



## EFFECTO DE DIFERENTES DIETAS ARTIFICIALES SOBRE LA MORTALIDAD, NATALIDAD Y ALIMENTACIÓN DE *APHIS CRACCIVORA* (HOMOPTERA: APHIDIDAE)

<sup>1</sup>Edwin Domínguez, <sup>1,2</sup>Daniel Emmen y <sup>1,2</sup>Dora I. Quiros

Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología

<sup>1</sup>Laboratorio de Estudios Biológicos de Plagas Agrícolas (Edificio de Laboratorios Científicos Lab#. 116 –VIP-Universidad de Panamá). Tel.: 264-8441. <sup>2</sup>Departamento de Zoología.

E-mail:edwin\_dominguez@hotmail.com, demmen@cwpanama.net, dquros@cwpanama.net.

### RESUMEN

La alimentación y cría de áfidos en dietas líquidas ha sido probada por varios investigadores por más de 50 años. El uso de dietas artificiales ha hecho posible estudios sobre nutrición, comportamiento alimenticio e ingestión en insectos y actualmente es de mucha utilidad en la ejecución de bioensayos en estudios de bioprospección. *Aphis craccivora* es un áfido polífago que ataca muchas leguminosas de importancia económica tales como *Vigna unguiculata* en Panamá. El propósito de este trabajo fue observar la preferencia de *A. craccivora* hacia tres tipos de dietas: mínima, compleja y sacarosa 20% en relación con la mortalidad, alimentación y natalidad así como determinar qué efecto tiene el buffer TRIS sobre la dieta. Tanto las dietas como los insectos fueron colocados en microplatos de 96 pozos, separados por una membrana de parafilm y las observaciones se realizaron durante 72 horas haciendo registros cada 24 horas empezando en el tiempo cero. Los experimentos fueron repetidos varias veces a través del tiempo. Afidos alimentados con la dieta compleja con y sin TRIS exhibieron la mortalidad más baja y el porcentaje más alto de alimentación y de natalidad promedio. La presencia del buffer TRIS pareció optimizar la calidad de las dietas para *A. craccivora*. Además, los áfidos alimentados con dieta compleja con y sin TRIS presentaron el porcentaje más bajo de mortalidad a las 72 horas. Sin embargo, en las primeras 48 horas de observación, la mortalidad fue menor en los individuos alimentados con dieta mínima. Igualmente, *A. craccivora* alimentados con la dieta compleja con y sin TRIS, mostraron el promedio de natalidad más alto y la natalidad acumulada más alta después de las 24 horas. La presencia de TRIS en las dietas pareció reducir la mortalidad en *Aphis craccivora* y favorecer la alimentación y la natalidad de estos insectos, los cuales requisitos indispensables para obtener buenos controles en los bioensayos de biospección.

## **PALABRAS CLAVES**

Dieta artificial, *Aphis craccivora*, *Vigna unguiculata*, TRIS, microplato, polífago.

## **ABSTRACT**

Feeding and rearing of aphids with liquid diets has been tested by several scientists for more than 50 years. Artificial diets had made possible studies on nutrition, feeding behavior, and ingestion in insects and at the present time is specially useful when running bioassays for bioprospecting purposes. *Aphis craccivora* is a polyphagous aphid which feed on several legumes of economic importance such as *Vigna unguiculata* in Panama. The purpose of this research was to observe the effect of three types of artificial diets: minimal, complex and sucrose 20% on the mortality, feeding and natality of *A. craccivora* as well as to determine the effect of the buffer TRIS on the diets. Diets and insects were placed in 96 wells microplates. Aphids were separated from the diet by a parafilm membrane and data were collected every 24 hours during 72 hours beginning at time 0. Experiments were replicated several times over time. Aphids fed with complex diet with and without TRIS presented the lowest mortality and the highest feeding percentage and natality. Also aphids fed with complex diet with and without TRIS presented the lowest mortality percentage at 72 hours. However, during the first 48 hours the mortality was lower for individuals feeding on minimal diet. Likewise, *A. craccivora* fed with the complex diet with and without TRIS showed the highest feeding mean natality and accumulated natality after 24 hours. The presence of TRIS in the diets seemed to decrease the mortality of *A. craccivora* and affect positively the feeding and natality of these insects which are important requisites in the development of good controls in bioprospecting bioassays.

## **KEYWORDS**

Artificial diet, *Aphis craccivora*, *Vigna unguiculata*, TRIS, microplate, polyphagous.

## **INTRODUCCIÓN**

La alimentación y cría de áfidos en dietas líquidas artificiales ha sido probada por varios investigadores por más de 50 años (Mittler 1988). El uso de estas dietas ha hecho posible estudiar otros problemas relacionados a la nutrición como, por ejemplo, el comportamiento de alimentación, ingestión y formación de alas (Akey & Beck 1971). El uso de dietas artificiales en insectos fitosuctívoros (áfidos, mosca blanca, etc.), actualmente es de mucha utilidad en la ejecución de bioensayos de bioprospección.

En todos los casos en donde se han llevado estudios de alimentación en áfidos utilizando dietas artificiales, aunque la ingestión de pequeñas cantidades de líquido ha sido detectada por el uso de tintes, isótopos y diferencia de peso, los áfidos generalmente no pueden ser mantenidos vivos por más de una semana, y los registros de crecimiento son mínimos o nulos (Auclair 1965). Según Llewellyn & Leckstein (1978), tal vez no sea posible criar áfidos suministrándoles dietas similares en composición a la savia del floema, debido a factores de gran importancia como la estructura de la membrana, la presión hidrostática y la interrelación de la saliva del áfido y la composición del floema. Sin embargo, Auclair (1967), encontró que el áfido del algodón (*Aphis gossypii* Glover) puede ser criado y mantenido cerca de dos generaciones en dietas artificiales originalmente desarrolladas para el áfido del guisante (*Myzus persicae* Sulzer).

Walters et al. (1990), demostraron que el color, diferentes tipos de buffers, el pH y la resistencia iónica (en un menor grado), pueden tener un efecto significativo sobre la aceptación de una dieta artificial por el áfido de la papa, *Macrosiphum euphorbiae* Thomas.

La primera dieta artificial para criar áfidos fue desarrollada por Mittler & Dadd (1962) y consistía básicamente de una solución estéril de sacarosa, aminoácidos, vitaminas y minerales. Ligeras modificaciones de esta dieta han permitido criar diversas especies de áfidos por algunas generaciones (Walters et al., 1990). Varias especies de áfidos polípagos tales como *M. persicae*, *Acyrtosiphon pisum* (Harris), *M. euphorbiae*, *A. gossypii*, *A. fabae* (Scopoli), *A. rumicis* Linnaeus, *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, *Chaetosiphon fragaefolii* Cockerell, *Dysaphis plantaginea* (Passerini), *Macrosiphum avenae* (Fabricius), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *R. padi* (Linnaeus), *Neomyzus circumflexus* (Buckton), *Schizaphis graminum* (Rondani), y *Toxoptera aurantii* (Boyer), han sido exitosamente criados en dietas complejas (Singh 1977). Para algunas especies de áfidos tales como *A. craccivora*, existe poca documentación sobre su cría en dieta artificial. Por el momento sabemos que esta especie ha sido criada continuamente en una dieta artificial de sacarosa 15% (Krieger 1971).

El áfido negro de las leguminosas, *Aphis craccivora*, es una de las plagas más importantes del frijol (*Vigna unguiculata* (Linnaeus, Waspers) a nivel mundial y ha causado daños significativos en este cultivo en Latinoamérica (Jackai & Daoust 1986). En Panamá la plaga tiene una importancia no muy significativa en estos momentos, pero puede volverse severa y causar pérdidas en los cultivos de *Vigna* en épocas de sequía (Quiros 1988).

El propósito de este trabajo fue observar el efecto de tres tipos de dietas: mínima, compleja, sacarosa 20% y del Buffer TRIS en relación con la mortalidad, alimentación y natalidad de *A. craccivora* a través del tiempo con el fin de utilizar estos los resultados en estudios de bioprospección.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Cría de áfidos**

Las colonias de *A. craccivora* fueron desarrolladas en el laboratorio a partir de individuos colectados sobre plantas de frijol, *V. unguiculata* cultivadas, a su vez, en el invernadero del Laboratorio de Estudios Biológicos de Plagas Agrícolas de la Universidad de Panamá.

Para evitar la infestación prematura por áfidos, las plantas de *V. unguiculata* utilizadas como hospederos, se cultivaron a partir de semillas en potes con tierra fertilizada dentro de cajas colapsables de aluminio de 24" x 24" x 24" forradas con muselina para evitar la infestación prematura con áfidos y sus enemigos naturales. Plántulas de 16 a 18 días de edad fueron transferidas a otras cajas colapsables de aluminio con temperatura (26°C día y 23°C noche) y fotoperíodo controlados (18hL:6hO), para ser infestadas con *A. craccivora*.

### **Composición y preparación de las dietas**

Para este experimento se utilizaron tres tipos de dietas: a) dieta mínima con 30% de sacarosa (modificación de Walters et al., 1990), b) dieta compleja con una concentración de 30% de sacarosa (modificación de Dadd & Mittler 1966) y c) sacarosa 20%. Una vez ajustado el pH a 7.0, las dietas se filtraron al vacío en un filtro Nalgene® de 0.2 micrómetros. Con el fin de observar el efecto del buffer TRIS sobre la alimentación (o la mortalidad) de los áfidos, las tres dietas fueron

preparadas con y sin el buffer TRIS. Para preparar las dietas con el buffer TRIS (TRIZMA base o Hidroximetil-aminometano), se diluyó 3000 l de TRIS 25mM en 6000 l de cada dieta (dilución 1:3).

### Bioensayos

Los bioensayos se desarrollaron con 30 réplicas (ocho pozos u hoyos en microplatos de ELISA de 96 pozos) y dos repeticiones, para cada tipo de dieta artificial. Tanto las dietas como los insectos fueron colocados en microplatos de 96 pozos, separados por una membrana de parafilm. Se colocaron dos individuos del 4<sup>to</sup> instar o adultos por pozo. Se midieron tres variables de interés (en porcentaje): mortalidad, alimentación y natalidad. Las observaciones se realizaron durante 72 horas haciendo registros cada 24 horas a partir de las cero (0) horas y los platos se colocaron a una temperatura de 18°C y 59% H.R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de las dietas sobre la mortalidad

La menor mortalidad de áfidos fue observada en la dieta compleja con y sin TRIS, donde sólo 13.82% de los individuos habían muerto al cabo de 72 horas (Fig. 1).

La presencia de TRIS en las dietas mínima y compleja redujo el porcentaje de mortalidad a las 72 horas.

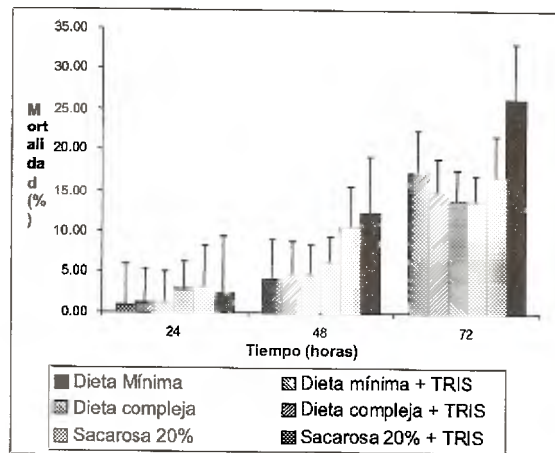


Fig. 1. Efecto de las dietas con y sin TRIS sobre la mortalidad en *A. craccivora*.

Se ha reportado que dietas complejas con 30–35% de sacarosa, mejoran la supervivencia de *A. gossypii* (Auclair 1967) y *A. pisum* (Auclair 1965). Shanks & Finnigan (1969), trabajando con *Chaetosiphon fragaefolii*, encontraron resultados similares utilizando una dieta compleja con sacarosa 20% en comparación con las dietas que contenía de 0–40% de sacarosa. Mittler & Dadd (1962, 1963), encontraron una mejor supervivencia de *M. persicae* en la dieta compleja que en las dietas con sacarosa 18-20%.

Según Mittler & Kleinjan (1970), el pH de la dieta es afectado por incrementos o decrementos en algún constituyente. Las dietas complejas, por su deterioro presumiblemente a través de la oxidación e interacción de algunos de sus constituyentes, necesitan ser renovadas en intervalos de 1–2 días, para obtener el óptimo funcionamiento de los áfidos (Mittler 1972; Mittler 1988). En nuestro estudio encontramos que la presencia de buffer en las dietas mantiene el pH estable, lo cual es más evidente a las 72 horas. Se observó que la dieta mínima sin TRIS causó una mortalidad más alta de áfidos que la sacarosa 20% con TRIS. A pesar de estas diferencias el análisis estadístico para evaluar las diferencias entre las medias de ambos tratamientos no indicó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

#### **Efecto de las dietas sobre la alimentación**

A las 72 horas, el porcentaje más alto de individuos alimentándose fue observado en la dieta compleja sin TRIS. Porcentajes ligeramente menores se observaron en la dieta mínima a las 72 horas. En términos generales podemos observar un descenso en el porcentaje de individuos alimentándose a partir de las 24 horas en todas las dietas (Fig. 2).

Estudios preliminares indican que las dietas complejas proveen una buena fuente de alimentación y promueven la alimentación de diferentes especies de áfidos (Cartier 1968; Krieger 1971; Srivastava & Auclair 1971; Arn & Cleere 1971).

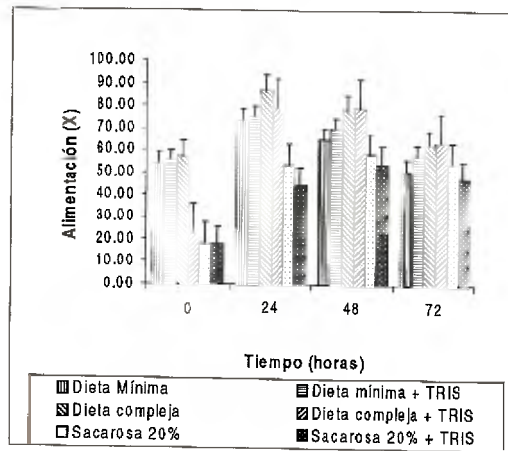


Fig. 2. Efecto de las dietas con y sin TRIS sobre la alimentación en *A. craccivora*.

### Efecto de las dietas sobre la natalidad

Las dietas complejas con y sin TRIS presentaron el pico más alto de nacimientos a las 24, 48 y 72 horas. La dieta mínima presentó el segundo mejor pico de nacimientos a las 24 horas aunque también fue decreciendo en los períodos subsiguientes (Fig. 3). Es importante contrastar el efecto de la sacarosa 20% con y sin TRIS donde la natalidad se incrementó a partir de las 24 horas.

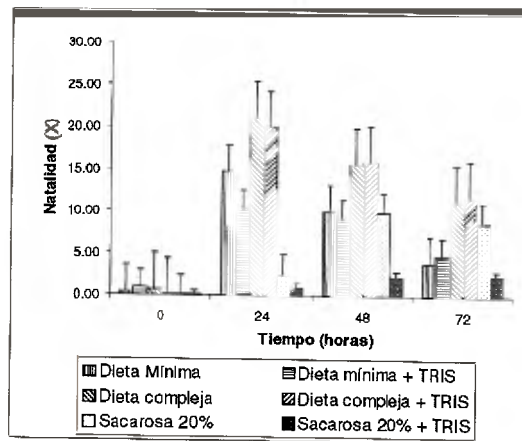


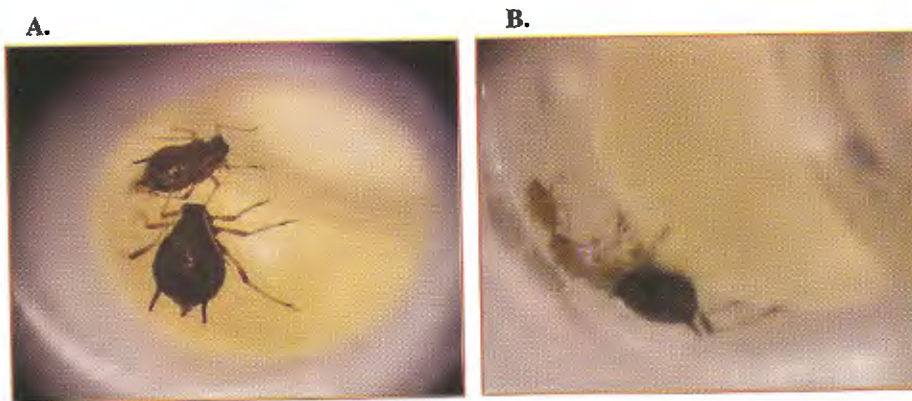
Fig. 3. Efecto de las dietas con y sin TRIS sobre la natalidad diaria en *A. craccivora*.

La natalidad acumulada de *A. craccivora* por hora fue mayor en la dieta compleja sin TRIS a las 72 horas (48.65 individuos), mientras que esta misma dieta con TRIS presentó un promedio ligeramente menor con 47.90 individuos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de las dietas con y sin TRIS sobre la natalidad acumulada promedio en *A. craccivora* en 72 horas.

Dietas Artificiales	Natalidad acumulada en horas			
	0hrs	24hrs	48hrs	72hrs
n = 60				
Dieta Mínima	0.43	15.20	25.22	29.17
Dieta mínima+ TRIS	0.92	11.35	20.63	25.47
Dieta compleja	0.67	21.83	37.43	48.65
Dieta compleja +TRIS	0.08	20.10	36.08	47.90
Sacarosa 20%	0.05	2.57	12.48	21.20
Sacarosa 20% + TRIS	0.05	0.93	3.27	5.73

Estos resultados parecen indicar que las dietas complejas brindan una mejor fuente de recursos nutricionales a los áfidos lo cual incide directamente en la reproducción. Se ha encontrado en otros estudios que la natalidad de *M. persicae* es más alta en la dieta compleja que en dietas de sacarosa 20%. Estos hallazgos indican que la natalidad no sólo depende de la cantidad de líquido ingerido sino de su composición (Mittler & Dadd 1965). Es por ello que en nuestro trabajo encontramos un promedio mas alto de individuos nacidos en las dietas complejas que en aquellas que sólo contenían sacarosa 20% y agua (Fig. 4).





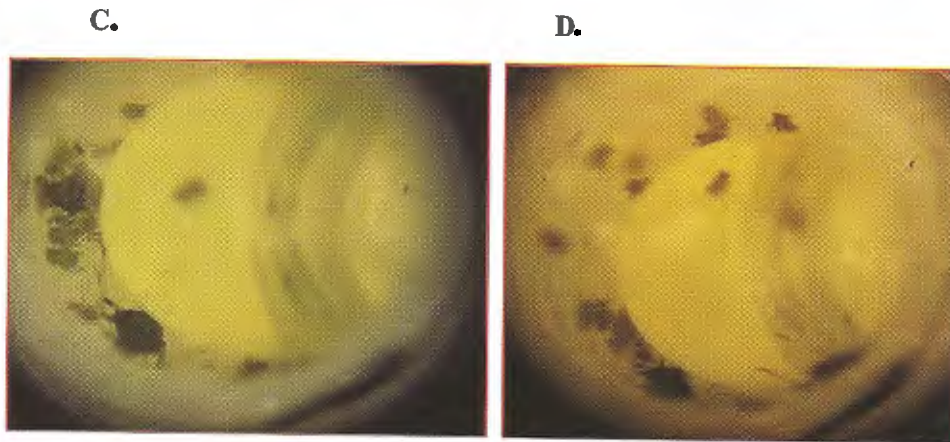


Fig. 4. Secuencia de nacimientos de *A. craccivora* en un pozo de microplato conteniendo dieta compleja sin TRIS. A: 0 horas, B: 24 horas, C: 48 horas, D: 72 horas.

Mittler & Dadd (1962, 1963), encontraron en la dieta compleja, el número más alto de ninfas nacidas por adulto de *M. persicae*, mientras el número mas bajo se observó en la sacarosa 18%. Krieger (1971), encontró que *A. craccivora* se puede criar mejor en dieta con sacarosa al 15%. Auclair (1967), reportó que *A. gossypii* produjo más progenie en dietas complejas con sacarosa 30-35% que aquellas que nacieron en dietas con menor concentración de sacarosa.

Es interesante señalar que Akey & Beck (1971), criaron *A. pisum* en una dieta compleja por varias generaciones y encontraron que la producción de progenie por día fue más alta para la primera generación. Según estos autores, este valor refleja probablemente el efecto derivado de una alimentación a partir de los nutrientes de los progenitores que fueron criados directamente sobre las plantas hospederas. En nuestro estudio, los experimentos se realizaron con áfidos colectados directamente de la planta hospedera y no de aquellos criados en dieta artificial. Estas observaciones pueden explicar por qué se originaron los picos más altos de natalidad en las primeras 24 horas del estudio (Fig. 3).

## CONCLUSIONES

*Aphis craccivora*, alimentados con dietas complejas con y sin TRIS, presentaron la mortalidad más baja. Además un porcentaje alto de individuos se observó alimentándose durante todos los períodos de observación. La natalidad promedio y acumulada fue más alta cuando fueron alimentados con las dietas complejas con y sin TRIS. Estos resultados apoyan la idea de que *A. craccivora* y quizá otras especies de insectos fitosuctívoros, pueden ser alimentados con esta dieta cuando se llevan a cabo estudios de bioprospección. El porcentaje de alimentación y natalidad diaria de *A. craccivora* fue más alta a las 24 horas. El buffer TRIS parece optimizar la calidad de las dietas complejas a través del tiempo y probablemente por esta razón, se observaron mejores resultados de mortalidad, alimentación y natalidad a las 72 horas.

## REFERENCIAS

Akey, D. H. & S.D. Beck. 1971. Continuous rearing of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, on a holidic diet. *Ann. Ent. Soc. Am.* 64: 353-356.

Am, H. & J.S. Cleere. 1971. A double – label choice – test for the simultaneous determination of diet preference and ingestion by the aphid *Amphoroiphora agathonica*. *Entomol. Exp. Appl.*, 14: 377-387.

Auclair, J.L. 1965. Feeding and nutrition of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae), on chemically defined diets of various pH and nutrient levels. *Ann. Ent. Soc. Am.* 58:855-875.

\_\_\_\_\_ 1967. Effects of pH and sucrose on rearing the cotton aphid, *Aphis gossypii*, on a germ – free and holidic diet. *J. Insect Physiol.* 13:431-446.

Cartier, J.J. 1968. Factors of host plant specificity and artificial diets. *Bull. Ent. Soc. Am.* 14:18-21.

Dadd, R.H. & T. E. Mittler. 1966. Permanent culture of an aphid on a totally synthetic diet. *Experientia*, 22: 832.

Jackai, L.E.N. & R. A. Daoust. 1986. Insect pests of cowpeas. *Ann. Rev. Entomol.* 31: 95-119.

Krieger, D.L. 1971. Rearing several aphid species on synthetic diet. *Ann. Ent. Soc. Am.* 64: 1176-1177.

Llewellyn, M. & P.M. Leckstein. 1978. A comparison of energy budgets and growth efficiency for *Aphis fabae* Scop. Reared on synthetic diets with aphid reared on broad beans. *Entomol. Exp. Appl.*, 23:66-71.

Mittler, T.E. 1972. Interactions between dietary components. In: J.E. Rodríguez (Editor). *Insect and Mite Nutrition*. Elsevier – North Holland, Amsterdam, pp. 211-223.

\_\_\_\_\_. 1988. Applications of artificial feeding techniques for aphids. In: A.K. Minks & P. Harrewijn (eds). *Aphids, Their Biology Natural Enemies and Control*. Vol. C. Elsevier, Amsterdam, pp. 145-170.

Mittler, T.E. & R.H. Dadd. 1962. Artificial feeding and rearing of the aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), on a completely defined synthetic diet. *Nature, Lond.* 195-404.

\_\_\_\_\_. 1963. Studies on the artificial feeding of the aphid *Myzus persicae* (Sulz).-II. Relative survival, development, and larviposition on different diets. *J. Insect. Physiol.* 9:741-757.

\_\_\_\_\_. 1965. Assimilation by apterous adult *Myzus persicae* maintained on a synthetic diet. *Ann. Ent. Soc. Am.* 58:396-401.

Mittler, T.E. & J.E. Kleinjan. 1970. Effects of artificial diet composition on win – production by the aphid *Myzus persicae*. *J. Insect. Physiol.* 16: 833-850.

Quiros, D.I. 1988. Áfidos (Homoptera: Aphididae) de Panamá. Tesis Maestría en Entomología. Universidad de Panamá. 318 pp.

Shanks, C. H. Jr. & B.F. Finnigan. 1969. Behaviour, survival, and reproduction of the strawberry aphid on holidic diets and host and nonhost plants. *Ann. Ent. Soc. Am.* 62: 1490-2.

Singh, P. 1977. *Artificial Diets for Insects Mites, and Spiders*. IFI/Plenum Data Company, New York. 594 pp.

Srivastava, P.N. & J.L. Auclair. 1971. Influence of sucrose concentration on diet uptake and performance by the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 64: 739-743.

Walters, F.S., C.A. Mullin, C. Donaghy & E.M. Reeves. 1990. Interactions of Color, pH, Buffer Salts, and Ionic Strength in a Simple Feeding Bioassay for the Potato Aphid (Homoptera: Aphididae). *Ann. Ent. Soc. Am.* 83 (2): 246-250.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Proyecto ICBG (Grupo Cooperativo Internacional para Estudios de la Biodiversidad) por el apoyo parcial (suministro de reactivos) para la ejecución de esta investigación. También queremos agradecer a Alex Aguilar, estudiante de tesis de la Licenciatura en Biología y becario en el Laboratorio de Estudios Biológicos de Plagas Agrícolas (LEBIOPA), por la asistencia brindada durante la ejecución de la parte experimental de este trabajo.

*Recibido diciembre de 2003, aceptado septiembre de 2004.*

