INFORMACIÓN TÉCNICA

Estudio de la metodología de cría de *Diocalandra frumenti* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Dryophthoridae)

José Ramón Estévez Gil • Estrella Hernández Suárez
Elena Seris Barrallo

ICIA
INSTITUTO CANARIO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS

Gobierno de Canarias

4/2018

Estudio de la metodología de cría de *Diocalandra frumenti* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Dryophthoridae)

ICIA
INSTITUTO CANARIO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS

Gobierno de Canarias

Se autoriza la reproducción, sin fines comerciales, de este trabajo, citándolo como:

Estévez Gil, J.R.; Hernández Suárez, E.; Seris Barrallo, E. 2018. Estudio de la metodología de cría de *Diocalandra frumenti* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Dryophthoridae). Información Técnica Nº 4. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. 16 págs.

Agradecimientos

Servicio de Sanidad Vegetal. Dirección General de Agricultura. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas del Gobierno de Canarias.

D. Pedro Sosa Henríquez (Foto tomada en La Cogolla, Mogán, Gran Canaria). Por foto de portada.

Colección Información técnica Nº 4
Autores: José Ramón Estévez Gil, Estrella Hernández Suárez, Elena Seris Barrallo
Edita: Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, ICIA.
Maquetación y diseño: Fermín Correa Rodríguez (ICIA)©
Impresión: Imprenta Bonnet S.L.
ISSN 2605-2458

Estudio de la metodología de cría de *Diocalandra frumenti* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Dryophthoridae)

[1]Estévez Gil, José Ramón; [1]Hernández Suárez, Estrella;
[1]*Seris Barrallo, Elena

[1]Departamento de Protección Vegetal del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas del Gobierno de Canarias

1.- Introducción

Diocalandra frumenti (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Dryophthoridae) como especie alóctona en las Islas Canarias, supone una grave amenaza para la familia *Arecaceae*, con especial referencia a la palmera canaria, *Phoenix canariensis* Hort. ex Chabaud. Además, se trata de una amenaza para especies de palmeras del resto de España y países europeos. La EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) hasta 2011 la incluía en la lista de alerta para la Unión Europea, donde se categorizaba como plaga de cuarentena (EPPO, 2011).

Esta especie pasa por 4 fases en su desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto (fotos 1 y 2)

Figura 1 y 2. Larva y adulto de *D. frumenti*

*Dirección Actual: Unidad de Productos Fitosanitarios. Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Productos Fitosanitarios. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Los efectos de la actividad alimenticia de las larvas de *D. frumenti* ocasionan la desecación de las hojas de la corona de la palmera, comenzando desde las exteriores hacia las interiores. Este curculiónido excava galerías de 1 a 2 mm de diámetro, en tejidos sanos del tercio basal del raquis de hojas verdes, afectando a los haces vasculares y desencadenando graves daños a la palmera. Con ataques fuertes en un plazo de 6 a 8 meses la palmera puede secarse y morir. Los efectos externos se correlacionan con un amarilleamiento prematuro y el colapso de las hojas (Hill, 1983) (fotos 3, 4 y 5).

Figura 3, 4 y 5. Daños ocasionados en palmera

D. frumenti especie originaria del Sureste Asiático, se detectó por primera vez en España en 1998, en Maspalomas (San Bartolomé de Tirajana - Gran Canaria), afectando a la palmera canaria y siendo la primera cita de dicha especie en la zona paleártica (Salomone et al., 2000). Actualmente se tiene constancia de su presencia en todas las islas del archipiélago excluyendo la isla de El Hierro (Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias, datos no publicados).

D. frumenti está extendida en zonas tropicales y subtropicales de Asia, África, Australia y América Latina, lo que no se sabe es como ha llegado a la región EPPO, específicamente a Canarias desde territorios tan lejanos. La causa más evidente de su entrada en Canarias, es pensar en el tráfico comercial debido a la globalización. Este desconocimiento hace más evidente su extensión y la necesidad de cuidados, vigilancia y medidas estrictas para que no se convierta en una plaga de difícil control.

D. frumenti ha sido detectada en al menos 17 géneros de la familia Arecaceae, dentro de los cuáles se encuentran especies de palmeras de importancia económica cultivadas para la obtención de alimento, aceites o como plantas ornamentales. Los huéspedes principales son el cocotero (*Cocos nucifera* L.) y la palmera datilera (*Phoenix dactilífera* L.) (Hill, 1983). Otros huéspedes de menor incidencia son la palmera canaria (*P. canariensis*), la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.), la palma "nipah" (*Nypa fruticans* Wurmb) y un gran número de otras palmeras ornamentales. En las Islas Canarias se ha encontrado parasitando ejemplares de *P. canariensis, P. dactylifera* y sus híbridos, y en menor medida *C. nucifera* y *Washingtonia* spp.

El control de *D. frumenti* es difícil debido a su modo oculto de vida. Por la misma razón la detección del insecto es costosa. Desde 2014 se está llevando a cabo un proyecto de colaboración entre la Dirección General de Desarrollo Agrícola del Gobierno de Canarias, la empresa EPA (Ecología y Protección Agrícola), CEQA – IAM de la Universidad Politécnica de Valencia y el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, para la identificación y síntesis de la feromona de agregación de *D. frumenti*, así como se están desarrollando diversos sistemas de trampeo y monitoreo

con atrayentes alimenticios (Vacas et al., 2015; Seris et al., 2015).

Sin embargo, para lograr una adecuada estrategia de control de *D. frumenti* que contribuiría a un protocolo de actuación más efectivo y de obligado cumplimiento (Orden de 29 de octubre de 2007, BOC Nº 222) es necesario un mejor conocimiento de su biología, y para ello es indispensable establecer una adecuada metodología de cría en laboratorio que permita su estudio. Por esta razón, desde el Departamento de Protección Vegetal del ICIA, y de forma paralela a los otros estudios en realización sobre la plaga, se ha planteado el avanzar en los estudios realizados hasta el momento por González-Núñez et al. (2002), Díaz-González (2010) y Martínez-Santiago (2010).

2.- Objetivos

Esta publicación forma parte del Trabajo Fin de Grado con título homónimo y tiene como objetivo general el desarrollo de una adecuada metodología de cría en laboratorio de *D. frumenti*.

Los objetivos específicos en este trabajo fueron los siguientes:

- Determinación de un sustrato artificial óptimo para la oviposición. El establecimiento de una cría masiva en laboratorio es necesario para conseguir una idónea cantidad de material de partida (huevos) y por tanto hay que establecer una metodología apropiada para asegurar que los adultos de *D. frumenti* mantienen una capacidad adecuada de oviposición.

- Determinación de una dieta artificial óptima para el desarrollo larvario. El tipo de dieta utilizada para la cría en laboratorio es determinante para lograr el desarrollo apropiado de los insectos en cautividad, asegurando una alta tasa de supervivencia y una elevada capacidad reproductiva del insecto que se desarrolla en dieta artificial.

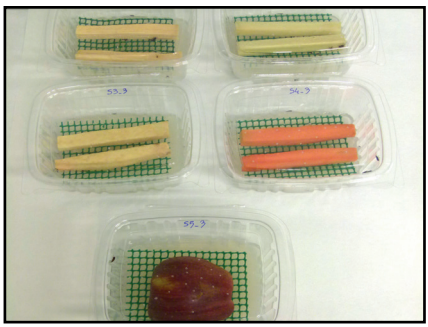
3.- Material y métodos

Se desarrollaron dos ensayos esenciales y necesarios para el conocimiento de la biología del insecto: la determinación de un sustrato

óptimo de oviposición y la evaluación de una dieta adecuada para la cría en laboratorio.

Ensayo 1: Determinación de un sustrato óptimo para la oviposición de *D. frumenti*

Se han utilizado 5 sustratos de los seis previamente establecidos: palmera canaria, caña de azúcar, batata, zanahoria y manzana. Los fragmentos de los sustratos tienen unas dimensiones de 9 cm de largo por 1 cm de ancho y 1 cm de altura, preparados sin epidermis. La manzana se utilizó fraccionada en dos partes y manteniendo su epidermis.
Se prepararon recipientes PET 500 ml, en cuyo interior se añadieron 100 ml de agar. Una vez enfriado y solidificado se colocó un trozo de malla de 9,5 cm de largo por 7 cm de ancho, sobre la cual se depositó el sustrato a evaluar. Se estableció un diseño al azar con 5 repeticiones para cada sustrato de oviposición, disponiendo en cada recipiente dos trozos del mismo (fotos 6 y 7).



Fotos 6 y 7. Sustratos de oviposición y su estado final en recipientes

Finalmente se colocaron 10 parejas de *D. frumenti* por cada recipiente y llevadas posteriormente a cámara climatizada transitable, a temperatura de 25±1ºC, humedad relativa del 70±10% y fotoperiodo de 0:24 horas de luz/oscuridad.
Se estableció un período de oviposición de 15 días, procediéndose a continuación a la retirada de los insectos.
Seguidamente, se dejaron durante 14 días más los recipientes únicamente

con el agar y los sustratos. Dado estudios preliminares se estableció contar larvas y no huevos, debido a la alta fragilidad y complejidad de detectar estos últimos. Tras este período se contabilizaron las larvas que pudieran haber bajado al agar situado en la parte inferior del sustrato.
A continuación, se cambió el sustrato a otro recipiente, conteniendo 100 ml de dieta 1 (tabla 1) en lugar de agar, donde permanecieron 21 días. Transcurrido este tiempo, se examinó cada sustrato contabilizando las posibles larvas que aún permanecían en su interior y no hubiesen bajado a la dieta. Finalmente, y transcurridos otros 14 días aproximadamente, se contabilizó las larvas presentes en la dieta relacionadas con cada sustrato.
Se estableció dos lecturas para las larvas presentes en los diferentes sustratos para poder considerar la heterogeneidad en la descendencia.

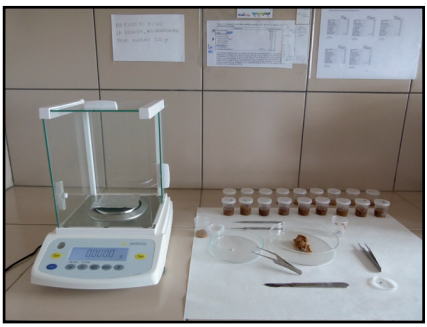
Ensayo 2: Evaluación de diversas dietas para el desarrollo larvario de *D. frumenti*

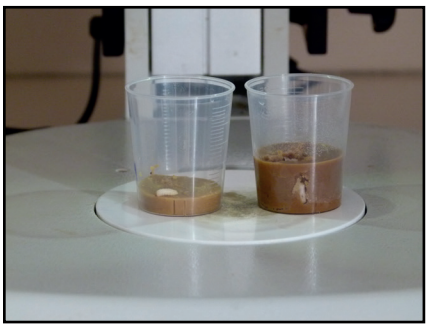
Inicialmente se tomaron 30 vasos unidosis preparados con 10 ml de una dieta estándar a la que se añadió en cada caso: miel de palma (dieta 1), azúcar de caña (dieta 2), salvado de trigo (dieta 3), bagazo de caña (dieta 4) y fibra de coco (dieta 5). La composición para 1 litro de cada dieta se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de las diferentes dietas

	Dieta 1	*Dieta 2*	*Dieta 3*	*Dieta 4*	*Dieta 5*
Agua destilada (ml)	880	880	880	880	880
Agar-agar (g)	20	20	20	20	20
Harina de maíz (g)	50	50	50	50	50
Germen de trigo (g)	50	50	50	50	50
Levadura de cerveza (g)	50	50	50	50	50
Ácido ascórbico (g)	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Ácido benzoico (g)	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Nipagina sódica (g)	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Clorafenicol (g)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamine mixture (g)	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Miel de palma (g)	105	-	105	105	105
Azúcar de caña (g)	-	65	-	-	-
Salvado de trigo (g)	-	-	7	-	-
Bagazo de caña (g)	-	-	-	7	-
Fibra de coco (g)	-	-	-	-	7

Seguidamente se colocó una malla de 2 cm^2 encima de la dieta, cuya finalidad fue separarla del sustrato. Como sustrato de oviposición se utilizó palmera con fragmentos de un centímetro cúbico.
A continuación, se colocó una pareja de adultos de *D. frumenti* en cada vaso unidosis y posteriormente dichos vasos fueron depositados en bandejas. La observación y manipulación de larvas, se realizó bajo luz artificial, durante intervalos de tiempo máximos de 10 minutos. Se realizaron 5 mediciones de los pesos con un intervalo de dos semanas aproximadamente entre cada una. En cada pesada se cambió la dieta respectiva y a partir de la segunda pesada se redujo a 1/3 la dieta establecida en un inicio (fotos 8 y 9).





Fotos 8 y 9. Procedimiento de pesada

A continuación y diariamente, se observó la evolución de las larvas en cada dieta, prestando especial importancia a la supervivencia y al cambio de estadio de desarrollo. El estadio de pupa se determinó por la presencia de los restos característicos de exuvia.
Finalmente se abordó el estudio de la biometría de los individuos que consiguieron llegar al estado adulto, tanto para hembras como para machos y el efecto de las cinco dietas en su desarrollo. Los adultos de laboratorio también se compararon con ejemplares procedentes de pupas recolectadas en campo. El análisis biométrico se realizó 48 horas después de la emergencia de cada individuo (foto 10).

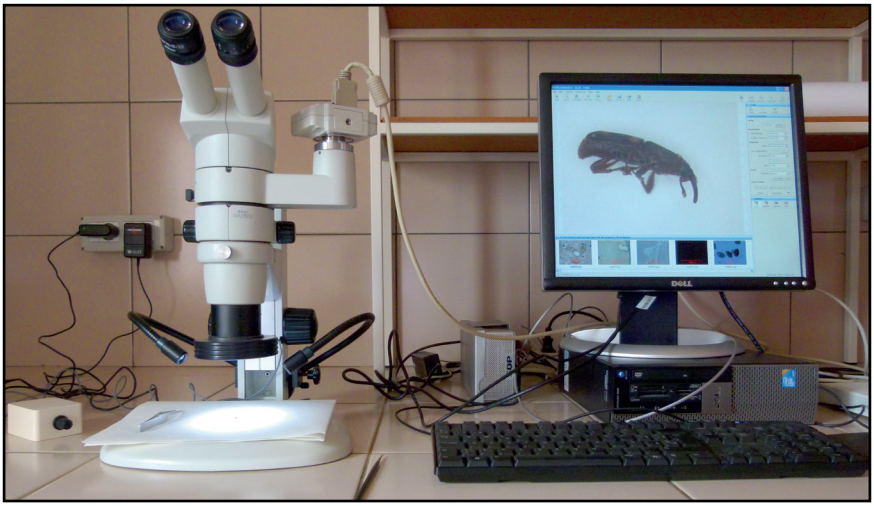


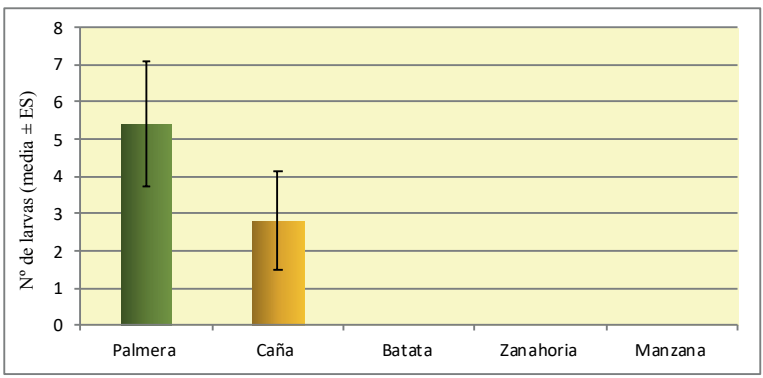
Foto 10. Equipo de medición del laboratorio de entomología

4.- Resultados

Ensayo 1: Determinación de un sustrato óptimo para la oviposición de *D. frumenti*

En la gráfica 1 se representa el número medio de larvas de *D. frumenti* contabilizadas para cada sustrato de oviposición.

Gráfica 1. Número medio de larvas de *D. frumenti* observadas para cada tipo de sustrato ensayado en condiciones de 25±1ºC, 70±10% y 0:24 L:O



De los 5 sustratos evaluados para la oviposición de D. frumenti, en tres de ellos no se han obtenido larvas, mientras que en los dos restantes, palmera y caña de azúcar se ha obtenido un número reducido. En el caso de la palmera, se ha obtenido un número medio de larvas de 5,40 ±1,69 con un rango de [1;11] y para la caña de azúcar de 2,80 ±1.32 con un rango de [1;8] (gráfica 1).

La palmera y la caña de azúcar han sido los sustratos de oviposición mejor valorados en este trabajo, aunque se debe seguir buscando un sustrato óptimo o más adecuado. El número medio de larvas obtenido no es suficiente para caracterizar un sustrato apropiado. La metodología llevada a cabo es un aspecto a revisar, donde las condiciones de los sustratos quizás no han sido las más adecuadas.

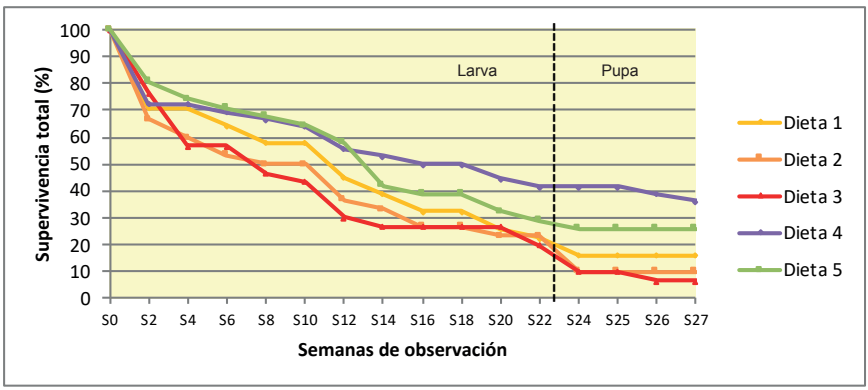
También González Núñez et al. (2002) utilizó con éxito caña de azúcar como sustrato de oviposición, por la experiencia tenida en otros curculiónidos plaga de palmeras (género *Rhynchophorus*).

Ensayo 2: Evaluación de diversas dietas para el desarrollo de *D.frumenti*

2.1 Supervivencia en las distintas dietas evaluadas

En la gráfica 2 se representa el porcentaje de supervivencia final (estadio larvario y estadio de pupa) obtenido a lo largo de las diferentes semanas de observación para cada dieta ensayada, concluyendo con la aparición del último imago del insecto, considerado para cada dieta ensayada.

Gráfica 2. Porcentaje de supervivencia final para las distintas dietas



Una vez analizada la supervivencia larvaria para las diferentes dietas se observa que la dieta 4 se comporta mejor a lo largo del tiempo, registrando una supervivencia del 41,67%. La adecuación de una dieta requiere un mayor porcentaje de supervivencia, por lo que las dietas ensayadas pueden considerarse mejorables.

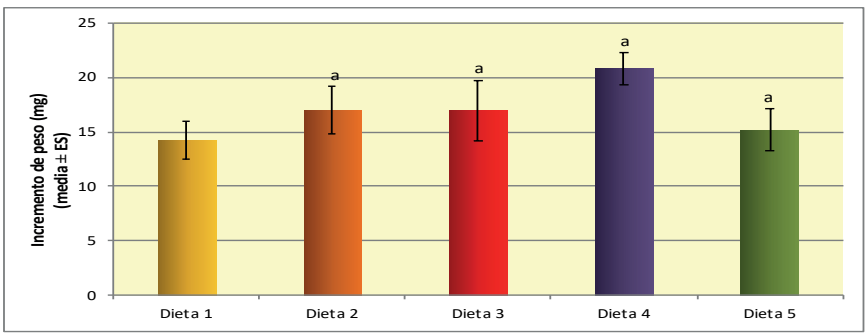
Aunque comparando nuestros resultados con la bibliografía consultada, en la que Martínez Santiago (2010) establece una supervivencia larvaria para *D. frumenti* del 15,67% y González Núñez et al. (2002) obtuvo en sus ensayos un 37,8% de supervivencia, podemos comprobar cómo hemos obtenido una supervivencia superior.

Los porcentajes de supervivencia de las larvas iniciales que han llegado a adultos son muy bajos. La dieta 3 ha registrado la menor supervivencia, un 6,67% concretamente. Las dietas 1 y 2 se comportan de forma similar, con un 16,13% y 10,00% respectivamente.

La dieta 4 con un 36,11% registra la supervivencia final más alta, aunque baja para una óptima metodología de cría, seguida por la dieta 5 con un 25,81%.

2.2 Incremento medio del peso de las larvas de *D. frumenti* tras la finalización del estudio.

En la gráfica 3 se representa el incremento medio del peso de las larvas de *D. frumenti* para las distintas dietas (peso final-peso inicial).



Gráfica 3. Incremento medio del peso experimentado por las larvas de *D. frumenti* al final del ensayo (peso final – peso inicial) para las distintas dietas. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas (ANOVA, P<0,05).

No se encuentran diferencias significativas en el incremento medio de peso experimentado por las larvas de *D. frumenti* en función de las diferentes dietas evaluadas ANOVA (F=1,95; g.l.=4; P=0,1108); aunque se observa un mayor incremento de peso en la dieta 4.

A la hora de comparar las distintas dietas evaluadas a pesar de que estadísticamente no se confirma la superioridad de la dieta 4 si se observa una tendencia de las larvas en dicha dieta a desarrollar un incremento de peso mayor, además de tener una mayor supervivencia en comparación con el resto de dietas. La repetición del ensayo con un número mayor de individuos probablemente confirmaría esta tendencia.

2.3 Efecto de las dietas sobre la biometría en adultos

En la tabla 2 se indican los valores medios (mm) de los parámetros medidos en los adultos de *D. frumenti*, según procedencia y sexo; así como, el número de ejemplares.

Tabla 2. Valores medios (mm) de los parámetros morfológicos medidos en el estado adultos de *Diocalandra frumenti*, según procedencia y sexo.

Procedencia		Adultos		media (mm) X±ES							
		Sexo	N	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8
Campo		♀	5	2,10±0,07	1,50±0,02	2,56±0,02	2,87±0,06	1,55±0,02	1,32±0,10	0,57±0,04	0,73±0,04
		♂	9	1,81±0,04	1,39±0,04	2,47±0,06	2,79±0,07	1,43±0,04	1,23±0,06	0,54±0,03	0,65±0,01
Laboratorio	Dieta 1	♀	5	2,72±0,03	1,99±0,08	3,44±0,11	3,97±0,13	2,06±0,07	1,75±0,01	0,86±0,04	0,81±0,03
		♂	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dieta 2	♀	3	2,74±0,03	2,01±0,11	3,58±0,15	3,99±0,15	2,09±0,11	1,71±0,01	0,79±0,06	0,79±0,00
		♂	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dieta 3	♀	1	2,62	1,92	3,31	3,7	1,95	1,79	0,79	0,81
		♂	1	2,32	1,82	3,13	3,5	1,86	1,69	0,81	0,83
	Dieta 4	♀	12	2,81±0,05	1,92±0,03	3,37±0,06	3,81±0,06	2,04±0,03	1,80±0,05	0,77±0,03	0,77±0,01
		♂	1	2,73	1,85	3,11	3,67	1,98	1,7	0,81	0,74
	Dieta 5	♀	5	2,52±0,03	1,92±0,07	3,43±0,09	3,83±0,13	2,09±0,05	1,67±0,04	0,70±0,04	0,78±0,02
		♂	3	2,34±0,02	1,82±0,03	3,03±0,16	3,58±0,19	1,93±0,07	1,63±0,02	0,75±0,02	0,75±0,03

Parámetros (mm): X_1= Longitud máx. de la cabeza, X_2= Anchura máx. del pronoto, X_3= Longitud máx. del élitro, X_4= Longitud máx. del abdomen, X_5= Anchura máx. del abdomen, X_6= Longitud del fémur de la pata posterior, X_7= Longitud de la tibia de la pata posterior y X_8= Longitud total de los tarsos de la pata posterior.

Se puede apreciar, en todos los parámetros medidos, una clara diferencia entre los adultos de campo y laboratorio. En general, se obtuvieron mayores valores en los individuos de laboratorio, tanto hembras como machos, que en los de campo. También se observa un mayor tamaño de los ejemplares hembra frente a los ejemplares machos en ambas procedencias. Dado el reducido número de ejemplares se puede decir, aunque de forma provisional, que hay una relación entre el tamaño y el sexo para esta especie.

5.- Conclusiones

Del estudio de la metodología de cría de *D. frumenti* se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. *D. frumenti* es capaz de poner huevos en palmera canaria y caña de azúcar; no observándose dicha capacidad para batata, zanahoria y manzana.

2. Se ha observado una tendencia de las larvas criadas en la dieta 4 (bagazo de caña) a obtener un mayor incremento de peso, mejorándose la supervivencia larvaria obtenida hasta el momento por otros autores en las crías en laboratorio.

3. Para todas las dietas ensayadas se obtuvo una duración del periodo larvario de *D. frumenti* superior al citado en la bibliografía, mientras que para la fase de pupa se obtuvieron valores similares; además los individuos obtenidos en la cría de laboratorio contaron con unas dimensiones superiores a los individuos procedentes de campo.

4. La escasez de información hace necesario establecer en un futuro nuevos estudios para avanzar en el conocimiento del insecto, tanto en su biología, técnicas de seguimiento y medidas de control.

6.- Bibliografía

DÍAZ GONZÁLEZ, Y. 2010. **Picudos de la palmera. Optimización de la dieta artificial y control mediante nematodos entomopatógenos**. Trabajo Fin de Carrera de Ingeniero Técnico Agrícola. Director/es: Carnero Hernández, A., Padilla Cubas, A. y Pérez Francés, J.F. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna.

EPPO, 2011. ***Diocalandra frumenti.*** **Alert List Data Sheet.** http://eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/insects/DIOCFR.htm.

GONZÁLEZ NUÑEZ, M.; JIMENEZ ÁLVAREZ, A.; SALOMONE, F.; CARNERO, A.; DEL ESTAL, P. y ESTEBAN DURAN, J.R. 2002. ***Diocalandra frumenti* (*Fabricius*) (Coleoptera: Curculionidae), nueva plaga de palmera introducida en Gran Canaria. Primeros estudios de su biología y cría en laboratorio**. Bol. San. Veg. Plagas, 28: 347-355.

HILL, D. 1983. **Agricultural insects in the tropics and their control.** Cambridge University Press. Cambridge. 746 pp.

MARTINEZ SANTIAGO, M. 2010. **Estudio sobre el comportamiento y aspectos de la biología de *Diocalandra frumenti* (Fabricius, 1801)**. Trabajo Fin de Carrera de Ingeniero Agrónomo. Director/es: Carnero Hernández, A., Padilla Cubas, A. y Pérez Francés, J.F. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna.

ORDEN de 29 de octubre de 2007(1833). S**e declara la existencia de las plagas producidas por los agentes nocivos *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) y *Diocalandra frumenti* (Fabricius) y se establecen las medidas fitosanitarias para su erradicación y control.** BOC. núm. 222, martes 6 de noviembre de 2007.

SALOMONE SUÁREZ, F.; CARNERO HERNÁNDEZ, A.; MARRERO FERRER, M. y GONZÁLEZ HERNÁNDEZ, A. 2000. **Presencia en la zona paleártica de *Diocalandra frumenti Fabricius* (Coleoptera, Curculionidae).** Boln. Asoc. Esp. Ent., 24 (1-2): 263-264.

SERIS, E.; CASAÑAS, N. y HERNÁNDEZ, E. 2015. **Desarrollo de un dispositivo de captura para *Diocalandra frumenti* (*Fabricius*), (Curculionidae)**. IX Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Poster presentado en XV Jornadas Científicas de la SEEA (Valencia), del 19 al 23 de octubre.

VACAS, S.; NAVARRO, I.; SERIS, E.; DE LEON, JM.; HERNÁNDEZ, E.; PRIMO, J. y NAVARRO-LLOPIS, V. 2015. **Metodología para el aislamiento e identificación de feromonas: el curculiónido *Diocalandra frumenti.*** IX Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Poster presentado en XV Jornadas Científicas de la SEEA (Valencia), del 19 al 23 de octubre.