

Títol del treball: Descripción del ciclo de vida de *Colobura dirce* (Lepidoptera: *Nymphalidae*) en la comunidad campesina de San Rafael, Amazonía peruana.

Estudiant: Guillem Armengol Selvas Doble grau en Biologia i Ciències
Ambientals Correu electrònic: gaselvas@gmail.com

Tutor: Crisanto Gomez

Lopez Cotutor*: Neus

Collado Alsina

Empresa / institució: EverGreen Institut

Vistiplau tutor (i cotutor*):

Nom del tutor: Crisanto Gomez Lopez
Nom del cotutor*: Neus Collado Alsina

Empresa/ institució: EverGreen Institute

Correu(s) electrònic(s): crisanto.gomez@udg.edu;
neuscoal@gmail.com

*si hi ha un cotutor
assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació:

Agradecimientos

En primer lugar me gustaría agradecer a la doctora Neus Collado y al biólogo Esteban Fong la oportunidad de esta experiencia en la comunidad de San Rafael, además de haber depositado su confianza en mí para realizar este proyecto. En segundo lugar agradecer a mi tutor, el doctor Crisanto Gomez por la ayuda y experiencia en la redacción y evaluación de este trabajo que me ha guiado a través del mismo. También agradecer a todo el equipo de profesionales, voluntarios y estudiantes de EvenGreen Institute los cuales han hecho posible este estudio, en especial a Dani Pérez, Edu Roura, Joel Morell y Clara Sala. Asimismo, a toda la comunidad de San Rafael por hacerme sentir como en casa. Muy agradecido a todos los miembros del mariposario "Morphosapi", en especial a Don Pedro y Don Herman, por compartir conmigo toda su sabiduría y hacerme crecer como persona. Finalmente, expresar mi agradecimiento a mi pareja, mi familia y amigos por sus ánimos y apoyo incondicional.

Resum

Es descriu el cicle de vida de *Colobura dirce* (Linnaeus, 1758) a partir de 90 ous recol·lectats dins d'un papallonari productiu sobre els fulles de *Cecropia* spp., entre Juliol i Agost del 2018 a la comunitat camperola de San Rafael. Es van determinar els principals paràmetres biològics del cicle de vida, tals com: la durada total, la longitud inicial i la taxa de supervivència de cada estat. Paral·lelament, també es va realitzar una descripció de les principals característiques morfològiques de cada estat i es van determinar els principals aspectes biològics (adults, hàbits alimentaris, plantes hospedera i enemics naturals) i de criança d'aquesta espècie. Tot aquest procés va ser documentat fotogràficament. Els resultats d'aquest estudi mostren que *C. dirce* té una preferència per hàbitats secundaris i per una alimentació frugívora. Els ous són dipositats linealment, en grups reduïts, normalment en el fes de les fulles de *Cecropia* spp. La durada total del cicle de vida va ser de $36,7 \pm 1,2$ dies ($n = 39$), amb cinc estadis i una taxa de supervivència total del 43.34% ($n = 90$). La major taxa mortalitat la van presentar les larves del primer estadi 36,36% ($n = 49$), seguit dels ous 14,44% ($n = 77$). A més, els estats immadurs (estats larvals i pupes) de *C. dirce* són críptics en aparença i comportament. Es van trobar tres enemics naturals: 1 parasitoide dels ous de la papallona, un depredador de les larves i un altre parasitoide de la fase de pupa. Finalment, destacar que aquesta espècie presenta una proporció sexual d'1:1 i que les femelles adultes són més grans que els mascles. El propòsit d'aquest estudi és generar nova informació sobre el cicle de vida i els principals aspectes biològics de *C. dirce* a la comunitat de Sant Rafael, reivindicant la importància dels estudis de base observacionals per aconseguir una millor comprensió de la diversitat que ens envolta. Alhora, també es va buscar la consolidació de la cria de papallones al papallonari "Morphosapi", per tal de generar un impacte positiu en la qualitat de vida de la gent local.

Resumen

Se describe el ciclo de vida de *Colobura dirce* (Linnaeus, 1758) a partir de 90 huevos colectados dentro de un mariposario productivo sobre las hojas de *Cecropia* spp., entre julio y agosto de 2018 en la comunidad campesina de San Rafael. Se determinaron los principales parámetros biológicos del ciclo de vida, tales como: la duración total, la longitud inicial y la tasa de supervivencia de cada estado. Paralelamente, también se realizó una descripción de las principales características morfológicas de cada estado y se determinaron los principales aspectos biológicos (adultos, hábitos alimenticios, plantas hospedera y enemigos naturales) y de crianza de esta especie. Todo este proceso fue documentado fotográficamente. Los resultados de este estudio muestran que *C. dirce* tiene preferencia por hábitats secundarios y por una alimentación frugívora. Los huevos son depositados linealmente, en grupos reducidos, normalmente en el haz de las hojas más tiernas de *Cecropia* spp. La duración total del ciclo de vida fue de $36,7 \pm 1,2$ días ($n=39$), con cinco estadios larvales y una tasa de supervivencia total del 43.34% ($n=90$). La mayor tasa de mortalidad la presentaron las larvas del primer estadio 36,36% ($n=49$), seguido de los huevos 14,44% ($n=77$). Además, los estados inmaduros (estados larvales y pupa) de *C. dirce* son crípticos en apariencia y comportamiento. Se encontraron tres enemigos naturales: un parasitoide de los huevos de la mariposa, un depredador de las larvas y otro parasitoide de la fase de pupa. Finalmente, destacar que esta especie presenta una proporción sexual de 1:1 y que las hembras adultas son significativamente más grandes que los machos. El propósito de este estudio es generar nueva información sobre el ciclo de vida y los principales aspectos biológicos de *C. dirce* en la comunidad de San Rafael, reivindicando la importancia de los estudios de base observacionales para alcanzar una mejor comprensión de la diversidad que nos rodea. Al mismo tiempo, también se buscó la consolidación de la cría de mariposas en el mariposario "Morphosapi", con el fin de generar un impacto positivo en la calidad de vida de la gente local.

Abstract

The life cycle of *Colobura dirce* (Linnaeus, 1758) is described from 90 eggs collected inside a productive butterfly on the leaves of *Cecropia* spp., between July and August of 2018 in the peasant community of San Rafael. The main biological parameters of the life cycle were determined, such as: the total duration, the initial length and the survival rate of each state. In addition, a description was also made of the main morphological characteristics of each state and the main biological aspects (adults, feeding habits, host plants and natural enemies) and breeding of this species were determined. All this process was documented photographically. The results of this study show that *C. dirce* has a preference for secondary habitats and a frugivorous diet. The eggs are deposited linearly, in small groups, usually in the beam of the youngest leaves of *Cecropia* spp. The total duration of the life cycle was 36.7 ± 1.2 days ($n = 39$), with five larval stages and a total survival rate of 43.34% ($n = 90$). The highest mortality rate was presented by the larvae of the first stage 36.36% ($n = 49$), followed by the eggs 14.44% ($n = 77$). Besides, the immature stages (larval stages and pupa) of *C. dirce* are cryptic in appearance and behaviour. Three natural enemies were found: a parasitoid of the butterfly eggs, a predator of the larvae and another parasitoid of the pupa stage. Finally, note that this species has a sex ratio of 1: 1 and that adult females are significantly larger than males. The purpose of this study is to generate new information about the life cycle and the main biological aspects of *C. dirce* in the community of San Rafael, claiming the importance of observational base studies to achieve a better understanding of the diversity that surrounds us. At the same time, we also sought the consolidation of butterfly breeding in the "Morphosapi" butterfly garden, in order to generate a positive impact on the quality of life of the local people.

Índice

1	Introducción	1
2	Objectives	8
3	Metodología	9
3.1	Área de estudio	9
3.2	Muestra de estudio	10
3.3	Diseño de la investigación.....	10
3.4	Métodos	11
3.5	Recolección de la información	13
3.6	Obtención y manejo de los individuos	13
3.7	Análisis de la información	16
3.8	Nota ética	16
4	Resultados	17
4.1	Determinación de los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de <i>Colobura dirce</i> en condiciones de semilibertad.....	17
4.2	Descripción de las principales características morfológicas de cada estadio	20
4.3	Aspectos biológicos	26
4.4	Principales aspectos de crianza.....	27
5	Discusión	29
5.1	Determinación de los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de <i>Colobura dirce</i> en condiciones de semilibertad.....	29
5.2	Descripción de las principales características morfológicas de cada estadio.	30
5.3	Aspectos biológicos	32
5.4	Aspectos de crianza	33
6	Conclusions.....	35
7	Bibliografía.....	36

1 Introducción

Contexto del TFG en la comunidad de San Rafael, Río Amazonas, Perú.

Los bosques tropicales son vitales para el equilibrio climático global ya que actúan como reservas de servicios ecológicos, siendo esenciales para los seres vivos al posibilitar el desarrollo de los procesos evolutivos naturales. Estos intervienen en el ciclo del agua, proporcionan grandes depósitos de carbono y biomasa (Esquivel-Muelbert et al., 2019), contribuyen a regular el clima (Nepstad, Stickler, Filho y Merry, 2008); (Davidson et al., 2012), y a disminuir el efecto invernadero. Los bosques tropicales de América Central y del Sur forman un gran corredor de bosques de galería, interconectando el sur de México hasta el sur de Brasil y el norte de Argentina (Beccaloni y Gaston, 1995).

La Amazonia comprende el bosque tropical más grande del mundo. La selva tropical de la cuenca del río Amazonas se caracteriza por ser una de las áreas con mayor complejidad, biodiversidad y endemismos del planeta. Estas características proporcionan un entorno natural saludable y contribuyen al bienestar humano. Esta riqueza también está presente en el contexto humano, albergando más de 30 millones de personas (WWF, 2019) de las cuales, según el Coordinador de Organizaciones Indígenas de la Cuenca del Amazonas (COICA), 2,7 millones son indígenas. Los indígenas se integran en 350 grupos étnicos distintos. A pesar de su magnitud, su diversidad y sus servicios ecosistemáticos se encuentra gravemente amenazada por varios fenómenos globales (Laurance, 2000); (Charity, Dudley, Oliveira y Stolton, 2016). Destacan el cambio en el uso de la tierra y la pérdida de hábitats. La tasa promedio de deforestación es de 118,000ha/año y la WWF estima que esta puede llegar a duplicarse en un futuro, llegando a 48 millones de hectáreas deforestadas entre 2010 y 2030 (WWF, 2019). La destrucción de los bosques primarios contribuye a la emisión de gases de efecto invernadero y reduce su capacidad intrínseca para amortiguar el rápido aumento del CO₂ antropogénico.

El bioma del Amazonas alberga un 10% de la biodiversidad conocida en el mundo, incluyendo fauna y flora en peligro de extinción (WWF, 2019). Esta región natural se extiende a lo largo de casi siete millones de km² repartidos entre ocho países: Brasil, Bolivia, Colombia, Ecuador, Guyana, Perú, Surinam y Venezuela (Figura 1).

La mayor parte de la selva del Amazonas corresponde geográficamente al territorio de Brasil. Perú, catalogado como uno de los 17 países más megadiversos, se encuentra en segundo lugar, con aproximadamente el 11% de la extensión de la Amazonia (Charity et al., 2016). Además, ostenta el primer lugar con 4,000 especies de mariposas (BIOFIN, 2016). Por lo tanto, Perú es el país con el mayor número de mariposas descritas, la mayoría de ellas exclusivas de los territorios amazónicos.



Figura 1: Extensión del bioma y la cuenca del Amazonas. Fuente: WWF.

Este panorama, propicia las condiciones idóneas para la implementación de los bionegocios relacionados con el manejo de mariposas. El alto grado de biodiversidad y la gran fragilidad de los ecosistemas amazónicos impulsan el desarrollo de iniciativas económicas sostenibles para la población local. El objetivo principal de los bionegocios es mejorar la calidad de vida de las familias rurales amazónicas, al mismo tiempo que se gestionan los recursos naturales de una forma más sostenible y eficiente.

Los trabajos de investigación en los bionegocios son imprescindibles para el desarrollo de alternativas de manejo de la biodiversidad. Estos proyectos proveerán a la población local los conocimientos necesarios para su formación en distintos ámbitos científicos y en el uso de nuevas tecnologías. El objetivo final del bionegocio es la capacitación de las personas para su autogestión. Para el correcto funcionamiento de la cría de mariposas se tienen que integrar perspectivas sociales, biológicas y económicas. Las mariposas poseen un gran potencial para la comercialización pero es elemental que sean tratadas de forma sostenible (Gómez, 2006).

Morphosapi, es una iniciativa para impulsar bionegocios con comunidades en el Rio Amazonas que nace en 2004. Gracias a la colaboración del IIAP (Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana), se logra implementar este proyecto coordinado por el investigador Joel Vásquez. El principal objetivo del proyecto fue desarrollar técnicas de crianza de mariposas de forma sostenible al mismo tiempo que se involucraba a la población local, dando lugar al mariposario que actualmente es administrado de forma exclusiva por familias locales bajo el nombre “Butterfly Conservation and Biotrade”.

En marzo de 2018, los administradores locales, obtuvieron el permiso de Zoocriadero después de finalizar el proyecto de “Modelos tecnológicos de crianza de 10 especies de mariposas diurna para su aprovechamiento en bionegocios en la Región Loreto”. Hoy en día, el mariposario es uno de los principales motores económicos de la comunidad, contribuyendo de forma significativa al desarrollo sostenible de esta. Gracias a la crianza sostenible de mariposas se consiguió llegar a un acuerdo con la ONG EverGreen Institute para impulsar el turismo vivencial así como la investigación por parte de estudiantes universitarios. El mariposario se sostiene sobre tres pilares fundamentales:

1 La educación ambiental colaborando con la escuela de la comunidad para extender el conocimiento entre los más pequeños y fomentar el pensamiento científico.

2 Bionegocio a través de la venta de productos (crisálidas, individuos adultos, artesanías y otros) más turismo local, mejorando el nivel socio-económico de la población involucrada en el proyecto.

3 Investigación con instituciones locales y estudiantes universitarios para el desarrollo de proyectos futuros contribuyendo al crecimiento del mariposario, con la meta final de mejorar la calidad de vida de la gente local.

Lepidópteros: *Colobura dirce* (Linnaeus, 1758).

Centrándonos en las mariposas, innumerables resultados científicos han sido publicados desde que en 1758 Linnaeus describió los primeros taxones de los lepidópteros. La gran mayoría del conocimiento de los lepidópteros se publicó antes de mediados del siglo 20. En 1950, Willi Henning, revolucionó la teoría de la sistemática con su método de sistemática filogenética. A raíz de esta teoría los conocimientos sobre sistemática y evolución de los lepidópteros incrementaron considerablemente.

En 1992 Malcolm Scoble (1992) publicó un libro titulado "The Lepidoptera: Form, Function, and Diversity". Este libro presentó un resumen de los principales rasgos biológicos a nivel de orden y sirvió como referencia estándar para los lepidópteros durante más de una década. A pesar de esto, persistía la necesidad de un manual más completo. Por este motivo surgió el “Handbook

of Lepidoptera” el cual se convirtió en un proyecto de larga duración. Este proyecto empezó a mediados de los años 80 de la mano de Niels Peder Kristensen y numerosos expertos destacados.

El orden lepidóptera cuenta, aproximadamente, con 180,000 especies descritas (Mallet, 2013). Esto supone alrededor del 10% de todas las especies descritas de organismos vivos. Se estima que este número puede aumentar hasta 250,000 en un futuro (Heppner, 1991); (Scoble, 1992). Estas especies están agrupadas en 133 familias y 15.578 géneros (Zhang et al., 2011). La división del orden ha variado durante las últimas décadas. Siguiendo las pautas marcadas por Kristesen (1999), Kristesen, Scoble y Karsholt (2007) y finalmente Zhang (2011) actualmente se reconocen cuatro subórdenes: *Zeugloptera*, *Aglossata*, *Heterobathmiina* y *Glossata*.

A pesar de que su edad se encuentra en debate entre los expertos, las mariposas y las polillas llevan millones de años formando parte de nuestro patrimonio natural. Las primeras representaciones artísticas de mariposas se remontan al periodo neolítico, el último periodo de la edad de piedra. Estas han sido utilizadas en muchas culturas, como por ejemplo en la egipcia hace 3500 años (Nazari y Evans, 2015), como representaciones de libertad, belleza o paz, jugando un papel icónico en la sociedad. En el campo de la literatura se pueden encontrar referencias bíblicas donde por ejemplo, la metamorfosis se asocia con la resurrección (Bruguière, Perru, y Charles, 2018).

Por otro lado, los lepidópteros destacan especialmente por su valor ecosistemático. Estos organismos son utilizados como indicadores de la calidad de conservación de los ecosistemas y del cambio climático (Van Swaay et al., 2015). Asimismo, los individuos adultos, son indicadores de un ecosistema saludable (Brown, 1991); (Hilty y Merenlender, 2000) y diverso (Van Swaay et al., 2015) ya que de forma indirecta señalan de la presencia in situ de otras especies de plantas (recursos alimenticios) y otros animales (parásitos y depredadores). Esta diversidad de organismos proporciona una amplia gama de servicios ecosistémicos, como por ejemplo la polinización (Tobar, Rangel y Andrade, 2001). También recalcar su papel como modelos biológicos, especialmente dentro del campo de la biología de la conservación, para estudiar el impacto que supone la pérdida y la fragmentación del hábitat debido a su alta sensibilidad enfrente a las perturbaciones (Melo et al., 2019).

Los lepidópteros son el orden de insectos con más especies consideradas de importancia económica (Zhang, 1994) y cada día ganan más peso, entre las que destacan las actividades de turismo de naturaleza donde su impacto económico que se ve reflejado en:

- La elección del país de destino, con la entrada de divisas.
- La población local, a través de la participación en los distintos sectores implicados.
- En el espacio natural, a través del precio de la entrada.

Su valor económico también cobra fuerza en los sectores de la farmacología y la biotecnología (Mullen y Zaspel, 2019). Las mariposas y las polillas son capaces de desarrollar una serie de defensas químicas para combatir a sus principales enemigos o bien otros productos para superar las defensas químicas de su planta hospedera. Cada uno de estos productos tiene un gran valor comercial y puede ser explotado económicamente por los sectores anteriormente descritos.

Finalmente, señalar la función de los ciclos de vida dentro del entorno educativo. Los ciclos de vida forman parte de nosotros al igual que de todos los seres vivos que nos rodean. Esta herramienta utilizada en todo el mundo, puede ayudar a los niños a entender procesos naturales de la vida como la muerte, el nacimiento, cambios periódicos y el crecimiento de su alrededor. El ciclo de vida de los lepidópteros nos puede servir para introducir y presentar el método científico a los más pequeños, al mismo tiempo que se pretende estimular su curiosidad y estima por el mundo natural. Este proceso biológico, bien interpretado y comprendido, puede llegar a proporcionar un aprendizaje sobre distintos fenómenos biológicos y conceptos como por ejemplo: reproducción, biodiversidad, clasificación de animales, equilibrio ecológico, evolución... (Cinici, 2013).

Después de los órdenes *coleoptera* y *diptera*, los lepidópteros son el tercer orden de insectos con más especies descritas y el más estudiado de todos (Zhang, 2011). A pesar de esto, incluso en géneros que contienen especies comunes y extendidas, nuestro conocimiento sigue siendo escaso. La irrupción de la biología molecular en las ciencias ambientales ha provocado grandes cambios de paradigma, como por ejemplo que la simple separación de los lepidópteros entre polillas y mariposas ya no es filogenéticamente apropiada (Zhang, 2011).

La revisión de Willmott (Willmott, Constantino y Hall, 2001) es un claro ejemplo de esta falta de comprensión dentro del orden. A pesar de la existencia de dos fenotipos larvales diferenciados, el género *Colobura* se consideró monotípico durante muchos años.

Tabla 1: Clasificación taxonómica del género *Colobura* Billberg.

Clase	<i>Insecta</i>
Orden	<i>Lepidoptera</i>
Superfamilia	<i>Papilionoidea</i>
Familia	<i>Nymphalidae</i>
Género	<i>Colobura</i>
Especies	<i>C. dirce</i> , <i>C. annulata</i>

Finalmente, esta revisión demostró la existencia de dos especies, *C. dirce* y *C. annulata*, sugiriendo que las diferencias ecológica pudieron promover la especiación inicial. El género *Colobura* Billberg fue descrito por primera vez en 1820 y actualmente forma parte de la familia *Nymphalidae*, la cual pertenece a la superfamilia *Papilionoidea* (tabla 1). El nombre del género fue modificado en 1845 por un sinónimo junior, *Gynoecia* y posteriormente, y debido a un error ortográfico, se le dio el nombre de *Gynaecia* (Willmott et al., 2001).

A pesar de que el género fue descrito en 1820, en 1758 Linnaeus introdujo el primer nombre de la especie, *Colobura dirce*, también conocida por el nombre común de Mariposa Cebrá. Esta ha sufrido cambios de nomenclatura en los últimos años debido a errores ortográficos, remplazo innecesario del nombre, falta de consenso y contraste de la información entre los expertos. Stoll (1787) fue el primero en describir las etapas iniciales de esta especie, en concreto estudió el quinto estadio y la fase de pupa. Posteriormente, otros autores también han descrito las distintas etapas del ciclo de vida de *C. dirce* (Willmott et al., 2001). Las primeras notas sobre su comportamiento fueron escritas por Beebe en 1952. Beebe (1952) comenta en sus notas la existencia de varios relatos esporádicos sobre la historia de vida de *C. dirce* sin ninguna mención a su comportamiento. Por este motivo al autor le pareció digno de registro el hábito inusual de los primeros estadios de las orugas.

Müller (1886) fue de los primeros en otorgar una planta hospedera a esta especie, *Cecropia pachistachia* en Brasil. Este autor también expresó sus dudas respecto otras observaciones parciales en las primeras etapas por la supuesta presencia de inexactitudes. Actualmente existen 17 especies de 6 familias distintas registradas como plantas hospederas de *C. dirce* (Tavares, Júnior, Soares, y Zanuncio, 2015).

C. dirce presenta una distribución mucho mayor que su compañera de género *C. annulata*. *C. dirce* se extiende por toda la región de los Andes, desde México hasta Ecuador en el oeste y desde Venezuela hasta Bolivia en el este. También se distribuye en el norte de Paraguay y Argentina, el sudeste de Brasil, la cuenca del Amazonas y las Grandes Antillas. Esta especie presenta una preferencia por bosques primarios y secundarios, así como áreas cultivadas desde el nivel del mar hasta los 1,600m. Hasta el momento *C. dirce* es la única especie de *Colobura* conocida en el Caribe y en el sur de América, fuera de la cuenca del Amazonas (Willmott et al., 2001); (Gernaat et al., 2012).

A pesar de que las especies de *Colobura* son especies muy comunes en los hábitats boscosos en la Región Neotropical (Muyschondt y Muyschondt, 1976), contamos con poca biografía y desconocemos mucha información, como por ejemplo sus enemigos naturales. Pocos estudios han descrito las distintas fases del ciclo de vida de *C. dirce* pero ninguno ha realizado una descripción detallada del ciclo con una muestra significativamente representativa. En la mayoría de estos estudios se han descrito algunas de las principales etapas o las características fenotípicas de los estadios larvales a partir de muestras inferiores a los 5 individuos.

Por todo ello, este estudio pretende generar nueva información sobre el ciclo de vida y los principales aspectos biológicos de *C. dirce* en la comunidad de San Rafael, reivindicando la importancia de los estudios de base observacionales para alcanzar una mejor comprensión de la diversidad que nos rodea. Al mismo tiempo que se busca la consolidación de la cría de mariposas en el mariposario "Morphosapi" generando un impacto positivo en la calidad de vida de la gente local.

2 Objectives

The main goal of this study is to provide a detailed description of the life cycle of *Colobura dirce* in the peasant community of San Rafael.

Specific objectives

- 1 Determine the biological parameters (duration, length and survival) of the life cycle of *C. dirce* in conditions of semi-freedom.
- 2 Describe the morphological characteristics of each stage.
- 3 Determine the main biological and rearing aspects of *C. dirce*.
- 4 Contribute to the sustainable development of the butterfly community of San Rafael.

3 Metodología

3.1 Área de estudio

El proyecto fue realizado durante los meses de Julio y Agosto del 2018 en la comunidad campesina de San Rafael, bajo una temperatura media de 26.4 °C y un 90% de humedad. Esta comunidad se encuentra situada en el margen izquierdo del río Amazonas a unos 30km de la capital de la región, Iquitos. Más concretamente, se localiza dentro de la jurisdicción del distrito de Indiana, provincia Maynas, en la región de Loreto (Figura 2).



Figura 2: Mapa de la comunidad de San Rafael

La comunidad está compuesta por unas 60 familias, que agrupa unos 300 habitantes aproximadamente. Esta pequeña población tiene una reserva natural protegida, la "reserva comunal", con 128 ha de extensión las cuales forman parte del corredor biológico de Yanamono-Mishana. Se trata de una reserva que alberga una gran cantidad de biodiversidad otorgándole potencialidad en los ámbitos de la investigación, comercial y del turismo. Por estos motivos la comunidad de San Rafael, con la ayuda de la ONG Evergreen Institute, se ha comprometido a conservar y proteger esta área.

El sistema de crianza de la comunidad de San Rafael está compuesto por tres componentes principales. El primero de estos 3 elementos es la plantación hospedera. Las plantas hospederas dependen de las especies de mariposas que se decida criar y tienen que proporcionar microclimas favorables para atraerlas. La plantación de *Cecropia spp* utilizada para proporcionar alimento a las larvas se encontraba en la orilla del río Amazonas, este monocultivo surgió de forma natural. También se recomienda complementar con plantas ornamentales el perímetro del sistema de producción. El segundo elemento a tener en cuenta es el mariposario. Existen distintos modelos de mariposario según su función. Para este estudio se utilizó un mariposario de tipo productivo (Figura 3) situado a 20m de la casa de cría. Dependiendo del tipo de malla utilizada, se consiguen

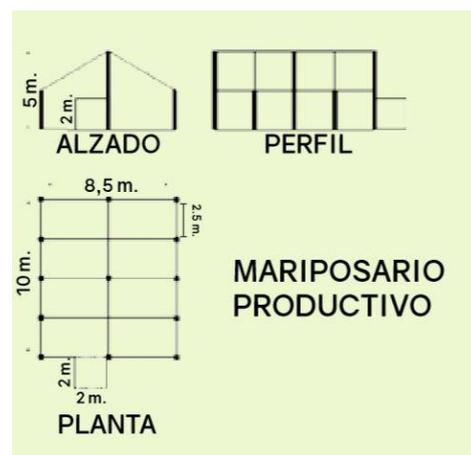


Figura 3: Esquema de las dimensiones de un mariposario productivo

distintos porcentajes de sombra. Este porcentaje propicia un mayor o menor desarrollo de las plantas alimenticias, generando nuevos ambientes. Para este trabajo, se seleccionó el mariposario con un 50% de sombra. Finalmente, el último elemento del sistema de crianza es la casa de cría. La casa de cría se encuentra situada en la comunidad de San Rafael con unas dimensiones de 8m de ancho x 12m de fondo y 4m de alto.

3.2 Muestra de estudio

Se partió de una muestra de 90 huevos procedentes de distintas puestas realizadas dentro del mariposario con un 50% de sombra para los individuos salvajes previamente capturados. A cada sujeto se le asignó un número del 1 al 90 el cual se mantuvo a lo largo de todo el ciclo de vida. Para cada individuo se registró la duración de cada estadio, la longitud inicial del estadio, el crecimiento de las larvas, la amplitud de la capsula cefálica y amplitud inicial en prepupa y pupa. Para los individuos adultos se midió la envergadura alar y se determinó el sexo. También se registró la muerte de los sujetos para calcular la mortalidad de cada estadio.

3.3 Diseño de la investigación

En 2013 se inicia el proyecto “Modelos tecnológicos de crianza de 10 especies de mariposas diurnas para su aprovechamiento en bionegocios en la Región de Loreto”. Este proyecto nace con el objetivo de generar una alternativa económica sostenible para las comunidades rurales del departamento de Loreto, Perú. Se investigaron los principales aspectos bioecológicos de 10 especies de mariposas diurnas, como por ejemplo su ciclo de vida. Finalmente, se desarrollaron técnicas de manejo (reproductivas y alimentarias) para la creación de modelos óptimos de crianza de mariposas en condiciones de cautiverio y semilibertad.

En nuestro proyecto se han seguido las pautas metodológicas implementadas por el proyecto anterior con el fin de facilitar la colaboración y de sumar una nueva especie de mariposa para su aprovechamiento en el zocriadero de la comunidad de San Rafael. Más concretamente, para la descripción detallada del ciclo de vida se utilizó el método empleado por (Vásquez, 2006); (Vásquez, Lamas, Couturier y Carhuanca, 2012); (Evelyn, Vásquez, Zárate y Pinedo, 2015). El criterio de los criadores más experimentados también se ha tenido en cuenta en la planificación del proyecto y la toma de decisiones, como por ejemplo en la captura de los individuos adultos de *C. dirce*.

El proyecto se dividió en dos fases principales:

La primera fase del proyecto consistió en familiarizarse con el funcionamiento del sistema de crianza, realizando varias funciones con los trabajadores, y con las principales características bioecológicas de las mariposas. Posteriormente se preparó la captura de los individuos adultos y se decidió el lugar de liberación. Esta primera fase duró aproximadamente una semana.

La segunda fase del proyecto se propuso describir los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de *C. dirce*. Se hizo un registro de los distintos periodos del ciclo y se tomaron datos biométricos de cada fase de desarrollo. Asimismo, se realizaron observaciones sobre el comportamiento biológico de los adultos en semilibertad y de las distintas fases del ciclo de vida en cautividad. La finalidad de estas observaciones fue conocer los principales aspectos biológicos y de crianza de *C. dirce* para, en un futuro, poder crear unas pautas de manejo para su producción sostenible. Esta segunda fase del proyecto tuvo una duración de siete semanas.

3.4 Métodos

Fase 1

Los primeros 3 días del proyecto se destinaron a familiarizarse con los distintos componentes del sistema de crianza. El sistema está compuesto por 3 elementos principales: plantación hospedera, casa de cría y los mariposarios. Estos elementos, cada uno con una función propia, se relacionan entre si constituyendo el sistema de producción para la crianza de mariposas. Una vez realizada esta primera toma de contacto se procedió a la captura de los individuos adultos de *C. dirce* para desarrollar la segunda fase del proyecto.

Unos días antes de empezar la captura mediante transectos, se preparó el alimento que se colocaría en las distintas trampas y cebos para atraer a las mariposas. Al tratarse de una mariposa con hábitos alimentarios frugívoros, se preparó fruta en proceso de fermentación. Se utilizaron distintos recipientes de plástico donde se introdujo jugo de caña mezclado con azúcar. Posteriormente se añadió porciones de plátano maduro y los recipientes se cerraron herméticamente. Finalmente se obtuvo el fruto maduro del plátano (*Musa paradisiaca*) macerado en el jugo del tallo de la caña (*Saccharum officinarum*).

Se realizaron 3 transectos alrededor de la casa de cría, en un entorno de bosque secundario. Cada transecto tenía una longitud de 200m y se trabajó con 2 métodos de captura distintos.

En el primero, las trampas, consistían en una bandeja rectangular (con alimento) sostenida a medio metro del suelo por cuatro hilos. Los hilos estaban conectados a una red de malla circular de 2m de longitud i 1m de diámetro. La red se encontraba colgando de un árbol y contenía una única abertura en la parte inferior. Las mariposas se sentían atraídas por el alimento de la bandeja y al alzar el vuelo se quedaban atrapadas. Las trampas se colocaron dentro de los transectos cada 50m.

En el segundo método de captura, los cebos, consistían en una serie de ramas, cortadas previamente con un machete, de unos 1.5m de longitud. Se realizaron cortes en los extremos para crear extremos punzantes. Una de las puntas se clavó en el suelo y en la otra un trozo de fruto maduro de plátano fermentado. En el momento que las mariposas se sentían atraídas por el cebo y se encontraban en proceso de alimentación, eran capturadas con la ayuda de una red entomológica. Los cebos se colocaron dentro de los transectos cada 10m. El transporte de los individuos capturados se realizó dentro de sobres entomológicos.

Se capturaron un total de 6 individuos adultos de *C. dirce*, 4 hembras y 2 machos. *C. dirce* se siente atraída por materia orgánica en proceso de descomposición. Por este motivo, entre otros, ocupa frecuentemente áreas de bosque secundario con presencia humana (Willmot et al., 2001) como por ejemplo los alrededores de la comunidad de San Rafael. Debido a esta preferencia de hábitat, se seleccionó el mariposario con un 50% para la liberación de los 6 sujetos adultos. Este modelo de mariposario contaba con las condiciones óptimas para el desarrollo de *C. dirce* y sus plantas hospederas. Dentro habían cuatro plantas, relativamente jóvenes y de poca altura, de *Cecropia* spp. El hecho de que tuvieran poca altura propició la observación y la recolecta de los huevos.

Antes de proceder a la liberación de las mariposas, fueron marcadas con un corrector tipp-ex en su costado derecho. Este tipo de marcaje ya había sido utilizado con anterioridad por los criadores sin consecuencias negativas para los sujetos. La marca indicaba el sexo del individuo facilitando las tareas de recuento y localización dentro de la estructura del mariposario.

Fase 2

Un día después de la liberación de los ejemplares adultos empezó la fase 2. El horario de trabajo fue de 8:00-12:00 y 14:00-18:00 todos los días de la semana durante 7 semanas. En esta fase se propuso describir los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de *C. dirce* dentro de la casa de cría. Se hizo un registro de los distintos periodos del ciclo y se tomaron datos biométricos de cada fase de desarrollo para determinar la duración, el crecimiento y la mortalidad. El número de estadios fue determinado a través de las mudas larvales.

Paralelamente, se realizaron observaciones biológicas de la especie como por ejemplo hábitos alimentarios, actividades reproductivas y enemigos naturales. La finalidad de estas observaciones fue conocer los principales aspectos biológicos y de crianza de *C. dirce* para, en un futuro, poder crear unas pautas de manejo para su producción sostenible. Esta segunda fase del proyecto tuvo una duración de siete semanas.

3.5 Recolección de la información

El registro de los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de *C. dirce* y la toma de datos biométricos por fase de desarrollo, se hizo en una hoja de registro previamente utilizada por los investigadores en el primer proyecto del mariposario de la comunidad. Para la recolección de la información relacionada con las observaciones se utilizó un Smartphone y una libreta. Las variaciones en la temperatura y la humedad relativa se midieron con un higrómetro. Todo el proyecto fue documentado fotográficamente con una cámara réflex Nikon D3300, un objetivo Tamron modelo 272ENII y un trípode Cullmann modelo nanomax 450.

3.6 Obtención y manejo de los individuos

Obtención y manejo de huevos

Diariamente se hizo una revisión de las plantas hospederas dentro del mariposario para localizar los huevos. Es muy importante una recogida inmediata para evitar parasitismo y depredación por parte de enemigos naturales. Después de producirse la ovoposición, los huevos fueron recolectados manualmente (intentando no dañar la hoja) y se depositaron en un envase de plástico para facilitar su protección y transporte hasta la casa de cría.

Una vez dentro de la casa de cría los huevos fueron depositados individualmente en una placa Petri hasta el momento de la eclosión. Cada huevo fue registrado y etiquetado con un número identificativo único (invariable a lo largo de todo el proyecto) y una fecha de recolección. El registro fue tomado en las hojas de registro y el etiquetado se realizó en la parte superior de la placa de Petri con un rotulador permanente.

El objetivo fue llevar un control exhaustivo del periodo de eclosión de las larvas. Una vez registrados se midieron con un estereoscopio Olympus modelo SD-ILK. Se registraron medidas de longitud, altura, número de estrías, duración y fecha de eclosión. Un total de 90 huevos fueron recolectados para el estudio. Este número fue el límite para poder trabajar de forma eficiente al mismo tiempo que se pretendía conseguir una muestra lo más representativa posible.

Manejo de las larvas

En este momento del proyecto la mayoría de las horas de trabajo se destinaron al estudio de los distintos estadios larvales. La observación dentro del mariposario pasó a un segundo plano. Para las larvas recién emergidas se midió su longitud con una regla milimetrada y se registró la fecha de eclosión. Estas se alimentaron con hojas frescas de *Cecropia* spp. y fueron confinadas en una unidad de crianza. Esta unidad consistía en un envase plástico transparente con un volumen de 1L etiquetado con el número identificativo, la fecha de emergencia y el estadio en que se encontraba cada individuo.

La tapa de los envases fue perforada de forma circular y cubierta con un velo para permitir el intercambio gaseoso. En el interior de los envases se colocaron discos de papel para facilitar las tareas de limpieza y evitar la propagación de patógenos. También se elaboraron unos agujeros con unas tijeras sobre la tapa de unos pequeños recipientes. Estos recipientes fueron colocados dentro del envase principal encima del disco de papel y se llenaron de agua para conservar el material vegetal dispuesto como alimento. Las larvas se colocaron con un pincel sobre el margen superior de una hoja de *Cecropia* spp. de forma individual al tratarse de una especie solitaria. El peciolo de las hojas se sumergió en el recipiente con agua y se colocaron dentro del envase plástico de 1L. Las distintas unidades se ubicaron en el interior de la casa de cría en una de las estanterías.

Las larvas fueron revisadas cada día 2 veces, a las 8:00 y a las 14:00, para registrar los parámetros anteriormente comentados después de que se produjese un cambio de estadio. El cambio de estadio se identificó por la presencia de exuvias y de una capsula cefálica. La capsula cefálica fue recogida y medida con el estereoscopio. También se realizó una limpieza diaria de las unidades de cría removiendo los discos de papel, los excrementos y los restos de alimento para evitar la humedad y la proliferación de entomopatógenos con un trapo. Las hojas fueron remplazadas cada dos días.

Manejo de prepupa y pupa

Una vez alcanzado el estado de prepupa el interior de las unidades de cría fue removido a excepción del disco de papel. De forma natural la mayoría de las larvas se adhirieron a su tapa. Los individuos que se adhirieron a la hoja fueron colgados de la tapa con la ayuda de un alfiler realizando un corte circular en la hoja. Este procedimiento pretende evitar daños en las alas de las mariposas cuando se produzca su eclosión. Con esta técnica se facilita el nacimiento de los individuos y el fortalecimiento de las alas antes del vuelo. Al igual que los huevos y las larvas, se registraron la longitud, la anchura y la fecha de emergencia justo después del cambio de estado.

Manejo de los adultos

Después de la emergencia de los adultos y antes de realizar cualquier medida, se dejaron reposar para que pudieran estirar las alas. Al cabo de 2 horas se determinó su sexo, se midió su envergadura alar y se observó las diferencias morfológicas entre sexos con el fin de determinar la existencia de dimorfismo sexual. Previamente, se efectuaron observaciones de comportamiento de vuelo, oviposición y número de huevos colocados dentro del mariposario con un 50% de sombra. Finalmente, los sujetos adultos fueron liberados en un ambiente de bosque secundario, justo donde se habían capturado.

3.7 Análisis de la información

El análisis estadístico fue realizado mediante la versión 3.6.0 del programa estadístico R. Los datos obtenidos, a partir del ciclo biológico de la especie, se analizaron con parámetros de estadística descriptiva, con las variables de: tiempo de desarrollo, longitud inicial de cada estado, ancho de la capsula cefálica, envergadura alar, sexo y número de muestra. Con este resumen se obtuvieron medias, la desviación estándar y un rango con los registros mínimos y máximos. Finalmente, también se analizó la existencia de diferencias significativas entre la variable “envergadura alar” y la variable “sexo”. Para poder confirmar si las hembras son significativamente más grandes que los machos adultos se utilizó un test de Wilcoxon con un nivel de significación del 95%. Se decidió utilizar una prueba no paramétrica porque la variable “envergadura alar” no presentaba una distribución normal. Este hecho, seguramente se deba a que el tamaño de la muestra es demasiado pequeño. La prueba de Wilcoxon compara medianas, no medias y trabaja sobre rangos de orden. Así pues, nuestra hipótesis nula es: no existen diferencias significativas entre machos y hembras. La variable envergadura alar no depende de la variable “sexo”.

3.8 Nota ética

El objetivo final de este trabajo es aportar información inexistente de una especie de mariposa a la comunidad científica con el propósito de mejorar la calidad de vida de la gente local, alineándose con la Declaración de las Naciones Unidas sobre los derechos de los pueblos indígenas 61/95. Mejorar la calidad de vida implica generar un nuevo marco teórico donde se prioriza el desarrollo sostenible y la conservación.

Por estos motivos, en esta investigación se han utilizado los métodos más óptimos para asegurar el máximo bienestar de los sujetos evitando malos tratos y sufrimiento. Los individuos que han fallecido a lo largo del estudio contribuirán a reducir la mortalidad y el bienestar en los modelos de crianza de esta especie en un futuro. Por otro lado, todos los individuos adultos resultantes fueron liberados en su hábitat natural. La información generada por este trabajo ayudará a comprender mejor esta especie, contribuyendo de forma indirecta a su protección.

4 Resultados

4.1 Determinación de los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de *Colobura dirce* en condiciones de semilibertad

Duración

La duración media del ciclo de vida de *C. dirce* bajo condiciones de semilibertad fue de $36,7 \pm 1,2$ días ($n=39$). La tabla 2 muestra la duración media en días y la desviación estándar de cada estado, des de huevo hasta pupa. La fase de desarrollo más larga de todo el ciclo es la de pupa, con una duración promedio de $11,1 \pm 0,5$ días. Por otro lado, el estado con una fase de desarrollo más corta es el de prepupa, con una duración promedio de $0,8 \pm 0,4$ días. Si observamos los estadios larvales podemos ver Como los tres primeros presentan una duración muy parecida, de aproximadamente 3 días. Por otro lado, estos presentan diferencias significativas con los dos últimos estadios, siendo el quinto estadio el más largo con una duración media de $6,46 \pm 0,6$ días.

Tabla 2: Duración promedio de los distintos estados del ciclo de vida *C. dirce*, obtenidos en semilibertad, durante julio y agosto del 2018.

Estado	Estadio	Duración (días)	D.S.	n
Huevo		5,1818	$\pm 0,4792$	77
	Larva I	3,1224	$\pm 0,4393$	49
	Larva II	3,0714	$\pm 0,4629$	42
	Larva III	3,1220	$\pm 0,3997$	41
	Larva IV	3,7317	$\pm 0,4486$	41
	Larva V	6,4634	$\pm 0,5522$	41
Prepupa		0,7750	$\pm 0,4229$	40
Pupa		11,0769	$\pm 0,5324$	39

D.S. = Desviación estándar, n= Número de muestra

Longitud

La tabla 3 muestra la longitud promedio al inicio de cada estado con su correspondiente desviación estándar. Además, para los estadios larvales también se muestra la media del ancho de la cápsula cefálica. El estado del ciclo de vida con una longitud inicial mayor es el de prepupa, con $35,78 \pm 0,97$ mm. Esta longitud disminuye al pasar al último estado, siendo esta de $29,74 \pm 1,25$ mm.

Tabla 3: Medidas promedio de los estados, estadios larvales y el ancho de la capsula cefálica durante el estudio biológico de *Colobura dirce*, obtenidos en semilibertad, durante Julio y Agosto del 2018.

Estado	Estadio	Longitud (mm)	D.S.	Ancho de la capsula cefálica (mm)	D.S.	n
Huevo		1	± 0,04			90
	Larva I	2,10	± 0,23	0,6	± 0,04	49
	Larva II	4,61	± 0,38	0,9	± 0,06	42
	Larva III	6,96	± 0,44	1,3	± 0,07	41
	Larva IV	12,12	± 0,71	2,4	± 0,11	41
	Larva V	20,28	± 0,69	4	± 0,1	41
Prepupa		35,78	± 0,97			40
Pupa		29,74	± 1,25			39

D.S. = Desviación estándar, n= Número de muestra

En la siguiente gráfica (Figura 4) se muestra la evolución de la longitud inicial de los 5 estadios larvales. Esta evolución se compara con el ancho de la capsula cefálica correspondiente. Además, el primer estadio presenta la menor longitud registrada, mientras que el quinto estadio presenta la mayor longitud. Del primer al segundo estadio se produce un incremento de longitud del 119%; del segundo al tercero de 51%; del tercero al cuarto de 74% y finalmente un 67% del cuarto al último. Además, se produce un 865% de incremento de la longitud del quinto estadio respecto al primero. La longitud larval presenta un patrón de crecimiento logarítmico.

Por lo que respecta al ancho de la capsula cefálica, del primer al segundo estadio se produce un incremento del 50%; del segundo al tercero de 44%; del tercero al cuarto de 85% y finalmente un 67% del cuarto al último. Además, se produce un 567% de incremento de la longitud del quinto estadio respecto al primero. El ancho de la capsula cefálica presenta un patrón de crecimiento lineal.

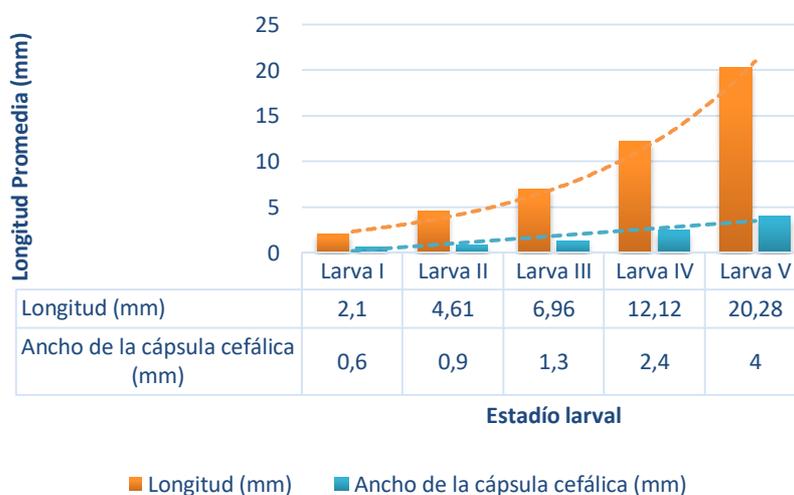


Figura 4: Resultados promedios de crecimiento de los estadios larvales y ancho de la capsula cefálica (CC) de *C. dirce* durante su desarrollo en condiciones de semilibertad.

Supervivencia

La supervivencia de esta especie se analizó a partir de una muestra inicial de 90 individuos. De estos 90 sujetos iniciales, 39 llegaron a la fase de adulto. Estos resultados suponen una supervivencia total del 43,34% y una tasa de mortalidad total a lo largo del ciclo de vida de *Colobura dirce* en condiciones de semilibertad del 56,66% (n=90). Como se puede observar en la figura 5, la tasa de mortalidad acumulada incrementa casi de forma exponencial a partir de la etapa de huevo y se estabiliza al llegar al tercer estadio.

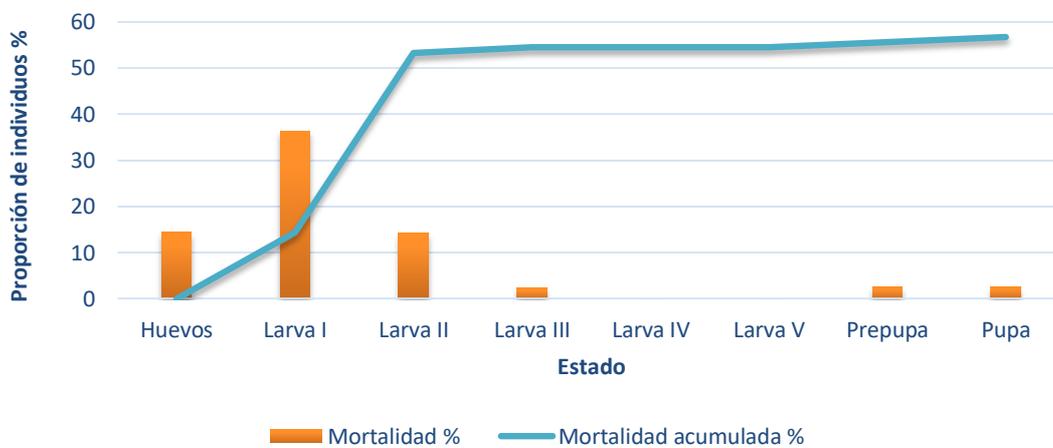


Figura 5: Tasa de mortalidad y porcentaje de mortalidad acumulada del ciclo de vida de *C. dirce* en condiciones de semilibertad.

El primer estadio presenta la mayor mortalidad del ciclo, con un 36,36% (n=49). En este estadio larval, hubo 28 sujetos que no consiguieron sobrevivir. En segunda posición encontramos al estado de huevo, donde 13 sujetos no consiguieron emerger a larva. Estos 13 individuos suponen una tasa de mortalidad del 14,44% (n=77). El segundo estadio se sitúa en tercera posición, con 7 individuos muertos lo que supone una tasa de mortalidad del 14,3% (n=42). Finalmente, destacar el tercer estadio, el estado de prepupa y pupa donde solo 1 sujeto falleció. Estos resultados suponen una tasa de mortalidad de 2,38% (n=41), 2,44% (n=40) y 2,5% (n=39) respectivamente. Por otro lado destacar el cuarto y el quinto estadio donde no hubo ninguna muerte, con una tasa de supervivencia del 100%.

4.2 Descripción de las principales características morfológicas de cada estadio

Huevos

Los huevos son casi esféricos, con un diámetro promedio de $0,9 \pm 0,1$ mm y 1mm de altura (n=90). Justo después de la oviposición presentan una coloración de un tono verde claro, esta coloración se va oscureciendo con el paso del tiempo. Cada huevo posee un número de estrías blancas perpendiculares que van desde la base del huevo hasta el micrópilo en la parte superior (Imagen 1). El número promedio de estrías de la muestra (n=90) es de 11, con un registro mínimo de 10 y un máximo de 14 estrías. Esta etapa tiene una duración media de $5,2 \pm 0,5$ días.



Imagen 1: Huevos de *C. dirce* en el nervio central de una hoja de *Cecropia* spp. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Estadio 1

Justo después de nacer (Imagen 2), la larva mide una longitud promedio de $2,1 \pm 0,2$ mm con una longitud máxima registrada de 3mm (n=49). La cabeza de la larva es de color oscuro, casi negra, y está recubierta por finos pelos al igual que el resto del cuerpo. El cuerpo tiene forma cilíndrica y los segmentos se identifican fácilmente. La coloración del estadio cambia a lo largo de esta etapa, escureciéndose al llegar al momento de la muda. Los primeros segmentos torácicos y del abdomen presentan una coloración verde, mientras que los cuatro últimos segmentos abdominales presentan una coloración marrón anaranjado. Al finalizar el estadio, la larva alcanza una longitud aproximada de 4,5mm. El primer estadio tiene una duración promedio de $3,1 \pm 0,4$ días (n=49).



Imagen 2: Larva de *C. dirce* recién emergida del huevo. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Estadío 2

Al empezar el segundo estadío, la larva mide una longitud promedio de $4,6 \pm 0,4$ mm con una longitud máxima registrada de 6mm (n=42). Justo después de la muda, la cápsula cefálica es de una coloración casi transparente al igual que las patas, las espinas y los cuernos. Al cabo de unas horas, la cabeza presenta una coloración negra con dos cuernos epicraneales cortos con la presencia de setas laterales. El cuerpo es de color negro y destaca la presencia de una fila de seis espinas relativamente cortas en cada segmento. Los extremos de las espinas se tornan de color blanco al aproximarse la muda (Imagen 3). Al finalizar el estadío la larva alcanza una longitud aproximada de 7mm. El segundo estadío tiene una duración promedio de $3,1 \pm 0,5$ días (n=42).

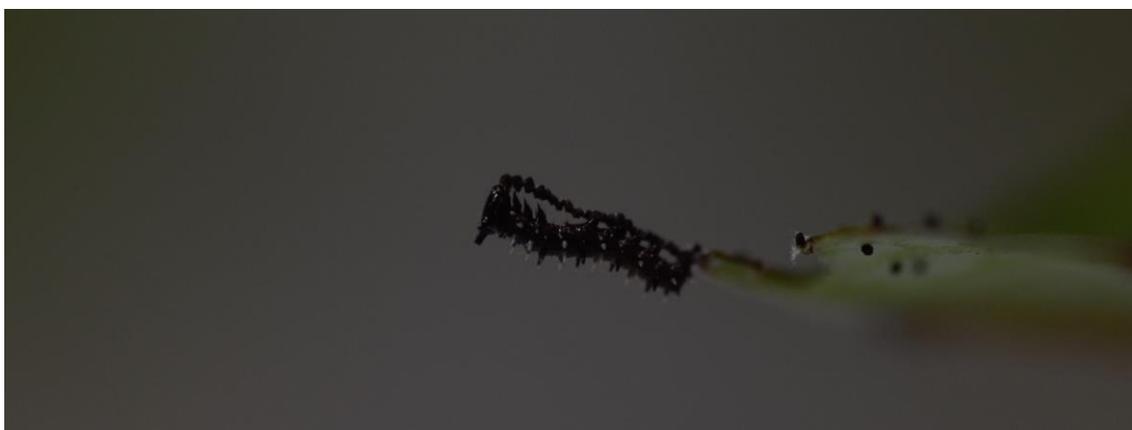


Imagen 3: Larva de *Colobura dirce* en el segundo estadío construyendo una columna con gránulos de pellet. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Estadío 3

Al empezar el tercer estadío, la larva mide una longitud promedio de $7 \pm 0,4$ mm con una longitud máxima registrada de 8,5mm (n=41). Justo después de la muda, la cápsula cefálica es de una coloración casi transparente al igual que las patas, las espinas y los cuernos. Al cabo de unas horas, la cabeza presenta una coloración negra brillante con dos cuernos epicraneales largos totalmente negros y con setas accesorio. El cuerpo es de color negro velludo con una línea de manchas blancas a lo largo del área espiracular (Imagen 4). Estas manchas irán aumentando a lo largo de esta fase de desarrollo tornándose de un color más amarillento. Cada segmento de la oruga soporta una fila de seis espinas con los extremos blancos. Al finalizar el estadío alcanza una longitud aproximada de 12mm. El tercer estadío tiene una duración promedio de $3,1 \pm 0,4$ días (n=41).



Imagen 4: Larva de *Colobura dirce* en el tercer estadio sobre el envés de una hoja de *Cecropia* spp. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Estadio 4

Al empezar el cuarto estadio, la larva mide una longitud promedio de $12,1 \pm 0,7$ mm con una longitud máxima registrada de 14mm (n=41). Justo después de la muda, la cápsula cefálica es de una coloración casi transparente al igual que las patas, las espinas y los cuernos (Imagen 5). Al cabo de unas horas, la cabeza presenta una coloración negra brillante con dos grandes cuernos epicraneales de color amarillo blanquecino de puntas negras. Estos cuernos contienen pequeñas setas accesorio del mismo color. El cuerpo es de color negro velludo, las manchas del área espiracular han aumentado de tamaño y son de un tono amarillo más claro. Los extremos de las espinas se tornan blancos al aproximarse la muda. Al finalizar el estadio alcanza una longitud aproximada de 20mm. El cuarto estadio tiene una duración promedio de $3,7 \pm 0,4$ días (n=41).



Imagen 5: Larva de *C. dirce* segundos después de mudar al cuarto estadio. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Estadío 5

Al empezar el quinto estadío, la larva mide una longitud promedio de $20,1 \pm 0,7$ mm con una longitud máxima registrada de 23mm (n=41). Justo después de la muda, la cápsula cefálica es de una coloración casi transparente al igual que las patas. Por el contrario, las espinas y los cuernos son de color amarillo intenso. Al cabo de unas horas, la cabeza presenta una coloración negra brillante con dos grandes cuernos epicraneales de color blanco y de puntas negras. Estos cuernos contienen pequeñas setas accesorio. El cuerpo de la larva es de color negro velludo y se pueden observar las manchas del área espiracular completamente desarrolladas. Estas manchas se encuentran entre los segmentos, son de color amarillo pálido y no llegan a formar anillos rodeando el cuerpo. Las espinas torácicas se tornan de color blanco diferenciándose del resto, las cuales son de color amarillo anaranjado (Imagen 6). Al aproximarse la muda las espinas abdominales también cambian a color blanco. Al finalizar el estadio alcanza una longitud aproximada de 36mm. El quinto estadío tiene una duración promedio de $6,5 \pm 0,6$ días (n=41).



Imagen 6: Larva de *C. dirce* en el quinto estadío sobre el envés de una hoja de *Cecropia* spp. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Prepupa

Al empezar el estado de prepupa, esta tiene una longitud promedio de $35,8 \pm 1$ mm y una anchura de $6,1 \pm 0,6$ mm, con una longitud máxima registrada de 37,5mm (n=40). Justo después de colgarse del techo de la unidad de cría, la prepupa se encuentra suspendida verticalmente con el tórax curvado hacia dentro. El cuerpo de la prepupa es de color negro y las espinas y los cuernos se vuelven completamente blancos a excepción de los extremos (Imagen 7). Al aproximarse la muda se puede observar como las manchas del área espiracular se encuentran en estado latente. Al finalizar el estadio alcanza una longitud aproximada de 30mm. El estado de prepupa tiene una duración promedio de $0,8 \pm 0,4$ días (n=40).



Imagen 7: Prepupa de *C. dirce* colgada de la tapa de una unidad de cría. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Pupa

Al empezar el estado de pupa, esta tiene una longitud promedio de $29,7 \pm 1,3$ mm y una anchura de $6,7 \pm 0,4$ mm, con una longitud máxima registrada de 34mm (n=39). Justo después de empupar la pupa es cilíndrica, alargada y de color marrón oscuro. Con un aspecto mimético, su apariencia externa recuerda una pequeña rama muerta. El área de la cabeza es bífida. Antes de la transformación final, la coloración de la pupa pierde intensidad y se pueden diferenciar las alas de los individuos adultos en su interior (Imagen 8). El estado de pupa tiene una duración promedio de $11,1 \pm 0,5$ días (n=39).



Imagen 8: Últimos segundos del estado de pupa de *C. dirce*. Fotografía de Guillem Armengol Selvas.

Adultos

Del total de la muestra inicial (n=90), 39 individuos consiguieron sobrevivir y emerger como mariposas adultas (Imagen 9). De estos 39 individuos adultos resultantes, 19 fueron hembras (48,7%) y 20 machos (51,3%). Así pues, el ratio de esta especie en condiciones de semilibertad es aproximadamente de 1:1. Por otro lado, la envergadura alar promedio para *C. dirce* fue de $30,5 \pm 2,4$ mm (n=39). La envergadura alar promedio de las hembras fue de $32,5 \pm 1,5$ mm (n=19) y la de los machos $28,6 \pm 1,28$ mm (n=20).



Imagen 9: Individuo adulto de *C. dirce*. Fotografía de Galdric Mossoll Clos.

En el diagrama de cajas (Figura 6) se pueden observar las medianas y los valores mínimos y máximos de esta variable anterior. Además, esta figura presenta dos valores atípicos en el caso de los machos. Los resultados del test de Wilcoxon han dado un valor muy inferior al p-valor (0,05) utilizado en esta prueba. Así pues, podemos descartar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa según la cual: existen diferencias significativas entre machos y hembras, la variable envergadura alar depende de la variable sexo. Además, también podemos decir con un intervalo de confianza del 95% que las hembras presentan una envergadura alar promedio de entre 3,04 y 4,86mm más que los machos.

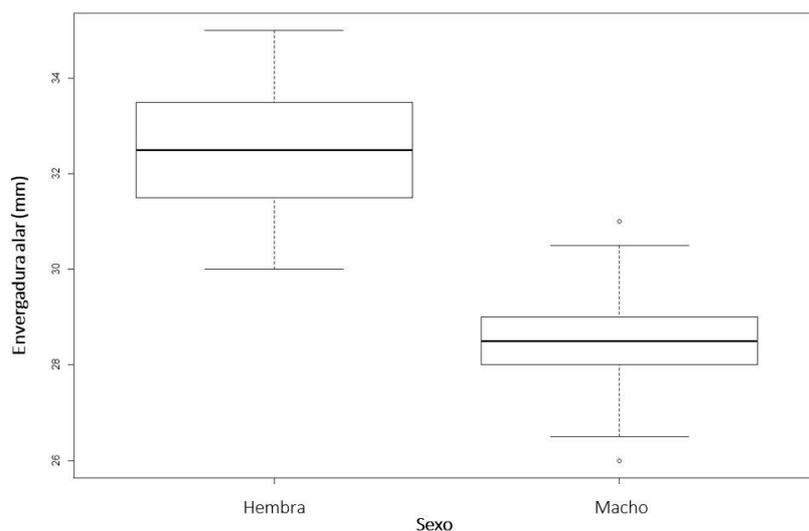


Figura 6: Diagrama de cajas de la variable “envergadura alar” respecto a la variable “sexo”.

4.3 Aspectos biológicos

Adultos

Durante las observaciones realizadas dentro del mariposario con un 50% de sombra se pudieron observar 5 puestas distintas de huevos. Todas estas puestas fueron realizadas en el haz de las hojas de 3 plantas distintas de *Cecropia* spp. y los huevos se depositaron linealmente. La primera puesta fue de dos huevos los cuales se depositaron en el nervio central de la hoja durante los primeros días de observación. La duración total de la puesta fue de 1:50min. La segunda puesta fue de un solo huevo y tuvo una duración de 8s. La tercera puesta fue de 2 huevos y tuvo una duración total de 1min, 25s para el primero y 35s para el segundo. La cuarta puesta fue de 8 huevos y se produjo de forma secuencial. Primeramente se depositaron tres huevos en un tiempo de 55s, al cabo de 10s la mariposa retornó a la misma hoja depositando cinco huevos más, en un tiempo total de 3min. Las horas de oviposición ocurren de 11:30 a 17:00pm. No se observaron cópulas.

Hábitos alimenticios

Los adultos de *C. dirce* se alimentan en horas de la mañana, aproximadamente a las 10am y presentan una alimentación de tipo frugívora. En cautividad, se han adaptado perfectamente al plátano maduro fermentado. Los individuos adultos también suelen bajar al suelo para incorporar sales minerales.

Plantas hospederas

Existen más de 17 especies distintas de plantas hospederas identificadas para *C. dirce*. En nuestro estudio únicamente hemos utilizado las especies del genero *Cecropia*, denominadas por la población local como “Cetico”.

Enemigos naturales

En este estudio se han encontrado tres enemigos naturales. El primero de ellos fue hallado dentro del mariposario con un 50% de sombra durante unas revisiones rutinarias. Se observó varias veces a la misma especie de la familia *Formicidae* atacando a las larvas del primer estadio de *C. dirce*. Todas las larvas que fueron atacadas se encontraban en el haz de una hoja de *Cecropia* spp. Esta especie de hormiga aún no se ha podido clasificar. El segundo enemigo natural de esta especie fue descubierto al cabo de unos días de recolectar los huevos. De los 90 huevos recolectados inicialmente, hubo 7 huevos que fueron parasitados por una avispa de color negro de 0,9 mm de longitud, perteneciente a la familia *Scelionidae*.

Los huevos parasitados tardaron entre 15 y 17 días en eclosionar. El último enemigo natural que se observó fue un insecto parasitoide. Este insecto, se desarrolló dentro del estado de pupa provocando la muerte de un individuo. Una de las pupas presentaba una coloración atípica, tono más oscuro que las otras, y por este motivo fue examinada detalladamente. Durante la inspección se identificó un pequeño orificio circular cubierto con una membrana transparente desde el que se podía reconocer la figura de un ojo en el interior. Al cabo de 3h horas, en menos de 5min, 26 individuos emergieron del interior de la pupa.

4.4 Principales aspectos de crianza

Obtención y manejo de huevos

Para obtener los huevos primeramente se deben capturar sus individuos adultos mediante trampas y cebos, tal y como se indica en la fase 1 de los métodos. Los individuos capturados serán liberados dentro de un mariposario productivo. Para localizar los huevos se realizaran revisiones diarias durante la mañana y la tarde. Los huevos normalmente están ubicados en el haz de las hojas de *Cecropia spp.* más tiernas. A pesar de esto, también se pueden encontrar en el envés de la hoja y en la parte superior del tallo. El proceso más relevante de esta etapa es la recolección de los huevos. La colecta se debe dar inmediatamente después de su localización para evitar la depredación y prevenir el parasitismo de los huevos. Los huevos se recolectaran manualmente para evitar dañar las hojas. Finalmente, estos serán depositados individualmente en placas de Petri hasta su eclosión.

Manejo de las larvas

Una vez eclosionen los huevos, las larvas serán trasladadas individualmente a una unidad de cría, siguiendo las pautas expuestas en el apartado de metodología. Justo después de nacer, las larvas buscan los márgenes de la hoja para iniciar la alimentación. Para facilitar este proceso, los sujetos serán colocados con la ayuda de un pincel cerca del ápice. Las hojas deben ser tiernas y frescas, y serán cambiadas cada dos días. Al cabo de unas pocas horas, la larva creara una columna en el margen de la hoja. Esta se situará encima de la columna mediante una serie de cuerdas de seda, sobresaliendo del contorno de la hoja hasta finales del tercer estadío. Esta columna está compuesta por gránulos de pellet procedentes de los excrementos del propio sujeto. La formación de esta columna es imprescindible para la supervivencia de las primeras etapas larvales. A partir del cuatro estadío, la larva romperá la base de la hoja dejándola lacia y

se situara debajo de ella hasta el momento de empupar. Los últimos estadíos larvales presentan una gran voracidad, por este motivo se les proporcionará alimento diariamente.

Manejo de prepupa y pupa

Unas horas antes de pasar al estado de prepupa, la larva dejará de comer y sus espinas se tornaran completamente blancas. Esta empezará a caminar por la tapa de la unidad de cría hasta colgarse. En caso de que el individuo no pueda adherirse a la tapa o empiece la fase de pupa en la base de la unidad de cría, será trasladado a la tapa con la ayuda de un alfiler. Una vez colgada correctamente, la larva se encorvará para empupar. En esta etapa, se recomienda no manipular ni alimentar a los sujetos ya que estos son muy sensibles y podrían sufrir daños o la muerte.

Manejo de los adultos

Los adultos de *C. dirce* fueron observados volando dentro del mariposario con un 50% de sombra, siendo muy activos entre las 11:00 y 17:00 h, efectuando vuelos ligeros y persecuciones con otros individuos de la misma especie. Estos parecen tener preferencia en el momento de descansar, eligiendo generalmente lugares con sombra y poca altura (de 0,5m a 3m). También se han observado descansando debajo de las hojas de *Heliconia spp.* Estos se alimentan de frutos en proceso de descomposición y también bajan al nivel de suelo para succionar minerales y excretas de animales. Ninguna vez se han avistado alimentándose del néctar de las flores.

5 Discusión

5.1 Determinación de los principales parámetros biológicos del ciclo de vida de *Colobura dirce* en condiciones de semilibertad.

Duración

Los resultados obtenidos de la duración total del ciclo de vida de *C. dirce* no muestran diferencias significativas con los datos actualmente disponibles (Willmott et al., 2001). Según estos resultados, este ciclo de vida tiene una duración variable de entre 35 y 37 días. Nuestros resultados encajan perfectamente dentro de este rango, siendo de $36,7 \pm 1,2$ días ($n=39$). Así pues, nuestros datos validan los resultados expuestos en los antecedentes bibliográficos de esta especie. Además, nuestros datos también refuerzan estos resultados gracias a la elevada muestra utilizada en este estudio. A pesar de esto, también existen pequeñas diferencias individuales en la duración de algunos de los estados del ciclo. Según Cantarero, Canales, Mendoza y Martínez (2009) la temperatura y la alimentación son los factores que más afectan al ciclo de vida. Estas diferencias también pueden tener su explicación en las distintas condiciones utilizadas para monitorear el ciclo de vida o bien pueden tratarse de rangos de variación normales dentro de la especie.

Longitud

Los datos biométricos obtenidos muestran que los huevos de *C. dirce* no son completamente esféricos por lo que también se deben incluir la altura, aparte del diámetro, en las mediciones. Por otro lado, las longitudes iniciales de los estadios larvales presentan algunas diferencias respecto a la bibliografía existente (Willmott et al., 2001). Estos antecedentes, dependiendo del estado del ciclo, nos ofrecen datos sobre la longitud inicial o final. Así pues, nuestro estudio aporta por primera vez promedios de las longitudes iniciales de cada estado de *C. dirce* y datos aproximados sobre la longitud final. Además, podemos afirmar que el huevo tiene un diámetro de 1mm, que la larva justo después de eclosionar mide 2mm y que el segundo y el tercer estadio alcanzan longitudes finales de 7mm y 12mm respectivamente. Finalmente, destacar que el valor de la variabilidad de los resultados es relativamente pequeña, por este motivo, sería debatible la posibilidad de utilizar un método de medición más sensible para realizar este tipo de estudios.

En la figura 5 se puede observar una comparativa de los distintos patrones de crecimiento entre la longitud de las larvas y el ancho de las cápsulas cefálicas. Si nos fijamos en la evolución del crecimiento larval, observaremos un crecimiento de tipo exponencial, llegando a multiplicar su tamaño inicial en un 865%. Este incremento disminuye al analizar la evolución del ancho de la cápsula cefálica, el cual es de 567%. La capsula cefálica presenta un patrón de crecimiento lineal. Estos resultados cumplen la regla de Dyar (Daly, 1985), según la cual existe un crecimiento progresivo en las estructuras morfológicas, el cual disminuye en los últimos estadios larvales. Esta regla sugiere que las partes esclerotizadas de la larva tendrán un patrón de crecimiento lineal, mientras que la longitud de la larva presentara un crecimiento logarítmico.

Supervivencia

Hasta el momento no existía ningún tipo de información relacionada con la supervivencia de cada estado de esta especie de estudio. Así, pues nuestros datos son los primeros en aportar información sobre la tasa de mortalidad de los distintos estados del ciclo de vida de *C. dirce* en condiciones de semilibertad. Los resultados obtenidos presentan grandes similitudes con los resultados esperados y se ajustan dentro de los rangos de mortalidad de los lepidópteros (Zalucki, Clarke y Malcolm, 2002). La tasa de mortalidad presenta un máximo en los primeros estados del ciclo, en concreto el primer estadio larval, y disminuye al llegar a las etapas finales, aunque, no se esperaba que ningún sujeto muriese en fase de prepupa y/o pupa. El sujeto en fase de prepupa falleció al no poder colgarse óptimamente y la muerte del sujeto en fase de pupa la causo un insecto parasitoide. Finalmente, destacar la vulnerabilidad del primer estadio, donde la mayoría de individuos no sobrevivió al primer día después de la eclosión.

5.2 Descripción de las principales características morfológicas de cada estadio.

De forma general nuestros resultados son parecidos a las pocas descripciones morfológicas existentes de *C. dirce*. A pesar de ello, existen diferencias respecto al número de estrías en los huevos y la duración de alguna fase de desarrollo. Esta variación posiblemente tenga su motivo en el tipo de metodología usada en cada estudio. Una metodología distinta implica distintas frecuencias al momento de realizar los registros y distintos métodos de medición. Por otro lado, destacar que estas diferencias pueden ser normales al comparar estudios con distintas condiciones ambientales, ecológicas y biogeográficas.

Huevo

La morfología externa, el número de estrías, la duración de la fase y el diámetro del huevo coinciden con la descripción de Muyshondt y Muyshondt (1976), sin embargo existen algunas diferencias como por ejemplo la forma del huevo, la cual no es completamente esférica. Respecto a los antecedentes resumidos por Willmott et al. (2001) encontramos una diferencia de 1 día de más en la duración de la fase de huevo. Por su parte Beebe (1952) describe 2 huevos muy parecidos a los de nuestros resultados, coincidiendo en diámetro y descripción morfológica. Beebe, también indica que cada huevo estaba rodeado de 14 estrías, un número muy superior a nuestro promedio, pero dentro del rango registrado.

Estadio larval

Las descripciones morfológicas de la fase larval coinciden con la bibliografía existente de la especie (Willmott et al., 2001). A pesar de esto existen diferencias respecto a la duración de esta etapa. Según Willmott et al. (2001) el cuarto y quinto estadio presentan 2 días más de duración que nuestros resultados. Por otro lado también encontramos diferencias en la descripción de Muyshondt y Muyshondt (1976) donde la duración del tercer estadio es de 2 días, la del cuarto de 6 días y la del quinto presenta una variación de 7 a 9 días. Finalmente, remarcar que este trabajo también incluye descripciones e ilustraciones de momentos previos y posteriores a la muda, los cuales son escasos en la bibliografía actual.

Prepupa y pupa

Las descripciones resumidas por Willmott et al. (2001) coinciden de forma mayoritaria con los resultados obtenidos en estas últimas etapas. A pesar de esto también existen algunas diferencias. La primera de ellas se encuentra en la duración de la etapa de prepupa, donde nuestros resultados muestran que esta es claramente inferior a un día. La segunda diferencia la podemos encontrar en la duración de la etapa de pupa. Los resultados de Muyshondt y Muyshondt (1976) y Willmott et al. (2001) coinciden en que esta etapa tiene una duración de 12 a 14 días, una duración claramente mayor que en nuestros resultados. Otra diferencia con Muyshondt y Muyshondt (1976) son las dimensiones de la pupa, la cual según sus resultados son de 50 mm long y 13mm de ancho, unos resultados significativamente superiores a los nuestros. Además, la fase de pupa presenta un mecanismo de defensa de tipo morfológico (Greeney, Dyer & Smilanich, 2012) con una apariencia física claramente críptica, simulando una rama muerta. La finalidad de este mecanismo es evitar la predación.

Adultos

En análisis estadístico de los datos ha confirmado, tal y como afirmaban Muyschondt y Muyschondt (1976), que las hembras adultas de *C. dirce* presentan una mayor envergadura alar que los machos y por lo tanto, son más grandes. Por otro lado, los resultados nos muestran que esta especie presenta un ratio sexual de 1:1. Según Schowalter (2016) este tipo de proporción maximiza la disponibilidad de machos disminuyendo la heterogeneidad genética, aumentando la supervivencia de la población. Además, también implica un papel igual de importante entre sexos en el momento de proteger distintos recursos seleccionados.

5.3 Aspectos biológicos

Adultos

Hasta el momento, no existía información disponible sobre el tiempo de oviposición de *C. dirce*, así pues, este trabajo aporta los primeros datos en este tema. Debido a la brevedad del momento de la oviposición y a la herramienta utilizada en la medición de los tiempos, estos datos deberían ser contrastados en un futuro. A pesar de esto, aportan información cualitativa sobre el proceso de oviposición. Una de las puestas observadas fue de un solo huevo, una medida distinta al resumen expuesto por Willmott et al. (2001) donde se indica que los huevos se depositan en pequeños grupos de 2 a 8 huevos. Este resultado indica la posibilidad de que *C. dirce* realiza puestas de un solo huevo o bien que la puesta fue interrumpida debido a una medición demasiado intrusiva. Finalmente, destacar que todas las puestas observadas fueron registradas entre las 11:30 y las 17:00 pm.

Hábitos alimenticios

Tal y como era de esperar, los adultos no tuvieron ningún problema para adaptarse a la dieta frugívora producida en la casa de cría. Por otro lado, algunos individuos fueron observados a nivel de suelo alimentándose. El propósito de este comportamiento puede ser incorporar fuentes de sodio, nitrógeno y proteínas las cuales se relacionan con distintas variables, como es el caso de los machos, los cuales incorporan sales minerales para facilitar el proceso de maduración sexual (Beck, Mühlenberg, y Fiedler, 1999).

Plantas hospederas

Las larvas presentaron una gran flexibilidad al utilizar distintas especies de plantas como planta hospedera y alimenticia. Esta flexibilidad de *C. dirce* le otorga un menor grado de dependencia de la planta hospedera, permitiéndole una mejor adaptación al medio (Carrasco, Larsson, y Anderson, 2015). Todas las especies de plantas hospederas fueron del genero *Cecropia*. A pesar de que no hubo diferencias significativas en la elección de la especie de la planta hospedera, sí que parece haber una preferencia por parte de los individuos adultos durante la oviposición por aquellas plantas más jóvenes.

Enemigos naturales

Hasta la actualidad, se desconocían las especies que actuaban como enemigos naturales de *C. dirce* en su ciclo de vida. Durante el transcurso del proyecto, se han observado 3 enemigos naturales en 3 fases distintas del ciclo de vida en condiciones de semilibertad. Este hecho reafirma la importancia ecológica de estos organismos, con depredadores en casi todas las fases de su ciclo. Finalmente, solo se pudo identificar a uno de los tres enemigos naturales debido a los recursos existentes y a la alta complejidad del ambiente. Por estos motivos, se guardaron muestras de las dos especies sin identificar en la casa de cría, con el propósito de clasificarlas en un futuro para no perder información.

5.4 Aspectos de crianza

Obtención y manejo de los huevos

Los huevos presentan enemigos naturales dentro del mariposario y por este motivo es muy importante el proceso de recolección. Este se tiene que dar con la mayor inmediatez posible para evitar principalmente el parasitismo. Los resultados muestran que la avispa de la familia *Scelionidae* actuó como enemigo natural de *C. dirce* parasitando los huevos. Se trata de una parasito generalista el cual ha sido reportado también con otras especies de la familia *Nymphalidae* en la amazonia peruana (Ruíz et al., 2015). Por otro lado, se recomienda recolectar los huevos manualmente o con la ayuda de un pincel para no dañar las hojas, ya que estas son reutilizadas durante la oviposición.

Manejo de las larvas

El primer estadio larval es el más delicado de todo el ciclo de vida de *C. dirce*, por esta razón, es primordial controlar la temperatura, la humedad, los excrementos y el alimento de la unidad de cría para asegurar la supervivencia de las larvas. Otra cuestión fundamental es la formación de la columna durante las primeras etapas larvales, la cual se trata de un mecanismo de defensa. Este mecanismo se puede clasificar como aquellos comportamientos que presumiblemente reducen los encuentros y ataques de los enemigos naturales (Greeney et al., 2012). Todos los incidentes de predación observados se han producido cuando las larvas se encontraban en el haz de la hoja.

Manejo de prepupa y pupa

Se recomienda no manipular a los sujetos durante estas etapas finales, ya que estos son extremadamente frágiles y vulnerables. Así mismo se debe facilitar la suspensión de los individuos a la tapa de la unidad de cría. De esta manera, evitaremos daños innecesarios en las alas al eclosionar los individuos adultos.

Manejo de los adultos

Para asegurar el bienestar de los individuos adultos, estos deben ser liberados en un mariposario con un porcentaje suficiente de sombra para descansar, tal y como indican nuestras observaciones. También se indica una preferencia de los adultos de *C. dirce* por las hojas más tiernas y de menor altura del género *Cecropia*. Finalmente, comentar que el tipo de marcaje utilizado en este trabajo provocó daños en uno de los individuos y en consecuencia, se recomienda evitar el uso de corrector tipp-Ex en el marcaje.

6 Conclusions

1 The life cycle of *Colobura dirce* in conditions of semi-freedom in the peasant community of San Rafael has an average duration of approximately 36 days.

2 Pupa stage has the longest development time of the whole cycle while the prepupa stage has the lowest.

3 The larval instar has a logarithmic growth pattern while the width of the cephalic capsule has linear growth pattern.

4 The methodology used in this study provides a model for the rearing of *C. dirce* with a survival rate of 43.34%.

5 The highest mortality rate occurs in the first larval instar (36.36%), followed by the egg phase (14.44%) and the second instar (14.3%).

6 The immature stages (larval stages and pupa) of *C. dirce* are cryptic in appearance and behavior.

7 Existence of at least 3 different species that act as natural enemies of *C. dirce* in conditions of semi-freedom.

8 Female individuals have a wingspan significantly larger than males.

9 Adults of *C. dirce* have a sex ratio of 1:1.

10 Adults have a preference with the younger leaves of *Cecropia* spp. at the time of depositing the eggs.

7 Bibliografía

Beebe, C. W. (1952). A contribution to the life history of *Colobura* (*Gynaecia* auct.) *dirce* *dirce* (Linnaeus) (butterfly). *Zoologica*, 27(1), 32-40.

Beccaloni, G. W., & Gaston, K. J. (1995). Predicting the species richness of neotropical forest butterflies: Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae) as indicators. *Biological Conservation*, 71(1), 77-86.

Beck, J., MuÈhlenberg, E., & Fiedler, K. (1999). Mud-puddling behavior in tropical butterflies: in search of proteins or minerals?. *Oecologia*, 119(1), 140-148.

BIOFIN. (2019). Peru. Recuperado de: <https://www.biodiversityfinance.net/peru>

Brown Jr, K. S. (1991). Conservation of neotropical environments: insects as indicators. *The conservation of insects and their habitats*, 349, 404.

Bruguère, C., Perru, O., & Charles, F. (2018). The Concept of Metamorphosis and its Metaphors. *Science & Education*, 27(1-2), 113-132.

Cantarero, K. J., Canales, O. M., Mendoza, A. A., & Martínez, L. B. (2009). Ciclo de vida de las especies *Caligo memno* (Lepidóptera: Brassolinae) y *Heliconius ismenius* (Lepidóptera: Heliconinae) bajo condiciones controladas. *Revista Ciencia y Tecnología*, 87-106.

Carrasco, D., Larsson, M. C., & Anderson, P. (2015). Insect host plant selection in complex environments. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 1-7.

Charity, S., Dudley, N., Oliverira, D and Stolton (editors). (2016). *Living Amazon Report 2016: A regional approach to conservation in the Amazon*. WWF Living Amazon Initiative, Brasília and Quito.

Cinici, A. (2013). From caterpillar to butterfly: a window for looking into students' ideas about life cycle and life forms of insects. *Journal of Biological Education*, 47(2), 84-95.

Daly, H. V. (1985). Insect morphometrics. *Annual review of entomology*, 30(1), 415-438.

Davidson, E. A., de Araújo, A. C., Artaxo, P., Balch, J. K., Brown, I. F., Bustamante, M. M., ... & Munger, J. W. (2012). The Amazon basin in transition. *Nature*, 481(7381), 321.

Esquivel-Muelbert, A., Baker, T. R., Dexter, K. G., Lewis, S. L., Brienen, R. J., Feldpausch, T. R., ... & Higuchi, N. (2019). Compositional response of Amazon forests to climate change. *Global change biology*, 25(1), 39-56.

Evelyn, R. U. Í. Z., VÁSQUEZ, J., ZÁRATE, R., & PINEDO, J. (2015). Aspectos biológicos de *Morpho helenor theodorus* (Fruhstorfer) (Lepidoptera: Nymphalidae; Morphinae) y *Mechanitis polymnia* (Linnaeus), (Lepidoptera: Nymphalidae; Ithomiinae), en la Amazonia baja del Perú. *Folia Amazónica*, 24(1), 45-54.

- Gernaat, H. B., Beckles, B. G., van Andel, T. R., van Andel, T. R., & van Andel, T. R. (2012). *Butterflies of Suriname: a natural history* (p. 680). Amsterdam: KIT Publishers.
- Gómez, R. (2006). Plan de manejo propuesto para la cría de mariposas promisorias como alternativa productiva para comunidades indígenas de la Amazonia colombiana. *Bol Soc Entomol Aragonesa*, 38, 451-460.
- Greeney, H. F., Dyer, L. A., & Smilanich, A. M. (2012). Feeding by lepidopteran larvae is dangerous: A review of caterpillars' chemical, physiological, morphological, and behavioral defenses against natural enemies. *Invertebrate Survival Journal*, 9(1), 7-34.
- Heppner, J. B. (1991). Faunal regions and the diversity of Lepidoptera. *Tropical Lepidoptera*, 2, suppl. 1: 1- 85.
- Hilty, J., & Merenlender, A. (2000). Faunal indicator taxa selection for monitoring ecosystem health. *Biological conservation*, 92(2), 185-197.
- Kristensen, N.P. (1999). Lepidoptera: moths and butterflies. Vol. 1. (evolution, systematics and biogeography). In: *Handbook of Zoology*, vol. IV (Arthropoda: Insecta), Part 35 (ed. M. Fischer), 1–491. Berlin/New York: Walter de Gruyter.
- Kristensen, N. P., Scoble, M. J., & Karsholt, O. L. E. (2007). Lepidoptera phylogeny and systematics: the state of inventorying moth and butterfly diversity. *Zootaxa*, 1668(1), 699-747.
- Laurance, W. F. (2000). Mega-development trends in the Amazon: implications for global change. *Environmental Monitoring and Assessment*, 61(1), 113-122.
- Mallet, J. (2013). The Lepidoptera taxome project.
- Melo de Melo, D. H., Filgueiras, B. K., Iserhard, C. A., Iannuzzi, L., Freitas, A. V., & Leal, I. R. (2019). Effect of habitat loss and fragmentation on fruit-feeding butterflies in the Brazilian Atlantic Forest. *Canadian Journal of Zoology*, (ja).
- Mullen, G. R., & Zaspel, J. M. (2019). Moths and butterflies (Lepidoptera). In *Medical and veterinary entomology* (pp. 439-458). Academic Press.
- Müller, W. (1886). Südamerikanische Nymphalidenraupen. Versuch eines natürlichen Systems der Nymphaliden. *Zool. Jahrb. (Syst.)* 1: 417-468.
- Muyshondt Jr, A., & Muyshondt, A. (1976). Notes on the Life Cycle and Natural History of Butterflies of El Salvador. I C.-Colobura dirce L.(Nymphalidae-Coloburinae). *Journal of the New York Entomological Society*, 23-33.
- Nazari, V., & Evans, L. (2015). Butterflies of Ancient Egypt. *The Journal of the Lepidopterists' Society*, 69(4), 242-268.
- Nepstad, D. C., Stickler, C. M., Filho, B. S., & Merry, F. (2008). Interactions among Amazon land use, forests and climate: prospects for a near-term forest tipping point. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1498), 1737-1746.
- Schowalter, T. D. (2016). *Insect ecology: an ecosystem approach*. Academic Press.
- Scoble, M. J. (1992). *The Lepidoptera. Form, function and diversity*. Oxford University Press.

Stoll, C. (1786). Aanhangsel van het Werk, de Uitlandische Kapellen, Voorkomende in de Drie Waereld-Deelen Asia, Africa en America, door den Heere Pieter Cramer, Vervattende Naauwkeurige Afbeeldingen van Surinaamsche Rupsen en Poppen; als Mede van Veele Zeldzaame en Nieuwe Ontdekte Uitlandische Dag-en Nagt-Kapellen. i-viii, 1-42, pls.1-8. Nic. Th. Gravius, Amsteldam.

Tavares, W. D. S., de Assis Júnior, S. L., Soares, M. A., & Zanuncio, J. C. (2015). Colobura dirce dirce (Lepidoptera: Nymphalidae) larvae damaging Cecropia hololeuca (Rosales: Urticaceae) in the Zona da Mata, Minas Gerais, Brazil. *Florida Entomologist*, 98(2), 792-796.

Tobar-L, D., Rangel-Ch, J. O., & Andrade-C, M. G. (2001). LAS CARGAS POLÍNICAS EN LAS MARIPOSAS (LEPIDOPTERA: ROPHALOCERA) DE LA PARTE ALTA DE LA CUENCA DEL RÍO ROBLE-QUINDÍOCOLOMBIA. *Caldasia*, 549-557.

Van Swaay, C., Regan, E., Ling, M., Bozhinovska, E., Fernandez, M., Marini-Filho, O. J., ... & Pe'er, G. (2015). Guidelines for standardised global Butterfly Monitoring. *Group on Earth Observations Biodiversity Observation Network, Leipzig, Alemania. GEO BON Technical Series, 1*, 32.

Vásquez, J. (2006). Ciclo biológico de Battus polydamas (Linnaeus) (Lepidoptera: Papilionidae), en la Amazonia de Perú. *Revista Peruana de Entomología*, 45(1), 101-104.

VÁSQUEZ, J., LAMAS, G., Couturier, G., & MEJÍA-CARHUANCA, K. M. (2012). Aspectos biológicos de Panacea prola amazonica (Fruhstorfer)(Lepidoptera: Nymphalidae), en la Amazonia peruana. *Folia Amazónica*, 21(1-2), 71-76.

Willmott, K. R., Constantino, L. M., & Hall, J. P. W. (2001). A review of Colobura (Lepidoptera: Nymphalidae) with comments on larval and adult ecology and description of a sibling species. *Annals of the Entomological Society of America*, 94(2), 185-196.

WWF. (2019). *Inside the Amazon*. Recuperado de: http://wwf.panda.org/knowledge_hub/where_we_work/amazon/about_the_amazon/

WWF. (2019). *Deforestation in the Amazon*. Recuperado de: https://wwf.panda.org/our_work/forests/deforestation_fronts/deforestation_in_the_amazon/

Zalucki, M. P., Clarke, A. R., & Malcolm, S. B. (2002). Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annual review of entomology*, 47(1), 361-393.

Zhang, B.C. (1994). Index of Economically Important Lepidoptera. CAB International, University Press. Cambridge. 599 pp.

Zhang, Z. Q. (2011). *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. Magnolia press.