

TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN IN VITRO E HIBRIDACIÓN DE MARIPOSAS Y POLILLAS AMAZÓNICAS PARA EL DESARROLLO DE UNA CADENA AGROCOMERCIAL EN LA SELVA PERUANA.

FUNDAMENTACIÓN DEL PROBLEMA

Caracterización del problema:

Problema central: La baja eficiencia de la reproducción de mariposas amazónicas bajo condiciones de tecnología media en la selva peruana, que limita la producción masal de especies e híbridos de alto valor comercial y el impulso de la competitividad de una cadena agrocomercial de mariposas y polillas amazónicas.

Problema central: La baja eficiencia de la reproducción de mariposas amazónicas bajo condiciones de tecnología media en la selva peruana, que limita la producción masal de especies e híbridos de alto valor comercial y el impulso de la competitividad de una cadena agrocomercial de mariposas y polillas amazónicas.

Causas: (a) Algunas especies de mariposas amazónicas son territoriales o requieren grandes espacios para reproducirse. (b) Enemigos naturales, principalmente parasitoides, afectan la producción de huevos bajo condiciones de tecnología media. (c) Se conoce poco sobre la biología reproductiva y compatibilidades genéticas interespecífico entre lepidópteras amazónicas de valor comercial.

Efectos: (a) Se incrementa el espacio mínimo requerido para la reproducción y costos de inversión en infraestructura, registrándose consecuentemente, baja productividad, e irregularidad en tiempo y producción. En algunos casos, debido a las exigencias particulares de algunas especies, la reproducción no se obtiene. (b) Bajo condiciones de campo se registran grandes pérdidas de huevos fértiles, ocasionando a su vez, la pérdida de los “pies de cría” e incumplimiento de las metas productivas comprometidas con el mercado. (c) Los procesos naturales no son aprovechados para mejorar la eficiencia de la reproducción; los hibridismos ocurren en forma natural y no responden a las necesidades de una producción masal uniforme, existiendo posibilidades de generar formas fenotípicas de alta demanda comercial que no son aprovechadas.

Hipótesis básica:

Los procesos naturales de reproducción e hibridación pueden ser inducidos artificialmente, eliminando algunas etapas del proceso, como cortejo y apareo, sin afectar el desarrollo embrionario.

Otras alternativas de solución:

Mayor inversión en infraestructura, lo cual es poco sostenible.

Justificación de la alternativa seleccionada:

La Región San Martín, ubicada en la selva alta del nor oriente peruano, se encuentra en una situación alarmante: con más de 1.3 millones de hectáreas deforestadas (30% del territorio) y una tasa de deforestación diaria del 0.28% (GRSM, 2005). La destrucción del hábitat original compromete seriamente la diversidad biológica y la calidad de vida de la población, reportándose oficialmente por lo menos 9 especies de fauna silvestre en vías de extinción y otras 43 en situación vulnerable (INRENA, 2004). Esta situación ha conllevado a declarar a la Región en “Emergencia Ambiental” (GRSM, 2005), no obstante, se requieren desarrollar alternativas económicas sostenibles, complementarias para las familias mestizas y de las etnias kechwa- lamas, awajun y shawi. Baumgartner et al. (2003) citando a Lamas (1996) afirma que en Gran Bretaña, Costa Rica y Estados Unidos, durante los últimos años ha tomado fuerza el comercio y “jardines de mariposas” inscritos bajo el concepto de ecomercio relacionado al ecoturismo. Por otra parte, agrega basándose en Brinckerhorff y Sabido (2002), que algunos de los principales países productores de pupas, adultos disecados y vivos, son Malasia, Filipinas, Tailandia, Taiwán, Kenya, Madagascar, Estados Unidos, El Salvador y Costa Rica. Según Callegari (2002, 2004), la colecta y comercialización ilegal, tanto de insectos como de otras especies de la biodiversidad de valor comercial en el Perú, es la forma común del negocio, que significaría más de 800 mil dólares anuales en ventas, sin que se haya estimado el impacto sobre las poblaciones de las especies más comerciales caracterizadas por sus rareza específica, varietal, por sus formas mutantes, aberraciones e hibridismos, las cuales son afectadas severamente por la deforestación con fines agrícolas. En el Perú, la producción de lepidópteros amazónicos con fines comerciales y educativos es una alternativa en proceso de desarrollo

(Amigos de Requena, 2003); actualmente existen tres zocriaderos formalmente autorizados: en Iquitos, Madre de Dios, y Tarapoto (INRENA, 2006). La tecnología empleada es relativamente sencilla; particularmente la desarrollada por Urku Estudios Amazónicos para condiciones de San Martín (Arévalo *et al.* 2005; Gonzáles *et al.* 2005; Jiménez *et al.* 2005; Sangama *et al.* 2005; Vecco *et al.* 2005; Vecco y Gonzáles, 2006) con el cofinanciamiento del FDSE- INCAGRO (2004- 2006). Esto permitió la implementación inicial de una pequeña cadena eco-artesanal en Tarapoto; sin embargo, los costos de producción para algunas especies de ciclo largo, como los morfines por ejemplo, son aún altos en comparación con los especímenes de menor calidad provenientes de colecta ilegal, lo cual restringe las ventas de los zocriaderos en el mercado nacional; mientras que por otra parte, los compradores demandan altos volúmenes de producción, que con respecto a especies valiosas de ciclo largo y baja eficiencia reproductiva no son posibles de atender (UEA, 2006). La baja eficiencia de la reproducción de mariposas y polillas amazónicas bajo condiciones de tecnología media se relaciona con que ciertas especies son territoriales o requieren grandes espacios para reproducirse (De Vries, 1987; UEA, 2006); y a la incidencia de enemigos naturales, principalmente parasitoides de los géneros *Telenomus* y *Ooencyrtus*, que afectan la producción de huevos (Jiménez, Gonzáles y Cave; 2005). El desarrollo de métodos más eficientes para la producción de lepidópteros de alto valor comercial, requiere de conocer mejor su biología reproductiva. El presente Proyecto propone la generación de técnicas sencillas de reproducción in vitro e hibridación de mariposas y polillas amazónicas, lo cual contribuirá a acelerar el proceso iniciado de desarrollo de una Cadena Agrocomercial de lepidópteros en la Selva Peruana. La intervención se basa en la hipótesis de que los procesos naturales de reproducción pueden ser inducidos artificialmente, eliminando algunas etapas del proceso, como cortejo y apareo, sin afectar el desarrollo embrionario; y en la evidencia de los procesos de hibridación natural observados por Mallet (1993), Joron (1999- 2006) y Abanto (2000), los cuales podrían inducirse en forma natural o artificial. La tecnología permitirá disminuir costos y elevar la productividad de lepidópteros, por la reducción del espacio mínimo requerido y menor tiempo de reproducción, así como la evitación de pérdidas de huevos fértiles. Independientemente del éxito de las técnicas de reproducción in Vitro, se generarán híbridos de valor comercial para el mercado de exportación. Adicionalmente, el Proyecto contribuirá al desarrollo de capacidades técnicas de investigadores locales y futuros clientes de servicios de asistencia técnica- comercial (productores), los cuales al término de la intervención habrán constituido unidades empresariales de producción (zocriaderos formalmente reconocidos), integando la Red de Servicios en Agroecología y Biodiversidad, constituida por la Alianza Estratégica.

Bibliografía.

- Amigos de Requena. 2003. Notas sobre la biología de Saturniidae *Rothschildia orizaba peruviana* (Westwood) en Casa de las Mariposas, Requena, Perú. Instituto Superior Tecnológico (IST)- Requena. 5 p. Mimeografiado.
- Arévalo, R. M.; Gonzáles, A. R.; Silva V. A.; Bardales P. R. y Vecco G. C. D. 2005. Preferencias en la oviposición de *Heliconius numata* Cramer, 1780 (Nymphalidae: Heliconiinae) con respecto a dos especies hospedantes, bajo condiciones de confinamiento en Tarapoto. In XLVII Convención Nacional de Entomología. Sociedad Entomológica del Perú, Ica. Resumen n° 20. s.p.
- Baumgartner, Z. E.; Castro, S. E.; Urquiza, R. M. R. y Vereau, L. V. 2003. Estudio de prefactibilidad para la instalación de un zocriadero de mariposas de la especie *Leptophobia aripa* para su comercialización mediante un servicio de liberación en matrimonios, en la ciudad de Lima. Proyecto para Ciclo de Profesionalización en Getsión Agrícola Empresarial. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. s. p.
- Callegari M. 2002 - 2004. Consultoría efectuada al laboratorio de producción "URKU estudios amazónicos" en el marco de las actividades del proyecto "Generación de tecnología para la producción de mariposas amazónicas con valor comercial en la región San Martín".
- Gonzáles, A. R.; Silva, V. A.; Bardales, P. R. y Vecco, G. C. 2005. Estudio de la preferencia en la alimentación de adultos de *Heliconius numata* (Nymphalidae: Heliconiinae), utilizando cuatro plantas nectaríferas, bajo condiciones de confinamiento en Tarapoto. In XLVII Convención Nacional de Entomología. Sociedad Entomológica del Perú, Ica. Resumen n° 18. s.p.
- Gonzáles, A. R.; Silva, V. A.; Bardales, P. R.; Vecco, G. C. y Robacker Ch. D. 2005. Caracterización e implementación preliminar de una colección de lepidópteros nocturnos de la Región San Martín. In XLVII Convención Nacional de Entomología. Sociedad Entomológica del Perú, Ica. Resumen n° 5. s.p.
- Jiménez, L. E; Gonzáles, A. R. y Cave, R. D. 2005. Avances en la caracterización de parasitoides de lepidopteras producidas comercialmente en la Región San Martín. En XLVII Convención Nacional de Entomología. Sociedad Entomológica del Perú, Ica. Resumen n° 4. s.p.
- Jiménez, G. L. E.; Bardales, P. R.; Gonzáles, A. R.; Silva, V. A. y Vecco, G. C. D. 2005a. Avance en la caracterización de los estados inmaduros de *Mechanitis* sp. (Nymphalidae: Ithomiinae), bajo condiciones de laboratorio en Tarapoto. In XLVII Convención Nacional de Entomología. Sociedad Entomológica del Perú, Ica. Resumen n° 23. s.p.
- Gobierno Regional San Martín (GRSM). 2005. Ordenanza Regional N° 021-2005-RSM/Consejo Regional. Decreto Regional 004-2005-RSM/PR.
- Gobierno Regional San Martín (GRSM). 2006. Zocriaderos de mariposa autorizadas para el Perú.
- Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA). 2004. Situación actual de las especies Amenazadas de nuestra amazonía.
- Jiménez, G. L. E.; Bardales, P. R.; Gonzáles, A. R.; Silva, V. A. y Vecco, G. C. D. 2005b. Avance en la caracterización de los estados inmaduros de *Biblis* sp. (Nymphalidae: Nymphalinae), bajo condiciones de laboratorio en Tarapoto. In XLVII Convención Nacional de Entomología. Sociedad Entomológica del Perú, Ica. Resumen n° 21. s.p.
- Mallet, J. 1993. Speciation, raiation and colour pattern evolution in *Heliconius* butterflies; evidence from hibrid zones. In Hibrid zones and evolution process. Oxford University Press. New York. pp. 254-255.

Sangama, A. C.; Bardales, P. R.; Gonzáles, A. R.; Silva, V. A. y Vecco, G. C, D. 2005. Avance en la caracterización de los estados inmaduros de *Heliconius numata* Cramer. (Nymphalidae: Heliconiinae), bajo condiciones de cautiverio en la microcuenca del río Shilcayo – Tarapoto.

OBJETIVOS:

Objetivo general: Generar técnicas sencillas para la reproducción in vitro e hibridación de mariposas y polillas amazónicas para contribuir al desarrollo de una Cadena Agrocomercial en la Selva Peruana.

Objetivos específicos:

1. Evaluar la biología reproductiva de algunas especies de lepidópteras amazónicas, particularmente del periodo de preoviposición y cópula de machos y hembras.
2. Ensayar procedimientos para la fertilización y conservación de huevos fértiles durante el desarrollo embrionario, en condiciones artificiales de laboratorio (in Vitro).
3. Generar híbridos de alta rareza obtenidos a través de procesos naturales o artificiales, bajo condiciones de tecnología media.
4. Mejorar las capacidades técnicas de investigadores locales, técnicos y población potencialmente beneficiaria.
5. Implementar y fortalecer una Red de Zoocriaderos de Mariposas Amazónicas, articulada al mercado.

Investigaciones recientes sobre el problema:

La mayoría de publicaciones abordan el tema de biogeografía de mariposas, sin embargo existe poco sobre la biología reproductiva; Gilbert (1972) publica sobre la biología reproductiva del género *Heliconius*. De Vries (1979, 1980, 1987, 1997) publicó una buena revisión de la biología, comportamiento y sistemática de las mariposas de Centroamérica; además existe información extensa sobre hibridismo en textos de Smart (1977) y Villegas et al. (1991). En el Perú, Gerardo Lamas, del Museo de Historia Natural Javier Prado de Lima, en múltiples publicaciones desde hacia varias décadas, aborda el estudio biogeográfico de las mariposas, y aún continua sistematizando los resultados concernientes a especies y variaciones subespecíficas. Takács y Tello (1993), publicaron sobre la crianza del género *Agrias* en Madre de Dios. Joron (1999- 2006), como parte del equipo dirigido por el Dr. James Mallet, del Museo de Londres, ha publicado varios trabajos relacionados a mimetismo, variabilidad e hibridismo en helicóninos, con una importante focalización en la Región San Martín, incorporando también técnicas de biología molecular. En el periodo 2004- 2006, Urku Estudios Amazónicos, en el marco del Proyecto “Generación de Tecnología para la producción de mariposas amazónicas de valor comercial en la Región San Martín”, cofinanciado por el FDSE –INCAGRO, evaluó ciclo biológico y comportamiento de las especies que son materia de estudio de la presente propuesta; dichos resultados están en proceso de publicación y una parte se ha publicado en la Convención Nacional de Entomología del año 2005, organizada por la Sociedad Entomológica del Perú.

Acciones requeridas para la adopción de los resultados experimentales.

Sistema de producción a ser mejorado:

Se mejorará el sistema de producción generado por Urku Estudios Amazónicos (2004- 2006), que consiste en la reproducción y crianza de mariposas en condiciones de tecnología media de bajos insumos, accesible a productores kechwas y mestizos de San Martín. La tecnología permitirá mejorar este sistema a nivel de una mayor productividad y reducción de costos unitarios (debido a la mayor producción, menor gasto en infraestructura y disminución de pérdidas). La competitividad de la línea productiva se verá intensamente mejorada, por la generación de productos originales de alta demanda (por su rareza).

Población beneficiaria final:

La población beneficiaria final son los hombres y mujeres (principalmente jóvenes) que conforman asociaciones de productores y comunidades nativas (kechwas y aguarunas) en cinco provincias de la Región San Martín y Loreto.

Acciones de investigación y desarrollo tecnológico:

Para la población beneficiaria final, se plantea un proceso breve (2 años) de transferencia asistida, con énfasis a organizaciones y comunidades, que consideren las componentes técnica, capacitación y fortalecimiento comercial. Sin embargo, existen actualmente grupos humanos que han participado del proceso de investigación estratégica del periodo 2004-2006, y que se encontrarán en condiciones de incorporar la tecnología en forma inmediata a su sistema productivo. El desarrollo de la componente de Fortalecimiento en la propuesta actual, permitirá articular inicialmente a los productores en los mercados identificados y que es una premisa condicionante para el éxito de los programas posteriores de desarrollo tecnológico (transferencia).

Tiempo (en años):

2007-2009: Tres años (que dura el presente proyecto) para acceder en forma consistente a mercados, para productores involucrados en el proceso anterior de investigación estratégica 2004-2006.

2010-2011: Dos años de transferencia asistida para incorporar a una mayor cantidad de productores en la línea productiva.

A partir del 2012 se desarrollará en forma auto-organizativa la cadena productiva, con la participación de productores demandantes de asistencia técnica, entidades oferentes de tecnología y entidades dedicadas a la investigación en coordinación con Centros de Formación Académica.

Estado del conocimiento o de la técnica relacionada a la propuesta:

Cualitativamente se considera el final de un proceso de generación tecnológica, que continuará extendiéndose en años posteriores hacia un gran número de especies aún no investigadas. Desde el punto de vista innovativo, la experiencia constituye una etapa inicial, ya que no existen antecedentes particularmente orientados a probar en forma práctica la hipótesis planteada por la investigación, y considerando que hasta el momento las pocas experiencias desarrolladas no han solucionado totalmente el problemas de las limitaciones reproductivas de lepidópteras amazónicas.

Palabras clave: Mariposa, polilla, Lepidoptera, in Vitro, reproducción, hibridación, biodiversidad, recursos genéticos, parasitoides, Amazonia.

PLAN DE INVESTIGACIÓN

Metodología de investigación

Lineamientos del método científico:

El proceso de investigación empieza por realizar una caracterización de la biología reproductiva de algunas especies de mariposas y polillas amazónicas, particularmente en el periodo de preoviposición y cópula para machos y hembras; en vista que la anatomía y los procesos fisiológicos se encuentran caracterizados en forma general para la Clase Insecta, el análisis será descriptivo.

Sobre esta base, la segunda etapa consiste en la realización de pruebas y ensayos bajo condiciones controladas de laboratorio, con un análisis descriptivo y cuantitativo; los parámetros principales constituyen en este caso, el éxito de la fertilización y la conservación de huevos fértiles durante el desarrollo embrionario. Se utilizarán medios líquidos para la conservación de huevos, como la solución Ringer Fosfato.

La tercera etapa del proceso se ejecuta en forma paralela al paso anterior, utilizando ensayos de campo y laboratorio.

Plan experimental

Principales componentes del plan experimental:

1. Componente biología reproductiva.
 - 1.1. Crianza de material biológico.
 - 1.2. Caracterización anatómica- fisiológica (talleres de disección).
2. Componente Fertilización y conservación in Vitro.
 - 2.1. Pruebas de fertilización in Vitro.
 - 2.2. Ensayos comparativos de medios de conservación.
3. Componente Hibridación.
 - 3.1. Selección de líneas de reproductores.
 - 3.2. Ensayos simples de cruzamiento bajo condiciones de campo.
 - 3.3. Ensayos de cruzamiento in Vitro.
4. Capacitación.

- 4.1. Asistencia a cursos de especialización.
- 4.2. Programa de pasantías para técnicos y productores.
5. Fortalecimiento.
 - 5.1. Programa de publicaciones y difusión de resultados.
 - 5.2. Estudio de Mercado y articulación comercial.
 - 5.3. Planificación del proceso de investigación.
 - 5.4. Implementación de la Red de Zoocriaderos.

Resultados esperados

Aportes al estado de conocimiento y de las técnicas:

- Técnicas: una técnica de reproducción in Vitro, uno o dos procedimientos de hibridación, y una metodología completa para la reproducción y crianza masal de lepidópteros amazónicos de valor comercial.
 - Conocimientos: una relación de especies e híbridos de mariposas, caracterizadas en sus características reproductivas.
- Productos: 3 publicaciones; productos artesanales en base a mariposas y polillas amazónicas.

Sustento del desarrollo de factores especializados:

Capacidades técnicas y de gestión de la entidad proponente:

Unidades operativas del Proyecto: (i) Laboratorio; (ii) Sala de Vuelo y Manejo de Reproductores, (iii) Museo, (iv) Área de Jardín Botánico y Herbario; (v) Unidad de Abastecimiento y logística, (vi) Unidad de Difusión y Capacitación, y (vii) Coordinación técnica.

La alianza estratégica del Proyecto cuenta con recursos profesionales suficientes, infraestructura (consistente en una Sala de Vuelo de 675 metros cúbicos, dos laboratorios, etc.), equipamiento y campos de cultivo. Tiene un soporte nacional constituido por la entidad proponente, Urku Estudios Amazónicos, que cuenta con un Zoocriadero de Producción de Mariposas, reconocido por INRENA (Resol. Adm. N° 012-2006-INRENA-IFFS-ATFFS-SM).

Capacidades complementarias alcanzadas con la alianza estratégica:

La Universidad Nacional de San Martín brinda apoyo logístico e infraestructura de laboratorio. El Museo de Historia Natural de la UNMSM, brinda asesoría y soporte científico.

Composición académica del equipo: Ph.D. (42.85%), ingenieros y biólogos (42.86%) y operarios (14.29%). Personal local: 4 integrantes con experiencia en las actividades propuestas por el proyecto.

Estrategia de cofinanciamiento para el desarrollo de factores especializados:

La alianza estratégica cuenta con el soporte de actividades relacionadas a los servicios que brindan las instituciones constituyentes de la Red de Servicios en Agroecología y Biodiversidad Amazónica, que articula programas de cooperación y convenios vigentes que facilitan el acceso a financiamiento, servicios especializados, capacitación y convocatoria