



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

PROPUESTA DE UNA DIETA ARTIFICIAL PARA
Chlosyne ehrenbergii (Lepidoptera: Nymphalidae).

T E S I S I N A
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
BERNY ARELLANO MAX JONATHAN



DIRECTOR:

M. EN C. SERGIO G. STANFORD CAMARGO
TLALNEPANTLA DE BAZ AGOSTO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

A mis padres por todo su apoyo incondicional y haberme alentado para llegar finalmente a esta etapa tan importante.

A mis hermanos que han estado conmigo en muchos buenos y malos momentos de mi vida y ser uno de mis principales motivos para seguir adelante.

A todos y cada uno de mis familiares más cercanos que no necesito nombrar por que ellos saben quienes son y que influyeron para este logro el cual comparto con ustedes.

A todas las personas en mi vida, por la amistad y por todo este tiempo compartiendo grandes experiencias.

“La vida no es la que uno vivió, sino la que uno recuerda y como la recuerda para contarla”

Gabriel García Márquez.

Agradecimientos.

Al M. en C. Sergio Stanford, por su tiempo, paciencia, enseñanzas, consejos, también por sus regaños, además de su apoyo y por creer en la realización de este proyecto. Muchas Gracias Profesor.

A la Biól. Marcela Ibarra, por compartir sus conocimientos para elaborar este trabajo, por el mejor humor y también por haber sido una parte muy importante en mi formación profesional.

Al M. en C. Jorge Padilla, a los Biólogos Luis Páez y Saharay Cruz, por compartir sus conocimientos, su tiempo y por todos sus consejos.

Al Ing. Jorge Víquez y al Biól. Valentín Moreno, por el espacio para complementar y enriquecer el presente escrito.

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Objetivos	4
4. Metodología	5
5. Capítulo I	
5.1 Descripción de la Familia Nymphalidae.....	6
5.2 Descripción de <i>Chlosyne ehrenbergii</i>	8
6. Capítulo II	
6.1 Planta nutricia de las larvas de <i>C. ehrenbergii</i>	10
6.2 Metabolismo secundario de las fanerógamas.....	13
6.3 Análisis bromatológicos de tres especies del género <i>Buddleia</i> sp.....	20
7. Capítulo III	
7.1 Tipos de dieta.....	22
7.2 Aspectos fisiológicos y nutricionales en la alimentación de los lepidópteros.....	23
8. Capítulo IV	
8.1 Propuesta para la dieta de <i>C. ehrenbergii</i>	45
9. Conclusiones	53
10. Literatura citada	54
11. Anexo A: Manejo de la dieta para los organismos	60
12. Anexo B: Importancia de los terpenos, alcaloides y flavonoides para los lepidópteros	62
13. Anexo C: La coloración en los lepidópteros	63
14. Anexo D: Fórmulas para medir la eficiencia de una dieta artificial	64

1. Resumen

Los insectos pertenecen al Phylum Arthropoda, que representa la culminación del desarrollo evolutivo en las formas terrestres, siendo un grupo notable, no sólo por su diversidad de especies, sino también por la gran cantidad de individuos que las integran, los lepidópteros constituyen uno de los órdenes más numerosos e importantes para el hombre y la comunidad donde viven, al ser eficientes polinizadores y también plagas de especies vegetales de las que depende la existencia de muchos organismos. Tomando en cuenta el valor ecológico, científico y comercial que representa este grupo, es necesario para su estudio la recolección de ejemplares en diferentes etapas de desarrollo para su manejo y cultivo, sin poner en peligro la existencia de sus poblaciones en su medio, igualmente conociendo la biología de estos organismos que pueden ser liberados en espacios donde se desarrollen adecuadamente. Para el caso de la mariposa *Chlosyne ehrenbergii* Geyer, 1833 se propuso una dieta artificial, como alternativa a sus plantas nutricias (*Buddleia* spp.), para su producción en cautiverio y que permita alimentar a un mayor número de larvas. Se propuso una dieta artificial a partir de una mezcla de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y sales minerales, que han sido utilizadas con éxito para otras especies de lepidópteros, incluyendo a *Chlosyne laicinia*, *Junonia coenia* y *Vanesa cardui* (Lepidoptera: Nymphalidae), que se complementa con hojas secas molidas, que pueden almacenarse hasta por 6 meses y que además contienen taninos, terpenos alcaloides y flavonoides presentes en tres especies de tepozán, además de los siguientes antimicrobiales: Ácido sorbico, formaldehído al 10%, ácido acético al 25% y metilparabeno. Todo ello con la finalidad de proporcionar los compuestos necesarios para lograr un adecuado desarrollo y mantenimiento de estos organismos en condiciones de cultivo.

2. Introducción

En México se daba poca importancia al conocimiento de la biología de los lepidópteros (De la Maza y De la Maza, 1987), insectos de gran valor ecológico, científico y comercial; ya que para su estudio se requiere contar con información, tanto de la planta con que se alimentan, como de cada una de las fases de su desarrollo hasta llegar al estado adulto; siendo importante la recolección de huevecillos junto con muestras de la planta en que se hallen para que ahí continúen su desarrollo en condiciones controladas. Para el cultivo de éstos insectos, es factible conservar un pie de cría, con mariposas vigorosas, activas, sanas y de buen tamaño de acuerdo a la especie, protegiéndolas en espacios parecidos a su ambiente natural donde puedan ejercitarse, cuenten con fuentes de energía, sitios de descanso, apareamiento y oviposición (Singh y Moore, 1985 y Jiménez, 1987).

Los registros durante la producción de mariposas, deben respaldarse con las notas obtenidas de los cambios e intervalos en su ciclo de vida, acompañadas de fotografías de todas las fases su desarrollo. Es durante el estadio larvario, donde se facilita el cultivo y mantenimiento de los individuos, por lo que las dietas artificiales constituyen una fuente de alimento siempre disponible que puede ser suministrada en todo momento; que además es independiente a la posibilidad de contar siempre con hojas en buen estado, tanto frescas como refrigeradas de la planta nutricia, especialmente cuando se está realizando una producción continua de individuos en cualquier cantidad; asimismo, suministrarlas permite realizar estudios sobre la biología de los lepidópteros y facilitan el registro de los efectos producidos por la ausencia o exceso de algún compuesto o nutrimento en particular (Nation, 2002; Singh y Moore, 1985 y Bursell, 1974); también se aplican en la producción masiva con fines comerciales, como por ejemplo, la obtención de la seda de las larvas de *Bombix mori* y la de algunos satúrnidos (Jiménez, *op. cit.*).

El cultivo masivo de insectos mediante dietas artificiales y su efectividad (Anexo D), tiene aplicaciones que van desde programas de control de plagas (Nation, 2002), la producción de parasitoides, depredadores, patógenos, señuelos de distintos tipos que pueden estar contenidos en trampas, feromonas y hormonas, así como producción de machos estériles para programas de liberación en campos de cultivo. Otro aspecto en la producción de insectos mediante estas dietas, es la producción de fuentes de alimento económica para animales en zoológicos y aves de corral. Además ayudan en programas de conservación de especies amenazadas, al liberar organismos en su entorno natural (Singh, 1982).

Los ejemplares que llegan al final de su ciclo de vida, tanto los que logran

conservarse íntegros, como los incompletos, se pueden emplear para actividades didácticas para la enseñanza y docencia (De la Maza y De la Maza, 1993), o bien pueden comercializarse a investigadores, coleccionistas y aficionados como elementos de estudio, ornato y artesanal, sin poner en peligro la existencia de las especies en los lugares de donde son originarias; lo cual puede reforzarse mediante la aplicación de programas de liberación de especies amenazadas en sus zonas de distribución dentro de ambientes en los que puedan sobrevivir y reproducirse (Jiménez, 1987).

Tomando en cuenta el valor agregado de los lepidópteros adultos como importantes polinizadores, y con el cultivo en cautiverio también se favorece la conservación de diversas especies de plantas, muchas de las cuales son endémicas de nuestro país (Beutelspacher, 1972).

Los espacios para el cultivo y/o producción de mariposas, no sólo pueden estar enfocadas al mantenimiento-cultivo de las familias y especies mas abundantes o las mas cotizadas (Jiménez, *op. cit.*); sino también de aquellas que presentan coloraciones que puedan ser una atracción visual, como es el caso de la mariposa *Chlosyne ehrenbergii*.

3. Objetivos

Objetivo general:

- Proponer la formulación de una dieta artificial para *Chlosyne ehrenbergii*.

Objetivos particulares:

- Conocer las especies de *Buddleia* como plantas nutricias para las larvas de *Chlosyne ehrenbergii*.
- Documentar bibliográficamente los resultados de análisis bromatológicos realizados en 3 especies del género *Buddleia*.
- Explicar los aspectos metabólicos representativos para la alimentación de las larvas de lepidópteros.
- Proponer una dieta artificial para las larvas de *C. ehrenbergii*.

4. Metodología

Se realizó una investigación, para la comprensión, la descripción, ciclo de vida y nutrición del Orden Lepidoptera, asimismo se revisaron documentos relacionados con su cultivo y mantenimiento en laboratorio (Rubí, 2009; Bautista *et al.*, 1994; Jiménez, 1987; De la Maza y De la Maza, 1987), así como dietas artificiales de estos insectos (Rosas y Villegas, 2008; Andow y Stodola, 2000; Ellis y Bowers, 1998; Adkisson *et al.*, 1960 y Drumont III *et al.*, 1970) con énfasis en la Familia Nymphalidae; su descripción, incluyendo a *Chlosyne ehrenbergii*.

Se buscó una composición de vitaminas y sales basada en los requerimientos específicos para insectos, adaptando esta información para *C. ehrenbergii*, de acuerdo a la literatura (MP Biomedicals, 2006; Sigma Aldrich, 2006; Nation, 2002; Andow y Stodola, 2000; Adkisson *et al.*, 1960; Singh, 1982), complementado con datos sobre la química de tres especies de plantas nutricias aprovechadas por las larvas de dicha especie de mariposa que son *Buddleia cordata*, *B. americana* y *B. parviflora* (Navarro, 2001; Avedaño, 1996, Partida, 1990 y Cruz, 1931).

Se desarrolló como resultado, una formulación o composición final de una dieta artificial propuesta para la mariposa *C. ehrenbergii*, con base al procedimiento de preparación y suministro a las larvas reportado por Rosas y Villegas (2008); proponiendo así, un método, que contribuya al conocimiento sobre el cultivo y mantenimiento de esta especie.

A partir de la información y datos que se obtuvieron durante la investigación, se muestra la importancia de los componentes de la dieta artificial, incluyendo los terpenos, alcaloides y flavonoides (Soares *et al.*, 2009; Peñuelas *et al.*, 2006; Schulz *et al.*, 2004 y Burghardt *et al.*, 2000), suministrados mediante hoja en polvo de una especie de tepozán en una misma dieta artificial (Ellis y Bowers, 1998) con base en las proporciones de los metabolitos secundarios presentes en esta planta (Cruz, 1931) para las larvas de *C. ehrenbergii* que se han reportado para el cultivo de otras especies de la Familia Nymphalidae.

5. Capítulo I

5.1 Descripción de la Familia Nymphalidae

Constituye una de las más grandes y diversas de las mariposas mexicanas, ya que se conocen 200 especies, distribuidas en todo el territorio, desde la selva perennifolia en el sur, el bosque de pino en el centro, hasta el matorral xerófilo del norte (De la Maza y De la Maza, 1987). En todo el mundo, comprende más de 5,000 especies, de tamaños variables, donde se tiene por ejemplo, a la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) con una envergadura alar de 7.5 a 10 cm, así como a *Coenonympha inornata* con una envergadura alar de 2.5 - 4.5 cm.

Los lepidópteros como el resto de los insectos presentan tres pares de apéndices unidos al tórax y el carácter más importante que separa a esta Familia de otras mariposas es su par anterior, que por estar generalmente atrofiado, pierde su función locomotora; los machos suelen tener éstos cubiertos de densos mechones de escamas (Carter, 1992).

Las alas también unidas al tórax, mediante un conjunto de placas conocido como *pteralia*, que permite que el ala anterior se acople a la posterior, dando como resultado el aleteo simultáneo de los dos pares en cada lado (Beutelspacher, 1972). La forma de las mismas, en la mayoría de los *taxa*, varía en los bordes, algunos son muy irregulares, como se ha observado en *Poligona* y *Nymphalis*; otros ninfálidos presentan proyecciones “caudales” como es el caso de *Marpesia* e *Hypanartia*. Los colores de las alas en vista dorsal son muy variables, algunos de los cuales son muy llamativos, en combinaciones de rojo, morado, azul, amarillo, negro y anaranjado, en géneros como *Catonephele*, *Epiphile*, *Eunica*, *Callicore* y *Myscellia*; en vista ventral por lo general en ambas se presenta una coloración generalmente críptica en diferentes tonalidades de café.

Algunos otros géneros presentan una marcada diferencia en el color de las alas, dado el dimorfismo sexual existente, teniendo como ejemplo a *Catonephele*, *Epiphile*, *Dynamine* y *Myscellia*.

La venación alar que presenta la célula discal, es de tipo abierto en ambas alas, como se observa en *Marpesia*, *Nymphalis* y *Diaethria*; o sólo en la posterior en el caso de *Myscellia* y *Chlosyne*; o puede ser de tipo cerrado de forma vestigial en el ala posterior como en *Hamadryas* y *Epiphile*.

Los huevecillos presentan diferentes variantes sobre una forma oval y son generalmente depositados debajo de las hojas en grupos o en series de 6 a 9 unidades en columnas verticales, como en el caso del género *Polygonia*.

Las larvas son lisas o también pueden presentar espinas y sedas gruesas, la mayoría muestran ornamentaciones en la cápsula cefálica a manera de cuernos, como en los géneros *Diaethria* y *Cyclogramma*.

Se ha observado que las larvas de varias especies se alimentan de diferentes grupos de plantas: *Precis* de las crasuláceas; *Catonephele*, *Myscelia* y *Hamadryas* de las euforbiáceas; *Marpesia* de las moráceas; *Cynthia* y *Nymphalis* de las urticáceas; *Polygonia* de las ulmáceas; así como *Pyrrhogira*, *Themenis* y *Epiphile* de las compuestas y sapindáceas (De la Maza y De la Maza, 1987).

Las crisálidas son colgantes, de formas angulosas o provistas de pequeñas protuberancias (Beutelspacher, 1972), presentan diferentes tipos de proyecciones según el género: espinas dorsales en *Polygonia*, *Nymphalis*, *Cynthia*; o apéndices anteriores en *Hamadryas*. Son de color generalmente críptico (café o verdoso), aunque existen también de apariencia metálica como en el caso del género *Adelpha*. Éstas se fijan a las hojas o ramas por la parte posterior con la cabeza hacia abajo, por medio de una estructura llamada cremáster.

Los adultos presentan diversos tipos de vuelo, desde el débil y lento de *Chlosyne* hasta el vigoroso y rápido de *Historis*, pero el más característico es el que consiste en un aleteo y un planeo intermitentes como en los géneros *Hamadryas*, *Myscelia*, *Limenetis*, *Adelpha* y *Anthanasea*.

Chlosyne, *Myscelia*, *Siproeta*, *Biblis* y *Marpesia*, habitan frecuentemente en terrenos abiertos con abundantes flores y humedales donde pueden alimentarse; *Callicore*, *Historis*, *Colobura*, *Nessaea*, *Catonephele* prefieren las zonas forestadas, aprovechando el líquido de las frutas en descomposición, de las secreciones de árboles, así como de las excretas de los mamíferos.

Dentro de esta Familia se encuentra el único grupo de mariposas que emite algún tipo de sonido, el género *Hamadryas*. Según algunos investigadores, lo producen con la base del ala (De la Maza y De la Maza, *op. cit.*).

5.2 Descripción de *Chlosyne ehrenbergii*

Es una mariposa de color pardo muy oscuro, con marcas lineales curvas paralelas de colores claros distribuidas transversalmente en las alas anteriores y posteriores; mide aproximadamente 4.8 cm de envergadura alar (De la Maza y De la Maza, 1987).

Rubí (2009) reportó un promedio para el ciclo biológico (Figura 1) de este lepidóptero de 94 días y durante este periodo registró la duración de cada fase que fue de 22 días para el huevecillo, 43 en etapa larvaria con 5 estadios, 15 como pupa y 14 del adulto (Figura 2).

La ubicación taxonómica de *Chlosyne ehrenbergii* reportada por De la Maza y De la Maza (1987) y Rubí (2009) es la siguiente:

Superfamilia Nymphaloidea Swainson (1827)

Familia Nymphalidae Swainson (1827)

Subfamilia Melitaeinae Newman (1869)

Tribu Melitaeini

Género *Chlosyne*

Especie *C. ehrenbergii* Geyer (1833)

La especie anteriormente fue reportada por Warman (1996) como *Anemeca ehrenbergii* y por Beutelspacher (1972) como *Morpheis ehrenbergii*.

De la Maza y De la Maza (1987), así como Beutelspacher (1972), mencionan que la planta nutricia de *C. ehrenbergii* es el "Tepozán", planta de la Familia Loganiaceae, que corresponde al género *Buddleia* (Sharma, 2009). Se ha observado que las larvas de este lepidóptero pueden alimentarse de las hojas de tres especies: *B. cordata*, *B. americana* y *B. parviflora* las cuales son descritas en los trabajos de Navarro (2001); Avedaño (1996) y Cruz (1931).

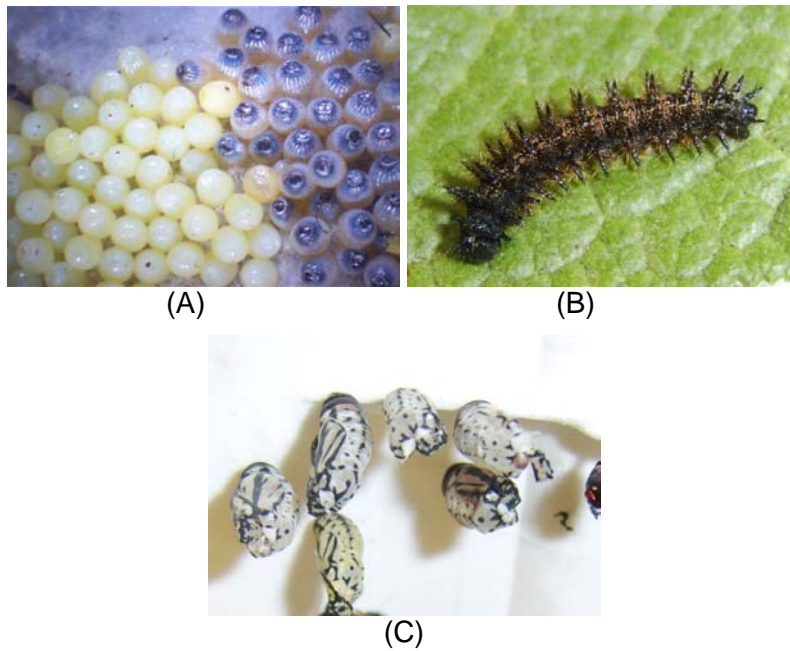


Figura 1. Formas inmaduras de *C. ehrenbergii* (Rubí, 2009); (A) huevecillo, (B) larva y (C) pupa.

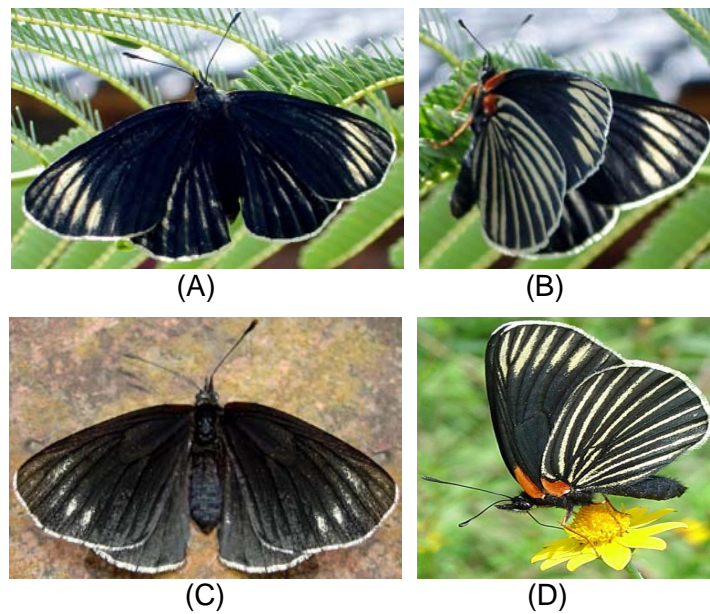


Figura 2. Adultos de *Chlosyne ehrenbergii* (Warren *et al.*, 2006); (A) y (B) Vista superior y lateral de un macho, (C) y (D) vista superior y vista lateral de una hembra.

6. Capítulo II

6.1 Planta nutricia de las larvas de *C. ehrenbergii*

La planta de la que se alimentan las larvas de esta especie, es el tepozán, pertenece a la División Magnoliopsida (Sharma, 2009), del género *Buddleia*, de distribución pantropical, con 20 especies en la República Mexicana y cinco en la cuenca de México (Navarro, 2001; Avedaño, 1996; Partida, 1990 y Cruz, 1931), tres de las cuales, son aprovechadas como planta nutricia por la mariposa *C. ehrenbergii* y que se describen a continuación:

Buddleia cordata H. B. K. (Figura 3), es un árbol pequeño o arbusto de cuatro a ocho metros de altura, generalmente perennifolio, leñoso, de raíces herbáceas, por regla general tomentosas y casi siempre con estipulas reducidas a una línea interfloral, flores pequeñas de cáliz acampanado, corola de cuatro lóbulos ovados y abierta en la antésis; estambres fijos en el tubo corolino o en su garganta, con anteras subsésiles, ovadas u oblongas, de base bilocada; estilo frecuentemente curvo; óvulos pluriseriados, cápsula bivalva y septicida, de semillas numerosas provistas de un embrión recto. Las hojas son de forma elíptica, miden de 10 a 16 centímetros de largo, presentan abundantes tricomas, vistas por el envés y tienen un color blanco plateado. Los nombres comunes que recibe son: Tepozán, zompantle o salvia silvestre. Los indígenas que habitan la zona centro del país la llaman Zoyolizcan o Coyalizan (Navarro, 2001). Se encuentra ampliamente distribuida en el Valle de México, en matorrales, pastizales y bosques, pero preferentemente en la vegetación secundaria y en lugares intensamente perturbados, incluyendo zonas urbanas; también se encuentra distribuye en el norte, desde Chihuahua a Tamaulipas y hacia el sur en Guatemala (Avedaño, 1996).

Entre los arbustos de menor tamaño y subarbustos que comúnmente pueden observarse en los zacatales se encuentra el tepozán, esto se observa con mayor frecuencia al noroeste de Jalisco. Es frecuente encontrarla en vegetación secundaria del bosque de *Quercus* spp. y del bosque de coníferas. Es común en el Valle de México y lugares con clima semejante. Se distribuye en el Estado de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Veracruz, Tamaulipas, Chiapas, Oaxaca, Guerrero y Michoacán Esta especie se divide en dos subespecies, de las cuales sólo la típica habita en el Valle de México que es *B. cordata cordata* (Navarro,2001).



Figura 3. *Buddleia cordata* (Universum, 2010).

Buddleia americana L. (Figura 4), también recibe el nombre común de tepozán, es un arbusto de tres a cinco metros de altura aproximadamente, con ramas obtuso tetrágonas, cubiertas por una regular abundancia de tomento subcanescente formado de tricomas estrellados y glandulosos; las hojas presentan una distribución opuesto cruzadas, miden de ocho a dieciséis centímetros de longitud y de cinco a siete centímetros de anchura; las hojas son aovadas, elípticas u oblongas, sub-coriáceas, acuminadas en la base, decurrentes con un pecíolo más o menos largo, subcrenado, acerradas, superiormente pubescentes. Las inflorescencias son terminales distribuidas en panículas, con cáliz gamosépalo de cuatro divisiones, corola densamente tomentosa y el limbo horizontalmente abierto en cuatro divisiones acuminadas; estambres cuatro, cortos y alternantes con las divisiones corolinas; gineceo súpero bicarpelar, bilocular y con óvulos numerosos en los ángulos internos de cada celdilla; y estilo corto con el estigma ovoide. El fruto es una cápsula de cuatro a cinco milímetros rodeada por el cáliz, que septisiadamente se abre en dos valvas, contiene semillas muy pequeñas, con el embrión encerrado en el endospermio (Cruz, 1931).

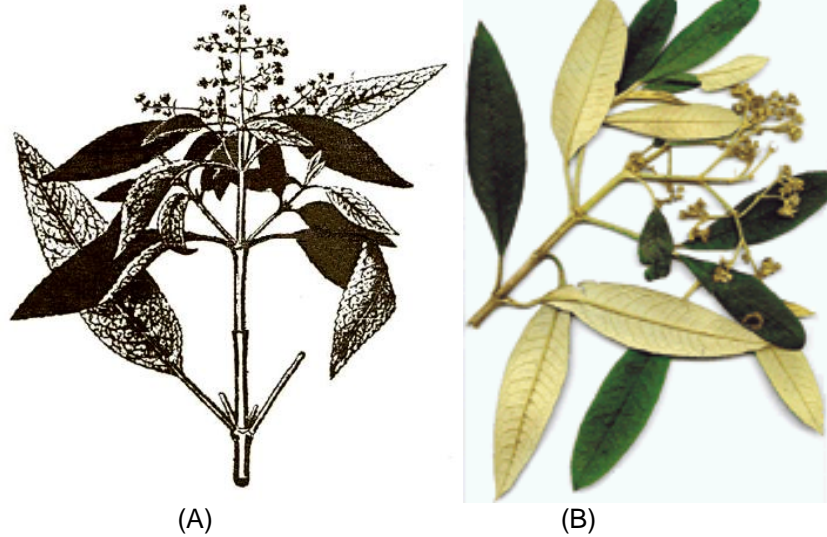


Figura 4. *Buddleia americana*; A Dibujo (Cruz, 1931) y B muestra herborizada (Secretaria Distrital del Ambiente, 2006).

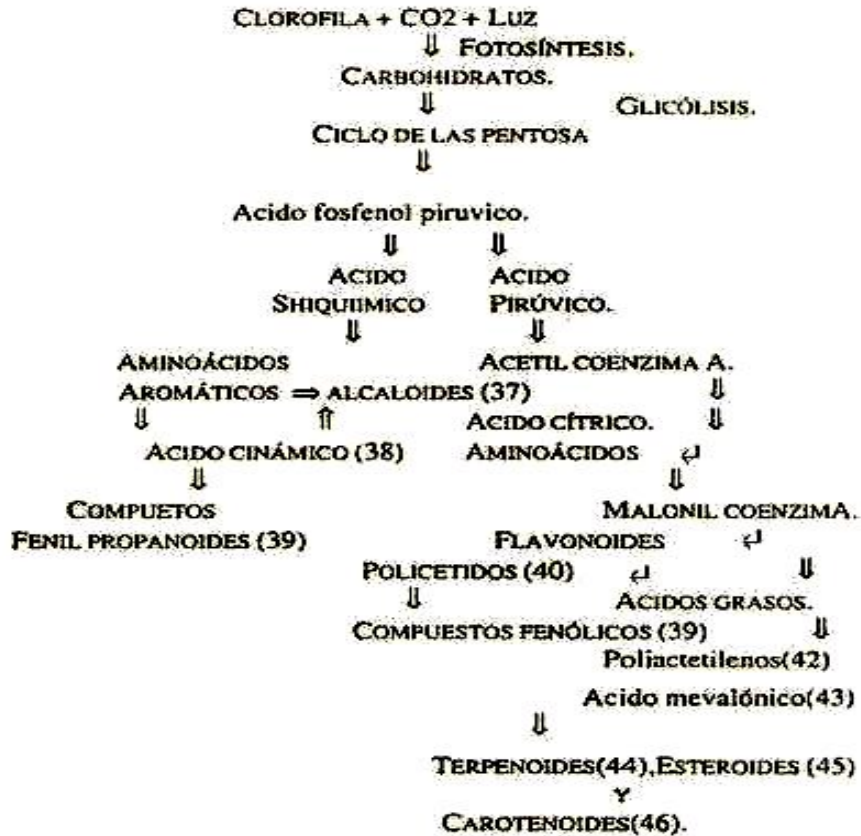
Buddleia parviflora H. B. K. (Figura 5), conocida como tepozán cimarrón y de cerro, es un árbol pequeño de uno a siete metros de altura, dioico, con corteza oscura y rasposa, presenta ramas pubescentes hojas con líneas estipulares conspicuas, subsésiles o con pecíolos de uno a nueve metros de largo, limbos lanceolados, oblanceolados, ovados, obovados o elípticos, de 0.5 a 9 centímetros de largo por 0.1 a 3 cm de ancho, con ápice agudo acuminado, margen entero, serrado, irregularmente serrado, serrulado o en ocasiones dentado, base atenuada o cuneada, la venación es muy prominente en el envés, textura papiracea, pubescencia formada por tricomas estrellados, muy densa en el envés, de color gris claro; inflorescencia paniculada, terminal de 1.5 a 18 cm de largo, ramificada hasta tres veces, bracteada en cada ramificación, flores blanco verdosas, campanuladas, cáliz de 1.5 a 2.5 mm de largo, tomentoso; corola de 2 a 3 mm de largo, con lóbulos oblongo-ovados, más largos que el tubo, imbricados en el botón, tomentosa interna y externamente, estambres subsésiles, ovario ovoide, estigma claviforme, algo bilabiado; el fruto es elipsoide de 2.5 a 4 mm de largo por 1 a 2 mm de diámetro, con dehiscencia loculicida y septicida, las semillas son numerosas, miden de 1.5 a 2 mm de largo por 0.2 a 0.4 mm de ancho, aladas (Avedaño, 1996).



Figura 5. *Buddleia parviflora* (Cornejo, 2009).

6.2 Metabolismo secundario de las fanerógamas

El proceso de síntesis primario en la naturaleza es la fotosíntesis, en la cual las plantas verdes utilizan la energía del sol para la producción de moléculas orgánicas a partir del dióxido de carbono y del agua. Los compuestos iniciales de la fotosíntesis son los carbohidratos, entre éstos, encontramos a los azúcares, entre los cuales se encuentran la glucosa y sacarosa (Figura 6) y sus derivados, ácidos carboxílicos de bajo peso molecular, aminoácidos, grasas y lípidos. Estas sustancias “simples” universalmente distribuidas, se forman en una serie de procesos descritos en el metabolismo primario; paralelamente a este metabolismo y gracias a reacciones específicas, catalizadas enzimáticamente se sintetizan una serie de compuestos “complejos” que caracterizan al metabolismo secundario (Cuadro 1) de la planta. El término productos naturales es reconocido por los químicos como un sinónimo de metabolitos secundarios, que por lo general poseen estructuras complejas (Figuras 6-10) y una distribución restringida; además, algunos nos proveen de características botánicas específicas, a diferencia de los compuestos producidos en el metabolismo primario. Existen diferentes hipótesis acerca de la existencia de los metabolitos secundarios (Avedaño, 1996).



Cuadro 1. Síntesis de metabolitos secundarios (Avedaño, 1996).

En el curso de la evolución, millones de productos secundarios han sido sintetizados a través del tiempo por diferentes especies de plantas, asimismo, se ha pensado que evolutivamente, cuando la presencia de un producto secundario particular confería una ventaja selectiva a la planta que lo contenía, la oportunidad de sobrevivencia de la planta, sus descendientes y del mismo metabolito secundario, se veía favorecida. La mayoría de los productos secundarios a través del curso de la evolución, probablemente no confirieron ninguna ventaja adaptativa a la planta que los sintetizaba, pero dichos metabolitos han permanecido hasta nuestros días. Tal síntesis aleatoria de compuestos provee una variabilidad en las plantas, siendo un prerequisite para la operación de la selección natural y para la evolución de los organismos (Avedaño, 1996).

Otra hipótesis sobre la permanencia de los metabolismos secundarios que no conferían ninguna ventaja adaptativa al organismo que los sintetizaba es acerca del gen o los genes que controlan su síntesis, están cercanamente asociados en el mismo cromosoma a los genes que determinan otro carácter que provee una ventaja selectiva. Las presiones de selección varían de un hábitat a otro, esto da lugar a que las plantas desarrollen diferentes características químicas y anatómicas que adquieren como

resultado de presiones ambientales y de las características intrínsecas de la propia especie. Se ha sugerido que las plantas sintetizan una gran cantidad de metabolitos secundarios, ya que a diferencia de los animales, carecen de movilidad física para escapar de sus depredadores, así que desarrollaron defensas químicas hacia sus agresores. Existen algunas plantas que proveen un buen ejemplo en el cual los mecanismos de defensa químicos y morfológicos han evolucionado en conjunto, como la *Urtica dioica*, ya que esta planta posee terminaciones quebradizas que al tocarlas se insertan en las células de la piel como jeringas hipodérmicas, las cuales inyectan en la piel una mezcla bastante irritante. El papel de los compuestos secundarios en la defensa hacia sus depredadores, está relacionado con sus características irritantes, tóxicas y de mal sabor.

La expresión del metabolismo secundario, es el resultado de un proceso de diferenciación. Como ejemplo de metabolitos secundarios producidos por las plantas se tiene a los flavonoides, de los que se tiene un registro estimado de 2000 estructuras conocidas. Todas estas estructuras están basadas en un esqueleto de 15 Carbonos y están formados por unidades de isopreno. Los flavonoides se encuentran divididos en varias clases de acuerdo a su nivel de oxidación del anillo tiránico central. Existen tres clases de flavonoides más abundantes, las antocianinas, flavonas (Anexo C) y flavonoles (Cuadro 2). Cada una de las clases varía en sus propiedades, por ejemplo, las antocianinas están fuertemente coloridas, mientras que las flavanonas son incoloras. De cientos de agliconas flavonoides que han sido aisladas de las plantas, sólo ocho se encuentran en forma amplia en la naturaleza. La mayoría de los flavonoides tienen hidroxiladas las posiciones 5, 7 y 4 variando únicamente en el nivel de oxidación en el anillo A y B. Los flavonoides se encuentran como de O-glicósidos ampliamente distribuidos en las plantas. A las flavonas les falta el grupo 3-hidroxilo, presente en los flavonoles y las antocianidinas. Muchos de los flavonoides menores están cercanamente relacionados a la estructura común de los flavonoides. Las flavanonas y los flavonoles con una función extra de oxígeno en el anillo A, se encuentran ampliamente en las hojas de las angiospermas, particularmente en las plantas herbáceas (Avedaño, 1996).

Flavonoides	Número de estructuras conocidas	Propiedades biológicas
Antocianinas	250	Pigmentos de rojo, rosa, anaranjado, violeta y azul
Chalconas	60	Pigmentos amarillos
Auronas	20	Pigmentos amarillos
Flavonas	350	Pigmentos color crema en flores
Flavonoles	350	Algunos tienen la actividad de repelentes
Flavanonas	150	Poseen sabor amargo
Isoflavonoides	150	Actividad estrogénica y fungitóxica

Cuadro 2. Clases de flavonoides (Avedaño, 1996).

La hesperetina tiene una actividad bactericida contra *Pseudomonas malthophilia* y *Enterobacter cloacae*, que se encuentran en el intestino de *Heliothus zea* y *H. virescens*, gusanos parásitos del algodón y el tabaco. Se ha estudiado la relación estructura y función de la este compuesto, en su acción de bloqueo hacia la reverso transcriptasa, ya que para que los flavonoides sean inhibidores, debe existir un doble enlace entre el Carbono (C) 2 y 3 del anillo piránico y grupos hidroxilos en los C 5, 7, 3 los cuales favorecen la fragmentación del DNA. La hesperetina, la myricetina y el eriodictyol (Figura 8), han sido detectados en los propóleos de la cera y en el polen. La hesperetina y los flavonoides solubles en agua actúan como aceleradores del crecimiento de las plantas. De los compuestos encontrados en la planta, la linarina, aucubina, O-metil-catalpol, verbascócido (Figura 6), β -Sitosterol, Estigmasterol (Figura 9), resultaron ser comunes para el género *Buddleia*, ya que se han encontrado en diversas especies, tanto americanas como de otros continentes. El leucoptósido A y el vainillol ajugol son poco frecuentes en el género, habiéndose encontrado previamente sólo, en *B. davidii* y en *B. japonica*. En cambio en este género no se había registrado la presencia de flavanonas pero si de flavonas, como lo son la linarina y 7-hidroxileutonin, por lo que resulta interesante la presencia de eriodictyol, pyracanthosido y de la glucohesperetina en *B. parviflora* (Avedaño, 1996).

La presencia de estos compuestos puede ser característica de esta especie de tepozán, aunque no se descarta la posibilidad de que su presencia sea debida a la etapa de desarrollo, ya que algunas plantas producen una mayor cantidad de metabolitos secundarios durante el periodo de desarrollo como método de defensa. Algunas plantas en un estadio de desarrollo más avanzado posiblemente la incidencia de las flavanonas pudo haber sido mínima o tal vez otro tipo de flavonoides puedan encontrarse en su lugar (Avedaño, 1996).

Los taninos (Figura 10) son una mezcla de distintos polifenoles derivados tanto del ácido gálico como de las catequinas. Las sustancias tánicas se almacenan en las vacuolas de las células de la corteza y los frutos, biológicamente sirven como defensa contra el ataque de parásitos u organismos fitófagos (Tejero *et al.*, 1998).

Los terpenos son metabolitos secundarios de la planta compuestos por varias unidades de isopreno (C_5H_8) que se forma en el citoplasma celular y en el plastidio de algunas plantas. Existen en las plantas una gran cantidad de variantes de este grupo químico, como las saponinas, los glucósidos iridooides (Figura 7), siendo estos los más representativos, cuya función es la defensa química contra la herbivoría o premio a polinizadores, como en el caso de algunos aceites aromáticos (Seigler, 1998 y Tejero *et al.*, *op. cit.*).

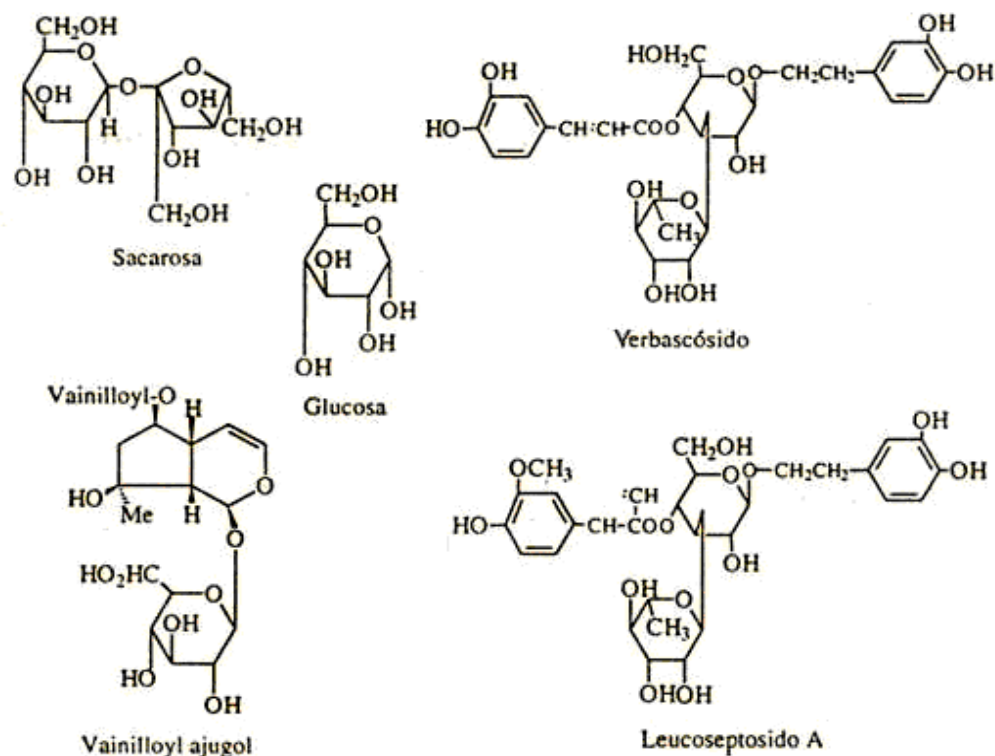


Figura 6. Metabolitos presentes en el Género *Buddleia* (Avedaño, 1996).

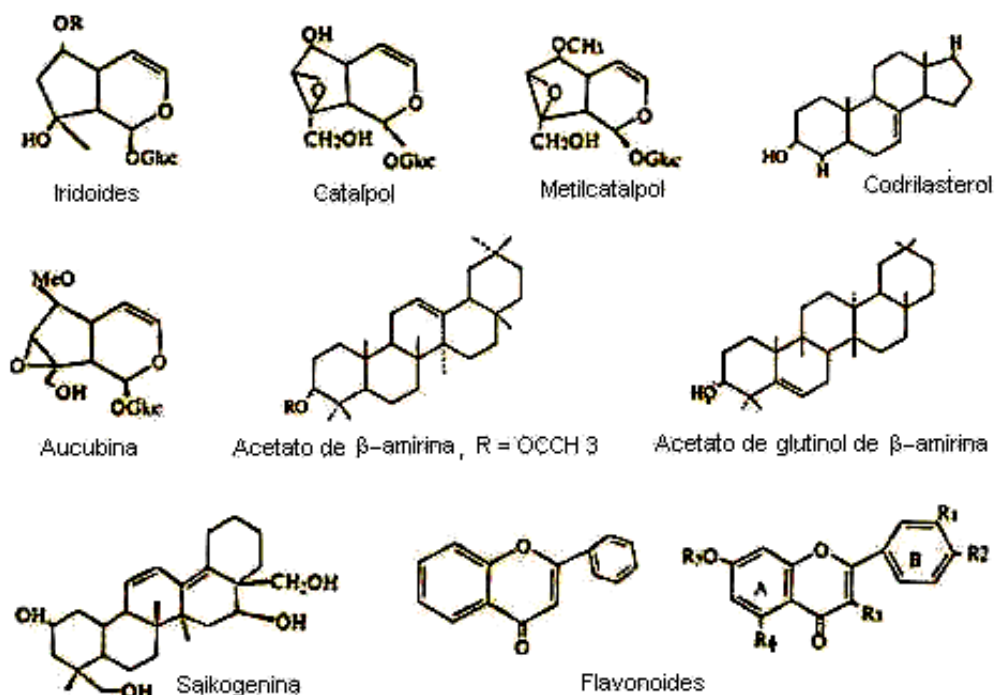


Figura 7. Compuestos encontrados en *Buddleia* spp. (Avedaño, 1996).

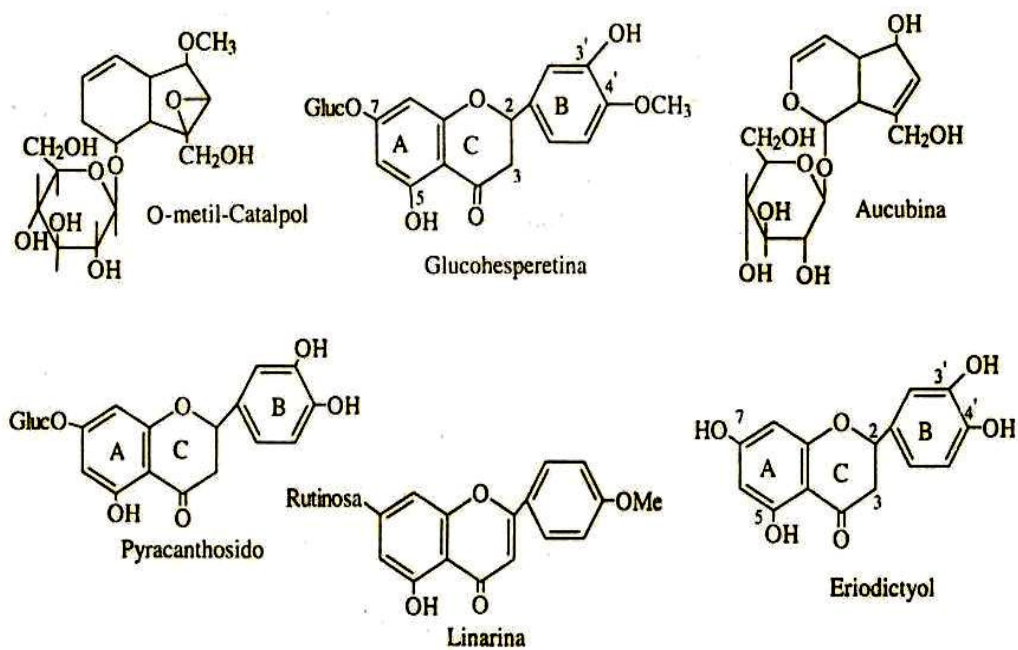


Figura 8. Metabolitos secundarios presentes en *B. parviflora*.

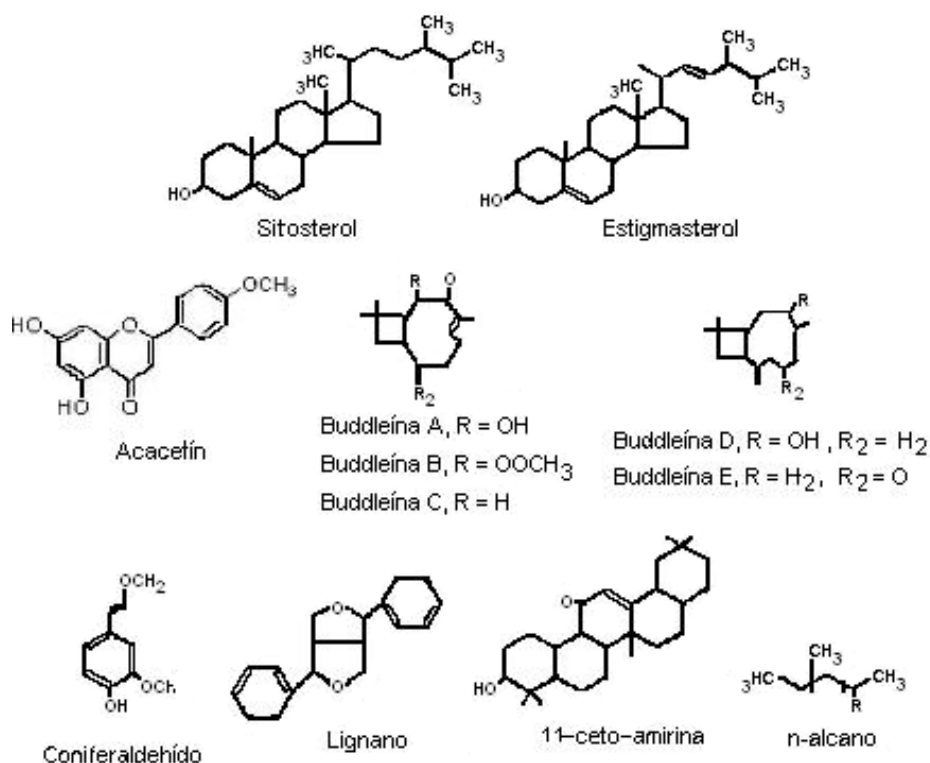


Figura 9. Moléculas orgánicas aisladas de *Buddleia* spp. (Avedaño, 1996).

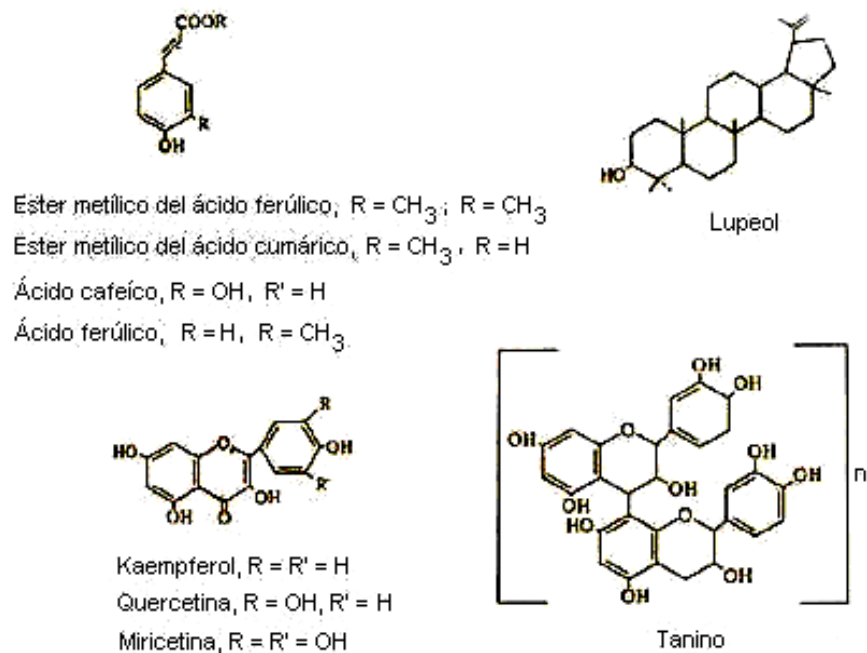


Figura 10. Otras moléculas orgánicas identificadas de *Buddleia* spp. (Avedaño, 1996).

Los alcaloides (Anexo B) son compuestos cíclicos que contienen nitrógeno en un estado de oxidación negativa, cuya distribución es limitada en los seres vivos. No siempre

son de carácter básico; presentan por lo menos cuatro grupos de compuestos nitrogenados, con lo que se tiene la siguiente clasificación (Bañuelos *et al.*, 2006):

- A) Las aminas secundarias y terciarias**, son más o menos protónicas debido a lo cual tienen propiedades hidrofílicas a un pH menor de 7 o en la mayoría de los casos son lipofílicas y no protónicas a un pH mayor a 8, estando presentes en los alcaloides típicos.
- B) Los compuestos amino cuaternarios**, son muy polares, cargados a todos los valores de pH y son aislados como sales.
- C) Los N-Óxidos**, son por lo general solubles en agua, encontrándose en muchos alcaloides.

La distribución de los alcaloides es muy amplia. En el Reino Animalia se han encontrado en diferentes grupos de artrópodos (coleópteros, miriápodos, arácnidos e himenópteros), vertebrados (Familia Dendrobatidae en anfibios) y en organismos marinos (briozoarios y acidias). También se presentan en hongos, algas, así como en otros grupos del Reino Plantae, además de las fanerógamas.

6.3 Análisis bromatológicos de tres especies del género *Buddleia* sp

Navarro (2001) reportó que las hojas de *B. cordata*, tienen olor especial alcanforado cuando se frota entre los dedos y un sabor que puede ser desagradable para nosotros y también que las raíces y las hojas contienen un aceite esencial, grasa, resina, un ácido orgánico, glucosa, taninos, principios pépticos, sales minerales especialmente cloruro de potasio y un alcaloide llamado buddleína (Figura 9); los resultados obtenidos de una determinación de la calidad nutritiva de las hojas de *B. cordata*, procedentes de muestras recolectadas en dos localidades del Estado de México, fueron, para la de Cuautitlán Izcalli 56.16% de materia seca; 13% de proteína cruda y 5.09% de cenizas y para la de San Rafael Chamapa en Naucalpan 64.17% de materia seca; 16.87% de proteína cruda y 7.2% de cenizas.

Cruz (1931) realizó un análisis cuantitativo de *B. americana* y reportó en las hojas de esta especie un contenido de: 10.5% de humedad; 6.4% de cenizas; 0.228% de fosfatos; 0.74% de ácido carbónico; 1.825% de aceite esencial; 0.999% de resina total ácida; 0.25% de ceras; 0.863% de flavonoides; 0.87% de ácidos orgánicos; 0.48% de glucosa; 6.59% de taninos totales; 1.5% de ácido tartárico; 0.45% de almidones; 2.03% de alcaloide y 57.8% de fibra cruda.

Partida (1990) realizó una caracterización química en de *B. parviflora* H. B. K., obteniendo: 19.20% de fibra cruda; 7.26% de cenizas; 0.0166% de hierro (Fe); 15.25% de lignina; 0.006% de calcio (Ca); 0.045% de fósforo (P); 30.6% de celulosa; 8% de hemicelulosa; 16.66% de proteína cruda y 575.32 mg·100g⁻¹ de ácido tánico (tanino).

Avedaño (1996) realizó un estudio de la actividad de las flavanonas y metabolitos secundarios presentes en *Buddleia*. Trabajó con una planta que fue recolectada cuando apenas comenzaba a retoñar, de la especie *B. parviflora*, de la que procesó 630g de hoja seca y obtuvo 2.39mg de glucohesperetina; 7.4mg de eriodictyol; 28.276g de verbascósido; 1.752mg de pyracanthósido; 335mg de glucosa; 192mg de sacarosa y 303.9 mg de linarina.

7. Capítulo III

7.1 Tipos de dieta

Las **Dietas Holídicas** se componen de diferentes sustancias con determinadas estructuras químicas mezcladas, muchas de éstas son una mezcla bien definida, pero en algunos casos sus componentes pueden reaccionar entre sí y pueden dar lugar a la formación de otros compuestos desconocidos dentro de la formulación, es por esta razón que en muchos medios, durante la preparación de algunas de las soluciones de ciertos constituyentes se realiza por separado, inclusive a diferentes temperaturas si es necesario y luego se mezclan, evitando dichas reacciones, esto es importante para los estudios de requerimientos nutricionales donde se busque un conocimiento discreto de los compuestos que los insectos van a ingerir. Las **Dietas Merídicas** contienen una base holídica con la adición de una o algunas otras sustancias, cuyos efectos nutricionales no estén completamente determinados. Las **Dietas Oligídicas** poseen materiales orgánicos complejos como hojas de lechuga utilizadas para alimentar a saltamontes, hojas de col para la mariposa *Pieris brassicae* (Pieridae), croquetas para perro o alimento para pollo triturado y remojado para grillos y cucarachas, así como frijoles pintos molidos para las larvas de algunas especies de lepidópteros. Cuando los insectos son alimentados con sustratos donde no están presentes otros organismos como bacterias, hongos y/o simbiontes internos, a este sustrato se denomina **Dieta Axénica** que permite conocer de manera precisa los requerimientos nutricionales de estos artrópodos, para lograr este propósito es necesario evitar que el medio de cultivo se contamine por microorganismos como hongos de los géneros *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Penicillium*, entre otros, y que también pueden invadir este sustrato, así como bacterias y levaduras que pueden alterar eventualmente las propiedades nutritivas del mismo o interferir con el desarrollo de los sujetos de estudio, esto puede resultar complicado, por lo que se hace necesaria la aplicación de efectivos métodos de esterilización y/o manejo de un pH que evite una contaminación por microorganismos y no se afecte el rendimiento del cultivo, también se pueden utilizar para este fin agentes antimicrobianos en una dosis conveniente (probando inicialmente aquellas dosis empleadas en medios de cultivo para otras especies de la misma familia, si no hay reportes para la especie en particular que se esté trabajando) que no retarde las fases de desarrollo durante la producción de insectos, y que tampoco produzca mortalidad de huevos, larvas o pupas, los más comunes son: formaldehído,

metil p-hidroxibenzoato, benzoato de sodio, sorbato de potasio, ácido sórbico, streptomycin, aureomicina y paradójicamente penicilina, conocido antibiótico que inhibe la biosíntesis de pared celular en bacterias (Singh, 1982).

La **Dieta Genobiótica** es aquella en la que están presentes otros organismos conocidos (Nation, 2002), como puede ser el caso de simbioses preservados en el cascarón del huevo o que haya sido transmitido mediante un proceso especial durante la oogénesis, y que no hayan sido eliminados (Singh, 1982), para fines prácticos, donde el objetivo principal no es propiamente el conocimiento de los requerimientos nutricionales exactos del sujeto de estudio. Una forma de producción masiva de insectos en laboratorio es mediante el empleo de **Cultivo Xénicos**, donde se presentan microorganismos no determinados, que pueden o no afectar el rendimiento de la producción de ejemplares al incorporarlos sin ningún tratamiento en las **Dietas Oligídicas** (Nation, *op. cit.*).

Los efectos por la falta de algunos nutrimentos en particular, pueden no manifestarse en la primera generación, ya que las reservas de éstos pueden ser almacenadas en el huevecillo. Al no registrarse deficiencias en generaciones sucesivas, la dieta artificial es adecuada para los insectos. Las condiciones **axénicas** deben mantenerse cuando sea posible. Los microorganismos presentes en el tracto digestivo, contribuyen en la digestión, disponibilidad de compuestos nutritivos, biosíntesis de componentes indispensables, en particular vitaminas y algunos esteroides, así como aminoácidos esenciales (Nation, 2002).

7.2 Aspectos fisiológicos y nutricionales en la alimentación de los lepidópteros

La estructura y función del canal alimentario, ha evolucionado de acuerdo a los hábitos alimentarios de los insectos, ya sea para sólidos o líquidos, de procedencia animal, vegetal o de otro origen. Muchos insectos tienen enzimas digestivas con las características generales de la tripsina y quimotripsina, algunos otros poseen catepsinas que funcionan a un pH ácido. Las larvas de los lepidópteros, por ejemplo tienen un intestino recto y no muy complejo, las cuales tienden a alimentarse casi continuamente, la celulosa en el alimento vegetal no es digerida por éstas, ni por muchos otros insectos fitófagos y el material no digerido pasa rápidamente por el aparato digestivo. La baja calidad nutricional de los vegetales con respecto a los alimentos de origen animal, propicia que los organismos que consumen plantas requieran alimentarse prolongadamente y tengan un proceso de eliminación sostenido, sin embargo, este

sustrato provee generalmente de suficientes carbohidratos y de ciertos lípidos, incluyendo los fitoesteroles tan importantes en la nutrición de los insectos, y comparándolos con los tejidos animales, las plantas presentan niveles más bajos de aminoácidos y algunos pueden ser críticamente escasos o estar ausentes. Varios aminoácidos, vitaminas y otros nutrimentos son producidos por simbiontes y no siempre provienen del alimento (Nation, 2002), con base en lo anterior, es importante considerar que en el caso de suministrar dietas artificiales en cultivos de insectos y que éstos por alguna causa no entren en contacto con sus simbiontes específicos, se deberá agregar a su alimento todos los nutrimentos esenciales, es decir aquellos que no pueda producir por sí mismos, por lo que resulta imprescindible revisar por lo menos la composición química del alimento natural del organismo de interés, así como la formulación de otras dietas que hayan sido probadas en organismos cercanos desde el punto de vista taxonómico, siendo una buena referencia aquellas especies que pertenezcan a la misma Familia o incluso al mismo Género (Singh, 1982).

El sistema digestivo (Figura 11) en los insectos se divide en tres: el estomodeo, mesenteron y proctodeo, que pueden ser reconocidos embriológica y morfofisiológicamente en ellos (Nation *op. cit.*). Durante el desarrollo embrionario el estomodeo se desarrolla a partir de invaginaciones del ectodermo en la parte anterior del cuerpo, las células epiteliales de esta parte del intestino se alinean uniéndose a las células del lumen por la parte apical, dividiéndose en la cavidad bucal con todas sus partes, la faringe, el esófago, el “buche”, el proventriculo y la invaginación esofágica.

El mesenteron es el sitio principal de secreción de enzimas digestivas, así como el principal sitio de absorción, especialmente la cavidad gástrica, éste no tiene propiamente una línea cuticular en la superficie, pero en la mayoría de los insectos pueden secretar una membrana que contiene quitina y proteínas, es decir la membrana peritrófica, que rodea el alimento y protege a dichas células del contacto de partículas potencialmente abrasivas o muy ásperas. El proctodeo se desarrolla a partir del ectodermo y las células se alinean; los túbulos de Malpigio marcan el inicio de esta parte del tracto digestivo (Nation, 2002).

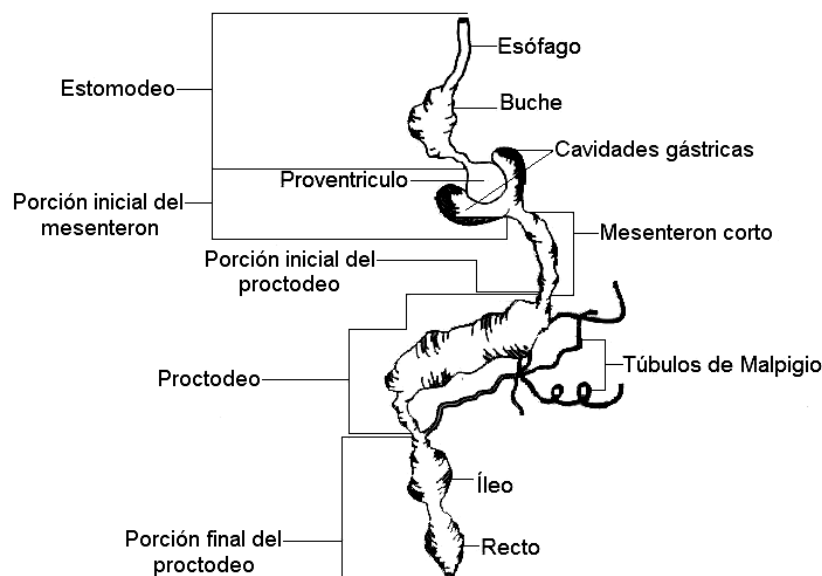


Figura 11. Estructura general del sistema digestivo de un insecto (Nation, 2002).

Las células del intestino con una gran cavidad central cuya forma es parecida a la de una copa (Figura 12), en este espacio existen microvellosidades o evaginaciones que controlan el intercambio de fluido con el lumen del intestino, éstas se encuentran orientadas hacia el exterior de la célula, son los lados de la célula los que forman este espacio localizado en la parte apical, éstas células se encuentran distribuidas entre las células epiteliales del canal digestivo, se presentan en las larvas de lepidópteros, así como en los órdenes Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera (Nation, *op. cit.*).

En larvas de lepidópteros y tricópteros, donde el pH del mesenteron tiende a ser altamente básico, el cual oscila entre los valores de 7 y 10 a causa que las células en forma de copa (con cavidad), secretan al lumen de esta parte del intestino iones de potasio y bicarbonato. Se tiene conocimiento en 60 especies y 20 familias que este pH depende de la química de la planta nutricia, por ejemplo se tienen valores de pH que van de 8.5 a 9.0 en *Agrotis ipsilon* (Noctuidae); para *Manduca sexta* (Sphingidae) de 6.4 en los pliegues apicales de la parte anterior del mesenteron, 8.2 en los pliegues basales del mesenteron anterior y 7.2 en los pliegues apicales del mesenteron posterior, registrando asimismo en el lumen en esta parte del sistema digestivo para esta especie valores de pH entre 9.5 y 9.7. En el caso de las larvas que se alimentan de las hojas de los árboles, las cuales por lo general contienen grandes cantidades de taninos, tienen un pH promedio en el intestino medio de 8.67, mientras que aquellas que se alimentan de las hojas de formas herbáceas presentan un pH en la misma parte del tracto digestivo de 8.29; este pH

presente en organismos cuya fuente de alimentación contiene grandes cantidades de estos metabolitos secundarios es un mecanismo de protección para reducir su toxicidad, ya que éstos fitoquímicos pueden combinarse con las propias enzimas de los insectos, así como con las proteínas vegetales, ocasionando una disminución en la digestión de proteínas. Aunque otros factores disminuyen el impacto de los taninos, cuando se tiene un pH alto se reduce la formación de complejos no solubles compuestos por Taninos-Proteínas (Nation, 2002).

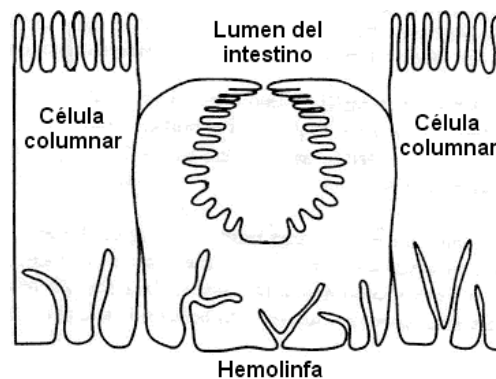


Figura 12. Estructura de las células del intestino de un lepidóptero (Nation, 2002).

En los insectos se presentan dos tipos de membrana peritrófica (Figura 12): la del tipo I se secreta como una lámina continua que se distribuye en todo el mesenteron, en este caso ningún tipo celular específico ha sido identificado; la del tipo II cuando proviene de un grupo de células en forma de arillo en el margen anterior de esta misma parte del intestino, se produce continuamente en función del paso del alimento.

La Membrana Peritrófica protege las microvellosidades (que aumentan la superficie de absorción de los productos digeridos y secreción de enzimas, entre éstas se puede encontrar el glicocalix (Figura 13), que es una secreción de proteínas y carbohidratos que atrapa y concentra las enzimas y los productos de la digestión, que evita el contacto directo con las partículas alimentarias. Esta membrana tiene las siguientes funciones (Nation, *op. cit.*):

- Protección de las delicadas microvellosidades que se encuentran en la superficie de las células del mesenteron en contacto con partículas alimentarias que puedan ser abrasivas y causar daño mecánico.
- Actúa como barrera para evitar la entrada de virus, bacterias y otros patógenos, especialmente aquellos que puedan ser ingeridos con el alimento.
- Auxiliar para prevenir la rápida excreción de enzimas digestivas.

- Produce una digestión gradual dentro del mesenteron.
- Punte de transporte de proteínas en la superficie del mesenteron y/o evitar que aleloquímicos vegetales y material no digerido quede atrapado entre las microvellosidades del intestino.
- Protección para muchos insectos fitófagos de los efectos tóxicos de compuestos fenólicos ingeridos, los cuales son comunes en muchas plantas, al prevenir el paso de éstos químicos a través de la membrana y/o puedan formar un complejo al unirse con la propia membrana peritrófica.

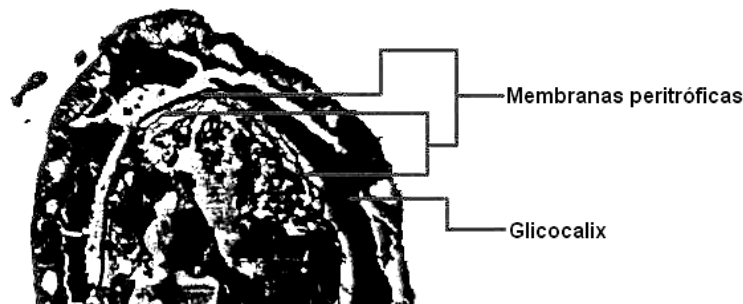


Figura 13. Membrana Peritrófica donde se observa el material del glycocalyx como una capa oscura (Nation, 2002).

Por ejemplo, la membrana peritrofica de *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: *Acrididae*), permite que algunos taninos entren y sean adsorbidos en una proporción de menos del 1%, ésta membrana se compone de quitina en una proporción del 4 al 20% y con un 40% de proteínas en varios insectos, también está constituida por otros compuestos tales como mucopolisacáridos ácidos, polisacáridos neutrales, mucinas, ácido hialúrico, hexosamina, glucosa y ácido glucurónico, la quitina de tipo α es la más común, pero también se presenta el tipo β y el tipo γ (Nation, 2002).

Para varios insectos que no ingieren alimento sólido, como es el caso de aquellos que se alimentan de sangre o lepidópteros adultos que toman el néctar de las flores y otros líquidos, ésta membrana es relictual. No todos los grupos de insectos presentan los patrones del tipo I o II y algunos carecen de ella.

En etapa larvaria los lepidópteros tienen un estomodeo corto, donde existe prácticamente una reducida o nula actividad digestiva; el mesenteron es más largo y relativamente recto, el proctodeo también es corto. Casi todo el Orden, durante esta fase de desarrollo es predominantemente fitófago, por lo que las modificaciones en el intestino muestran una adaptación de tal modo que las partículas alimentarias pasan rápidamente al mesenteron e inician la digestión; cuando las larvas se alimentan continuamente,

pueden ingerir una cantidad mayor al equivalente de su propia masa en materia vegetal, la cual pasa rápidamente a través del tracto digestivo, por lo que presentan una membrana peritrófica de tipo I, que es una lámina continua porosa secretada en todo el mesenteron, en donde ocurren los procesos de digestión y absorción de nutrimentos, ya que las células columnares (Figura 12) de esta parte del tracto digestivo liberan las enzimas necesarias para dicha absorción. Al carecer las larvas de cavidad gástrica, las células con cavidad liberan iones de potasio K^+ al lumen del mesenteron, y no realizan otras funciones; un flujo a contracorriente, sugiere que los conjuntos de enzimas digestivas no son liberadas continuamente a un ritmo sostenido.

Las larvas de lepidópteros y los adultos presentan diferencias en sus hábitos alimentarios, estos últimos al alimentarse sólo de líquidos (que son almacenados en el “buche”), son liberados lentamente al mesenteron para la conversión de nutrimentos a azúcares simples. Algunas especies de estos insectos en estado adulto presentan sólo partes vestigiales del aparato bucal, por lo que no se alimentan durante toda esta fase, por lo que generalmente viven sólo por algunos días, y en el caso de las hembras, estas producen los huevecillos a expensas de los componentes de su propio cuerpo. Otras especies en estado adulto, como *Heliconius* utilizan el polen, desechos de aves y otros recursos como fuente de alimento. En las larvas de *Erinnyis ello*, la digestión inicial se presenta en la superficie de las células del mesenteron mediante una conexión con una membrana de enzimas digestivas, éste proceso no ocurre en el estomodeo. Un recurso alimentario poco usual, es la lana, utilizada por la larva de la “polilla de la ropa” *Tineolla bisselliella*, ésta presenta una fuerte acción reductora en el mesenteron, la cual transforma los puentes bisulfídicos reduciéndolos a puentes sulfhidrilos, lo que facilita la acción de las enzimas involucradas en la digestión de proteínas (Nation, 2002).

El sistema excretor consiste en dos partes que trabajan juntas: los túbulos de Malpigio y el proctodeo. Los túbulos se levantan típicamente a la unión del mesenteron y proctodeo, los protones liberados en el lumen del túbulo por la bomba de la membrana, proporcionan la energía necesaria para la formación de orina; los iones de potasio (K^+) transportados por la hemolinfa entran a las células de los túbulos de Malpigio y llegan al lumen por medio de un mecanismo “antiporter” de membrana que intercambia iones de H^+ por K^+ (Figura 14). En el lumen de los túbulos se encuentra un fluido proveniente de la hemolinfa que sigue el gradiente osmótico producido por el movimiento de los iones K^+ a través de células de los túbulos y lleva sustancias disueltas, éstos transfieren la orina

acumulada al proctodeo, en donde el íleo realiza una reabsorción selectiva y el recto retiene sustancias necesarias dentro del cuerpo, mientras permite que el exceso de sustancias útiles y productos de desecho sean eliminados junto con las excretas. Las especializaciones de las células epiteliales del proctodeo facilitan los procesos de reabsorción (Nation, 2002).

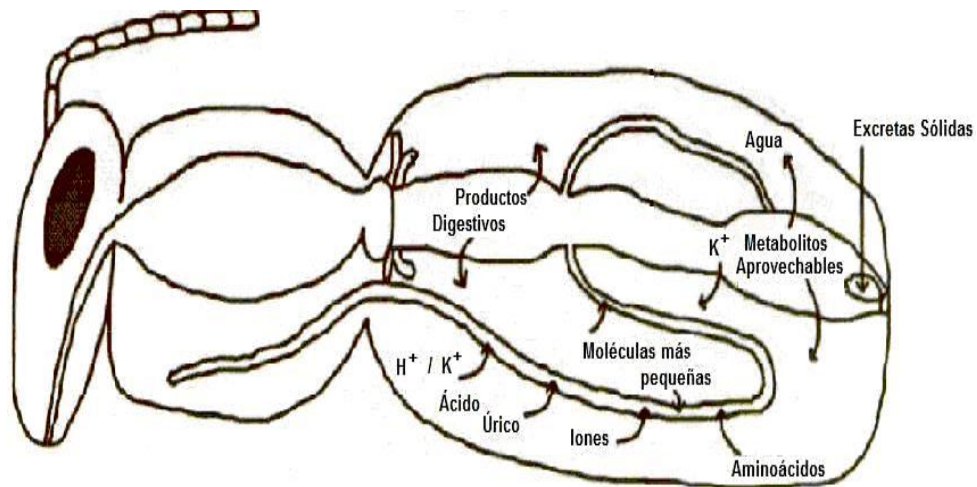


Figura 14. Acumulación de fluidos por parte de los túbulos de Malpigio (promovida por la secreción activa de protones por un mecanismo antiporter de intercambio de iones de (K^+) Potasio por (H^+) (Nation, 2002).

El sistema excretor es de suma importancia en el mantenimiento homeostático de la hemolinfa, las células y tejidos ayudando a controlar los niveles de electrolitos, agua, equivalentes ácido-base, y metabolitos de nitrógeno. Se hace necesario mantener el equilibrio homeostático, que debe permanecer estable tomando en cuenta los hábitos alimentarios, el medio y el estado metabólico del insecto. Algunos productos de desecho son guardados en el cuerpo o cutícula, los cuales pueden proteger de la depredación y del parasitismo. Los insectos tienen una relación área-volumen alta lo que implica que el sistema excretor realice su función evitando que se presenten pérdidas de agua que pongan en riesgo dicho equilibrio. En cambio otros insectos que se alimentan de grandes cantidades de líquido, como sangre de vertebrados, floema y/o xilema vegetal que extraen de la savia, es decir que contenga más agua que la que requieren, implica una rápida excreción del exceso de la misma y por tanto una concentración de los nutrimentos. Algunos insectos (principalmente lepidópteros y coleópteros) presentan un sistema criptonefridial de túbulos de Malpigio (Figura 15) en la parte distal donde éstos terminan y

se sostienen estrechamente en la superficie del recto en muchas vueltas y pliegues. El número de vueltas es mayor en insectos que viven en ambientes muy secos y ayudan a la reabsorción de agua. Los túbulos de tipo criptosolenico o criptonefridial en los que la parte distal del túbulo queda por encima de la parte terminal del proctodeo se presenta en la mayoría de los lepidópteros y coleópteros.

La excreción puede definirse ampliamente como cualquier proceso que elimine la interacción entre sustancias tóxicas con células y tejidos. Incluso los nutrimentos como glucosa, aminoácidos y ciertos iones, pueden ser dañinos si se presentan en cantidades excesivas. Los metabolitos de nitrógeno, iones, agua y químicos ingeridos son materiales que un insecto pueda requerir excretar. Los aleloquímicos de tejidos vegetales consumidos pueden eliminarse del cuerpo o bien, pueden almacenarse en alguna parte inerte del cuerpo. Por ejemplo, *Manduca sexta*, el gusano de cuerno del tabaco, excreta de manera efectiva la nicotina ingerida con su alimento de hojas de tabaco, mientras *Danaus plexippus*, la mariposa monarca, almacena los cardenolides de *Asclepia* sp. en la cutícula de la larva y adulto, donde actúan como protección química contra los depredadores. La excreción-almacenamiento se define como el hecho de incluir materiales con uso potencial en el futuro, como el glucógeno de reserva que se desdobra en glucosa, o los aminoácidos, que se almacenan en forma de proteínas. Se ha considerado la excreción-almacenamiento como la eliminación de sustancias que sólo sean dañinas para los tejidos y que no puedan ser utilizadas.

El término "excreta" describe el material eliminado, el cual es una mezcla de materiales no digeridos que atraviesan el intestino, sustancias que actuaron en alguna función y posiblemente modificadas por acción bacteriana en el tracto digestivo, así como materiales urinarios provenientes de los tubulos de Malpigio (Nation, 2002).

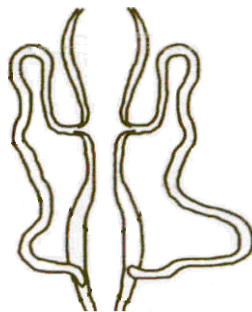


Figura 15. Túbulos de Malpigio criptonefridial presente en lepidópteros (Nation, 2002).

Los túbulos de Malpighio, son el primero de los dos sistemas involucrados en la excreción, son estructuras tubulares largas y normalmente se originan en la unión del mesenteron y proctodeo y terminan ciegamente en el hemocele. Los túbulos varían en número de 2 a más de 100 en varias especies de insectos. Los colémbolos, áfidos, y algunos miembros del grupo de los tisanuros carecen totalmente de éstos, así otras células y glándulas toman las funciones de excreción. En algunos miembros de los órdenes Lepidoptera y Coleoptera la parte distal donde terminan los túbulos llega hasta la pared del recto.

Este arreglo es conocido como criptosolenico o criptonefridial, parece ser una modificación que ayuda a conservar agua. Las conexiones traqueales de los túbulos de Malpighio son numerosas, y es indicativo de una demanda metabólica alta para oxígeno. Un músculo espiral pequeño frecuentemente corre a lo largo de la superficie de un túbulo y promueve movimientos de enrollamiento que ayudan en la corriente proximal de fluido y hemolinfa que está en contacto con el túbulo. En la colecta de fluido en los túbulos de Malpighio se presenta una extensa reabsorción de agua y sustancias útiles del intestino posterior, principalmente en el recto (Nation, 2002).

En muchas especies de insectos parece ser una característica regular la disposición en varios tejidos del cuerpo de productos de excreción. Es especialmente frecuente entre miembros de la Familia Blattidae, en los que hasta el 10% del peso total del cuerpo puede ser ácido úrico. En varios insectos el ácido úrico es acumulado en el cuerpo graso, en vista de la pasividad con que puede ser movilizado a partir de tales depósitos, además de constituir una fuente de nitrógeno para propósitos de síntesis, puede que no resulte apropiado el término de almacenamiento de excreción.

El suministro de alimento a la maquinaria metabólica de los insectos presenta pocas características que pudieran ser consideradas como típicas de la Clase. Dentro del grupo se presentan muchas adaptaciones a distintos hábitos alimentarios, pero la forma en que son manipulados los alimentos una vez ingeridos, no muestra peculiaridades sorprendentes, y el requerimiento de elementos específicos en la dieta es muy similar al de otros animales. La única característica que parece estar relacionada específicamente al tipo de organización de los insectos es la absorción "facilitada" de la glucosa. El alimento disponible para los insectos está constituido por tres clases principales de material alimentario que son: carbohidratos, proteínas y lípidos, en proporciones que dependen de la dieta de las distintas especies (Bursell, 1974).

Los alimentos naturales de las larvas (Bautista *et al.*, 1994) contienen carbohidratos, denominados también glúcidos o azúcares, que son polihidroxialdehídos y polihidroxiacetonas o derivados de ellos (González, *et al.*, 2000); en el caso de las dietas artificiales requieren de estos compuestos como fuente de energía. Los insectos sobreviven mejor con carbohidratos, aunque los lípidos y las proteínas pueden ser usados como fuentes alternas de energía. Dependiendo de las enzimas digestivas necesarias para degradar las moléculas grandes de azúcares complejos para su absorción en el intestino, los azúcares pueden ser utilizados en un número variable de formas, desde polisacáridos hasta monosacáridos y algunos azúcares con alcohol. Los polisacáridos como dextrinas, almidón y glucógeno pueden ser adicionados como componentes semipuros o puros, como por ejemplo jarabe de maíz, almidón de maíz o de papa. Generalmente los carbohidratos son incorporados en las dietas al agregar productos que contienen otros nutrimentos, tales como germen de trigo, harina de soya, polvo de zanahoria, harina de maíz y harina de frijol. Las formas “D” de glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, trehalosa y melesitosa son utilizadas por los dípteros, coleópteros, lepidópteros, ortópteros, hemípteros e himenópteros. Algunos carbohidratos sin valor nutritivo son útiles para gelificar las dietas, como es el caso del salvado, celulosa pura y agar. Los efectos patológicos asociados con la ausencia o niveles inadecuados en la dieta difieren con respecto a la especie, al ciclo de vida y sexo del insecto. Por lo que la deficiencia de carbohidratos se puede manifestar como una pérdida de vitalidad general que afecta a todo el organismo, más que un efecto obvio localizado en alguna parte del insecto (Bautista *et al.*, 1994).

Se requieren diversas enzimas para hidrolizar los hidratos de carbono a sus unidades constituyentes; cuando éstos se encuentran en el alimento formando polímeros como la celulosa o el almidón, algunos de estos catalizadores (carbohidratasa) se producen en glándulas salivales y se secretan a la cavidad bucal, pero la mayoría provienen de las células del mesenterón. A continuación se enumeran algunas, de las que se describe su función (Bursell, 1974):

A) Glucosidasas. En los insectos parecen estar bien representadas las enzimas capaces de hidrolizar el enlace α -glucosídico (como en la maltosa y la trehalosa) y el enlace β -glucosídico (como en la celobiosa y la genciobiosa). Las α -glucosidasas son especialmente activas en insectos herbívoros.

B) Amilasas. Estas enzimas rompen los polisacáridos de reserva de animales y plantas

(glucógeno y almidón respectivamente) para dar el disacárido maltosa, que posteriormente es degradado bajo la influencia de las α -glucosidasas. Se han aislado del canal alimentario de una amplia variedad de insectos preparaciones activas con estas moléculas con diferencias considerables respecto al pH óptimo de actividad, que varía entre 5.5 y 9.5.

C) Celulasas. En unas cuantas especies de escarabajos xilófagos y en los tisanuros se ha demostrado la actividad de estas enzimas. La celulosa es parte sustancial de la dieta de muchos insectos, sin embargo este particular polisacárido de glucosa parece ser extremadamente resistente a la hidrólisis y la mayoría de los insectos dependen para su digestión de la presencia de microorganismos simbioses en el canal alimentario. Otros dos polisacáridos resistentes, la quitina y la liquenosa, también pueden ser digeridos por algunos insectos.

Los lípidos son moléculas orgánicas insolubles en agua, se clasifican en: Ácidos grasos, que son en su mayoría monocarboxílicos y presentan cadenas lineales sin ramificaciones; triacilglicéridos, que son triésteres del glicerol que es el componente alcoholico, se trata de grasas y aceites; fosfoglicéridos, que presentan grupos de ésteres del ácido fosfórico o de fosfatos, relacionados con las grasa y aceites, en su estructura presentan por lo general ésteres de ácidos grasos en las posiciones 1 y 2 del glicerol y un éster fosfato en la tercera posición, los grupos de hidrocarburos (ácidos grasos) que contienen las moléculas de triacilglicéridos son hidrofóbicas, el extremo fosfato en cambio es hidrofílico, características que hacen que estos fosfolípidos tengan una gran importancia biológica en la formación de las membranas celulares, ya que al orientar la porción hidrofílica hacia el medio acuoso y la porción hidrofóbica hacia una misma zona, pueden formarse las bicapas en dichas membranas; los esfingolípidos están entre los componentes más importantes de las membranas celulares tanto vegetales como animales, generalmente son constituidos por la esfingosina, que es un aminoalcohol de cadena larga conectada por su grupo amino a un ácido graso saturado de cadena larga o a un monoinsaturado de 18 a 26 carbonos; las ceras son ésteres de ácidos grasos con alcoholes de cadena larga distintos al glicerol, con un punto de fusión más elevado que las grasas, en comparación con éstas son más duras y resistentes a los agentes químicos y físicos, como por ejemplo la cera de abejas, estos lípidos forman cubiertas protectoras en hojas y frutos de muchas plantas y en la cutícula de los insectos; lípidos no asociados a ácidos grasos o no saponificables, entre ellos se encuentran los terpenos, esteroides y

corticoides que integran grandes grupos de moléculas de gran importancia biológica como son vitaminas, colesterol y algunas hormonas (González *et al.*, 2000).

Los insectos pueden utilizar una amplia gama de lípidos como fuente alternativa de energía; sin embargo, existe una clase esencial para todos: los esteroides (Bautista *et al.*, 1994), en el caso de la mosca *Drosophila*, el colesterol es esencial para la embriogénesis y en su ausencia estos organismos no desarrollan alas (Martínez *et al.*, 2001). Estos insectos utilizan los esteroides de la dieta como componentes estructurales de las células y para la síntesis de reguladores del crecimiento (ecdisona) ya que son capaces de sintetizar el núcleo del esteroide. Aunque los síntomas patológicos relacionados con la deficiencia de lípidos aparecen generalmente durante los estados inmaduros (incapacidad de mudar y/o desprenderse de la exuvia, o bien malformaciones) los adultos también pueden presentar deformaciones en las alas y apéndices; en el caso de las hembras de *Dacus* sp. (Diptera: Tephritidae) criadas sin colesterol, tuvieron un índice de fertilidad muy bajo en comparación con aquellas que si tuvieron acceso a esteroides. En dietas artificiales el colesterol es suficiente para satisfacer las necesidades de esteroide de muchas especies, no obstante, otros esteroides de origen vegetal o animal también pueden ser aprovechados, especialmente por insectos fitófagos. Al desarrollar una dieta artificial para estos organismos, es conveniente hacer un perfil de esteroides de la planta nutricia de éste. Tales dietas así diseñadas pueden probar ser importantes en ocasiones donde aspectos sutiles de carácter fisiológico o de comportamiento específico son afectados por fitoesteroides específicos, como por ejemplo la localización de sitios de reproducción y que pueden tener un impacto en el éxito de un proyecto que involucre una liberación en el campo. Las fuentes de esteroide en la dieta artificial pueden provenir del colesterol, cloruro de colina, germen de trigo, levadura o harina de soya. Además de los esteroides, algunos ácidos grasos poliinsaturados son esenciales para varios insectos; los ácidos grasos linoleico y linolenico son esenciales para ortópteros y lepidópteros ya que no son capaces de sintetizar uno o ambos compuestos, se ha observado que los adultos provenientes de larvas alimentadas con dieta artificial sin estos lípidos emergen con alas deformes o sin escamas. Para proveer los ácidos grasos esenciales en la dieta se utilizan aceites vegetales como los de maíz, oliva, cacahuate y girasol. La cantidad de ácido linoleico varía de acuerdo a la fuente, así el aceite de oliva contiene 4% de este ácido graso en tanto que el aceite de girasol contiene 66.2%. Además el contenido del mismo tipo puede variar casi el doble al provenir de dos fuentes distintas; también si el

almacenamiento del aceite vegetal no ha sido el adecuado, el aceite puede estar rancio debido a la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, lo cual no sólo reduce los nutrimentos esenciales sino que los reemplaza con peróxidos tóxicos (Bautista *et al.*, 1994).

Las proteínas son polímeros de L- α -aminoácidos, que tienen en su estructura un grupo amino, un grupo carboxilo y un átomo de hidrógeno unido a un átomo de carbono conocido como carbono α , al cual se une un sustituyente variable designado como "grupo R" o cadena lateral; 19 de los 20 aminoácidos solo se diferencian en el grupo R, la prolina por su parte se distingue porque su cadena lateral es una estructura cíclica que incluye al nitrógeno del grupo amino. De las dos formas estereoisoméricas en que existen los aminoácidos, los que componen las proteínas son los de tipo L. Los grupos amino y carboxilo de los aminoácidos pueden ionizarse a diferentes pH, estando ionizados ambos grupos dentro de los límites fisiológicos de pH (5-8). Algunos aminoácidos son más abundantes en las proteínas, por ejemplo, la cisteína, el triptófano y la metionina se encuentran en pocas cantidades con respecto a la valina, la leucina, el ácido aspártico y el ácido glutámico, los cuales son más abundantes. En las células muchas proteínas son alteradas después de ser sintetizadas en los ribosomas, estas alteraciones pueden clasificarse en dos categorías: modificaciones químicas y modificaciones por procesamiento. Las modificaciones químicas implican la unión de grupos químicos en los extremos NH o CO terminales, o bien en los grupos reactivos de las cadenas laterales de aminoácidos internos, los diferentes tipos se describen a continuación: La **Acetilación** es la adición de un grupo acetilo al grupo N terminal. Es una de las modificaciones más comunes, aproximadamente el 80% de las proteínas la presentan. La **Adición de un ácido graso** es el proceso por el cual se agrega un ácido graso a un grupo N terminal de una proteína, actúa restringiendo ciertas proteínas a la membrana celular. La **Glicosilación** es la adición de un carbohidrato a la cadena lateral de los aminoácidos Asparagina, Serina y Treonina, constituyendo una importante modificación en las proteínas de la superficie celular. La **Fosforilación** es muy importante en las proteínas intracelulares, es la sustitución de los grupos OH de los aminoácidos Serina, Treonina y Tirosina por grupos fosfato. Sirve para regular la actividad de diferentes proteínas (González *et al.*, 2000).

Por lo general los insectos adquieren los aminoácidos a partir de las proteínas ingeridas, las cuales son degradadas enzimáticamente a aminoácidos y éstos se

absorben a través de la pared intestinal. La caseína (fosfoproteína de la leche) es una de las fuentes más comunes para la obtención de aminoácidos. Esta sustancia contiene cerca de 15 aminoácidos (con alrededor de 0.8% de cada uno) y puede ser obtenida también de frijol de soya. Se le utiliza con regularidad en la elaboración de dietas artificiales, pero su costo hace que haya una tendencia a disminuir su uso y se le sustituya por compuestos más baratos. Las levaduras o productos de ella son también fuentes alternativas de proteína. Las levaduras en uso para las dietas artificiales de insectos, incluyen las variedades "Brewer" y "Baker" de *Saccharomyces cerevisiae* y levaduras "torula" de *Candida utilis*. Los compuestos nitrógenados constituyen el 50% del peso seco de estas levaduras y las variedades "Brewer" y "Baker" proveen Cisteína y Tirosina en adición a los 10 aminoácidos esenciales. La levadura de la torula carece de Cisteína, Tirosina y Metionina. Aunque las levaduras son una buena fuente de aminoácidos, vitaminas, fósforo, lípidos, acilglicéridos y esteroides, carecen o son deficientes en otros compuestos. Por lo que, para balancear los nutrimentos se combinan con otros materiales como caseína, germen de trigo, vitaminas específicas y aminoácidos. El germen de trigo también es una fuente de proteínas ya que el 25% de su peso seco está constituido por aminoácidos incluyendo los tres que están en porcentajes muy bajos en la caseína (Cisteína, Glicina y Ácido Glutámico). El germen de trigo crudo tiene más de 45 enzimas viables, pero termolábiles (que fácilmente se pueden desnaturalizar por el calor) junto con un amplio espectro de lípidos, carbohidratos, minerales y vitaminas. Cuando está crudo no es un producto estable debido a que el proceso de separación de los granos no es suficiente para desnaturalizar las enzimas, por lo que es más estable y nutritivo cuando se encuentra tostado. Es un producto que con frecuencia se adiciona a las dietas por su bajo costo y propiedades nutricionales. El frijol de soya y varios de sus derivados compiten con el germen de trigo en cuanto a fuente de proteínas para dietas artificiales de insectos. Los derivados pueden ser proteína de soya, harina de soya y harina de soya sin lípidos, la soya y algunos de sus derivados cuando están crudos contienen un factor antitrófico que inhibe el crecimiento. El calentamiento de 80-90°C por 3 horas o en autoclave por 15 minutos a 120°C desactiva dicho compuesto tóxico, el cual puede también por inmersión del frijol de soya crudo en agua. La soya es rica en proteína y contiene otros nutrimentos como carbohidratos y lípidos. Al igual que las levaduras y el germen de trigo los productos de soya varían respecto a la variedad del frijol, ambiente en el que crece, tipo de procesamiento y almacenamiento. Generalmente esta fuente de proteínas es utilizada

para la preparación de dietas de lepidópteros y algunos coleópteros. Otra fuente de proteínas son las derivadas de las algas *Spirulina platenses* y *S. geitheri*; esta última fue usada como sustituto de la caseína, harina de soya y germen de trigo para la cría de *Heliothis* sp. (Lepidoptera: Noctuidae) con buenos resultados (Bautista *et al.*, 1994).

La gran mayoría de las reacciones celulares están catalizadas por enzimas. La actividad de muchas de éstas depende de moléculas pequeñas o de iones metálicos, por ello son nombrados como coenzimas. Algunas veces las coenzimas se adhieren al sitio activo de la enzima permanentemente formando una holoenzima, en este caso al polipéptido que resulta catalíticamente inactivo se le llama apoenzima. Muchos compuestos que actúan como coenzimas son vitaminas, se trata de moléculas de bajo peso que no son sintetizadas por el organismo y son suministradas en los alimentos. Existen varios mecanismos por los cuales se regula la actividad enzimática: La **regulación alostérica**, ocurre cuando la enzima se une reversiblemente a un sitio de la enzima diferente del sitio activo, se conoce también como efecto alostérico. La **modificación covalente**, tiene lugar cuando se agrega un grupo fosforilo al grupo hidroxilo de una Serina, Treonina o Tirosina; esta adición cambia la conformación completa de la enzima, la cual evita el reconocimiento o la entrada del sustrato al sitio activo. La **proteólisis limitada**, se presenta cuando la activación se da por eliminación proteolítica (hidrolisis) de un fragmento corto del extremo amino de la enzima. La pérdida del fragmento causa un cambio en la conformación de la molécula, de manera que resulta en una enzima activa. Este proceso es irreversible. El **control de la producción y recambio enzimático**, es el aumento o disminución en la velocidad de la síntesis o degradación de una enzima, de modo que puede hablarse de la inducción o represión de la síntesis de una enzima. Algunos agentes químicos, incluyendo venenos o medicamentos afectan la actividad de algunas enzimas o inhibiéndolas de manera permanente o reversible, los inhibidores reversibles se clasifican como competitivos cuando sustituyen al sustrato en el sitio activo de la enzima y los no competitivos no impiden la formación del complejo enzima-sustrato, pero retardan o impiden la disociación de este complejo (González, *et al.*, 2000).

En gran número de insectos se han encontrado enzimas capaces de hidrolizar grasas neutras a glicerina y ácidos grasos libres. La mayoría de las lipasas implicadas muestran actividad máxima a valores de pH básicos, y bajo estas condiciones los ácidos grasos liberados forman jabones, que ayudarían a emulsionar la grasa no digerida

facilitando así la acción posterior de las enzimas hidrolíticas. La ingestión de hidratos de carbono, de proteínas o de grasas provee al sistema metabólico de sus requerimientos con relación al suministro de energía. Cualquiera de estos materiales puede ser oxidado por medio del Ciclo de Krebs y una parte de la energía capturada en enlaces de fosfato de alta energía para su utilización posterior por el organismo. Pero para el mantenimiento del sistema metabólico es necesario algo más que energía; tienen que ser sintetizadas enzimas, hay que disponer de varias clases de coenzimas y se requiere de elaborar diversas moléculas altamente complejas para que sirvan de componentes a la arquitectura intracelular y extracelular. Muchos de los compuestos necesarios para estos propósitos son suministrados a partir de los productos iniciales obtenidos por vías normales del metabolismo intermedio, pero hay otros compuestos que los insectos son incapaces de sintetizar y deben ser suministrados como elementos de la dieta, por lo que la necesidad de materias primas específicas de este tipo está asociada a la sustitución general de componentes de los tejidos, que se ha visto es una característica de los organismos vivos en general y que, por tanto, siempre está presente. Una de las principales dificultades para establecer dichos requerimientos de una forma exacta, es la presencia de distintos tipos de microorganismos en el canal alimentario de muchos los insectos, los cuales pueden desempeñar un papel específico en la digestión de algunos tipos de alimentos, pero además sirven como fuente de materias primas, en virtud de su capacidad para sintetizar una mayor variedad de moléculas orgánicas con respecto a sus hospederos (Bursell, 1974).

Asimismo, durante el curso de la sucesión normal de las poblaciones de éstos, muchas moléculas aprovechables para el insecto, quedan disponibles, al ser liberadas por la muerte y desintegración de los mismos. Por lo que es útil distinguir tres tipos distintos de requerimientos nutritivos (Bursell, *op. cit.*):

A) El requerimiento de aminoácidos específicos, (son necesarios para la elaboración de enzimas y otras proteínas). Puesto que estas moléculas son un constituyente principal de los organismos vivos, la necesidad de materia prima de esta categoría es sustancial, normalmente del orden de miligramos por gramo de materia seca de la dieta. Los aminoácidos se distinguen en esenciales y no esenciales, según tengan que ser suministrados en la dieta o puedan ser sintetizados a partir de fuentes no nitrogenadas. Los aminoácidos esenciales en los insectos son: Arginina; Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptófano y Valina. Los

mismos diez que son esenciales para la rata y para muchos otros mamíferos. Los aminoácidos no esenciales incluyen: Alanina, Ácido aspártico, Ácido glutámico y Glicina. Lo que no resulta sorprendente por el hecho de que los cetó-análogos de estos aminoácidos son miembros de la vía de degradación de los hidratos de carbono, de forma que pueden ser utilizados a partir de los precursores de los hidratos de carbono por el simple proceso de transaminación. También pertenecen a esta categoría la prolina y la hidroxiprolina. Que pueden ser derivados a partir del Ácido glutámico, al igual que la serina, que parece ser deriva a su vez de la glicina. La Tirosina y el aminoácido azufrado Cisteína no son esenciales con tal que sus precursores esenciales, la Fenilalanina y la Metionina, estén presentes en cantidad superior a los requisitos mínimos.

B) El requerimiento de ciertos lípidos, incluyendo ácidos grasos no saturados y esteroides, (son constituyentes importantes de las membranas celulares). Las cantidades requeridas son normalmente mucho menos de un miligramo por gramo de materia seca de la dieta. Los insectos presentan un requerimiento específico de colesterol o por algún precursor adecuado en forma de derivado de cadena corta tal como el ergosterol, el cual puede ser sustituido en muchas las especies. Otros derivados característicos de los tejidos vegetales como el estigmasterol o sistosterol, pueden satisfacer las necesidades de las especies fitófagas, pero normalmente no de las especies carnívoras. Muchos insectos sintetizan todos los ácidos grasos que necesitan a partir de fuentes no lipídicas; en algunas especies se ha demostrado la necesidad de ciertos ácidos grasos no saturados como el ácido linoleico en el caso de los lepidópteros.

Las vitaminas son un grupo de compuestos orgánicos de estructura química muy heterogénea y variado peso molecular. Algunas presentan estructuras muy parecidas a otros compuestos orgánicos, tales como la vitamina C con los azúcares, la vitamina D con las hormonas esteroideas y la vitamina B₁₂ con las porfirinas. Carecen de valor energético propio, necesarias en pequeñas cantidades para organismos heterótrofos y que éstos no pueden sintetizar por sí mismos y cuando lo hacen es en cantidades insuficientes, por lo que su aporte exógeno resulta esencial, basta con que éste sea mínimo y su ausencia puede causar alteraciones en procesos del metabolismo celular. Se dividen en dos grupos en función de su solubilidad. Las vitaminas liposolubles son: La vitamina A (retinol y β -caroteno), la vitamina E (tocoferol), la vitamina K (filoquinona o K₁ y menaquinona o K₂),

la vitamina D (colecalfiferol o D₃ y ergocalciferol o D₂). Las vitaminas hidrosolubles son: La vitamina B₁ (tiamina), vitamina B₂ (riboflavina), vitamina PP (ácido nicotínico), vitamina B₅ (ácido pantoténico), vitamina B₆ (piridoxina), vitamina B₈ (biotina), vitamina B₉ (ácido fólico), vitamina B₁₂ (cianocobalamida), vitamina C (ácido ascórbico). Todas las vitaminas son sensibles a diferentes agentes físicos y químicos. Las más sensibles son: La vitamina C: al calor, luz, humedad y oxidación; y la tiamina: al calor y a la luz. Siendo la menos sensible la niacina. Las vitaminas no participan en la formación de estructuras celulares ni tejido, tampoco experimentan degradación para liberar energía. Las vitaminas liposolubles participan en la transferencia de electrones y estabilización de las membranas celulares como agentes antioxidantes, o en reacciones de tipo hormonal y metabolismo del calcio. Las vitaminas hidrosolubles intervienen en el metabolismo intermedio (producción de energía a partir de fuentes endógenas y exógenas, así como la síntesis y degradación de componentes de las células y tejidos) (Bursell, 1974). Prácticamente en todos los procesos del metabolismo celular están implicadas las vitaminas; de ahí la importancia de asegurar un aporte suficiente (Entrala, 1995) para el mantenimiento de los organismos en condiciones de cultivo.

Debido a que los insectos pueden almacenar vitaminas en reservas suficientes para superar periodos de carencia temporal por cualquier causa, puede que en algunas especies no aparezcan síntomas de deficiencia en varias generaciones, si a esto se agrega el hecho de que el insecto pueda requerir pequeñísimas cantidades de estos nutrimentos. Con base en lo anterior, de manera general y evitando una contaminación por microorganismos, se han encontrado como constituyentes esenciales de la alimentación de los insectos en general, las siguientes vitaminas (Bursell, *op. cit*):

- A) Tiamina:** Constituyente de enzimas implicadas en la carboxilación y descarboxilación.
- B) Riboflavina:** Constituyente de las flavoproteínas, colabora en el transporte de hidrógeno.
- C) Ácido Nicotínico:** Constituyente de las coenzimas de deshidrogenación.
- D) Ácido Pantoténico:** Constituyente de la Coenzima A.
- E) Biotina:** Puede estar implicada en las reacciones de desaminación y descarboxilación.
- F) Colina:** Sirve como donante de grupos de metilo y es un constituyente de la acetilcolina y de algunos fosfolípidos.

Los siguientes nutrimentos constituyen un requisito de la dieta en la mayoría de los insectos, pero algunas especies pueden ser capaces de crecer y reproducirse sin ellas (Bursell, 1974):

G) Piridoxina: Coenzima de la transaminación.

H) Ácido fólico: Sustituto de la pteridina, sirve como coenzima en reacciones de transferencia de grupos que impliquen la combinación del ácido fórmico con bases y alcaloides.

Las siguientes vitaminas son sintetizadas, aparentemente, por la mayoría de las especies de insectos y no son necesarias como constituyentes de la dieta (Bursell, *op. cit*):

I) Carnitina: Sustancia que actúa como factor de transporte en la oxidación de los ácidos grasos (algunos tenebriónidos muestran excepcionalmente requerimientos de esta sustancia).

J) Vitaminas liposolubles. Incluyen las Vitaminas A, D, E y K.

Además de que los simbioses con frecuencia son capaces de producir estos nutrimentos para su hospedero, se ha encontrado que la niacina, vitamina del complejo B, es requerida por insectos de los órdenes Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Orthoptera y Siphonaptera. Las necesidades varían de acuerdo al organismo, por ejemplo, *Acyrtosiphon* sp. (Hemiptera: Aphididae) requiere ácido fólico, niacina, pantotenato de calcio, piridoxina y tiamina, sin embargo, no necesita biotina ni ácido p-aminobenzoico (necesario para la síntesis del ácido fólico). En el caso de *Myzus* sp. (Hemiptera: Aphididae), la riboflavina, (una vitamina comúnmente requerida por insectos) es negativa para el crecimiento de éste. Muchos insectos fitófagos, requieren en su dieta ácido ascórbico, sin embargo como se había mencionado anteriormente algunos son capaces de sintetizarla vía metabolismo propio o por simbioses. Además de que el ácido ascórbico o vitamina C en dietas artificiales tiende a degradarse rápidamente, esto puede conducir a una inconsistencia en las dosis dependiendo de la temperatura durante la preparación de la dieta. Las dosis óptimas representan la cantidad al inicio del cultivo de insectos y deben satisfacer los requerimientos mínimos a través del desarrollo y crecimiento del insecto. Al igual que otras vitaminas, el ácido ascórbico se debe agregar a la dieta cuando ésta se encuentra alrededor de 40°C o menos. Las vitaminas liposolubles D, E y K pueden no ser incluidas en la dieta artificial, aunque en algunos casos tienen efectos positivos en el crecimiento de algunas especies de insectos en condiciones de

cultivo (Bautista *et. al.*, 1994).

Por otra parte, las sustancias que actúan como fagoestimulantes pueden tener algún valor nutricional, o solamente estimular a los organismos a tomar el alimento; carbohidratos, proteínas, aminoácidos, lípidos, esteroides, sales, vitaminas, celulosa, agar, monofosfato de guanina, terpenos y una gran variedad de aldehídos orgánicos tienen propiedades fagoestimulantes para varios insectos. Los azúcares son probablemente los estimulantes más importantes para inducir la alimentación de los fitófagos. En el caso de algunas larvas de la Familia Bombycidae, se encontró que fueron estimuladas por sucrosa y en menor grado por glucosa. Las proteínas y los aminoácidos son otra clase importante de nutrientes que estimulan la alimentación. El efecto de las proteínas está probablemente relacionado con su contenido de aminoácidos, aunque las impurezas también pueden producir un efecto.

En *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) se encontró que la caseína tiene un ligero efecto fagoestimulante y que se incrementa la alimentación de este insecto en presencia de l-alanina, dl - α -amino-n-ácido butírico, l-serina y l-treonina. Los lípidos también pueden estimular la actividad de alimentación en otros insectos, como es el caso de los esteroides vegetales: β -sitosterol, estigmasterol, comopsterol, así como el aceite del germen de trigo son potentes estimulantes para que las larvas de bombycidos se alimenten, se ha registrado también que la lecitina y el fosfatidil-inositol, aislados de esta última biomolécula tienen un gran efecto en la respuesta alimentaria tienen el mismo efecto en acrididos. El aceite de mostaza glicósido sinigrina, encontrado en plantas crucíferas, estimulan la alimentación de las larvas de *Plutella maculipennis* (Lepidoptera: Plutellidae). El efecto fagoestimulante de la sinigrina también se ha demostrado en otros lepidópteros, en áfidos, así como en larvas de coleópteros. Otros fagoestimulantes no son componentes con algún valor nutricional lógico o significativo y su función puede ser únicamente para incitar a los insectos a que se alimenten. Los químicos específicos que inducen una respuesta alimentaria igualmente favorable de algunos insectos, además de aquellos relacionados con las crucíferas (Brassicaceae) como son: metil-cavicol, así como otros componentes de aceites esenciales de umbelíferas son necesarios en la alimentación de especies de *Papilio*; la hipericina en la alimentación de algunos crisomélidos, que consume especies del género *Hypericum* (Singh, 1982); el catalpol y la aucubina, glicósidos iridoides (Seigler, 1998) pertenecientes a un grupo de moléculas denominados terpenos funcionan en el caso de *Junonia coenia* (Ellis y Bowers, 1998) y

Euphydryas cynthia (Seigler, *op. cit.*). Las cucurbitacinas estimulan al escarabajo del pepino; y los glicósidos cianogénicos faseolunatinos y lutaustrinos al escarabajo del frijol mexicano *Phaseolus* sp; y los terpenos para el caso de la familia Scolytidae (Singh, *op. cit.*).

En el caso de una dieta artificial, la formación de un gel es un estado ideal para que ésta se mantenga hidratada y firme a la vez, también puede soportar el peso del insecto durante la alimentación. El producto más comúnmente utilizado para éste fin, es el agar, un éster sulfúrico de un polisacárido complejo extraído de *Gelidium* y otras algas. El agar se combina ordinariamente con iones metálicos tales como Na⁺ (sodio), K⁺ (potasio), Ca⁺ (calcio), y Mg⁺ (magnesio) que interactúan con los grupos sulfúricos de la molécula de agar y causan la gelificación. Generalmente el agar no se considera un componente nutricional de la dieta y es el agente preferido para solidificar dietas de lepidópteros (Bautista *et al.*, 1994).

La mezcla de sales de Wesson (Wesson's SALT mixture) está diseñada para mamíferos, con grandes cantidades de Calcio (Ca), Hierro (Fe) y Sodio (Na) y solamente el nivel de Calcio en esta mezcla sería tóxico para *Blattella germanica* si se le suministrara con una dieta artificial (Nation, 2002), sin embargo, esta mezcla modificada (cuadro 5) de sales se sigue suministrando en dietas artificiales para lepidópteros (Rosas y Villegas, 2008), aunque también se ha sugerido utilizar como referencia para determinar las proporciones de sales más adecuadas para insectos las proporciones de los elementos traza en el alimento habitual del insecto (Bautista, *op. cit.*).

Las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos presentan en su estructura los siguientes elementos: Azufre (S) y Fósforo (P) (González *et al.*, 2000), que se encuentran en sulfatos y fosfatos respectivamente, las cuales son incluidas en dietas artificiales. También los insectos necesitan de pequeñas proporciones de elementos como Calcio (Ca) y Hierro (Fe); asimismo los fitófagos aprovechan en mayor medida el Sodio (Na) y el Potasio (K) en los sistemas excretor y neuromuscular (Scoble, 1992). Los áfidos pueden sobrevivir con pequeñas fracciones de Manganeso (Mn), Zinc (Zn) y Cobre (Cu). En el caso de las cucarachas se ha registrado que con bajos niveles de Manganeso y Zinc presentan una disminución de simbiontes en sus micetocitos. Otro elemento que pueden requerir en ínfimas cantidades es el Molibdeno (Mo), el cual es parte de la xantino deshidrogenasa implicada en el metabolismo de las purinas en los insectos (Nation, 2002). En general los iones derivados de las sales minerales contribuyen en el equilibrio osmótico en el medio interno de los organismos (Bursell, 1974).

A los lepidópteros adultos que se encuentren volando en cautiverio en una jaula o alguna otra área cerrada y no cuenten con flores para alimentarse, se les puede colocar comederos de esponja humedecidos en una solución al 10% de azúcar en 10 cm³ de agua, con 5 o 6 gotas de “Jugo Maggi[®]”, el cual es una solución de proteínas vegetales hidrolizadas que pueden contribuir a su mantenimiento (Jiménez, 1987), además de una solución de sacarosa o azúcar comercial al 15% (Rosas y Villegas, 2008), así como una solución de agua destilada con la mezcla de sales en las proporciones utilizada para el cultivo de las mariposas en estado larvario.

Se ha observado que los machos buscan tomar minerales, tanto de suelo húmedo, como de frutos maduras y desechos de animales; los cuales les ayudan a mantener el vuelo (Scoble, 1992); y que además, acumulan junto con otros nutrimentos tales como proteínas y carbohidratos en espermatozoides que durante el apareamiento transfieren a las hembras, las cuales a su vez, utilizan para incrementar su longevidad y hacer que los huevecillos sean menos apetecibles para los depredadores, aumentando así las posibilidades de sobrevivencia (Fellowes *et al.*, 2005).

8. Capítulo IV

8.1 Propuesta para la dieta artificial de *C. ehrenbergii*.

La dieta para *Chlosyne ehrenbergii* (cuadro 3) que se ha propuesto en este estudio fue con base a la información obtenida de cada uno de los compuestos en las dietas artificiales y proporciones que se han reportado por diversos autores, quienes las han suministrado a larvas de lepidópteros de las Familias Nymphalidae, Tortricidae y Crambidae, resultando favorables para el cultivo, tratamiento de enfermedades y problemas de alimentación de los organismos.

La dieta (Anexo A) consiste de los siguientes componentes: 1l de agua destilada (necesaria para mantener hidratados a los organismos): Agar-agar (37.5g), que no proporciona un aporte nutricional y que funciona como un agente gelificante que permite mantener firme el medio; caseína (62.5g), que sirve como fuente de proteínas y aminoácidos esenciales para las larvas, moléculas que forman los receptores de las células, bombas metabólicas, así como enzimas, las cuales regulan el metabolismo; colesterol (0.625g) que constituye una fuente complementaria de lípidos, empleados en la síntesis de reguladores de crecimiento como la ecdisona; sacarosa (62.5g) que proporciona principalmente carbohidratos y celulosa (50g) como fuentes de energía y formación de cutícula compuesta por quitina que es otro hidrato de carbono. Lo anterior fue calculado con base en el estudio de Drummond III *et al.* (1970), quienes obtuvieron 28 pupas de 85 larvas y solamente fue posible el cultivo de 3 generaciones después de suministrar la dieta artificial para el tratamiento de enfermedades y problemas en la alimentación en larvas del ninfárido *Chlosyne laicinia*, a partir de las proporciones de los ingredientes utilizados para preparar frascos con 80 ml de dieta, empleados inicialmente por Adkisson *et al.* (1960).

Esta propuesta se complementó con otros componentes en las siguientes proporciones: Germen de trigo (71.8g), como fuente adicional de proteínas, lípidos y carbohidratos, que ha sido suministrado con éxito a los organismos; mezcla total de vitaminas (15.85g); mezcla total de sales (11.01g). Las proporciones anteriores fueron estimadas después de valorar los resultados de Ellis y Bowers (1998) en el cultivo de los ninfáridos *Junonia coenia* y *Vanessa cardui*, donde solamente obtuvieron los mejores rendimientos con éste último; ya que para su cultivo, a la dieta artificial que emplearon, agregaron hoja seca en polvo de su planta nutricia *Plantago lanceolata*.

También se incluye para esta dieta el aceite de maíz, que contiene lípidos poliinsaturados, útiles como fuente alterna de energía y componentes estructurales de las membranas celulares. Este ingrediente fue utilizado inicialmente por Drummond III *et al.* (1970). La proporción de 18.3 ml en la dieta que se plantea, se basó en el valor de 1.825% de aceite esencial encontrado por Cruz (1931) en las hojas de *B. americana*, ya que Bautista *et al.* (1994) sugieren utilizar en dietas artificiales, las proporciones de ingredientes en función de los valores encontrados para los equivalentes de los compuestos en el alimento natural de los organismos que se estén trabajando, incluyendo elementos presentes en las sales minerales.

La formulación de cada una de las vitaminas (cuadro 4) dentro de la propuesta para la mezcla total (15.85g) incluyeron las siguientes: B₁ (hidrocloruro de tiamina) (0.029g), B₂ (riboflavina) (0.057g), B₃ (niacina) (0.116g), B₄ (cloruro de colina) (5.766g), B₅ (pantotenato de calcio) (0.116g), B₆ (hidrocloruro de piridoxina) (0.029g), B₇ (biotina) (0.002g), B₈ (inositol) (2.307g), B₉ (ácido fólico) (0.029g), B₁₂ (cobalamina) (0.231g) y E (α-tocoferol) (0.923g). Estas vitaminas son necesarias en el metabolismo celular, así como en la síntesis y degradación de componentes tisulares. Las proporciones fueron calculadas tomando en cuenta los resultados óptimos reportados por Rosas y Villegas (2008), después de haber obtenido altos rendimientos en el cultivo de *Argyrotaenia* sp. (Lepidoptera: Tortricidae) y que emplearon la que fue propuesta por Adkisson *et al.* (1960), conocida actualmente como la mezcla de Vanderzant para insectos, cuyos constituyentes se muestran en el catálogo de MP Biomedicals (2010).

Se contempló, complementar la mezcla anterior con las siguientes vitaminas (las cuales fueron empleadas por Andow y Stodola (2001) para evaluar los efectos en *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) de los antimicrobiales ácido sórbico, metil-parabeno, aureomicina y ácido propiónico en diferentes proporciones adicionados a una dieta artificial de germen de trigo-caseína-agar, que además reportaron resultados favorables en los tratamientos experimentales sin aureomicina y con una reducción del 50% en el ácido propiónico): A (acetato de retinol) (0.208g), B₁₀ (ácido p-aminobenzoico) (0.577g), C (ácido ascórbico) (5.189g), D₂ (ergocalciferol) (0.015g) y K₃ (menadiona) (0.26g). De acuerdo con Bursell (1974), las que corresponden al complejo B, son requeridas por insectos de los órdenes Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Orthoptera y Siphonaptera, asimismo las vitaminas A, D, E y K no son indispensables en las dietas artificiales, ya que pueden ser sintetizadas por la mayoría insectos, sin

embargo, Bautista *et. al.* (1994) mencionan que en algunos casos tienen efecto positivo en el crecimiento de las especies cultivadas, por lo que en la propuesta para *C. ehrenbergii* si son incluidas. Las vitaminas con sus sinónimos fueron tomados de Williams (2002) e Illera *et al.* (2000).

Para la mezcla total de sales (11.01g) (cuadro 5), que contiene elementos o micronutrientes (S) y (P) forman parte de las proteínas y lípidos que se encuentran en los seres vivos, asimismo contiene los elementos que se encuentran como iones en la hemolinfa de la mayoría de los insectos (Ca), (Fe), (Na), (K), (Mn), (Zn), (Cu), (Mg), (Co), (Mo) y (Al), que a su vez intervienen en procesos de transporte activo y pasivo para mantener un equilibrio osmótico, además del funcionamiento de los sistemas de excreción-acumulación y neuromuscular, así como la preservación de los simbiontes internos y la protección de los huevos, haciéndolos menos apetecibles para los depredadores. La cantidad de cada compuesto para ésta formulación en la dieta propuesta, se ha calculado a partir de las proporciones de Wesson para lepidópteros, como: Sulfato cúprico pentahidratado $[\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ (0.007g), sulfato de magnesio pentahidratado $[\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}]$ (1.576g), sulfato manganoso $[\text{MnSO}_4]$ (0.004g), sulfato de aluminio potasio dodecahidratado $[\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ (0.002g), cloruro de potasio $[\text{KCl}]$ (2.101g), yoduro de potasio $[\text{KI}]$ (0.0009g), fosfato de potasio monobásico $[\text{KH}_2\text{PO}_4]$ (5.428g), cloruro de sodio $[\text{NaCl}]$ (1.838g) y fluoruro de sodio $[\text{NaF}]$ (0.01g). Estos compuestos se consideran en estas proporciones dado que Willis y Allen (1999), utilizaron esta mezcla para evaluar el aprovechamiento del fosfato férrico amorfo (FePO_4) por larvas de *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Noctuidae), reportando que estas presentaron un desarrollo normal después de haberlo consumido como fuente de hierro, obteniendo mejores rendimientos con respecto a la forma cristalina de ese mismo compuesto.

También se han considerado en la propuesta, otras sales con sus respectivas proporciones (cuadro 5): Carbonato de calcio $[\text{CaCO}_3]$ (0.006%) (0.001g), Fosfato férrico dihidratado $[\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ (0.045%) (0.003g) y fosfato de calcio tribásico $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ (0.228%) (0.04g), que funcionan en forma similar a las ya señaladas en la mezcla total de sales; las cuales fueron cuantificadas en porcentaje por Partida (1990) y Cruz (1931) en dos especies de tepezán (*B. americana* y *B. parviflora*).

Finalmente, se incorporan a la mezcla total, las siguientes sales: Cloruro de cobalto hexahidratado $[\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (0.0000009g), cloruro de zinc $[\text{ZnCl}_2]$ (0.0000007g) y ácido molibídico amonio tetrahidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}]$ (0.0000007g), las cuales se

han incluido en el medio de cultivo IPL-41 para células de insectos (incluyendo lepidópteros) y que tiene propiedades de la hemolinfa de éstos organismos, dado a conocer por Sigma-Aldrich (2006).

Los antimicrobiales que se proponen a continuación, para ser incorporados en la dieta artificial de *C. ehrenbergii*, que de acuerdo con Bautista *et al.* (1994), ayudan a prevenir la desnaturalización por calor y presión en el proceso de esterilización de la dieta para el caso de vitaminas tales como el ácido ascórbico y la tiamina; estos agentes son: El ácido sórbico, metil parabeno, que inhiben el crecimiento de hongos; ácido acético al 25% y formaldehído al 10%, que inhiben el crecimiento de bacterias y la diseminación de virus. Los cuales además fueron empleados con éxito por Rosas y Villegas (2008).

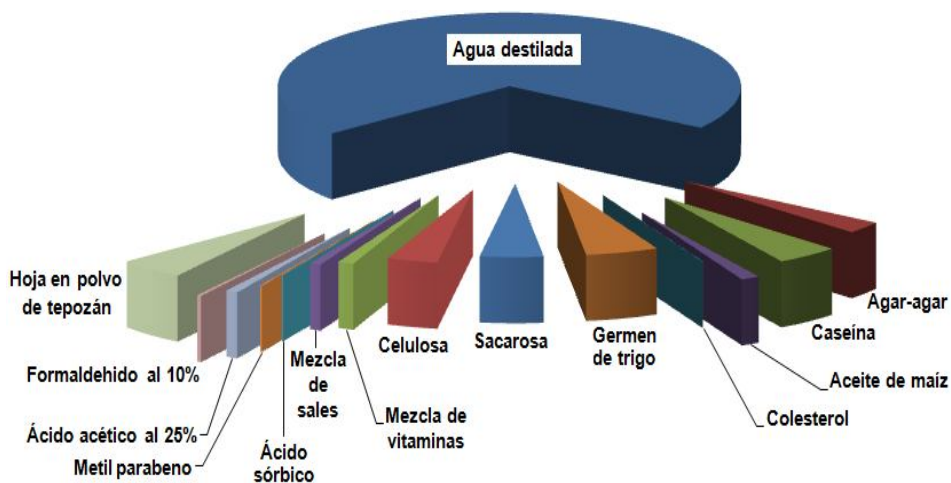
Se ha planteado también la adición de hoja seca en polvo, ya que proporciona a los organismos, terpenos, alcaloides y flavonoides que son utilizados para la coloración y absorción de luz UV en las alas como señalizadores de apareamiento, además que les permite localizar sitios de oviposición y también como fagoestimulantes, asimismo les proporcionan protección contra el ataque tanto de depredadores como de parasitoides (Anexos B y C). De acuerdo con Rodríguez *et al.* (1997) tal componente seco puede almacenarse hasta por 6 meses; asimismo es recomendable utilizar las hojas una sola especie de tepozán en cada dieta artificial que se prepare para *C. ehrenbergii* (Anexos A y B). La proporción de hoja en polvo en la dieta (66 g) está basada en uno de los porcentajes (6.59%) de metabolitos secundarios (taninos) encontrados por Cruz (1931) para las hojas de *B. americana*. Asimismo Ellis y Bowers (1998) añadieron hoja seca en polvo de una planta nutricia (*P. major*) en una dieta artificial, registrando mejores rendimientos para el cultivo de *V. cardui*.

A continuación se presenta la dieta artificial propuesta para *C. ehrenbergii* (Cuadro 3), donde se señalan las cantidades totales de cada uno de los constituyentes, incluyendo las proporciones de la mezcla total de vitaminas y sales, que se desglosan respectivamente en los cuadro 4 y 5.

Constituyentes	Cantidades
Agua destilada	1000ml
Agar-agar	37.5g
Caseína	62.5g
Aceite de maíz	18.3ml
Colesterol	0.625g
Germen de trigo	71.8g
Sacarosa (Azúcar)	62.5g
Celulosa	50g
Mezcla de vitaminas	15.85g
Mezcla de sales	11.01g
Ácido sórbico	1g
Metil parabeno	1.6g
Ácido acético al 25%	12ml
Formaldehido al 10%	4.4ml
Hoja seca en polvo de <i>B. cordata</i> (Dieta 1)	66g
Hoja seca en polvo de <i>B. americana</i> (Dieta 2)	66g
Hoja seca en polvo de <i>B. parviflora</i> (Dieta 3)	66g

Cuadro 3. Dieta artificial propuesta para *C. ehrenbergii*.

En la Gráfica 1 se muestran los porcentajes de cada constituyente en la dieta artificial para *C. ehrenbergii* (Cuadro 3), que son: Agua destilada (70.66%), germen de trigo (5.074%), hoja seca en polvo de tepozán (4.66%), sacarosa (4.417%), caseína (4.417%), celulosa (3.533%), agar-agar (2.65%), aceite de maíz (1.293%), mezcla de vitaminas (1.12%), ácido acético al 25% (0.848%) mezcla de sales (0.778%), formaldehído al 10% (0.311%), metil parabeno (0.113%), ácido sórbico (0.071%) y colesterol (0.044%).

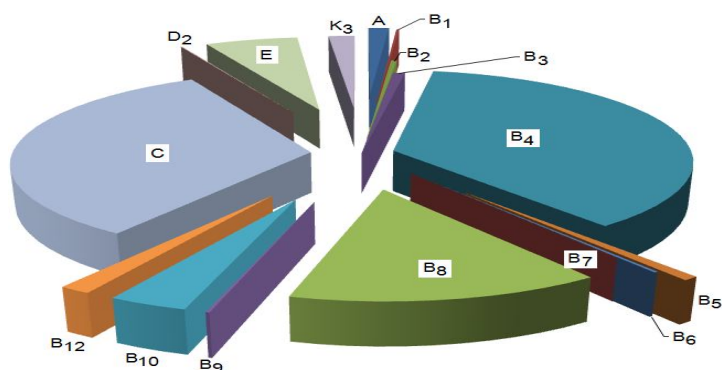


Gráfica 1. Porcentajes de los constituyentes de la dieta artificial propuesta para *C. ehrenbergii*.

Constituyentes	Cantidades (g)
Vitamina A (Acetato de retinol)	0.208
Vitamina B ₁ (Hidrocloruro de tiamina)	0.029
Vitamina B ₂ (Riboflavina)	0.057
Vitamina B ₃ (Niacina)	0.116
Vitamina B ₄ (Cloruro de colina)	5.766
Vitamina B ₅ (Pantotenato de calcio)	0.116
Vitamina B ₆ (Hidrocloruro de piridoxina)	0.029
Vitamina B ₇ (Biotina)	0.002
Vitamina B ₈ (Inositol)	2.307
Vitamina B ₉ (Ácido fólico)	0.029
Vitamina B ₁₀ (Ácido p-aminobenbenzoico)	0.577
Vitamina B ₁₂ (Cobalamina)	0.231
Vitamina C (Ácido ascórbico)	5.189
Vitamina D ₂ (Ergocalciferol)	0.015
Vitamina E (α-Tocoferol)	0.923
Vitamina K ₃ (Menadiona)	0.26
Total	15.85

Cuadro 4. Mezcla de vitaminas en la dieta artificial de *C. ehrenbergii*.

En la Gráfica 2 se observan los porcentajes de cada ingrediente en la mezcla de vitaminas (Cuadro 4): B₄ (36.37%), C (32.73%), B₈ (14.551%), E (5.822%), B₁₀ (3.64%), K₃ (1.64%), B₁₂ (1.457%), A (1.312%), B₃ (0.732%), B₅ (0.732%), B₂ (0.359%), B₁ (0.183%), B₆ (0.183%), B₉ (0.182%), D₂ (0.095%) y B₇ (0.013%).

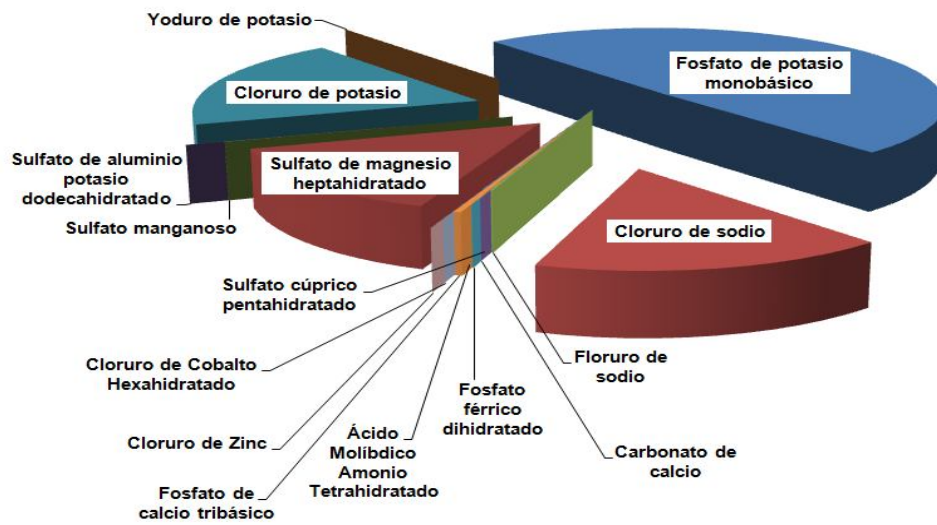


Gráfica 2. Porcentajes de la cada ingrediente utilizado en la mezcla de vitaminas de la dieta artificial propuesta para *C. ehrenbergii*.

Constituyentes	Cantidades (g)
Sulfato cúprico pentahidratado [CuSO ₄ ·5H ₂ O]	0.007
Sulfato de magnesio heptahidratado [MgSO ₄ ·7H ₂ O]	1.576
Sulfato manganoso [MnSO ₄]	0.004
Sulfato de aluminio potasio dodecahidratado [KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O]	0.002
Cloruro de potasio [KCl]	2.101
Yoduro de potasio [KI]	0.0009
Fosfato de potasio monobásico [KH ₂ PO ₄]	5.428
Cloruro de sodio (NaCl)	1.838
Fluoruro de sodio (NaF)	0.01
Carbonato de calcio [CaCO ₃]	0.001
Fosfato férrico dihidratado [FePO ₄ ·2H ₂ O]	0.003
Fosfato de calcio tribásico [Ca ₃ (PO ₄) ₂]	0.04
Cloruro de Cobalto Hexahidratado [CoCl ₂ ·6H ₂ O]	0.0000009
Cloruro de Zinc (ZnCl ₂)	0.0000007
Ácido Molíbdico Amonio Tetrahidratado [(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O]	0.0000007
Total	11.01

Cuadro 5. Mezcla de Sales en la dieta artificial de *C. ehrenbergii*.

En la Gráfica 3 se indican los porcentajes de cada compuesto en la mezcla de sales (Cuadro 5): Fosfato de potasio monobásico (42.3%), cloruro de potasio (19.081%), cloruro de sodio (16.63%), sulfato de magnesio heptahidratado (14.313%), fosfato de calcio tribásico (0.363%), fluoruro de sodio (0.091%), sulfato cúprico pentahidratado (0.064%), sulfato manganoso (0.036%), fosfato férrico dihidratado (0.027%), sulfato de aluminio potasio dodecahidratado (0.018%), carbonato de calcio (0.009%), yoduro de potasio (0.008%), cloruro de cobalto hexahidratado (0.000008%), ácido molíbdico amonio tetrahidratado (0.000006%) y cloruro de zinc (0.000006%).



Gráfica 3. Porcentajes de la cada ingrediente utilizado en la mezcla de vitaminas de la dieta artificial propuesta para *C. ehrenbergii*.

9. Conclusiones

Se tienen registradas 3 especies de tepozán del género *Buddleia* como planta nutricia para *Chlosyne ehrenbergii* que son: *B. cordata*, *B. americana* y *B. parviflora*.

Los análisis bromatológicos mostraron que las hojas de las tres especies de *Buddleia* contienen diferentes proporciones de proteínas, aceite esencial, carbohidratos, terpenos, alcaloides, flavonoides y sales minerales necesarios para *C. ehrenbergii*.

B. americana se ha caracterizado con más detalle que *B. parviflora* siendo las más adecuadas para el desarrollo de las larvas de *C. ehrenbergii* por su mayor contenido proteico con respecto a *B. cordata*.

El adecuado desarrollo, crecimiento y reproducción, así como la coloración de *C. ehrenbergii* requiere de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas, sales, además de los terpenos, alcaloides, flavonoides para poder ser mantenidos en condiciones de cultivo.

El incorporar los cuatro antimicrobiales a la dieta artificial propuesta para *C. ehrenbergii* permite un mejor aprovechamiento de la misma por los organismos, y además evitan que se contamine por hongos, bacterias y virus.

La dieta artificial propuesta, es una base para determinar los efectos de la ausencia, presencia o exceso de ciertos nutrimentos o compuestos químicos en estos insectos.

La dieta artificial propuesta es una herramienta útil en caso de no disponer en todo momento por cualquier causa de la planta nutricia en fresco, o bien para el caso de ser necesario, alternar la dieta artificial con hojas de la planta nutricia.

Las proporciones y porcentajes de los constituyentes pueden cambiar conforme a los resultados que se registren cuando sean empleadas para el cultivo de *Chlosyne ehrenbergii*.

10. Literatura citada

- Adkisson, P. L., Vanderzant, E. S., Bull, D. L. and Allison, W. E. 1960. A Wheat Germ Medium for Rearing the Pink Bollworm. *Journal of Economic Entomology*. 53(5):759-762.
- Andow, D. A. and Stodola, T. J. 2001. Detecting Subtle Effects of Diet Preservatives on European Corn Borer (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Entomological Science*. 36(3):285-296.
- Avedaño, G. A. 1996. Estudio de las flavononas y metabolitos secundarios de *Buddleia parviflora*. Tesis. Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 89pp.
- Bañuelos, P. J., Ruíz, L.M.A., Soltero, Q. R. y Castañeda, V. H. 2006. Lupinos del occidente de México. Estudio biológico, bioquímico y toxicológico. Coordinación General Académica. Universidad de Guadalajara. Jalisco, México. 23-27p.
http://books.google.com.mx/books?id=tnpS1sn__J4C&pg=PA20&dq=lupinos&hl=es&ei=1SxgTOHGDoP98AarmZ3rCQ&sa=X&oi=book_result&ct=book-thumb&resnum=1&ved=0CCsQ6wEwAA#v=onepage&q&f=false
(Consultado 9 junio 2010).
- Bautista, M. N., Vejar, C. G. y Carrillo, S. J. 1994. Técnicas para la cría de insectos. Talleres gráficos del Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. 11-72p.
- Beutelspacher, B. C. R. 1972. Como hacer una colección de mariposas. Tomo 1. Ed. Dirección General de Publicaciones de la UNAM. México, D. F. 83pp.
- Burghardt, F., Knüttel, H., Becker, M. and Fiedler, K. 2000. Flavonoid wing pigment increase attractiveness of female common blue (*Polyommatus icarus*) butterflies to mate-searching males. *Naturwissenschaften*. 87:304-307.
http://epub.uni-regensburg.de/2051/1/v087_p0304_mit_Cover.pdf
(Consultado 15 junio 2010).
- Bursell, E. 1974. Introducción a la Fisiología de los Insectos. Ed. Alhambra. Madrid, España. 348pp.
- Carter, D. 1992. Manuales de identificación. Mariposas Diurnas y Nocturnas. Ediciones Omega. Barcelona, España. 304pp.
- Cornejo, T. G. 2009. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Centro de documentación e imágenes.
<http://conabioweb.conabio.gob.mx/bancoimagenes/cgi-bin/ventanalmagenpl?idimagen=21195>

(Consultado 10 abril 2010).

Cruz, F. C. 1931. Análisis del Tepozán. Tesis. Licenciatura. Facultad de Ciencias e Industrias Químicas. UNAM. México, D. F. 67pp.

De la Maza, R. y De la Maza, J. 1987. Mariposas Mexicanas. Guía para su colecta y determinación. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 302 pp.

De la Maza, R. y De la Maza, J. 1993. Mariposas de Chiapas. Ed. Gobierno del Estado de Chiapas. México. 188pp.

Drummond III, B. A., Bush, G. L. and Emmel, T. C. 1970. The biology and laboratory culture of *Chlosyne lacinia* Geyer (Nymphalidae). Journal of the Lepidopterists' Society. 24(2):135-142.

Ellis, A. and Bowers, M. D. 1998. Effects of hostplant species and artificial diet on growth of buckeye (*Junonia coenia*) and painted lady (*Vanessa cardui*) caterpillars (Nymphalidae). Journal of the Lepidopterists' Society. 52(1):73-83.

Entrala, B. A. 1995. Vitaminas: Aspectos prácticos en medicina. Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid, España. 3-9p.

http://books.google.com.mx/books?id=XtNctPFkRggC&pg=PA39&dq=Entrala+Vitaminas&hl=es&ei=cTJgTPi7HMGB8gbRn9XEDQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CDAQ6AEwAQ#v=onepage&q&f=false

(Consultado 9 junio 2010).

Escalera G. G. I. 2006. Propuesta para la estandarización del método de cría de *Leptophobia aripa* Boisduval (Lepidoptera: Pieridae), en la FES Iztacala. Tesis. Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México, México. 31pp.

Fellowes, M. D. E., Holloway, G. J. and Rolff, J. 2005. Insect Evolutionary Ecology. CABI Publishing. London, UK. 49-53p.

http://books.google.com.mx/books?id=hS9V81dl1FEC&printsec=frontcover&dq=Fellowes+insect&hl=es&ei=DjNgTPiLJst58Abu4am2DQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false

(Consultado 11 junio 2010).

González, M. S., Peñaloza, C. I., Perales, V. H. V., Salcedo, A. M. O., Sánchez, C. S., Vázquez, M. J., Flores, O. C., Quintanar, Z. R., Delfín, A. I., Chino, V. S., Ruíz, P. P. y Moreno C. R. 2000. Biomoléculas: Manual de laboratorio. ed. 5ª. Ed. Coord. Editorial ENEP Iztacala. Tlalnepantla, Méx. 1-67p.

Illera, M. M., Illera, P.J. e Illera, P. J. C. 2000. Vitaminas y minerales. Estudios complutenses. Madrid, España. 6-7, 32, 42p.

- Jiménez, C. G. 1987. Reproducción, mantenimiento y cultivo en laboratorio de *Sandía xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). Tesis. Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 99pp.
- Martínez, F., Espinosa, G. M. T., Maldonado, G., Uribe, A., Flores, O., Milán, R., García y C. 2001. Monografía: El colesterol es esencial en el desarrollo embrionario y en el crecimiento celular. Revista de la Facultad de Medicina UNAM. 44(4):168-176.
<http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2001/un014g.pdf>
 (Consultado 11 junio 2010)
- MP Biomedicals. 2010. Vanderzant Vitamin Mixture for Insects.
http://www.mpbio.com/product_info.php?family_key=02903244&country=223
 (Consultado el 24 mayo 2010).
- Nation, J. L. 2002. Insect Physiology and Biochemistry. Ed. CRC Press. Florida, U.S.A. 571pp.
- Navarro, A. G. 2001. Determinación de la calidad nutritiva de cuatro plantas forrajeras (*Amelachier denticulada*, *Buddleia cordata*, *Cotoneaster pannosa* y *Dodonaea viscosa*) como alternativa para la alimentación de caprinos y ovinos. Tesis Licenciatura. FES Cuautitlán. UNAM. México, México. 36pp.
- Partida, I. H. 1990. Caracterización de dos plantas utilizadas como forrajeras, de los géneros *Buddleia* sp. y *Canna* sp., en la Sierra de Juárez, Oaxaca. Tesis. Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 12-58p.
- Peñuelas, J., Sardans, J., Stefanescu, C., Parella, T. and Fililla I. 2006. *Lonicera implexa* Leaves Bearing Naturally Laid Eggs of the Specialist Herbivore *Euphydryas aurinia* have Dramatically Greater Concentrations of Iridoid Glycosides than other leaves. Journal of Chemistry Ecology. 32:1925-1933.
<http://www.creaf.uab.es/ecophysiology/pdfs%20grup/pdfs/penuelas-et-al-jchem ecol2006.pdf>
 (Consultado 12 junio 2010).
- Rodríguez, R. L. E., Gutierrez, G. Y. y Quintero, R. 1997. Estudio farmacognóstico y valoración del extracto fluido obtenido de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2(2):26-29.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-479619970002000 06
 (Consultado 14 junio 2010).

- Rosas G. N. M. y Villegas, M. J. M. 2008. Bionomics of a novel species of *Argyrotaenia* (Lepidoptera: Tortricidae) presents in mexican avocado orchards. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*. 24(1):129-137.
- Rubí, V. N. V. 2009. Efecto de la reducción de temperatura en el estado pupal de *Chlosyne ehrenbergii* (Lepidoptera: Nymphalidae). Tesis. Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México, México. 12-14p.
- Scoble, M. J. 1992. *The Lepidoptera Form, Function and Diversity*. Oxford University Press. New York, U.S.A. 20-22p.
http://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=gnpd_5iNTiwC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Scoble+lepidoptera+form&ots=u6hKwfq5Nc&sig=uBAgS0Aq3uNclu0uUmlURQzmxgM#v=onepage&q&f=false
 (Consultado 14 junio 2010).
- Secretaría Distrital de Ambiente. 2006. Alcaldía Mayor de Bogotá. Fichas técnicas por especie: *Buddleia americana*.
<http://www.dama.gov.co/dama/libreria/php/decide.php?patron=03.1305020113&numm=10> (Consultado 12 abril 2010).
- Seigler, D.M. 1998. *Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. Massachuseetts, U.S.A. 361-363p.
- Sharma, O. P. 2009. *Plant Taxonomy*. ed. 2nd. Ed. McGraw-Hill. New Dehli, India. 12, 389 p.
http://books.google.com.mx/books?id=_px_WAwHiZIC&pg=PR17&dq=sharma+plant+taxonomy+2nd&hl=es&ei=zV5gTKW3llr6sAOEpZz-Bw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCsQ6AEwAA#v=onepage&q=sharma%20plant%20taxonomy%202nd&f=false
 (Consultado 18 junio 2010).
- Sigma-Aldrich, 2006. IPL-41 Insect Medium With L-Glutamine, Without Calcium Chloride and Sodium Bicarbonate.
<http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Formulation/i7760for.Par.0001.File.tmp/i7760for.pdf>
 (Consultado 4 junio 2010)
- Singh, P. 1982. *Artificial diets for insects, mites and spiders*. ed. 2nd. Ed. IFI/Plenum Data. New York, U.S.A. 26-58p.
- Singh, P. and Moore, R. F. 1985. *Handbook of insect rearing*. Vol. II. Elsevier Science Publihers Ed. Amsterdam, The Netherlands. 210-246p.

- Schulz, S., Beccaloni, G., Brown, J. K. S., Boppré, M., Lucci, F. A. V. and Ockenfels, P., Trigo, R. J. 2004. Biochemical systematics and Ecology. 32:699-713.
- Soares, M. A., Zanuncio, J.C., Leite, G. L. D., Wermelinger, E. D. and Serrão, J. E. 2009. Does *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) use different defense behaviours against predators? Verwendet der Eukalyptusschädling *Thyriniteina* (Lepidoptera: Geometridae) unterschiedliche Verteidigungsstrategien gegenüber Räubern?. Journal of Plant Diseases and Protection, 116(1):30-33.
http://www.ulmer.de/Artikel.dll/soares_ODY1NDkz.PDF
 (Consultado 17 junio 2010).
- Tejero, D. J. D., Aguilar, R. S., Granillo, V. M. P., Pozos, B. G. N., Rico, M. R. y Abundiz, B. L. A. M. 1998. Plantae. Introducción al estudio de las plantas con embrión. ed 2ª. Ed. Coord. Editorial FES-Iztacala. UNAM. Tlalnepantla, México. 235-244p.
- Trigo, R. J. 2000. The chemistry of antipredator defense by secondary compounds in neotropical lepidoptera: facts, perspectives and caveats. Journal of the Brazilian Chemical Society. 6(11):551-561.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532000000600002&script=sci_arttext&tlng=en
 (Consultado 15 junio 2010).
- Universum Museo de las Ciencias, 2010. Sala Biodiversidad. Senda Ecológica. Guía de las plantas del sendero. *Buddleia cordata* (Tepozán).
<http://universum.unam.mx/sendero3.html>
 (Consultado 03 febrero 2010).
- Warman, G. J. 1996. Cultivo Extensivo y Comercialización de las mariposas de la región de Chapul, Chiapas (Etapa II). Informe Final del Proyecto C003 para la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Centro de Tecnología Electrónica e Informática. Camino Real a Xochimilco No. 60. Tepepan, Xochimilco, México, D.F. C.P. 16020. 12pp.
<http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfC003.pdf>
 (Consultado 25 enero 2005).
- Warren, A. D., Llorente, B. J. E., A. Luis, M. A y Vargas F. I. 2006. Listado interactivo de las Mariposas Mexicanas.
http://www.mariposasmexicanas.com/chlosyne_ehrenbergii.htm
 (Consultado 12 abril 2010).
- Williams M. H. 2002. Nutrición para la salud, la condición física y el deporte. ed. 5ª. Ed. Paidotribo. Barcelona, España. 157, 211- 213p.

Willis, R. B. and Allen, P. R. 1999. Measurements of amorphous ferric phosphate to assess iron bioavailability in diets and diet ingredients. *Analyst*. 124:425-430.

http://www.rsc.org/delivery/_ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=a807820c&JournalCode=AN

(Consultado 15 junio 2010).

11. Anexo A: Manejo de la dieta para los organismos

Los ingredientes secos pesados y los líquidos deben mezclarse bien en agua hirviendo, excepto el metil parabeno (mp), el ácido acético (aa), el ácido sórbico (as), formaldehído (f) y las vitaminas (v). Posteriormente, homogenizar todo, hasta que comienza a enfriarse. Cuando la dieta en estado líquido antes de gelificarse alcance menos de 65°C, se agrega el (mp), el (aa), el (as), y el (f); después de que éstos se hayan incorporado, se agregan las (v). Ya que éstos compuestos (mp, aa, as y f) inhiben el crecimiento de hongos, bacterias, así como la diseminación de virus en el medio de cultivo, asimismo después de aplicar el formol se requiere dejar aireando los recipientes con el medio gelificado por lo menos 24 horas antes de depositar a los insectos. Después de preparar la dieta, ésta debe ser suministrada de inmediato a los organismos, si hay sobrante, éste puede ser refrigerado por varios días.

Se procede a verter los siguientes volúmenes de dieta artificial en un recipiente de plástico transparente de 17.5cm de diámetro por 8.5cm de profundidad: 125ml para alimentar a 16 larvas en el primer estadio o 12 en el segundo, 200ml para 6 en el tercero o 4 en el cuarto y 250ml para 2 larvas en el quinto. Las tapas deberán estar bien ajustadas, perforadas y podrán estar cubiertas con un pedazo fino de malla, para evitar que los organismos escapen. En caso de que las propiedades organolépticas de la dieta artificial cambien, las larvas deben trasladarse a otro frasco. Los residuos de dieta dejados por las larvas y/o en estado de descomposición, deben descartarse con cuidado (Bautista *et al.*, 1994), para no provocar una diseminación de hongos o bacterias en el ambiente del laboratorio y desinfectando los contenedores con sulfato de cobre al 1% (Escalera, 2006).

Al obtener pupas, éstas se trasladan a una jaula, y al emerger los adultos, unos días después, se llevan al espacio donde puedan copular y ovipositar. Los huevos por lo general son dispuestos en contenedores de plástico transparente, tapados con tela de manta, poniendo en el fondo del mismo papel filtro o toalla que se mantenga de manera constante ligeramente humedecido (para que no se desarrollen hongos) para evitar la desecación de los huevecillos, éstos se pueden desprender de la hoja, o del sitio de oviposición cuidadosamente con ayuda de un pincel, en este caso es necesario un adecuado monitoreo de los mismos para trasladar de inmediato las larvas que eclosionen, ya que sólo pueden permanecer vivas por un máximo de 12 horas sin tomar alimento, esto se puede prevenir colocando los huevecillos, en el medio poco antes de la eclosión,

o bien disponer hojas de tepozán frescas y tiernas, poco antes de la eclosión dentro de los contenedores de plástico (Jiménez, 1987).

El mantener un contenido adecuado de agua en la dieta es un factor que causa dificultades en el cultivo de insectos. Las dietas hidratadas tienden a perder agua por evaporación, lo que causa diferentes concentraciones de agua dentro de la dieta y cambios en la textura y el sabor. Un efecto donde interviene el agua es la sinéresis (separación espontánea de un líquido del gel o suspensión coloidal, debido a la contracción del gel) proceso que ocurre cuando se deposita la dieta en el recipiente y se forma temporalmente una delgada película de agua donde se pueden ahogar las larvas recién eclosionadas. Antes de depositar las larvas pequeñas es conveniente eliminar de la superficie del medio el exceso de humedad con una toalla de papel estéril y posteriormente hacer pequeños surcos (escarificación) para que los organismos puedan alimentarse (Bautista *et al.*, 1994).

12. Anexo B: Importancia de los terpenos, alcaloides y flavonoides para los lepidópteros

Se ha reportado que las larvas de papiliónidos liberan una combinación de feromonas y terpenos para repeler el ataque de depredadores (Soares *et al.*, 2009).

Los iridoides (figura 7) que las larvas de lepidópteros consumen con las hojas de su planta nutricia son retenidos hasta el estado adulto, son además considerados como señalizadores de los sitios de oviposición (Peñuelas *et al.*, 2006), tienen un efecto fagoestimulante (Ellis y Bowers, 1998) y también sirven de protección contra el ataque de parasitoides (Peñuelas *op. cit.*).

Se ha reportado que la licopsamina, un alcaloide pirrozilidínico (Figura 15) proporciona protección contra depredadores y que en el caso específico de los machos de la subfamilia Ithomiinae es un precursor de la feromona sexual, como es el caso de la dihidropirrolizina metil-hidroxidanaidoato, y en el caso de las subfamilias Archtiinae y Danainae, es precursor de las feromonas sexuales hidroxidanaidal, danaidone y danaidal, sintetizados a partir de los alcaloides pirrozilidínicos (Schulz, *et al.*, 2003).

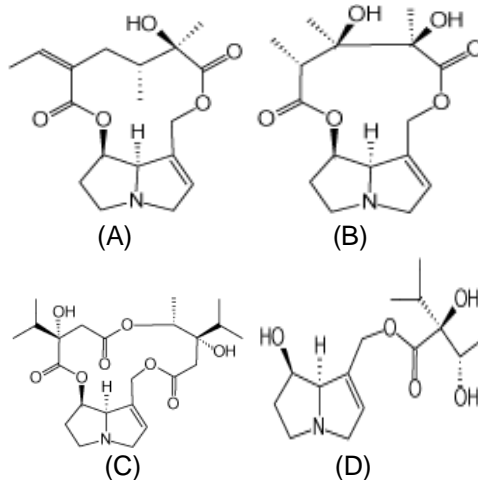


Figura 16. Alcaloides pirrozilidínicos (Trigo, 2000); (A) senecionina, (B) monocrotalina, (C) parsonsina y (D) licopsamina.

Se ha descrito que las hembras de *Polyommatus icarus* (Lepidoptera: Lycaenidae) acumulan en mayor proporción con respecto a los machos, flavonoides de sus plantas nutricias en sus alas, ya que al acumularlos en sus alas y al absorber así más luz ultravioleta (UV), empleando esta forma de comunicación visual, los machos pueden localizarlas con mayor facilidad para el apareamiento (Burghardt *et al.*, 2000).

13. Anexo C: La coloración en los lepidópteros.

Los colores amarillos, naranjas y blancos que ostentan los piéridos los producen las pterinas, pigmentos provenientes del ácido úrico. En otras familias, el blanco y los diversos tonos amarfilados son causados por las flavonas. Las melaninas producen el negro, el negro pardo y diversos tonos de café negruzco; el erythropterin, el rojo. Las coloraciones pigmentarias se mezclan con efectos ópticos dando por resultado efectos iridiscentes como en los diversos *Doxocopa*, *Piarides photinus*, *Battus laodamas*, entre otros (De la Maza, 1987). Las alas por sus colores, dibujos y disposición de las venas tienen gran importancia desde el punto de vista taxonómico (Beutelspacher, 1972).

14. Anexo D: Fórmulas para medir la eficiencia de una dieta artificial

Una dieta artificial puede ser suministrada a organismos en estadios maduros o inmaduros, asimismo en el caso de las que son suministradas a insectos adultos, es importante considerar que la calidad puede ser medida en base al número de huevecillos registrados después de la puesta, longevidad de los adultos, el tiempo en que ocurre la madurez sexual, la coloración, estos son algunos criterios fisiológicos influidos por los componentes incluidos en la formulación de las dietas, las cuales pueden no influir en alguna característica en los insectos pero si en otras.

Las siguientes fórmulas permiten realizar cálculos para evaluar la efectividad de una dieta artificial (Nation, 2002):

Tasa de Crecimiento Relativo (T.C.R.):

$$T.C.R. = \frac{(\text{Peso Seco Ganado})}{(\text{Días de Alimentación}) \times (\text{Peso Seco Inicial})}$$

Digestibilidad Aproximada (A.D.):

$$A.D. = \frac{(\text{Peso Seco del Alimento Ingerido}) - (\text{Peso Seco de las Excretas})}{(\text{Peso Seco del Alimento Ingerido})} \times 100$$

Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (E.C.I.) a Biomasa Corporal:

$$E.C.I. = \frac{(\text{Peso Ganado})}{(\text{Peso Seco del Alimento Ingerido})} \times 100$$

Eficiencia con la que el Alimento Digerido es Convertido a Biomasa Corporal (E.C.D.):

$$E.C.D. = \frac{(\text{Peso Ganado})}{(\text{Peso Seco del Alimento Ingerido}) - (\text{Peso Seco de las Excretas})} \times 100$$

Las medidas experimentales de las cuatro variables anteriores (T.C.R.), (A.D.), (E.C.I.) y (E.C.D.) requieren datos cuantitativos, tanto del alimento ingerido como de las excretas. Para lo cual es necesario pesar el alimento antes y después de que los insectos se hayan alimentado, así como separar las excretas manualmente del alimento no ingerido y también pesarlas.

La adición de Óxido Crómico al alimento que va a ser ingerido y análisis químico de las excretas es una técnica utilizada para vertebrados y algunos insectos, lo cual es un

indicador de la cantidad de alimento consumido; este método es útil si dicho compuesto es distribuido uniformemente en el alimento, si no altera la digestión o fisiología y no tiene efectos tóxicos para el animal y si no es absorbido desde el intestino. Para el método del Óxido Crómico, el Porcentaje de Alimento Ingerido que es utilizado está dado por la siguiente fórmula:

$$\text{P.A.I.} = \frac{\frac{(\text{Peso del Óxido Crómico})}{(\text{Peso Seco de la Cantidad Inicial de Alimento})}}{\frac{(\text{Peso del Óxido Crómico})}{(\text{Peso Seco de la Cantidad de Excretas})}} \times 100$$