



CENTRO DE INVESTIGACIÓN
DE LA CAÑA DE AZÚCAR DE COLOMBIA

La cría de *Diatraea saccharalis* (F.) para la producción masiva de sus enemigos naturales

Luz Adriana Lastra Borja*
Luis Antonio Gómez Laverde**

Cali, Colombia
Abril de 2006

* Bióloga-entomóloga. Bióloga del Programa de Variedades de Cenicaña (estuvo vinculada al Centro entre 1985 y 2002).

** Ingeniero Agrónomo, Ph.D. Entomólogo del Programa de Variedades de Cenicaña <lagomez@cenicana.org>

Publicación Cenicafía
ISSN 0120-5846

CITA BIBLIOGRÁFICA

Lastra B., L.A.; Gómez L., L.A. . 2006. La cría de *Diatraea saccharalis* (F.) para la producción masiva de sus enemigos naturales. Cali, Cenicafía. 30 p. (Serie Técnica No. 36)

COMITÉ EDITORIAL

Adriana Arenas Calderón
Álvaro Amaya Estévez
Carlos O. Briceño Beltrán
Camilo H. Isaacs Echeverry
Hernando Ranjel Jiménez
Nohra Pérez Castillo
Victoria Carrillo Camacho

PRODUCCIÓN EDITORIAL

Servicio de Cooperación Técnica y Transferencia de Tecnología
Coordinación editorial: Victoria Carrillo Camacho
Edición de textos: Katherine Castañeda Romero y Victoria Carrillo Camacho
Diagramación: Margarita María Carvajal Vinasco
Preprensa e impresión: Feriva S.A.
Tiraje: 800 ejemplares
Abril de 2006

DIRECCIÓN POSTAL

Calle 58 norte No. 3BN-110
Cali, Valle del Cauca, Colombia

ESTACIÓN EXPERIMENTAL

San Antonio de los Caballeros
Vía Cali-Florida, km 26
Tel: (57-2) 260 66 11
Fax: (57-2) 260 78 53
www.cenicana.org
buzon@cenicana.org

CONTENIDO

	Pág.
Introducción	1
Proceso de producción	2
Establecimiento de la colonia	2
Recolección de larvas en el campo	3
Desarrollo de larvas en el laboratorio	3
Selección de adultos sanos	4
Formación de unidades de cría	6
Manejo de la cría	6
Crisálidas y adultos	7
Masas de huevos	10
Infestación de copas con posturas y desarrollo de larvas	10
Traslado y empaque de larvas	13
Prevención de contaminantes	15
Medidas generales de asepsia	16
Limpieza del personal	16
Desinfección de cuartos y mesas de trabajo	16
Desinfección de equipos, utensilios y materiales	17
Uso de antimicrobiales en la dieta	18
Preparación de la dieta y manejo de sus componentes	18
Manejo de los ingredientes	19
Preparación de la dieta	21
Envase, empaque, esterilización y almacenamiento	21
Dieta de desarrollo de larvas	21
Dieta de traslado de larvas	22
Organización del laboratorio	22
Área de administración	24
Área de lavado	24
Área de almacenamiento	24
Área de procesos de producción	24
Costos y beneficios económicos	25
Reconocimientos	28
Referencias bibliográficas	29

Introducción

Los barrenadores del tallo pertenecientes al género *Diatraea* (Lepidoptera: Pyralidae) han sido, en general, las plagas de mayor importancia en el cultivo de la caña de azúcar en América. Su manejo se ha basado en el control biológico, principalmente en la liberación de las moscas *Paratheresia claripalpis* y *Metagonistylum minense* (Diptera: Tachinidae), que en su estado de larva parasitan las larvas del barrenador y se alimentan de ellas contribuyendo a reducir las poblaciones de la plaga y, por ende, su daño.

En la región azucarera del valle del río Cauca en Colombia, los programas de manejo de *Diatraea* spp. surgieron a comienzos de la década de 1970 con la creación de laboratorios de control biológico en varios ingenios. Años después, la industria producía las moscas parásitas necesarias para mantener el porcentaje de daño del barrenador en un nivel aceptable, a partir de larvas de la plaga criadas con dieta artificial en el laboratorio.

Debido a la falta de regularidad en la producción de larvas y al incremento de los costos de recolección de éstas en el campo, en 1983 Cenicafña inició investigaciones con el objetivo de desarrollar una tecnología para la producción masiva de *Diatraea saccharalis* en forma continua y con estándares de calidad.

El resultado más significativo de las investigaciones fue la detección de un protozooario, posiblemente perteneciente al género *Nosema* (Cenicafña, 1989), identificado como agente causal de las disminuciones en la producción de larvas (Lastra y Gómez, 2000). Hasta ese momento, los períodos de baja recuperación de larvas en el laboratorio se atribuían a la degeneración del pie de cría, explicada por el incremento de genes no deseables en la colonia como resultado de la endocría. A partir de la detección de *Nosema* sp. se estableció un método preventivo para evitar la introducción y proliferación del microorganismo en el laboratorio, y progresivamente se fueron precisando las demás condiciones de cría.

En este documento se describe el proceso de producción masiva de larvas de *Diatraea saccharalis*, se incluyen los pasos para el establecimiento del pie de cría y el manejo de la cría, las condiciones de asepsia en todo el proceso, la preparación y conservación de la dieta artificial, especificaciones de infraestructura y costos de producción estimados para asegurar un suministro continuo de larvas.

La tecnología fue desarrollada por Cenicafña entre 1985 y 1990. El Laboratorio de Entomología del Centro la utilizó para la producción y el suministro de larvas a los ingenios, servicio que se dejó de prestar en 2002.

Proceso de producción

El proceso de producción comienza con el establecimiento de la colonia en el laboratorio, que exige la recolección intensiva y cuidadosa de larvas en el campo para asegurar la introducción de individuos completamente sanos. Una vez se logra cerrar el ciclo de vida del insecto en el laboratorio, se da inicio al proceso de cría propiamente dicho a través del manejo de cada estado de desarrollo. De forma integral, es indispensable asegurar el cumplimiento de las condiciones de asepsia definidas para preservar la cría de gérmenes y garantizar la calidad de las larvas destinadas a la producción de parasitoides.

Las etapas que se detallan a continuación fueron definidas y utilizadas en el Laboratorio de Entomología de Cenicaña, ubicado en la Estación Experimental en San Antonio de los Caballeros, a 3° 21' de latitud norte, 76° 18' de longitud oeste y 1025 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media anual en este sitio es de 23.3 °C (mínima media de 18.8 °C y máxima media de 29.3 °C), oscilación media diaria de la temperatura de 10.5 °C, humedad relativa media anual de 79%, precipitación media anual de 1125 mm, evaporación media anual de 1609 mm, radiación solar media diaria de 407.7 cal/cm²xdía y brillo solar medio diario de 5.3 horas (periodo 1982-2004).

Las indicaciones están dadas para una capacidad de producción que incluye el mantenimiento de cuatro unidades de cría, la recuperación de 240 masas de huevos por día, infestación de 60 copas por semana y empaque de 3600 larvas por semana, para un promedio de 1444 larvas aptas para la cría de taquínidos, listas para traslado, cada semana.

Establecimiento de la colonia

Se refiere a la formación del pie de cría de *D. saccharalis*, es decir, una población compuesta por individuos en todos los estados de desarrollo para, a través de su reproducción, obtener larvas aptas para la alimentación de taquínidos.

Ensayos realizados por Cenicaña demostraron que *D. saccharalis* es la especie del barrenador que más fácil y económicamente se reproduce en condiciones artificiales, mientras que la más común en el campo es *D. indigenella* (Gómez y Lastra, 1995).

El proceso para el establecimiento de la colonia comprende las cuatro etapas que se describen a continuación.

Recolección de larvas en el campo. La fuente de individuos para la conformación del pie de cría es el campo. En lotes altamente infestados, preferiblemente en cañas menores de tres meses de edad, donde se presente el síntoma de ataque denominado “corazón muerto”, se recolectan larvas de *D. saccharalis* que muestren buen vigor y tamaño (Figura 1). Los individuos de poco desarrollo, maltratados, de apariencia o comportamiento anormales, se descartan para evitar problemas sanitarios en la colonia.



Figura 1. Larva de *Diatraea saccharalis* de buen vigor y tamaño.

Desarrollo de larvas en el laboratorio. Las larvas seleccionadas se acomodan en cajas plásticas de 60 mm de diámetro por 20 mm de alto, con tapa y ventilación, a razón de una larva por caja, donde son alimentadas con rodajas de choclo tierno previamente asperjadas con hipoclorito de sodio al 1%. Las cajas se llevan al cuarto de desarrollo de larvas por 10 días. El alimento y el recipiente deben cambiarse cada cuatro días, hasta que las larvas se transformen en crisálidas. Colocar más de una larva por caja, usar otra dieta y no cambiar el recipiente con la frecuencia indicada pueden ocasionar problemas sanitarios y aumentar la mortalidad de las larvas. Una vez se cierra el ciclo para el establecimiento del pie de cría, las larvas de mantenimiento de la colonia deben ser manejadas como se indica en la página 13 (ver Traslado y empaque de larvas).

El estado de crisálida demora siete días, tiempo en el cual los adultos comienzan a emerger (Pastrana *et al.*, 1993). Al día siguiente de la emergencia se organizan tubos o cámaras de oviposición y, dependiendo de la cantidad de hembras obtenidas, se colocan entre una y tres parejas por tubo, conservándolas ahí durante dos noches (ver pág. 7. Crisálidas y adultos).

Selección de adultos sanos. Al finalizar el período de oviposición, las hembras se matan para proceder inmediatamente a la disección de su abdomen con el fin de establecer si están infectadas con el protozoo microsporidio *Nosema* sp., agente causal de la enfermedad denominada “larva blanca”. Las esporas del patógeno se transmiten transovarialmente de la madre a la descendencia. El diagnóstico se realiza en muestras de fluidos extraídos de los tubos de Malpighi o, como segunda opción, en muestras de hemolinfa.

Para obtener los fluidos de los tubos de Malpighi se separa el abdomen de la hembra y se acomoda en el fondo parafinado de una caja de petri que contiene un poco de agua; se realiza luego un corte longitudinal del abdomen y se retira un segmento de tubo, el cual se coloca en una lámina porta-objetos, se agrega una gota de agua o suero fisiológico y se coloca encima una lámina cubre-objetos para extraer los fluidos mediante una presión leve. La hemolinfa se obtiene al recortar el abdomen de la hembra. En ambos casos, la muestra se observa a través de un microscopio con contraste de fase para detectar las esporas por su refringencia, forma característica y tamaño uniforme (Figura 2).

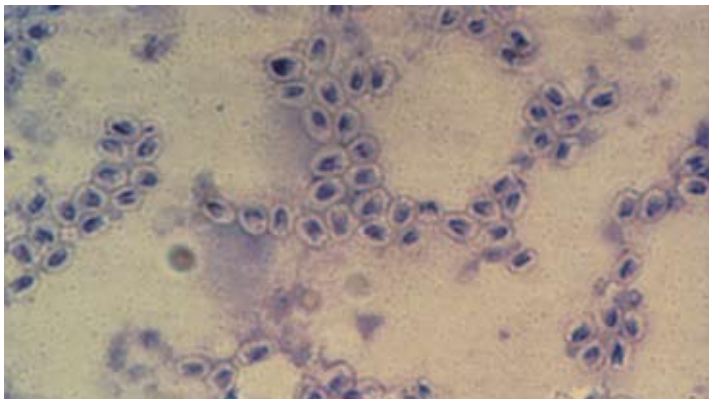


Figura 2. Esporas del protozoo microsporidio *Nosema* sp., agente causal de la enfermedad denominada “larva blanca”.

En caso de detectar una hembra infectada se eliminan todos los huevos del recipiente de oviposición de donde ella provino. No eliminar los huevos conlleva un período de incubación durante el cual aumentan el número de individuos infectados asintomáticos y la concentración del patógeno, provocando posteriormente una explosión de individuos con síntomas muy marcados de la enfermedad, es decir, larvas con enanismo y coloración blanquecina o sebosa (Figura 3).



Figura 3. Efecto de *Nosema* sp. sobre larvas de *D. saccharalis*. (a) Larva blanca; (b) Larva sana.

La recolección de larvas en el campo y la disección de hembras adultas deben llevarse a cabo semanalmente hasta cerrar el ciclo de vida del insecto en el laboratorio, es decir, hasta tener individuos de *D. saccharalis* en todos los estados de desarrollo. Una vez se consigue este propósito se suspende la introducción de material de campo para evitar el riesgo de contaminación que ello implica. En el laboratorio de Cenicaña se logró cerrar el ciclo en dos meses.

Formación de unidades de cría. Luego de cerrar el ciclo de vida del insecto en el laboratorio, los individuos del pie de cría se dividen en cuatro grupos, cada uno de los cuales conformará una unidad diferente, independiente e identificada con un color distintivo.

El propósito de usar colores es que, cuando se presenten problemas sanitarios, se ubique exactamente la unidad afectada, para proceder a eliminarla completamente sin suspender la producción total de individuos. Al contar con varias unidades se tiene material disponible para reponer aquella que ha sido eliminada. En caso de detectar contaminación en las cuatro unidades, es necesario desinfectar el laboratorio y reiniciar el proceso de recolección de larvas en el campo hasta cerrar de nuevo el ciclo.

En el laboratorio de Cenicaña se mantuvieron cuatro unidades de cría mediante la infestación de 60 copas por semana (cinco copas por unidad, tres veces por semana), para la producción de 240 masas de huevos al día.

Recomendaciones para el manejo del patógeno *Nosema* sp., agente causal de la enfermedad denominada “larva blanca”:

1. No introducir larvas de campo a la cría sin antes verificar que estén libres del protozooario microsporidio *Nosema* sp.
2. No cruzar ni mezclar individuos de diferentes unidades de cría.
3. Usar colores distintivos para identificar las unidades de cría y por tanto la procedencia de los individuos contaminados.

Manejo de la cría

La producción de larvas de *D. saccharalis* para ser utilizadas posteriormente en la cría de taquínidos comienza con la selección de crisálidas recuperadas del pie de cría. Para manipular los individuos es necesario aplicar medidas sanitarias que garanticen la producción continua del material que va a ser inoculado. Estas medidas se requieren especialmente en algunas etapas del proceso (López de Pulido, *et al.*, 1994).

En el Cuadro 1 se presentan los valores de referencia de las principales variables de control de calidad del proceso de producción de *D. saccharalis*, correspondientes a los registros del laboratorio de Cenicafña. Se recomienda tener en cuenta estas referencias para el manejo de la cría en sus diferentes estados de desarrollo.

Cuadro 1. Valores de referencia de las principales variables de control de calidad del proceso de producción de larvas de *Diatraea saccharalis*, correspondientes a los registros del Laboratorio de Entomología de Cenicafña.

Variable	Rango	Promedio
Huevos		
Huevos/hembra, primera noche (no.)	250-350	290
Huevos/hembra, segunda noche (no.)	110-190	150
Fertilidad (%)	85-100	98
Eclosión de masas para infestar (%)	70-100	94
Larvas en el momento del traslado (17 días después de infestar)		
Peso larvas grandes (mg)	55-75	68
Peso larvas medianas (mg)	37-53	44
Larvas grandes recuperadas/copa (no.)	28-35	32
Larvas medianas recuperadas/copa (no.)	9-25	18
Crisálidas		
Individuos deformes (%)	5-10	7
Individuos sanos (%)*	73-84	76
Peso de crisálidas macho (mg)	91-130	106
Peso de crisálidas hembra (mg)	170-276	209

* Se descartan las larvas que después de 10 días no se han transformado en crisálidas.

Crisálidas y adultos. De las larvas destinadas para mantener el pie de cría se recuperan finalmente individuos en estado de crisálida, descartando aquellos que muestran alguna deformidad. En condiciones adecuadas de manejo, se excluye por esta causa entre el 5% y el 10% de las crisálidas.

Las crisálidas recuperadas se colocan en una caja plástica y ésta dentro de un recipiente de emergencia conformado por un tubo de PVC de 15 cm de diámetro por 20 cm de altura, cubierto en la parte superior con una malla de anejo asegurada con una banda de caucho. Ambos se colocan sobre una bandeja plástica que contiene una espuma de poliuretano, de espesor no mayor a 1 cm, embebida en agua, a fin de proporcionar una atmósfera húmeda a las crisálidas y favorecer el desarrollo y la emergencia de los adultos (Figura 4).

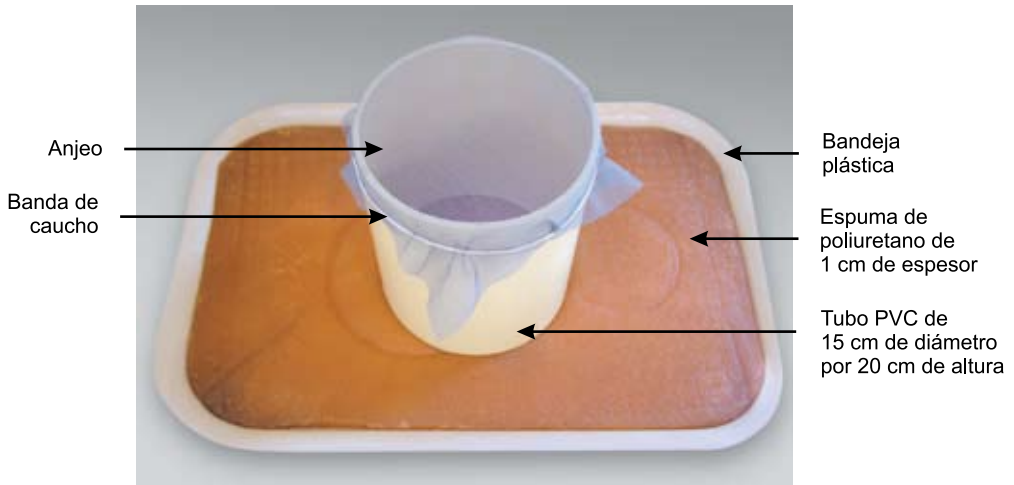


Figura 4. Tubo para la emergencia de adultos de *Diatraea* en laboratorio.

Los adultos comienzan a emerger luego de siete días y la mayoría copulan la noche de su emergencia. El octavo día se deben trasladar a las cámaras o tubos de oviposición, descartando los adultos anormales, es decir aquellos que no logren extender completamente las alas dos horas después de haber emergido o tengan el abdomen torcido e irregular.

En condiciones normales de operación, la emergencia de adultos se lleva a cabo en el 95% de las crisálidas. Cuando se reduce la emergencia, las crisálidas deben sumergirse por un minuto en una solución de sulfato cúprico al 1.5% a la cual se le agregan unas gotas de Photo-flo® (Kodak) como surfactante, antes de colocarlas en los tubos de emergencia. Además, conviene asegurarse de que se está usando dieta esterilizada.

El tubo de oviposición es similar al de emergencia, pero de 9 cm de diámetro por 22 cm de altura. La cara interna del tubo se recubre con una hoja de papel bond tamaño oficio esterilizada previamente en autoclave (la cual sirve como sustrato de oviposición) y sobre ésta se pone una malla plástica con agujeros de 4 mm que cubra totalmente el papel (Figura 5). La malla permite que las masas de huevos colocadas en la hoja sean de tamaño uniforme y contengan aproximadamente 30 huevos. Se espera que una hoja de posturas proporcione 30 masas de huevos utilizables.

Dentro de cada tubo de oviposición se organizan 15 parejas de adultos, las cuales permanecen allí una noche para asegurar la cópula de todas las hembras. Al día siguiente se descartan los machos, considerando que su presencia disminuye la oviposición (Lastra y Gómez, 1988a), y se cambia la hoja de posturas por una nueva. El tercer día se retira la hoja de posturas de la segunda noche de oviposición y se descartan las hembras en su totalidad. Durante la noche se deben evitar luces cercanas a la cámara de oviposición debido a que éstas pueden inhibir total o parcialmente la postura de huevos.

Los machos son de menor tamaño que las hembras y vistos en plano dorsal su coloración es un poco más oscura. En plano ventral, el abdomen de las hembras es más grueso y voluminoso.

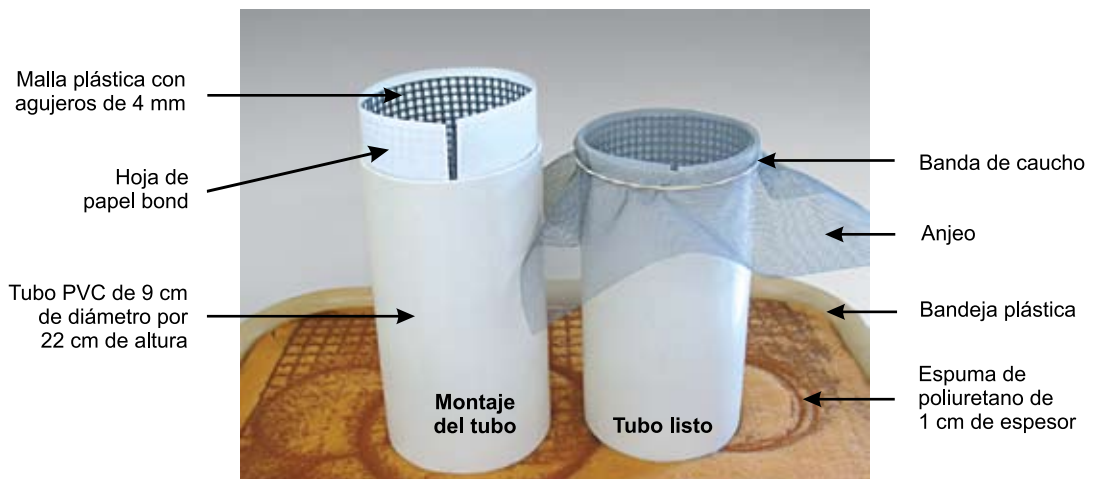


Figura 5. Tubo para oviposición donde se colocan hasta 15 parejas de adultos de *Diatraea* spp. (a) Montaje del tubo; (b) Tubo listo.

Masas de huevos. Cada hoja con posturas proporciona, en promedio, 30 masas de huevos utilizables. Las hojas se colocan sobre bandejas con espumas humedecidas y se ubican en estantes dentro del cuarto de desarrollo de larvas en donde permanecen a 30 °C de temperatura y 75% de humedad relativa. Luego de cinco días en las bandejas, los huevos deben tener un desarrollo uniforme en el estado conocido como “cabeza negra”.

Es posible que se consigan posturas infértiles, asociadas con la falta de cópula, o baja eclosión de huevos desarrollados, usualmente debida a condiciones ambientales caracterizadas por humedad relativa del aire inferior a 75%.

Infestación de copas con posturas y desarrollo de larvas. En este momento se deben tener listas las copas con dieta artificial para la cría de las larvas. La infestación consiste en colocar mínimo dos masas de huevos próximas a eclosionar dentro de una copa de vidrio que contiene dieta suficiente para alimentar las larvas hasta por 17 días. Cumplido el plazo, las larvas se retiran de las copas y se empaacan en cajas plásticas con dieta de traslado (ver pág. 18. Preparación de la dieta y manejo de sus componentes).

El proceso de infestación exige asepsia integral para el desarrollo de las tareas. Todos los implementos utilizados, como pinzas, servilletas, cajas de petri e instrumentaria quirúrgica, deben ser esterilizados previamente en autoclave (ver pág. 17. Desinfección de equipos, utensilios y materiales).

Las copas en donde se desarrollan las larvas son frascos de vidrio de aproximadamente 4 cm de diámetro por 9 cm de altura. Se tienen listas con la dieta y dos días antes de la infestación se pasan del congelador al refrigerador donde permanecen 24 horas a 10 °C. El segundo día se llevan al cuarto de infestación para prevenir que la dieta se deshidrate y asegurar que tenga una temperatura adecuada para las larvas recién eclosionadas.

El tercer día, dos horas antes de la infestación, en la cámara aséptica se recortan tiras de las hojas de oviposición que contengan hasta dos masas de huevos próximos a eclosionar. Las tiras con posturas se sumergen durante 10 minutos en una solución de sulfato cúprico al 1.5% y luego se colocan en una bandeja, sobre servilletas de papel esterilizadas en autoclave, con el propósito de eliminar el exceso de humedad.

La infestación se realiza al introducir una tira de papel con posturas en una copa con dieta; se debe realizar con suma cautela, de manera que el papel

no toque la dieta y no absorba humedad (Figura 6). Durante todo el proceso, incluso en el recorte de las tiras, las tareas se llevan a cabo en la cámara aséptica, donde debe permanecer encendido un mechero con llama moderada a una distancia prudente para evitar que la temperatura afecte la emergencia de las larvas. La cámara aséptica debe ser desinfectada todos los días con Tego® al 2% y alcohol al 70%, y cada 15 días con 5 ml de formaldehído al 37% evaporado mediante un baño María. Esta cámara tiene una lámpara de luz ultravioleta que permanece encendida toda la noche (Figura 7).



Figura 6. Copa con dieta, recién infestada con masas de huevos de *Diatraea* spp.



Figura 7. Cámara aséptica.

Crecimiento y control de hongos y bacterias

En las copas donde se desarrollan las larvas pueden crecer hongos y bacterias (Figura 8). En caso de infección, las copas sin destapar se esterilizan en autoclave por 15 minutos a 120 °C y 15 libras de presión para luego desechar su contenido.

El hongo *Aspergillus niger*, de color negro y aspecto algodónoso, puede aparecer sobre huevos o en la superficie de la dieta después de tres o cuatro días de haber infestado las copas, cuando las larvas ya han eclosionado. Se previene desinfectando las tiras con posturas en una solución de sulfato cúprico al 1.5% durante 10 minutos, antes de infestar las copas.

Además de *A. niger* se puede encontrar el hongo *Penicillium* sp., también de aspecto algodónoso pero de color verde cenizo. Ambos microorganismos pueden crecer en copas donde se tienen larvas de 15 días de edad, sin que éstas muestren un desarrollo anormal.

Otro agente contaminante que se puede encontrar en las copas con dieta son colonias de bacterias de aspecto blanco lechoso. Debido a que pueden afectar el desarrollo de las larvas se recomienda limpiar todo el lote en autoclave, sin destapar las copas, y desechar el contenido (ver pág. 15. Prevención de contaminantes).



Contaminación por bacterias



Contaminación por hongos

Figura 8. Contaminantes sobre dieta, en cajas de traslado de larvas de *Diatraea* spp.

Cada copa infestada se cierra con un tapón de gasa marcado con el color de la unidad de cría correspondiente. El lote de copas se ubica en el cuarto de desarrollo de larvas y se marca con la fecha de infestación. Las copas se mantienen en este sitio por 17 días a 30 °C de temperatura y 75% de humedad relativa y se revisan a diario para detectar a tiempo cualquier contaminación por hongos o bacterias. Cuando se detecta algún lote de copas donde la eclosión de huevos ha sido escasa, inmediatamente se debe infestar un lote nuevo.

En condiciones normales de desarrollo, luego de 17 días las larvas están listas para ser retiradas de las copas y empacadas en cajas plásticas para su traslado a los laboratorios de cría de taquínidos. Al infestar cada copa con dos masas de huevos se espera una producción aproximada de 60 larvas/copa, pero al momento del traslado se recuperan en promedio 40 larvas/copa para ser inoculadas.

Traslado y empaque de larvas. Después de 17 días en las copas, las larvas se sacan y se separan en dos grupos: aquellas que se destinarán para la producción de las moscas taquínidas y las que se emplearán para mantener el pie de cría.

Las larvas aptas para la obtención de las moscas deben pesar 60 mg como mínimo en el momento del traslado (Figura 9). El empaque de larvas para la producción de moscas se realiza en cajas plásticas circulares de 60 mm de diámetro por 20 mm de alto, con tapa, en cuya base se colocan 3.0 g de dieta de traslado y seis larvas, a razón de 0.5 g de dieta/larva. La tapa debe tener en el centro un agujero de 10 mm, el cual se cubre con una malla de acero para permitir la ventilación (Figura 10).

La dieta artificial que se usa para alimentar las larvas debe ser retirada del refrigerador un día antes del traslado, a fin de que se encuentre a temperatura ambiente. El proceso se lleva a cabo en el cuarto de traslado, en condiciones óptimas de asepsia, sin corrientes de aire y utilizando permanentemente un mechero.

Después de empacar las larvas en las cajas plásticas, éstas se llevan al cuarto de desarrollo de larvas, donde permanecen cuatro días, tiempo en el cual las larvas habrán duplicado su tamaño y estarán listas para ser inoculadas (Trujillo *et al.*, 1989a). Cuando las larvas se mantienen por más de cuatro días en las cajas, se puede presentar el síntoma denominado “costra negra” (Figura 11), asociado con la presencia de hongos que aumentan la mortalidad de las

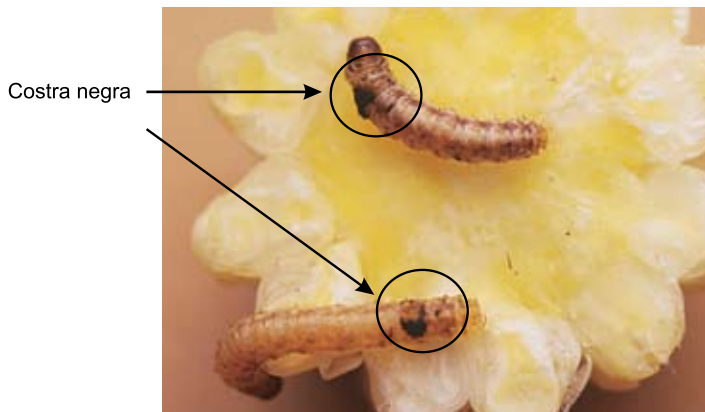


Figura 9. Aspecto de una larva de *Diatraea* spp. apta para ser empleada en la producción de parasitoides.



Agujero de 10 mm recubierto de malla de acero

Figura 10. Caja utilizada para el traslado de larvas de *Diatraea* spp.



Costra negra

Figura 11. Larva de *Diatraea* spp. con el síntoma denominado “costra negra”.

larvas (Lastra y Gómez, 2000). El cuarto de desarrollo debe permanecer con 30 °C de temperatura y 75% de humedad relativa.

Las larvas destinadas para el pie de cría pueden tener 45 mg, es decir, más pequeñas que las empleadas para la producción de moscas taquínidas. Se aceptan larvas de menor tamaño para asegurar un pie de cría con una proporción de sexos de 1:1, considerando que los machos son más pequeños que las hembras; se ha observado que al escoger larvas más grandes, la proporción se desequilibra en favor de las hembras. Las que no cumplen los requisitos son descartadas.

Las larvas empleadas para mantener el pie de cría se trasladan también a cajas plásticas, similares a las utilizadas para trasladar las larvas para la producción de moscas parásitas, colocando dos individuos sobre 3.0 g de dieta por caja, a razón de 1.5 g de dieta/larva. Las cajas se llevan al cuarto de desarrollo de larvas donde permanecen hasta por 10 días, tiempo en el cual la mayoría de los individuos se transforman en crisálidas. Las larvas que no se desarrollan en este tiempo, son descartadas.

En las cajas plásticas utilizadas para obtener crisálidas es donde hay mayor probabilidad de que se desarrollen hongos debido a que la dieta artificial está más tiempo expuesta al ambiente. Por ello es necesario revisarlas cada cuatro días y eliminar oportuna y correctamente el material infectado; por ningún motivo pueden ser destapadas dentro del laboratorio. Los hongos más frecuentes son *A. niger* y *Penicillium* spp.; las bacterias son relativamente escasas.

Sin embargo, pueden presentarse situaciones en las cuales es necesario recuperar larvas que se encuentren dentro de copas contaminadas. En este caso, las larvas del barrenador de 15 ó más días de edad se pueden desinfectar sumergiéndolas por dos minutos en una solución de formaldehído 37% al 0.3% en agua destilada estéril. Luego se secan sobre papel toalla estéril para eliminar el exceso de humedad.

Prevención de contaminantes

Las condiciones ambientales de un laboratorio de cría de insectos favorecen la presencia y el desarrollo de agentes contaminantes, que pueden crecer y

hacerse visibles en las diferentes etapas del proceso de cría, es decir, en la obtención de posturas, el desarrollo de larvas y la recuperación de crisálidas.

Los agentes contaminantes que se presentan con mayor frecuencia son hongos, bacterias y en menor grado, levaduras; estos microorganismos se encuentran en el ambiente, por lo tanto, los problemas de contaminación en el proceso de cría están asociados con el incremento de sus esporas en el aire.

La experiencia en el laboratorio de Cenicaña indicó que el control de los contaminantes se logra mediante dos enfoques complementarios del problema: el uso de medidas generales de asepsia en el laboratorio (López de Pulido *et al.*, 1994) y el uso de antimicrobiales en la preparación de la dieta (Lastra y Gómez, 1993).

Medidas generales de asepsia

Las medidas de asepsia son indispensables para mantener una cría sana y una producción de larvas constante. Dentro de esta categoría se incluyen aspectos generales de limpieza del personal, cuartos y mesas de trabajo y desinfección de los equipos utilizados.

Limpieza del personal. El personal que trabaja en laboratorio de cría de insectos debe cumplir normas de asepsia para evitar llevar contaminantes a la colonia. Antes de iniciar cualquier actividad de manipulación de insectos, los operarios deben lavar sus brazos y manos con jabón, refregarse las uñas con un cepillo, enjuagarse con abundante agua y, después de secarse, friccionar sus brazos y manos con alcohol al 70%.

El uso de mascarilla debe ser permanente durante los procesos de pesaje de los ingredientes y preparación de la dieta, en la infestación de las copas de vidrio con masas de huevos, el traslado de larvas, la obtención de crisálidas y el registro de adultos.

Desinfección de cuartos y mesas de trabajo. Las mesas de trabajo se asperjan y limpian con Tego® al 2% en la mañana antes de iniciar las labores y en la tarde al finalizarlas. En el caso de los cuartos, una vez por la mañana y una vez por la tarde se asperja esta solución en el ambiente y se limpia la estantería.

Para detectar a tiempo la presencia de hongos se recomienda hacer una evaluación periódica de la cantidad de esporas contaminantes en las diferentes áreas del laboratorio y desinfectar los cuartos antes de que se registren problemas de contaminación en la cría. Para esto, se colocan cajas de petri con el medio de cultivo PDA (papa + dextrosa + agar) en los sitios del laboratorio donde se requiere mayor limpieza y se destapan por 15 minutos, luego de los cuales se cierran y sellan con cinta. Cuatro o cinco días después comienza el crecimiento del agente contaminante.

Al encontrar hongos y/o bacterias en abundancia en estos medios de cultivo, inmediatamente se realiza un lavado general del laboratorio, incluyendo paredes y pisos, y se procede a desinfectar el ambiente evaporando formaldehído al 37% (4 ml/m³ de espacio a tratar) mediante baño María y manteniendo encerrados los vapores por lo menos durante una noche. Se recomienda realizar la desinfección durante un fin de semana.

Desinfección de equipos, utensilios y materiales. La cámara aséptica se desinfecta a diario con Tego® al 2% y alcohol al 70%, y cada 15 días con 5 ml de formaldehído al 37% evaporado mediante un baño María. Esta cámara tiene una lámpara de luz ultravioleta que permanece encendida todas las noches.

Las pinzas y demás herramientas utilizadas durante el proceso de cría se deben lavar frecuentemente con alcohol al 96% para evitar que se acumule material orgánico en ellas.

La dieta con síntomas de contaminación se debe descartar en un sitio fuera del laboratorio, en el caso de no haberla esterilizado previamente en autoclave. Los recipientes que contenían la dieta contaminada se deben dejar en remojo de un día para otro en una solución de agua y jabón preparada con 5 g de detergente en polvo por cada litro de agua, más hipoclorito al 0.4%. Al día siguiente se lavan con agua corriente y se refriegan con esponja para desprender las adherencias de dieta. Después de este primer lavado se colocan por 20 minutos en hipoclorito al 0.5%, para luego enjuagarlos con agua corriente y dejarlos escurrir en canastillas plásticas. Una vez secos, para preservarlos del polvo se guardan en cajones previamente desinfectados con Tego® al 2%. Los tubos de PVC y las espumas de poliuretano se lavan con una solución de agua y jabón y se enjuagan con agua corriente.

Uso de antimicrobiales en la dieta

En el laboratorio de Cenicaña se llevaron a cabo estudios sobre el uso de antimicrobiales en la dieta con el objetivo de evaluar varios productos que, por un lado, controlaran el crecimiento de bacterias y hongos en la dieta artificial, y, por el otro, pudieran adicionarse a la dieta sin alterar el desarrollo de los individuos de *Diatraea* (Lastra y Gómez, 1993). El sulfato de estreptomina fue el antimicrobial que mejor controló el crecimiento de una amplia variedad de especies bacterianas. Comercialmente se encuentra disponible como Micidrazina® y se recomienda adicionarlo en dosis de 1.5 g/l de dieta.

Para controlar el crecimiento de hongos durante el desarrollo de las larvas, en la preparación de la dieta se utiliza metil paraben (metil parahidroxibenzoato) en concentraciones de 2.5 a 3.5 g/l de dieta, cuando ésta va a ser envasada en copas y las larvas se van a destinar a la producción de taquínidos; dosis mayores del antimicrobial afectan el peso y la recuperación de las larvas.

La dieta para traslados debe contener además ácido acético glacial en dosis de 1.76 ml/l de dieta y la dosis de metil paraben debe incrementarse a 5.0 g/l de dieta para prevenir el crecimiento de hongos y bacterias.

Aunque en varias dietas artificiales para lepidópteros se recomienda el uso de formaldehído al 37% y ácido sórbico como antimicrobiales, las evaluaciones realizadas por Cenicaña mostraron efectos nocivos en la recuperación de larvas por el uso de formol en dosis mínimas. El ácido sórbico en dosis muy altas previno contaminaciones por hongos pero elevó notoriamente los costos de producción.

Preparación de la dieta y manejo de sus componentes

En el Laboratorio de Entomología de Cenicaña se evaluaron durante varios años diferentes dietas y variantes de sus constituyentes con el objetivo de encontrar la fórmula más rentable y segura para favorecer el ciclo de vida de colonias de *D. saccharalis* y su cría masiva (Lastra y Gómez, 1987; Lastra y Gómez, 1988b; Trujillo *et al.*, 1989a; Lastra y Gómez, 1992).

La dieta artificial recomendada comenzó a ser desarrollada después de evaluar cuatro grupos de fórmulas clasificadas según el constituyente principal, con las cuales se obtuvieron los resultados siguientes: (a) Grupo 1, dietas a base de frijol: Buena resistencia a la contaminación pero bajo número de larvas recuperadas y parásitos obtenidos. (b) Grupos 2 y 3, dietas a base de caseína y a base de soya: Buena recuperación de larvas y parásitos; sus inconvenientes fueron la difícil consecución y el alto costo de algunos ingredientes, así como las dificultades de manejo en el proceso de esterilización dadas sus propiedades físicas. (c) Grupo 4, dietas a base de zanahoria y otro vegetal: Con la dieta a base de zanahoria y yagua de caña pulverizada se logró recuperar la mayor cantidad de larvas y parásitos. Los ingredientes eran fáciles de conseguir y después de preparada se podía esterilizar sin afectar su estructura física. Fue posible reemplazar algunos ingredientes para disminuir costos, sin perjuicios en el desarrollo de las larvas; por ejemplo, se logró sustituir el agar por tusa de maíz en 75% en la dieta para desarrollo de larvas y en 50% en la dieta de traslado (Lastra y Gómez, 1992). En el proceso de investigación se definieron los procedimientos y especificaciones sobre ingredientes, dosis, preparación, conservación y manejo sanitario de la dieta artificial recomendada.

Manejo de los ingredientes

La dieta artificial tiene unos constituyentes básicos, aunque se recomiendan pequeñas variaciones, dadas por el uso de antimicrobiales, para la preparación de la dieta de desarrollo y la dieta de traslado de larvas (Cuadro 2).

Las siguientes instrucciones se deben tener en cuenta para el manejo de los ingredientes:

- El germen de trigo y la zanahoria molida se secan en horno a 70 °C durante 45 minutos, para posteriormente empacarlos de forma individual en bolsas plásticas selladas con calor y almacenarlos en refrigerador a 10 °C.
- La tusa de maíz molida y la yagua de caña pulverizada se esterilizan en autoclave por 20 minutos a 120 °C y 15 libras de presión. Posteriormente se empaican de forma individual en bolsas plásticas selladas con calor y se almacenan en refrigerador a 10 °C.
- La micidrazina y el antimicrobial metil paraben (metil para-

hidroxibenzoato) se almacenan en refrigerador a 10 °C. El metil paraben debe permanecer protegido de la luz.

- La caseína, el agar, la levadura de cerveza, el azúcar pulverizado y el ácido acético glacial deben mantenerse bien sellados y pueden ser almacenados a temperatura ambiente.
- Para un manejo más eficiente, el germen de trigo, levadura de cerveza, zanahoria molida, yagua de caña pulverizada, caseína, azúcar pulverizada y micidrazina se pueden mezclar y almacenar en refrigerador a 10 °C, en una sola bolsa plástica sellada con calor.
- Los ingredientes indicados se pueden conservarse en refrigeración hasta por un mes.

Cuadro 2. Ingredientes para la preparación de dieta de desarrollo y dieta de traslado de larvas de *Diatraea* spp. Cantidad: 1 litro.

Ingrediente	Dieta de desarrollo	Dieta de traslado
Agua para los ingredientes (ml)	600	500
Agua para el agar (ml)	500	500
Germen de trigo (g)	38	38
Zanahoria deshidratada molida (g)	40	40
Tusa de maíz molida (g)	11.25	7.5
Yagua de caña pulverizada (g)	80	80
Micidrazina® (g)	1.5	1.5
Metil paraben (g)	3.5	5
Alcohol al 50% (ml)	2	2
Levadura de cerveza (g)	40	40
Caseína (g)	8	8
Azúcar pulverizada (g)	20	20
Acido acético glacial (ml)	-	1.76
Agar (g)	3.75	7.5

Preparación de la dieta

Antes de comenzar tenga listos todos los ingredientes. Enjuague los utensilios con agua hirviendo y séquelos.

Instrucciones:

1. Caliente el agua de los ingredientes en una olla grande, hasta que alcance una temperatura de 60 °C.
2. En otro recipiente, disuelva el metil paraben en 2 ml de alcohol al 50%.
3. Agregue la solución de metil paraben al agua de los ingredientes y revuelva hasta conseguir una mezcla uniforme. Si la dieta es para el traslado de larvas, añada el ácido acético glacial.
4. Mezcle en seco los demás ingredientes y póngalos en una licuadora industrial junto con el agua de los ingredientes. Licue durante 5 minutos hasta obtener una mezcla homogénea.
5. Coloque en otra olla el agua para disolver el agar y la tusa, y llévela a ebullición. Agregue despacio el agar y la tusa, revolviendo constantemente para evitar que se formen grumos.
6. Adicione el agua con agar y tusa a la mezcla y licue por 10 minutos más, hasta homogenizar.
7. Vierta la dieta en frascos plásticos con tapa dosificadora (tipo salsero) para facilitar su manejo posterior.

Envase, empaque, esterilización y almacenamiento

Se presentan en este aparte las indicaciones respectivas de acuerdo con el uso de la dieta.

Dieta de desarrollo de larvas. Cada copa o frasco de vidrio que va a ser utilizado para la infestación con posturas se llena con 16 ml de dieta y se tapa inmediatamente con un algodón envuelto en gasa para evitar que la dieta se endurezca. El algodón y la gasa deben ser esterilizados previamente en autoclave. Con las dosis indicadas se envasan 58 copas como mínimo.

Las copas con dieta se dejan reposar durante dos horas. Después de este tiempo, los tapones de algodón se recubren con papel de aluminio. Luego se conforman grupos con 10 unidades de copas y cada grupo se envuelve

en papel kraft. Al día siguiente, cada grupo de copas se esteriliza durante 20 minutos en autoclave a 120 °C y 15 libras de presión. El recubrimiento de los tapones con papel de aluminio evita que el algodón absorba agua de condensación durante el proceso de esterilización, con lo cual se previenen el crecimiento y la invasión de hongos.

Los paquetes esterilizados se dejan a temperatura ambiente. Una vez aclimatados, se empaican en bolsas plásticas y se almacenan en un congelador. La dieta envasada y esterilizada se conserva a una temperatura de -10 °C hasta por un mes.

Dieta de traslado de larvas. La dieta utilizada para el traslado de larvas a los laboratorios que producen las moscas taquínidas se vierte en bandejas de aluminio con capacidad de un litro. Las bandejas con dieta se cubren con servilletas de papel y se dejan a temperatura ambiente hasta que la dieta se enfríe y endurezca. Una vez fría, se retiran las servilletas de papel y la dieta se cubre con papel de aluminio ajustado a los bordes de la bandeja.

Las bandejas con dieta se esterilizan durante 20 minutos en autoclave a 120 °C y 15 libras de presión. Se dejan a temperatura ambiente y, una vez aclimatadas, se empaican en bolsas plásticas y se almacenan en un refrigerador. Esta dieta esterilizada se conserva a una temperatura de 10 °C hasta por un mes.

Organización del laboratorio

La distribución del espacio en el laboratorio, el mantenimiento de un pie de cría sano y la asepsia en el proceso productivo son aspectos fundamentales para la producción eficiente de larvas de *Diatraea*.

A continuación se indica la distribución que conviene que tenga el laboratorio y las especificaciones de cada área, de acuerdo con la experiencia adquirida en el laboratorio de Cenicaña (Cuadro 3). Para colocar los tubos de emergencia y de oviposición de adultos se requieren estantes ubicados en un espacio pequeño, fresco (21 °C a 24 °C) y que no reciba luz durante la noche para evitar que se afecte la oviposición de las hembras.

Cuadro 3. Características de las áreas de un laboratorio para la cría de *Diatraea*. Condiciones ambientales correspondientes al Laboratorio de Entomología de Cenicaña, temperatura del aire media anual de 23.3 °C.

Área	Ambiente	Dimensiones (m)	No. de operarios	Equipo y mobiliario	Asepsia
Administración	Temperatura ambiente	-	-	<ul style="list-style-type: none"> • Un escritorio • Un archivador 	<p>Mantenimiento básico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evitar acumulación de polvo. • Barrer y trapear.
Lavado	Temperatura ambiente	3x4	1	<ul style="list-style-type: none"> • Un mesón de acero inoxidable • Dos lavaplatos hondos • Cajones para detergentes y desinfectantes • Canastillas plásticas • Canecas plásticas 	<p>Mantenimiento básico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evitar acumulación de polvo. • Barrer y trapear.
Almacenamiento	Temperatura ambiente	2x2	-	<ul style="list-style-type: none"> • Estanterías 	<p>Mantenimiento básico:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evitar acumulación de polvo. • Barrer y trapear.
Cuarto de infestación	Temperatura entre 21 °C y 24 °C (se recomienda aire acondicionado)	2x2	1	<ul style="list-style-type: none"> • Cámara aséptica • Mesa y cajones • Estantería 	<p>Mantenimiento riguroso:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ingreso restringido (sólo debe permanecer la persona que realiza la labor). • Lavado meticuloso cada mes de suelo, paredes y estantería. • Asperjar a diario solución de Tego®. • Limpiar los sitios de trabajo con solución de Tego® después de cada labor.
Cuarto de desarrollo de larvas	Temperatura entre 30 °C y 32 °C Humedad relativa de 75%	3x3	1	<ul style="list-style-type: none"> • Estantería • Calefactor • Humidificador 	<p>Mantenimiento riguroso:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ingreso restringido (sólo debe permanecer la persona que realiza la labor). • Lavado meticuloso cada mes de suelo, paredes y estantería. • Asperjar a diario solución de Tego®. • Limpiar los sitios de trabajo con solución de Tego® después de cada labor.
Cuarto de pesaje y preparación de dietas	Temperatura entre 21 °C y 24 °C (se recomienda aire acondicionado)	2x3	1-2	<ul style="list-style-type: none"> • Estufa • Licuadora • Batidora • Nevera • Autoclave • Extractor de aire • Estante • Mesón 	<p>Mantenimiento intermedio:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Limpiar con solución de Tego® después de cada labor. • Evitar acumulación de polvo. • Barrer y trapear.
Cuarto de traslado	Temperatura entre 25 °C y 28 °C	3x4	3-4	<ul style="list-style-type: none"> • 1 mesa • 3-4 sillas 	<p>Mantenimiento riguroso:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lavado meticuloso cada mes de suelo, paredes y estantería. • Asperjar a diario solución de Tego®. • Limpiar los sitios de trabajo con solución de Tego® después de cada labor.

Área de administración. Es el área donde el técnico tiene su oficina con sus respectivos archivos, y donde atiende a los visitantes. No requiere medidas estrictas de asepsia. Por conveniencia, puede estar ubicada en la entrada al laboratorio.

Área de lavado. Es el área donde se eliminan los desechos orgánicos resultantes de la cría de las larvas, y donde se lava y desinfecta el material utilizado. Debido a que en esta área abundan las fuentes de contaminación, se sugiere que esté lo más apartada posible de las áreas de almacenamiento y producción.

Conviene dividir el área de lavado en tres zonas: una para mantener en remojo el material sucio, otra para lavar y desinfectar el material, y otra para dejar escurrir y secar el material lavado. Se recomienda disponer de mesones de acero inoxidable y cajones para guardar detergentes y desinfectantes.

Área de almacenamiento. En esta área se guardan los equipos, ingredientes y materiales sin esterilizar, que no van a ser utilizados inmediatamente.

Área de procesos de producción. En esta área es donde se llevan a cabo los diferentes procesos de producción. Está dividida en cuatro cuartos, cada uno de los cuales requiere condiciones ambientales y de asepsia específicas de acuerdo con las características del proceso que en ellos se realiza.

Cuarto de infestación. En este cuarto se realiza la infestación de las copas con posturas, tarea que se lleva a cabo en la cámara aséptica. Exige condiciones especiales de asepsia. Es conveniente que la temperatura se mantenga entre 21 °C y 24 °C. El acceso a este cuarto es restringido y sólo debe permanecer la persona que realiza la labor.

Cuarto de desarrollo de las larvas. En este cuarto se almacenan, organizadas en estantes, las hojas con posturas, las copas infestadas y las larvas empacadas para la venta.

La asepsia en este cuarto debe ser rigurosa y sólo se permite la entrada a la persona que revisa el material. Para favorecer el desarrollo de las larvas se debe instalar un calefactor que mantenga la temperatura del aire entre 30 °C y 32 °C, y un humidificador que conserve la humedad relativa en 75%. Se sugiere instalar sensores para el control automático de la temperatura y la humedad.

Cuarto de pesaje y preparación de dieta. En este cuarto se pesan los ingredientes y se prepara la dieta. Los requerimientos de asepsia son intermedios. Se recomienda instalar un extractor de aire y encenderlo durante la preparación y la esterilización de la dieta.

Cuarto de traslado. En este cuarto se realizan la selección y empaque de larvas tanto para el pie de cría como para la producción de taquínidos. Se debe disponer de un mesón grande y de cajones para guardar las cajas tratadas, secas y listas para usar. Se requiere un nivel de asepsia intermedio y no debe haber corrientes de aire. La temperatura recomendada durante la labor oscila entre 21 °C y 24 °C.

Equipos y utensilios

Los equipos (y su cantidad) requeridos para la cría de *Diatraea* en laboratorio son: cámara aséptica (1), autoclave (1), microscopio (1), calefactor (2, uno de reemplazo), humidificador (2, uno de reemplazo), extractor de aire (1), nevera (1), estufa (1), mechero de alcohol (1), licuadora con capacidad de un litro (1), mezcladora industrial con capacidad de 14 litros (1), termómetro (1), higrómetro (1), balanza (1).

También se necesitan los siguientes utensilios: pinzas, bisturí, tijeras, olla esmaltada, bandejas, cajas de petri (60 mm y 90 mm), copas para cría (diámetro: 4 cm, altura: 9 cm), tubos de emergencia (diámetro: 15 cm, altura: 20 cm), tubos de oviposición (diámetro: 9 cm, altura: 22 cm), canecas plásticas con capacidad de 50 litros, canastillas plásticas, *beakers*, frascos plástico con tapa dosificadora tipo salsero.

Costos y beneficios económicos

Se presenta un comparativo de los costos de producción de parásitos benéficos (*Paratheresia claripalpis* y *Metagonistylum minense*) para el control de *Diatraea*, según el tipo de larva del barrenador utilizada como hospedero: larvas colectadas en el campo o larvas criadas en laboratorio. Los valores fueron estimados en dólares americanos (precio promedio del mercado de 2004) utilizando la metodología propuesta por Urresti (1995).

En la Figura 12 se ilustran las etapas previas a la inoculación y desarrollo de parásitos según el origen de las larvas de *Diatraea* utilizadas. En el caso de larvas colectadas en el campo es común que durante las etapas de selección y alimentación se descarte aproximadamente el 30% de los individuos recibidos; en contraste, cuando se emplean larvas producidas masivamente es normal inocular el 100% de los individuos.

En los Cuadros 4 y 5 se presentan los rubros que componen el costo de una larva de campo lista para inoculación y el costo de una larva de laboratorio. De acuerdo con los valores, la larva de campo cuesta US\$ 0.15. Esta cifra puede variar según el número de larvas recolectadas en un momento dado, lo cual puede estar influenciado en primera instancia por el grado de infestación del lote escogido. Por su parte, una larva de laboratorio cuesta US\$ 0.08, valor que permanece constante.

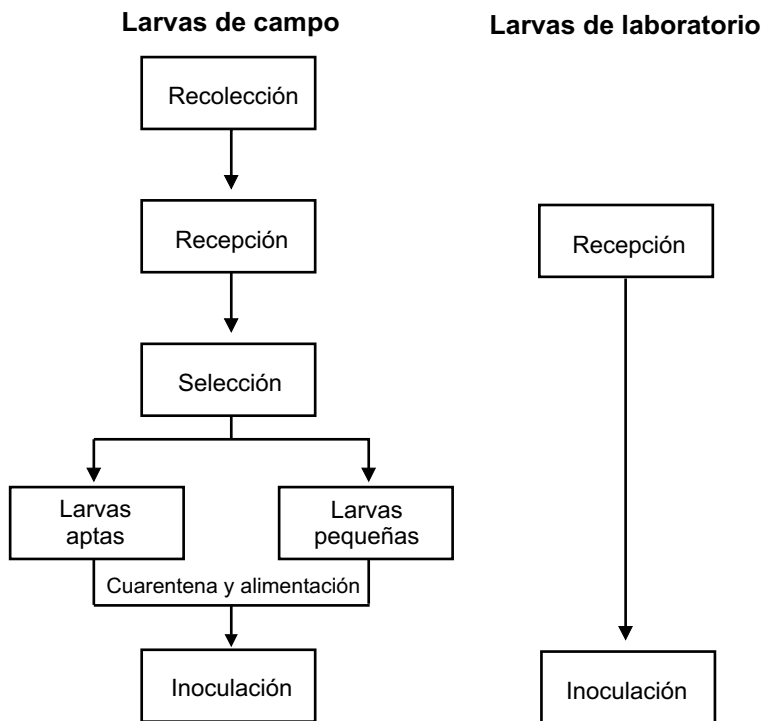


Figura 12. Etapas en la obtención de larvas de *Diatraea* spp. utilizadas para inoculación y desarrollo de parásitos.

Cuadro 4. Costos del proceso de obtención de una larva de campo (Dólares de 2004, US\$1= Col\$2615).

Rubro	Costo por larva	
	US\$	%
Recolección	0.106	71.0
Supervisión	0.008	5.3
Transporte	0.004	3.0
Alimentación	0.031	20.7
Total	0.150	100.0

Cuadro 5. Costos del proceso de producción de una larva de laboratorio (Dólares de 2004, US\$1= Col\$2615).

Rubro	Costo por larva	
	US\$	%
Costos operativos	0.051	64.1
<i>Mano de obra</i>	<i>0.028</i>	<i>34.6</i>
<i>Materiales y productos</i>	<i>0.016</i>	<i>19.6</i>
<i>Energía</i>	<i>0.008</i>	<i>9.8</i>
Administración	0.020	25.4
Recuperación de inversiones	0.008	10.5
Total	0.080	100.0

Nota: las cifras en cursiva no suman.

De acuerdo con Urresti (1995), cuando se utilizan larvas de campo se obtienen hasta 0.7 parásitos por cada larva inoculada, en promedio, mientras con larvas de laboratorio se obtienen 1.4 parásitos/larva. Lo anterior demuestra la calidad de los individuos de cría masiva para la multiplicación comercial de los parásitos. Así, un parásito derivado de una larva de campo cuesta US\$ 0.29 y una larva del laboratorio cuesta US\$ 0.05; esto significa que los primeros son cinco veces más costosos que los segundos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Costos de producción de parásitos según el origen de las larvas de *Diatraea* utilizadas (Dólares de 2004, US\$1= Col\$2615).

Origen de la larva	Costo por larva (US\$)	Parásitos por larva inoculada (No.)	Costo por parásito (US\$)
De campo	0.15	0.74	0.29
De laboratorio	0.08	1.44	0.05

Considerando el resultado encontrado por Gómez (1990), que señala una pérdida de 92 kg de azúcar por hectárea por cada unidad porcentual de daño (entrenudos barrenados) causado por *Diatraea*, se estima que, a precios de 2004, los beneficios del control biológico equivalen a una ganancia bruta de US\$ 27.2/ha, es decir Col\$ 71,128. Restando el costo de la liberación de los parásitos, cuando se usan larvas de campo se obtiene un beneficio neto de \$ 3.1 por cada peso invertido, mientras con larvas comerciales se obtienen \$ 8.8 por peso (Cuadro 7). Los costos pueden variar entre un laboratorio y otro debido a la forma de manejo y otros factores.

Cuadro 7. Estimación de los beneficios resultantes de la liberación de moscas para el control de *Diatraea* (Dólares de 2004, US\$1= Col\$2615).

Origen de la larva	Costo de la liberación (US\$/ha)	Beneficio bruto (US\$/ha)	Relación beneficio:costo
De campo	8.74	27.2	3.1:1.0
De laboratorio	3.09	27.2	8.8:1.0

Reconocimientos

Los autores desean resaltar la labor de los ayudantes de laboratorio Alvaro Tulio Urresti C., Elder Mosquera C. y Orlando Rojas por su interés y participación en el desarrollo de la tecnología para cría masiva de *Diatraea* en condiciones de laboratorio.

Referencias bibliográficas

- Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia. Cali. 1989. Informe Anual 1988. Cali, Cenicaña. p.22
- Gómez, L.A. y Lastra, L.A. 1995. Insectos asociados con la caña de azúcar en Colombia. En: El Cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia. Cali, Cenicaña. p. 237-263
- Lastra, L.A.; Gómez, L.A. 1987. Evaluación del efecto de diferentes dietas artificiales sobre la biología de *Diatraea* y sus parásitos. En: II Congreso de la Sociedad Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar. Cali, 26-28 de agosto. Memorias. Tecnicaña. p. 257-269.
- _____ ; Gómez, L.A. 1988a. Influencia de algunos factores sobre la cría artificial de insectos: Caso de *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Pyralidae). En: XV Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Manizales, 27, 28 y 29 de julio. Resúmenes. p. 50.
- _____ ; Gómez, L.A. 1988b. Efecto de algunas dietas artificiales sobre la biología de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Pyralidae) y sus parásitos. Revista Colombiana de Entomología. Bogotá, vol.14 (No.2): 9-14.
- _____ ; Gómez, L.A. 1992. Evaluaciones de sustitutos del agar en la cría de *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae). Revista Colombiana de Entomología. Bogotá, vol.18 (No.2): 55-58.
- _____ ; Gómez, L.A. 1993. Efecto del uso de inhibidores de hongos en la dieta artificial sobre la biología de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Pyralidae). En: XX Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Cali. Resúmenes. p. 54
- _____ ; Gómez, L.A. 2000. Cría y producción masiva de insectos en un programa de control biológico en caña de azúcar. En: I Curso-Taller Internacional Control Biológico. Componente fundamental del manejo integrado de plagas en una agricultura sostenible. Bogotá, mayo. Memorias. p. 335-340.
- López de Pulido, C.; Lastra, L.A.; Gómez, L.A. 1994. Manejo de parásitos taquínidos en el Ingenio Manuelita. En: XXIV Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Medellín. Resúmenes. p. 27.
- Pastrana, C.E.; Gómez, L.A.; Zuluaga I. 1993. Ciclo de vida de *D. indigenella* bajo varios regímenes alimenticios. Revista Colombiana de Entomología. vol.19 (No.3): 101-107
- Trujillo, D.E.; Urbano, F.A.; Gómez, L.A. 1989a. Determinación del tamaño de larvas y número de crías de dos parasitoides para inoculación de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Pyralidae). En: XVI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Medellín, 25-28 de julio. Resúmenes. p. 54.

-
- Trujillo, D.E.; Urbano, F.A.; Gómez, L.A. 1989b. Efecto del uso de dietas artificiales sobre la cría de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) y sus parasitoides *Paratheresia claripalpis* y *Metagonistylum minense* (Diptera: Tachinidae). En: XVI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Medellín, 25-28 de julio. Resúmenes. p. 53.
- Urresti C., A.; Vivas B., L.; Lastra, L.A.; Gómez, L.A. 1995. Análisis de costos de producción de los taquinidos utilizados para el control de *Diatraea* spp. y estimación de sus beneficios. En: XXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). Bogotá, 26-28 de julio. Resúmenes. p. 80.

www.adpostal.gov.co

PBX
353 5666



Nuestros servicios

CORREO NORMAL - CORREO CERTIFICADO
POSTEXPRESS - EMS - CORRA EMPRESARIAL
SACAS M - NOTIEXPRESS - APARTADOS POSTALES

Subgerencia de Mercadeo: (1) 353 5686
E-mail: mercadeo@adpostal.gov.co
Sección Mercadeo Cali: (2) 881 0055

Atención al Cliente
(1) 357 8183
Fuera de Bogotá: 01800 0111210/ 0111313
E-mail: quejasdc@adpostal.gov.co

El Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia (Cenicaña) es una corporación privada sin ánimo de lucro, fundada en 1977 por iniciativa de la Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia (Asocaña) en representación de la agroindustria azucarera localizada en el valle del río Cauca.

Su misión es contribuir por medio de la investigación, evaluación y divulgación de tecnología y el suministro de servicios especializados al desarrollo de un sector eficiente y competitivo, de manera que éste juegue un papel importante en el mejoramiento socioeconómico y en la conservación de un ambiente productivo, agradable y sano en las zonas azucareras.

Cenicaña desarrolla programas de investigación en Variedades, Agronomía y Procesos de Fábrica, y cuenta con servicios de apoyo en Análisis Económico y Estadístico, Información y Documentación, Tecnología Informática, Cooperación Técnica y Transferencia de Tecnología. Presta servicios de análisis de laboratorio, administra las estaciones de la red meteorológica automatizada y mantiene actualizada la cartografía digital del área cultivada.

Sus recursos de financiación corresponden a donaciones directas realizadas por los ingenios azucareros Carmelita, Central Castilla, Central Tumaco, Incauca, La Cabaña, Manuelita, María Luisa, Mayagüez, Pichichí, Providencia, Riopaila, Risaralda, Sancarlos y Sicarare, y sus proveedores de caña. También adelanta proyectos cofinanciados por otras entidades, especialmente en el marco de programas coordinados por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas".

La Estación Experimental está ubicada en el corregimiento de San Antonio de los Caballeros (Florida, Valle del Cauca), donde se encuentran las oficinas de administración e investigación, la biblioteca, los invernaderos y los laboratorios. La Estación ocupa 62 hectáreas localizadas a 3°21' de latitud norte, 76°18' de longitud oeste y 1025 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media anual es de 23.3 °C, precipitación media anual de 1125 mm y humedad relativa de 79%.

Las investigaciones sobre el cultivo se realizan en la estación experimental y en predios de los ingenios azucareros y los cultivadores de caña. Las investigaciones de fábrica se llevan a cabo en plantas industriales consideradas como ingenios piloto.

CITA BIBLIOGRÁFICA

Lastra B., L.A.; Gómez L., L.A. . 2006. La cría de *Diatraea saccharalis* (F.) para la producción masiva de sus enemigos naturales. Cali, Cenicaña. 30 p. (Serie Técnica No. 36)