial y o dieta modificada ICA (2018).

Parámetros biológicos	Semilla de aguacate	Dieta Artificial
Duración estadio larval (días)	$35,2 \pm 17,75$	$20,36 \pm 12,1$
Duración estadio pupal (días)	$6,5 \pm 10,44$	$2,9 \pm 6,2$
Duración estadio de adultos (días)	$5 \pm 2,37$	$5 \pm 1,93$

DISCUSIÓN

Aunque se logro realizar la cría de larvas de *S. catenifer* en el medio artificial formulado, no se lograron tener datos concluyentes para determinar la tasa de supervivencia y la duración total del ciclo de vida, dado que, los factores de contaminación mencionados afectaron los resultados de sobrevivencia para los estadios de larva y pupa, razón por la que se deben realizar nuevas evaluaciones. En relación con la duración del estadio larval, se encontró que, los resultados obtenidos en el presente estudio son cercanos a los reportados por Nava y Parra (2005), quienes registran una duración promedio de $17,6 \pm 0,16$, observando, además, un adecuado consumo del medio proporcionado y la conformación de galerías internadas.

Respecto a las modificaciones realizadas en la dieta artificial, el cambio de la solución vitamínica por concentrado para truchas (50% proteínas - iniciación) aportó el contenido de proteína necesario para el buen crecimiento y desarrollo de las larvas, proporcionando los aminoácidos y carbohidratos necesarios. El balance de los nutrientes y el contenido de agua en el medio son fundamentales para garantizar el adecuado desarrollo del insecto, además de reducir la presencia de microorganismos contaminantes (Parra, 2001). En el presente estudio se logró una adecuada formulación, consistencia y humedad del medio, eliminando la presencia de microorganismos contaminantes, no obstante, la presencia de ácaros (*Dermatophagoides* sp.) afecto el desarrollo de las larvas y pupas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Tecnoparque del SENA nodo Guarne por facilitar los equipos para la elaboración del medio artificial evaluado en el presente estudio.

REFERENCIAS

Bernal, J.; Díaz, C.; Osorio, C.; Tamayo, A.; Osorio, W; Córdoba, O.; Londoño, M. E.; Kondo, D. T.; Carabalí, A.; Varón, E.; Caicedo, A. M.; Tamayo, P. J.; Sandoval, A.; Forero, F.; García, J.; Londoño, M. (2014). Corpoica. Actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el Cultivo de Aguacate. Revisado en enero 4 de 2018 de [http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manual%20Actualizacion%20Tecnologica%20y%20BPA%20Cultivo%20de%20Aguacate GOBERNACION%20PDF%20BAJA%20con%20caratulas.pdf](http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manual%20Actualizacion%20Tecnologica%20y%20BPA%20Cultivo%20de%20Aguacate%20GOBERNACION%20PDF%20BAJA%20con%20caratulas.pdf)

CABI. (2006). Crop Protection Compendium, database. Wallingford, United Kingdom.

Delgado, C. (2009). Perforadores del fruto del aguacate cv. hass en el eje cafetero, Trabajo de grado. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Agronomía. 72 p.

Hoddle, M. (2011). The Avocado Seed Moth, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae). Applied biological control research. Revisado en enero 4 de 2018 de <http://biocontrol.ucr.edu/stenoma/stenoma.html>

Hohmann C., Santos W., Meneguim A. Avaliação de técnicas do manejo para o controle da broca do abacate, *Stenoma catenifer* (Wals.) (Lepidoptera: Oecophoridae). Revista de Fruticultura 22(3):359-363, 2000.

Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass (*Persea americana Mill*). Medidas para la temporada invernal. Revisado en enero 4 de 2018 de <http://www.ica.gov.co/getattachment/4b5b9b6f-ecfc-46e1-b9cab35cc1cefee2/-nbs;Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-Aguacate.aspx>

Londoño M. (2005). Capítulo insectos: Tecnologías para el cultivo del aguacate. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. Bernal E.A.; Díaz., D.; C.A (Compiladores). Manual técnico 5. 241p.

Nava, D.E; Parra, J.R.P. Biología de *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) em dieta natural e artificial e estabelecimento de um sistema de criação. Neotropical Entomology 34(5):751-759, 2005.

Nava, D.E; Parra, J.R.P; Diez-Rodriguez, G.I.; Simões B., J.M. Oviposition behavior of *Stenoma catenifer* (Lepidoptera: Elachistidae): chemical and physical stimuli and diel pattern of egg laying, Annals of the Entomological Society of America, 98(3):409-414, 2005.

Orjuela, O.E. (2011). Evaluación del impacto de los insectos perforadores del fruto del aguacate (*Persea americana* Miller) cv. Hass en el eje cafetero. 79 p.

Portafolio (2017). Estados Unidos ha duplicado consumo de aguacate Hass colombiano. Revisado en enero 4 de 2018 de <http://www.portafolio.co/economia/exportaciones-de-aguacate-hass-potencian-agroindustria-colombiana-511347>