

**CRIA DE Cotesia marginiventris (HIMENOPTERA, BRACONIDAE)
USANDO COMO HUÉSPED LARVAS DE Spodoptera frugiperda
(LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

YULY ESTEFANI TIBOCHA ARDILA,

COD: 111001834

ASTRID YALILA DIMINGO BAEZ,

COD: 111001810

DIRECTOR DE TESIS. ORLANDO JÍMEZ

INGENIERO AGRÓNOMO

DOCENTE UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA

VILLAVICENCIO NOVIEMBRE 19 DEL 2011

**CRÍA DE Cotesia marginiventris (HIMENOPTERA, BRACONIDAE)
USANDO COMO HUÉSPED LARVAS DE Spodoptera frugiperda
(LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Tesis de grado presentado

Por:

YULY ESTEFANI TIBOCHA ARDILA,

COD: 111001834

ASTRID YALILA DIMINGO BAEZ,

COD: 111001810

Dirigido por: Orlando Jiménez

Ingeniero Agrónomo

En cumplimiento de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
VILLAVICENCIO NOVIEMBRE 22 DEL 2011**

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, dándonos ánimo y acompañándonos en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Agradecemos a Dios por darnos el don de la vida y permitirnos cumplir nuestros sueños, al Ingeniero Agrónomo Orlando Jiménez por haber confiado en nosotras, y darnos su apoyo en la dirección de este trabajo. También a la Universidad de los Llanos por ser gestora de nuestra formación profesional; a las entidades CORPOICA y el CIAT, las cuales nos permitieron usar de sus instalaciones como una ayuda para el desarrollo del proyecto. Al señor Jaime Guarín encargado del laboratorio de control biológico por su colaboración, y a los auxiliares del el laboratorio de biología, quienes también muy amablemente nos prestaron sus servicios. Por último pero no menos importante a los Ingenieros agrónomos Carlos Mantilla y Germán Jiménez por sus comentarios en todo el proceso de elaboración de la tesis y sus atinadas correcciones.

Gracias también a Jaisson Londoño Prieto, y Carlos Andrés Pinilla que nos apoyaron en todo este proceso con su compañía y sus comentarios. A nuestros padres que nos dieron la oportunidad de estudiar esta hermosa carrera y compañeros de estudio quienes estuvieron pendientes de nuestras actividades a todos muchas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

1	MARCO TEORICO	15
1.1	GENERALIDADES DEL GUSANO COGOLLERO DEL MAÍZ <i>Spodoptera frugiperda</i>	15
1.1.1	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y TAXONÓMICAS DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	16
1.1.2	DAÑOS OCASIONADOS POR <i>Spodoptera frugiperda</i>	19
1.1.2.1.	CONTROL BIOLÓGICO INDUCIDO DE <i>Spodoptera frugiperda</i>	21
1.2	PARASITOIDES COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO	22
1.3	GENERALIDADES DE EL PARASITOIDE <i>Cotesia marginiventris</i>	23
1.3.1	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	23
1.3.2	CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL INSECTO:	24
1.3.3	CICLO DE VIDA	24
1.3.3.1.	DESARROLLO TÍPICO DE AVISPAS PARASITOIDES.....	25
1.3.4	DISTRIBUCION.....	25
1.3.5	DESCRIPCION.....	25
1.3.6	HABITO PARASÍTICO DE <i>Cotesia marginiventris</i>	27
2	MATERIALES Y METODOS	30
2.1	PRIMERA ÉTAPA: PIE DE CRÍA.....	30
2.1.1	DESARROLLO DE LARVAS	31
2.1.2	MANEJO DE PUPAS	33
2.2	SEGUNDA ETAPA: PARASITACIÓN DE LARVAS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> . POR <i>Cotesia marginiventris</i>	35
2.2.1	RECOLECCIÓN DE AVISPAS PARASITOIDES EN CAMPO	35
2.2.2	MULTIPLICACION DEL PARASITOIDES.....	36

2.2.3	EXPOSICION DE LARVAS <i>Spodoptera frugiperda</i> AL PARASITOIDE <i>Cotesia marginiventris</i> . Y EVALUACIÓN DEL HÁBITO PARASITICO.....	37
2.2.4.	EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE PARASITACION.....	40
3	RESULTADO	41
	1.1.1 3.1. EVALUACION DEL HÁBITO PARASÍTICO.....	45
	1.1.2 3.2. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE PARASITACION.....	47
4	DISCUCION	49
	4.1. EVALUACIÓN DE INSTAR DE <i>Spodoptera frugiperda</i> CON MAYOR PARASITACIÓN.....	49
	4.2. HABITO PARASITICO.....	51
	4.3. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE PARASITACION.....	52

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

CITAS BIBLIOGRAFICAS

TABLA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Larva de <i>Spodoptera</i> . _____	17
Ilustración 2. Adulto Hembra del Gusano Cogollero _____	18
Ilustración 3. Ciclo de vida (<i>Cotesia marginiventris</i>) _____	24
Ilustración 4. Larvas de <i>C. marginiventris</i> . _____	26
Ilustración 5. Pupa o cocón <i>C.marginiventris</i> _____	26
Ilustración 6. Adulto macho <i>Cotesia</i> . _____	26
Ilustración 7. Adulto hembra <i>Cotesia</i> _____	26
Ilustración 8. Avispa parasitoide <i>Cotesia marginiventris</i> (izquierda) y adulto de <i>Spodoptera frugiperda</i> en maíz (derecha) (Fotos cortesía de Eduardo Virla, PROIMI-Biotecnología) _____	27
Ilustración 9. Agujero de salida hecho por una larva de <i>Cotesia marginiventris</i> (Cresson), una avispa parasitoide, en una larva de, <i>Spodoptera exigua</i> _____	28
Ilustración 10. Detalle agujero de salida _____	28
Ilustración 11. <i>Cotesia</i> parasitando larva. _____	28
Ilustración 12. Posturas <i>Spodoptera frugiperda</i> . . _____	30
Ilustración 13. Postura <i>Spodoptera frugiperda</i> en estado de emergencia _____	30
Ilustración 14. Cámara de cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> ; b) Larvas 6 instar; c) Curculos , caracter diagnostico de Sp. _____	31
Ilustracion 15. Dieta para <i>Spodoptera frugiperda</i> _____	32
Ilustracion 16. Larva <i>Spodoptera f.</i> 7 instar de desarrollo _____	32
Ilustracion 17. a) Camara de oviposición. b) Posturas en emergencia sobre dieta; c) Crisalida de seda, tejida antes de empupar por la larva _____	33
Ilustracion 18. Adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i> En cámara de oviposición ____	34
Ilustración 19. Cultivo de maíz, Altillanura (Dpto., Meta) _____	35
Ilustración 20. Cocón <i>Cotesia marginiventris</i> , sobre haz de hoja de maiz. Puerto López (META) _____	26
Ilustración 21. Cocón parasitoide en sitio de emergencia del adulto, con larvas para parasitar _____	36
Ilustración 22. Larvas segundo instar sobre hojas de higuera _____	37
Ilustración 23. Avispita de <i>Cotesia marginiventris</i> , realizando búsqueda de huesped _____	38

Ilustración 24. Adulto de <i>Cotesia marginiventris</i> .16,64X _____	39
Ilustración 25. Evaluación parasitación primer instar _____	39
Ilustración 26. Evaluación de parasitación 2 Instar de <i>Spodoptera frugiperda</i> ; (b y c) Cocon obtenido en laboratorio _____	41
Ilustración 27. a,b) Larva parasitada <i>Spodoptera frugiperda</i> por <i>Cotesia marginiventris</i> , c) Larva de <i>Cotesia marginiventris</i> emergiendo de larva muerta de <i>Spodoptera frugiperda</i> , d) y e) Cocon de <i>Cotesia marginiventris</i> dos días de emergida la larva. _____	46
Ilustración 28. Cocon de <i>Cotesia marginiventris</i> con abertura de salida de adulto _____	47

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ciclo de vida. <i>Spodoptera frugiperda</i> (Bayer Cropscience) _____	16
Tabla 2. Ingredientes Desarrollo de las Larvas _____	32
Tabla 3. Numero de Larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> _____	42
Tabla 4. Análisis de Varianza Instar de <i>Spodoptera frugiperda</i> de Mayor Parasitación Prueba de Tukey _____	43
Tabla 5 Información del nivel de clase _____	43
Tabla 6. Procedimiento GLM Prueba Tukey: Variable dependiente: Parasitada _____	44
Tabla 7. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes _____	44
Tabla 8. Numero de larvas de <i>Cotesia marginiventris</i> emergidas del huesped <i>spodoptera frugiperda</i> , y efectividad de la parasitación. Lab de control biologico universidad de los llanos 2011 _____	48

RESUMEN

El parasitoide de larvas de *Spodoptera frugiperda*. (Lepidoptera:Noctuidae) podría ser una alternativa biológica importante en programas de diversificación de agentes benéficos. Con este fin es de gran importancia adelantar estudios de laboratorio y campo tendientes a ampliar todos los conocimientos sobre el comportamiento del parasitoide, para encontrar una técnica de cría masiva que permita su posterior liberación en campo.

Aunque existe muy poca información de los hábitos de *C. marginiventris*. (Micro himenóptera, Braconidae) con respecto a su hospedero *S. frugiperda*. (Lepidóptera, Noctuidae) algunas investigaciones nos indican que es un parasitoide solitario que parasita larvas de *S. frugiperda* de primero y segundo instar, que la duración entre el día que el parasitismo ocurre, y *C. marginiventris* pasa por huevo, larva y crisálida es un promedio de 13,6 días, con tres estadios larvales. La longevidad del adulto con alimento es un promedio de 7 día para la hembra y 8.8 días para el macho con condiciones ambientales de T= 25 °C Y HR= 78%.

La longevidad máxima que se alcanzo en laboratorio fue de 24 días, el segundo instar fue el de mayor parasitación con un 13.75%, y no hubo parasitación en el tercero y cuarto instar. La efectividad de parasitación fue de un 21.11% a los 10 días de exposición de larvas a la parasitación.

ABSTRACT

The parasitoid of larva of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) might a biological important alternative in programs of diversification of beneficial agents. With this purpose it performs great importance to advance studies of laboratory and field tending to extend all the knowledge on the parasitoid behavior, to find a technology of massive tearing who allows his later liberation in field.

Though there exists very little information of *Cotesia marginiventris* . habits with regard to his host *Spodoptera frugiperda* some investigations indicate us that it is a solitary parasitoid that parasitizes larva of *S. frugiperda* of first and second instars to urge, that the duration between the day that parasitism occurs, and *C. Marginiventris* passing through egg, larva and pupa is an average of 13.6 days, with three larval instars. The longevity of the adult with food is an average seven day for the female and 8,8 days for the male at a temperature af 25 °C and relative humidity 78%.

The maximum male longevity was 24 days in laboratory conditions. *Spodoptera frugiperda* second instar was the most parasitized with a 13, 75%. The third and fourd instar were not parasitized. The efficiency of parasitation was 21,11% after having larvae passed to parasitation during 10 days.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Criar el parasitoide de larvas Cotesia marginiventris usando como sustrato de alimentación larvas de Spodoptera frugiperda en condiciones de laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el estado larval de Spodoptera frugiperda. de mayor susceptibilidad a la parasitación por Cotesia marginiventris.
- Conocer el hábito parasítico que exhibe Cotesia marginiventris. teniendo en cuenta las condiciones de luz y temperatura en las que parasita un determinado número de larvas.
- Conocer la efectividad de parasitación por Cotesia marginiventris en condiciones de laboratorio.

JUSTIFICACION

A medida que se intensificó el cultivo de Arroz el uso de plaguicidas también aumentó, lo que trae como consecuencia que las plagas adquieran mayor resistencia, esto ha provocado que mayores concentraciones y aplicaciones de plaguicidas sean incorporadas en el cultivo de Arroz.

Los insectos- plaga son un hecho de la vida agrícola. Prosperan si existe una fuente concentrada y confiable de alimento, y desafortunadamente las medidas que se utilizan normalmente para aumentar la productividad de los cultivos crean un ambiente aún más desfavorable para las plagas. Por eso en cualquier agro sistema efectivo, se requiere el manejo inteligente de los problemas de las plagas.

El avance de la aplicación de la propuesta de control biológico de plagas y el manejo ecológico de cultivos, viene ganando terreno en forma sostenida, respondiendo de forma eficiente a la tendencia global, que busca resolver, en el plazo más corto posible, la tremenda influencia del uso de agroquímicos en la producción agrícola Nacional y Mundial.

Diversos cultivos ya nos demuestran que el control biológico de plagas, constituye la alternativa tecnológica del presente, representando el principal reto de desarrollo agrícola Nacional, al masificar su aplicación, como parte de la tarea de alcanzar un modelo de producción social y ecológicamente responsable, económicamente viable y sostenible en el tiempo.

Spodoptera frugiperda. ha sido señalado como el insecto fitófago más importante en cultivos como arroz y maíz en nuestro país. Sin embargo y aún cuando no se ha llegado a cuantificar experimentalmente como sus poblaciones afectan los rendimientos de dichos cultivos, la mayoría de los productores, utilizan el control químico como principal método de control. En la búsqueda de una nueva alternativa para control de "cogollero" se realizó el presente proyecto de grado, el cual tuvo como objetivo criar el microhymenoptero *Cotesia marginiventris*., en condiciones de laboratorio para el manejo de las poblaciones de *Spodoptera frugiperda*. y se conocerán diferentes aspectos relacionados con la información básica necesaria para ampliar conocimientos con respecto a los hábitos que exhibe *Cotesia marginiventris* hacia su hospedero *S. frugiperda*

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los sistemas productivos de arroz y maíz se han involucrado en una situación complicada y de desventaja por los altos costos de producción y el alto impacto ambiental generado, debido al uso inmesurado de productos químicos como alternativa de control contra *Spodoptera frugiperda*. Dentro de las ofertas de control biológico inducido de *S. frugiperda*, existen importantes especies parasitoides de huevos principalmente, los cuales ya circulan en el mercado nacional como controladores biológicos de esta plaga, sin embargo es necesario seguir realizando investigación en otras especies parasitoides alternativas las cuales pueden ser efectivas en el parasitismo de esta especie fitófaga.

Actualmente no se ha demostrado que *Cotesia marginiventris* puede criarse en laboratorio en condiciones de los llanos orientales de Colombia y exhibir un hábito parasítico eficaz hacia su huésped *Spodoptera frugiperda*.

HIPOTESIS

Cotesia marginiventris es una alternativa de control biológico que actúa como parasitoide de los primeros instares larvales de *S. frugiperda*, y puede ser criado en laboratorio como una opción de multiplicación para posibles investigaciones acerca de efectividad en campo para control de este insecto.

1 MARCO TEORICO

1.2 GENERALIDADES DEL GUSANO COGOLLERO DEL MAÍZ (*Spodoptera frugiperda*)

“El gusano cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: noctuidae) es considerada la plaga más importante del maíz en muchas regiones de América (Andrews, 1989; García 1993; León 1987,1989). En Colombia, es plaga de otros cultivos como arroz, pastos, sorgo, caña de azúcar y algodón. Por ser plaga polifagia, se encuentra en malezas gramíneas y de hoja ancha. La gran cantidad de huéspedes alternos hace que su dispersión sea amplia asegurando su supervivencia y la abundancia en sus poblaciones.

El gusano cogollero es nativo de centro y Sur América en donde ha causado incalculables pérdidas económicas. La larva se alimenta de la lamina foliar llegando hasta esqueletizarlas, ocasionando grandes pérdidas en cultivos de arroz secano principalmente, en ocasiones puede llegar a convertirse en gusano ejército devorando todo a su paso; por lo que se puede llegar a realizar grandes aplicaciones de insecticidas en los cultivos.

El impacto ecológico para la entomofauna y el alto riesgo de intoxicaciones y residuos tóxicos en alimento humano y animal por el uso continuado de control químico de plagas a llevado a la búsqueda de alternativas limpias que reduzcan o sustituyan este método tradicional. Para responder a la situación planteada y estructurar un programa de manejo de *S. frugiperda*. con criterios de sostenibilidad, competitividad y equidad, se generó una oferta tecnológica integrando controles biológicos naturales e inducidos, controles microbiológicos y físicos que utilizados en forma independiente o bajo un efecto combinado, según sea la dinámica poblacional de la plaga, la densidad de sus poblaciones, la intensidad de daño al cultivo y las condiciones climatológicas reinantes hará posible el manejo de *Spodoptera sp.* bajo un enfoque ecológico, económico y de seguridad humana y animal.

Spodoptera frugiperda es una plaga regulada biológicamente por diversas especies de parasitoides, depredadores y entomopatògenos las cuales en forma natural, reducen más del 50 % la población de larvas y pupas (García, 1989; García et, Al 1999; Vargas y Sánchez 1983) sin incluir el efecto de

especies depredadoras. Esta importante fauna benéfica inicia su colonización al cultivo desde época muy temprana, incrementando sus poblaciones paralelamente con la infestación de la plaga. Además de la conservación y recuperación de parasitoides, depredadores y entomopatógenos nativos puede acudir a prácticas de colonización y liberación de agentes benéficos para fortalecer y diversificar el potencial biológico de *Spodoptera frugiperda*" (García., 2002)

1.2.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y TAXONÓMICAS DE (*Spodoptera frugiperda*)

- **TAXONOMÍA**

Reino: ANIMAL; División: Exopterygota; Clase: Insecta; Orden: Lepidóptera; Familia: Noctuidae; Genero: *Spodoptera*; Especie: *S. frugiperda*

- **CICLO DE VIDA**

TABLA 1. Ciclo de vida. *Spodoptera frugiperda* (Bayer Cropscience)

Huevo:	La duración de este estado puede variar entre 16 a 30 días.
Larva:	6 a 10 días.
Prepupa:	2 a 3 días.
Pupa:	6 a 10 días.
Adulto:	La duración promedio es de 12 días, el número de huevos que deposita cada hembra es de 890.

- **BIOLOGIA DE (*Spodoptera frugiperda*)**

Huevo: Son esféricos, algo aplanados en la parte superior, con 0,5 mm de

diámetro aproximadamente, y con la superficie externa estriada radicalmente. Su color es blanco amarillento, con cierto brillo nacarado cuando están recién puestos, a medida que la incubación avanza se tornan de un color gris rojizo. Son depositados en grupos compactos formando varias capas generalmente de cien o más huevos individuales, cubiertos por una especie de telaraña compuesta por secreciones de la hembra y escamas de su cuerpo; Esta telilla parece proporcionarles cierta protección contra algunos agentes bióticos y abióticos.



<http://www.inta.gov.ar/>

Ilustración1.Larva de *S. frugiperda*

Larva: Son eruciformes, con tres pares de patas torácicas, cuatro pares de pseudopatas abdominales y un par anal o telson. Recién salidas de los huevos tienen aproximadamente 1,5 mm de largo, color blanquecino, cabeza negra y prominente, y el cuerpo cubierto de pelos finos;

cuando emergen son oscuras con el casquete cefálico más ancho que el cuerpo, durante todo su desarrollo su color varía desde el verde claro hasta casi el negro, con tres rayas longitudinales más claras por el dorso hasta el último segmento. En estado más avanzado de desarrollo muestra una coloración variable, presentándose formas de color verdoso hasta gris oscuro. En su posición dorsal puede distinguirse una faja media longitudinal de color café oscuro, y un par de fajas laterales de color café más claro a ambos lados de la anterior. Presentan un escudo cervical café oscuro; la cabeza es de color café amarillento, más estrecha que el cuerpo, y presenta la sutura epicraneana muy destacada y en forma de Y invertida. En su máximo desarrollo alcanza 34 a 44 mm de longitud en esta especie se presentan seis a siete instares larvales y se observa hábitos canibalísticos entre ella y con gran número de larvas de otras especies, después del tercer instar.

Son la única etapa dañina del insecto. Después de emerger se alimentan del corion del huevo. Actúan como “trozadores” o “tierreros” en muchos cultivos permanecen ocultos bajo el suelo durante el día, cerca de las plantas que atacan, y durante la noche trozan las plántulas. Cuando las larvas buscan las

plantas y penetran verticalmente el cogollero, donde permanecen ocultas hasta que bajan al suelo para empupar.

Pupa: Miden aproximadamente 18 mm de longitud. Son del tipo obtecto, de color café oscuro, liso y brillante; el cremáster está constituido por dos espinas pequeñas en forma de “V” invertida. Penetran unos 2,5 cm bajo el suelo, donde practica una galería de unos 7 cm de largo, al final de la cual fabrica su celda pupal, acorta sus segmentos, muda por última vez y se convierte en pupa.



<http://www.inta.gov.ar>

Ilustración 2. Adulto Hembra del Gusano Cogollero

Adulto: Su aspecto es algo variable; tiene 30 a 35 mm de longitud alar, tórax y abdomen pubescentes y de color ceniciento, siendo el primero más oscuro; las antenas son filiformes. El macho tiene alas anteriores de color pardo oscuro, con una franja conspicua en el margen externo; en la región central de cada una de ellas, cerca al margen costal, muestra una área reniforme, y paralelamente hacia el borde anal existe otra mancha elipsoidal de color claro con el centro oscuro; En el borde externo existe una mancha blanca conspicua y en cada ala se presentan otros arabescos. Las alas posteriores son blancas, pero muestran en el borde externo un ribete oscuro.

La hembra posee las alas anteriores de color gris, más homogéneo comparado con el del macho; se observan en ellas arabescos, aunque menos conspicuos. Muestran hábitos nocturnos, ya que se alimentan, se aparecen y ovipositan durante la noche. Ambos sexos son fácilmente atraídos hacia la luz. Las polillas demuestran un periodo precopulatorio de 1 o 2 días, y otro de preoviposición de cerca de 2 días, después de haber emergido de las pupas. Las hembras copulan más de una vez; son condiciones apropiadas para el desarrollo del insecto el tiempo cálido, húmedo y lluvioso.”(Bayer Cropscience)

1.2.2 DAÑOS OCASIONADOS POR (*Spodoptera frugiperda*).

Las larvas después de emerger se alimentan del corion del huevo. Actúan como “trozadores” o “tierreros” en muchos cultivos permanecen ocultos bajo el suelo durante el día, cerca de las plantas que atacan, y durante la noche trozan las plántulas. Cuando las larvas buscan las plantas y penetran verticalmente el cogollero, donde permanecen ocultas hasta que bajan al suelo para empupar. Este daño es muy notorio ya que las hojas se observan rasgadas y con abundantes excrementos. También pueden hacer daño como polífagas.

Los tres primeros instares requieren menos del 2% del follaje total consumido; sin embargo una larva puede llegar a consumir 140 cm² para completar su desarrollo.

Atacan las partes tiernas o cogollos de las plantas limitando su normal crecimiento, también pueden comer hojas.

Las larvas son activas de noche y de día, atacan a la planta de maíz actuando como cortadoras, defoliadoras y cogolleras según el momento de su desarrollo, y producen daños directos cuando se alimentan de los granos de la espiga (Willink et al., 1993). Durante los dos primeros instares, las larvas roen la epidermis de las hojas, dejando manchas translúcidas; a partir del tercero, consumen toda la lámina foliar dejando huecos irregulares en el follaje, luego migran hacia el cogollo, donde encuentran protección. Por otra parte a esa edad, tienen hábitos caníbales, razón por la cual se encuentra una sola por cogollo. El mayor consumo, 80 % de la ingesta, lo realizan en los dos últimos estadios (Alonso Álvarez, 1991, Murillo, 1991)

Otra aspecto interesante de su comportamiento, en relación con la disponibilidad de territorio, es la migración que muestran larvas a partir del 2 instar, con el fin de buscar nuevas plantas a través de recorridos, sobre la superficie del suelo o ayudadas por el viento.

Las mariposas prefieren ovipositar en las hojas del maíz con menor daño ocasionado por larvas de su misma especie (Alonso Álvarez, 1991). A partir de una o más posturas en pocas plantas se logra fácilmente una infestación generalizada en lotes cuando eclosionan las larvas (Murillo, 1991). De seis hojas en adelante, el daño generalmente se circunscribe al cogollo. En sus últimos estadios, el gusano se alimenta de las hojas enrolladas del cogollo, donde produce perforaciones transversales que debilitan y quiebran las hojas perdiendo su parte distal, reduciendo en consecuencia la capacidad fotosintética de la planta.

En la última parte de esta etapa del cultivo, el gusano puede causar daños a la panoja que se desarrolla dentro de la hoja bandera, pero su importancia es relativa ya que generalmente no se pierde toda la panoja, y el polen puede ser producido por la misma o por plantas vecinas. Una vez emergida la panoja, el gusano recurre a las espigas en desarrollo o a las hojas. El daño realizado en las estigmas reduce la polinización y produce una disminución de granos por espiga. Las larvas también se alimentan de las hojas que influyen directamente sobre el rendimiento, ya que el área foliar en la época de formación de estigmas y llenado de grano está correlacionado directamente con el rendimiento final.

- **DAÑOS OCASIONADOS EN CULTIVOS DE ALGODÓN**

Su radio de acción es muy amplio incluyendo ataques y daños como cortadores y tierrero. Además, también puede ser defoliador, cogollero y bellotero.

Actúa como plaga generalizada sobre la plántula, al igual que los cortadores; en este estado vive en el suelo y se asocia su daño con el de los tierreros. Al crecer la planta los hábitos de la plaga cambian a defoliador y consumen los cogollos o partes terminales; en este momento "capa" el cultivo. Sin embargo, el daño más visible lo ocasiona al formarse las estructuras reproductivas: flores, botones y bellotas. Comienzan sus ataques en el tercio inferior de la planta. A partir de los 60 días los daños en botones y bellotas son graves, ameritando tomar medidas de combate.

La presencia de malezas en áreas circundantes al cultivo mantiene "focos" de infestación constantes de la plaga. Las posturas son fácilmente reconocibles: masas blanquecinas de huevos, recubiertas de escamas, que pueden encontrarse en el follaje de algodón, tallos de malezas y aun en el suelo.

- **NIVELES DE DAÑO**

El nivel crítico para esta plaga como cortador o tierrero es de 15% de plantas trozadas; como defoliador depende el estado del cultivo pero en general se puede aceptar un 50% Para hacer control.

Nivel de Riesgo:

- En arroz de 3 a 5 hojas, 8% de tallo con corazón muerto.
- En arroz de embuchamiento 6% de tallos con corazón muerto.
- En arroz con floración, 12% de panículas blancas.
Umbral de acción: 50 a 60 larvas/m² en plántulas mayores de 30 ddg; su ataque es importante antes de 30 ddg con poblaciones de 19 larvas/m².
- Arroz de riego oferta tecnológica para su producción, CORPOICA, Espinal Tolima, 1997. (Bayer Cropscience)

1.2.2.1 CONTROL BIOLÓGICO INDUCIDO DE (*Spodoptera frugiperda*):

En el año de 1992, el Instituto Colombiano Agropecuario ICA inició estudios para evaluar la efectividad de una cepa de *Trichogramma* sobre huevos de *Spodoptera frugiperda* como plaga del maíz. En 1994, CORPOICA continuó y amplió estos estudios con el parasitoide de huevos *Telenomus sp*, las cepas de estos dos benéficos fueron traídas desde Venezuela por productores de insumos biológicos (Coinbiol).

Posteriormente se planearon trabajos de campo para conocer el comportamiento de estos parasitoides programando liberaciones inundativas de ellos conjuntamente con la especie nativa *Trichogramma exigum* Pinto & Platner (Pineda y Cabal, 1993, Agredo y Polo, 1995; García y Rojas, 1996; García, Rojas y Mosquera 1997).

Actualmente la tecnología de control biológico inducido de *Spodoptera* se basa en el parasitismo causado en huevos de la plaga a través de las tres especies de parasitoides de huevos, *Telenomus sp*, *Trichogramma atopovirilia* y *Trichogramma exigum*, no se ha generado una oferta tecnológica de control biológico para el manejo de larvas a través de parasitoides de *Cotesia marginiventris*.(García., 2002)

1.3 PARASITOIDES COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

El término “Parasitoide” fué usado por primera vez por Reuter en 1923 para referirse y describir el grupo de insectos que se desarrollan como larvas en los tejidos de otros artrópodos a los cuales terminan matando (Waage & Hazle, 1982); Doutt (1959) en una revisión sobre la biología de los himenópteros parásitos establece que, a pesar de que hay mucha justificación para usar el término parasitoide este no ha sido adoptado ampliamente y es usado indistintamente intercambiándolo con el término parasito por las autoridades en este campo.

Sin embargo, durante los últimos 15 años ha sido más frecuentemente usado a nivel mundial debido a que en los años 80 fue adoptado oficialmente por instituciones como el instituto internacional de control biológico de CABI, en sus publicaciones y aquí en Colombia entidades como Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, CORPOICA y la Sociedad Colombiana de Entomología, Socolen, han hecho lo propio.

Los parasitoides difieren de los verdaderos parásitos en que aquellos invariablemente matan a su huésped cuando completan su desarrollo, mientras que los segundos, pueden vivir por varias generaciones alimentándose del huésped sin causar su muerte.

La forma de vida de un parasitoide se puede resumir así: La hembra adulta busca activamente por el huésped, deposita los huevos mediante el ovipositor dentro, sobre, o en los alrededores del huésped. El huevo eclosiona y emerge la larva que empieza a alimentarse de los tejidos del huésped y pasa a través de varios estados o instares dentro del huésped como endoparasitoide o sobre el como ectoparasitoide. En los parasitoides solitarios se desarrolla sólo un individuo por cada huésped mientras que los gregarios pueden desarrollarse en grupos originados de huevos puestos durante una o más ovoposiciones.

Una cantidad de terminología considerable ha sido propuesta para tratar de especificar y categorizar las diferentes formas en las cuales los parasitoides expresan su relación con los huéspedes, diferencias en rangos de huéspedes, tipos de huéspedes y naturaleza de su desarrollo. Algunas de las categorías propuestas son:

Parasitoide primario: El caso en el cual una especie de parasitoide se desarrolla en, o sobre hospederos no parasíticos, estos huéspedes pueden ser fitófago, saprófagos, coprófagos, poliníferos, fungíferos o depredadores, pero en ningún caso parasitoides.

Hiperparasitoide: Es un parasitoide que se desarrolla en otros parasitoides. Puede haber más de un nivel de hiperparasitismo en este tipo de relación (Hiperparasitoide secundarios, terciarios.)

Endoparasitoides: Es un parasitoide que se desarrolla dentro del cuerpo del hospedero, hay dos categorías:

Endoparasitoides solitario: es cuando sólo una larva completa su desarrollo en un hospedero dado.

Endoparasitoide gregario: es cuando varias larvas se desarrollan completamente dentro de un solo huésped.(Avila, 2002)

1.4 GENERALIDADES DE EL PARASITOIDE (*Cotesia marginiventris*).

1.4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Animalia
Filo: Arthropoda
Subfilo: Atelocerata
Clase: Hexapoda (incluyendo Insecta)

Pterygota: Subclase
Orden: Hymenoptera

Suborden: Apocrita
Superfamilia: Ichneumonoidea
Familia: Braconidae

Subfamilia: Microgastrinae
Tribu: Microgastrini
Género: *Cotesia*
Especie: *Cotesia marginiventris*.

1.4.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL INSECTO:

La familia Braconidae tiene una gran importancia en control biológico en el mundo. Prefiere los climas cálidos y húmedos, razón por la cual estos parasitoides han sido utilizados con frecuencia en programas de control biológico de grandes cultivos en los trópicos. La mayor parte de los braconidos son benéficos. Especies de hiperparasitoides en esta familia son poco frecuentes. La subfamilia más numerosa es Microgasterinae de la cual forma parte el género *Cotesia*. *Cotesia marginiventris* es un parasitoide koinobionte, que parasita los primeros instar larvales y no provoca la muerte a su hospedador hasta el tercer instar larvario. (A. URBANEJA, 2002). El Braconidae, *Cotesia marginiventris*, es un parasitoide solitario que parasita larvas del noctuido *S. frugiperda*, de 1 a 5 días de edad, las cuales mueren en el cuarto instar. La duración promedio de esta avispa es un promedio de 13.6 días, con tres estadios larvales, la longevidad del adulto de *C. marginiventris*, sin alimento es de 1 a 2 días y con alimento, un promedio de 7 días para la hembra y de 8.8 días para el macho. La capacidad de reproducción es de 65 a 110 huevos por hembra, con un promedio de 88 huevos. Las hembras sin fecundar presentan partenogénesis arrenotokia. (MARIN-LOAYZA R, REDOLFI DE HUIZA I. 1992)

1.4.3 CICLO DE VIDA

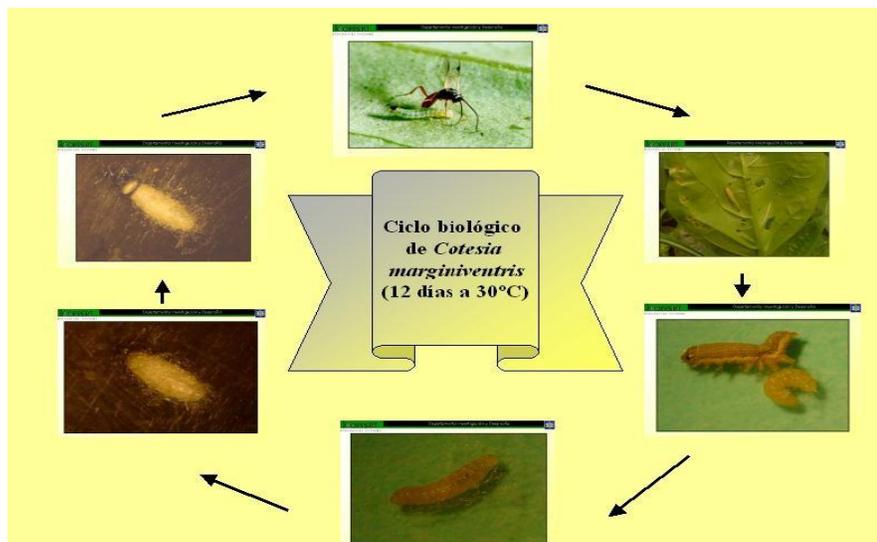


Ilustración 3. Ciclo de vida (*Cotesia marginiventris*)

1.4.3.1 DESARROLLO TÍPICO DE AVISPAS PARASITOIDES

Tomando a las avispas adultas como el inicio del ciclo, una avispa parasitoide hembra, a su “nacimiento” llevada por su instinto buscará una larva de *Spodoptera frugiperda* a la cual le inyectará un huevecillo (Figura 1). Cuando la avispa encuentra a su “víctima” le inyecta una sustancia que la paraliza durante unos instantes en los cuales se realiza la transferencia del huevecillo. Tras unos momentos de entumecimiento, la pequeña larva de *S. frugiperda* regresa a su vida normal sin saber que dentro de ella y al término de unas semanas el huevecillo que porta se transformará en una pequeña larva que crecerá y se alimentará de ella, “arrancándole la vida” poco a poco. Fig 2. Cuando la larva parasitoide se encuentra lista para su siguiente fase de desarrollo (la pupa o capullo), saldrá de su hospedero provocándole la muerte. Fig 3 Una vez afuera, la larva empezará fascinantemente a tejer un capullo alrededor de su propio cuerpo, donde llevará a cabo su transformación final hacia la forma adulta Fig 5 y 6. La avispa, que al salir del capullo, llevada también por su instinto buscará un hospedero tal cual lo hizo su madre, al cual le inyectará un huevecillo cerrando así su ciclo de vida Fig 1. La búsqueda y hallazgo de una pareja antes del parasitismo es una tarea importante que éstas avispas deben también completar. (Romero)

1.4.4 DISTRIBUCION

Esta especie fué descrita originalmente en Cuba, es original de las indias occidentales. También en los Estados Unidos: Delaware, al sur de La Florida al oeste de Indiana, Kansas y Texas, Wisconsin, Arizona, California y Hawái, también está presente en México y Sudamérica y en los llanos orientales de Colombia.

1.4.5 DESCRIPCION

Huevo: oval tres veces más largo que ancho, con una proyección. Es claro y brillante, como un trozo de vidrio.

HUEVO: de 268 micras de longitud, blanco hialino, con una incubación promedio de 1.6 días



Ilustración 4. Larvas de C. marginiventris.

LARVAS: Las larvas de Cotesia marginiventris son suaves de piel y llevan una burbuja de una vesícula caudal en la región posterior. Presenta tres instares larvales

Larva 1: mandibulada, 63 micras de longitud, color blanco con el característico ensanchamiento de la región cefálica y proyección caudal delgada, tres segmentos torácicos y siete segmentos abdominales duración promedio 3.2 días.

Larva 2: Himenopteriforme, 85 micras de longitud, color blanco, con 13 segmentos definidos duración 1 día.

Larva 3: 102 micras de longitud, desaparece la vesícula caudal y las mandíbulas son bien esclerotizadas con dientes apicales duración promedio 2.8 días. Terminando el tercer instar, la larva del parasitoide abandona la larva hospedera de cuarto estadio, a través de un orificio en la parte media del cuerpo de ella, que disminuye sus movimientos hasta que finalmente muere.



Ilustración 5. Pupa o cocón C. marginiventris.

PUPA: El cocón es blanco y de 4 mm de longitud. Las Pupas varían según las especies, y algunos están en una masa irregular de capullos de seda amarilla unido a la larva hospedera u hojas de las plantas, y algunas en capullo blanco, de un tamaño de grano de arroz como en el caso de Cotesia marginiventris. La duración en estado de pupa es de 4 días en promedio.



Ilustración 7. Adulto hembra Cotesia marginiventris.



Ilustración 6. Adulto macho Cotesia marginiventris.

ADULTO: Los adultos son pequeñas avispas, cerca de 3-7 mm de largo. Son de color oscuro y se ven como hormigas voladoras o pequeñas moscas. Tienen dos pares de alas y piezas bucales de mascar lapeado, tienen antenas curvas, los machos tienen antenas mucho más cortas que las hembras. El abdomen de la hembra tiene una extensión de la curva hacia abajo, llamado ovipositor con la que pone sus huevos. La hembra adulta busca anfitriones en hojas y en los túneles de los cultivos. Algunas especies ponen alrededor de 15 a 65 huevos en la cavidad del cuerpo del huésped, mientras que algunos ponen un solo huevo. Una sola avispa puede parasitar 200-300 orugas de acogida durante su vida de 10 a 14 días. El ciclo de vida, desde huevo a adulto, es de aproximadamente 15-30 días, dependiendo de la especie y la temperatura.(OISAT).Las hembras parasitan solo a las larvas jóvenes de 5 días de edad o sea entre el primero y segundo instar. En laboratorio *Cotesia marginiventris* vive más de una semana, pero es más eficaz como un parasitoide de larvas entre dos y cuatro días de edad.

1.4.6 HABITO PARASÍTICO DE (*Cotesia marginiventris*)



Ilustración 8. Avispa parasitoide *Cotesia marginiventris* (izquierda) y adulto de *Spodoptera frugiperda* en maíz (derecha) (Fotos cortesía de Eduardo Virla, PROIMI-Biotecnología)

Cotesia es una pequeña avispa de aproximadamente 1 / 8 de pulgada de longitud que parasita larvas de *Spodoptera sp.* y otras especies. *Cotesia marginiventris* es particularmente eficaz contra la mariposa de la remolacha. La avispa adulta pone un solo huevo dentro de la oruga huésped. Los huevos eclosionan en 1-2 días y la larva se alimenta dentro de la oruga unos 6 días.

El gusano abre agujeros en la larva, haciendo que muera, e inicia la formación de un capullo blanco, que es del tamaño de un grano de arroz. Las avispa adulto emerge del capullo en 4-5 días. Una sola avispa puede parasitar 200-300 larvas huésped durante su vida de 10-14 días. Las larvas parasitadas presentan en su abdomen un color amarillo. Para confirmar que las larvas han sido parasitadas, se debe apretar suavemente las larvas de la cabeza hacia atrás. Si la larva sospechosa ha sido parasitada, el parásito se saldrá con el contenido intestinal del huésped. (Roberts)



Ilustración 9. Agujero de salida hecho por una larva de *Cotesia marginiventris* (Cresson), una avispa parasitoide, en una larva de, *Spodoptera exigua*



Ilustración10. Detalle agujero de salida

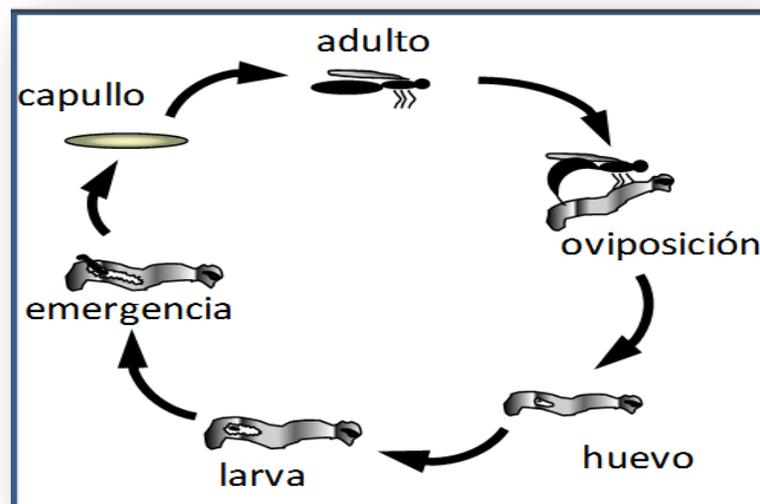


Ilustración 9. *C. marginiventris* parasitando larva.

En general es un parasito de noctuidos que atacan las larvas en su mayoría muy jóvenes de primero a segundo instar. Ovipositan un solo huevo establecido en cada noctuido y el capullo sale a las 7 a 10 días. Los anfitriones de los que se alimentan poco a los largo de su vida muere poco después que el parasitoide emerge. El único signo del daño es un orificio externo, pero prácticamente todo el interior y sus órganos fueron consumidos por el parasitoide.

2. MATERIALES Y METODOS

El proyecto de investigación se desarrolló principalmente en el laboratorio de control biológico de la Universidad de los Llanos.

2.1. PRIMERA ETAPA: PIE DE CRIA (RECOLECCIÓN DE LARVAS).

La cría de *Spodoptera frugiperda* en laboratorio se inició con posturas únicamente, ya que la recolección de larvas de campo no es un buen inicio al tener en cuenta que las primeras recolecciones hechas, contaban con un alto grado de contaminación biológica (Organismos parásitos y entomopatògenos aumentando la mortalidad de las larvas en laboratorio).



Ilustración 12. . a) Posturas *Spodoptera frugiperda*. B) Cultivo de arroz- CIAT. Santa Rosa Villavicencio.



Ilustración 103 Postura *Spodoptera frugiperda* en estado de emergencia.

La recolección de huevos se realizó en cultivos de SORGO *Sorghum vulgare*, MAÍZ *Zea mays* Y ARROZ *Oriza sativa*, con edades menores a 90 días después de la siembra, se ejecuto recorridos por los lotes buscando posturas en el haz o en el envés de las hojas de las gramíneas nombradas, posteriormente se guardaban en frascos de 10 cm de ancho por 15 de alto con papel absorbente y se llevaban a laboratorio donde se esperaba el inicio de la emergencia de las larvas, y se les proporcionaba alimento con hojas frescas de higuierilla previamente desinfectadas donde las larvas llegaban hasta su tercer instar.

2.1.1. DESARROLLO DE LAS LARVAS



Ilustración 14. a) Cámara de cría de Spodoptera frugiperda; b) Larvas 6 instar; c) Círculos, caracter diagnóstico de Sp.

Cuando las larvas llegaron a su tercer instar, se colocaron en frascos bomboneros de 25 de ancho por 30 de alto, con hojas de higuera Ricinus communis en su interior previamente desinfectadas y con la boca del frasco cubierta con una toalla de papel absorbente asegurándola con una banda de caucho, sin embargo este método de alimentación no fue adecuado por falta de eficiencia del mismo y la desuniformidad de las larvas en su tamaño, se decidió realizar el desarrollo de las larvas usando dieta artificial a partir de frijol rojo Phaseolus vulgaris, con los siguientes ingredientes.

TABLA 2. Ingredientes de dieta para el Desarrollo de las Larvas

Levadura	25 g
Ácido sorbico	4,8 g
Metil Parabeno	1,8 g
Agar industrial	12 g
Ácido Ascórbico	0,57 g
Formol	1 cc
Cloranfenicol 150	250 mg
Fríjol	300 g



Ilustración 15. Dieta para *Spodoptera frugiperda*.

La dieta se colocaba en copas de 3 cm de diámetro por 4 de alto cerrada herméticamente, donde se dispensaba con un espesor de 5 mm, e inmediatamente después de que la dieta se solidificaba se realizaba la infestación con una larva por recipiente, allí la larva permanecía hasta el momento en que pasaba a pupa aproximadamente 7 días después de haber realizado el traspaso de higuera a dieta.



Ilustración 16. Larva *S. frugiperda* 7 instar de desarrollo.

El desarrollo de las larvas mostró una mayor eficiencia en el uso del tiempo y la uniformidad del tamaño de las larvas presentando una mortalidad menor al 20 %. Alcanzando el estado de pupa aproximadamente a los diez días después de la emergencia de las larvas.

2.1.2. MANEJO DE PUPAS Y CRÍA DE ADULTOS

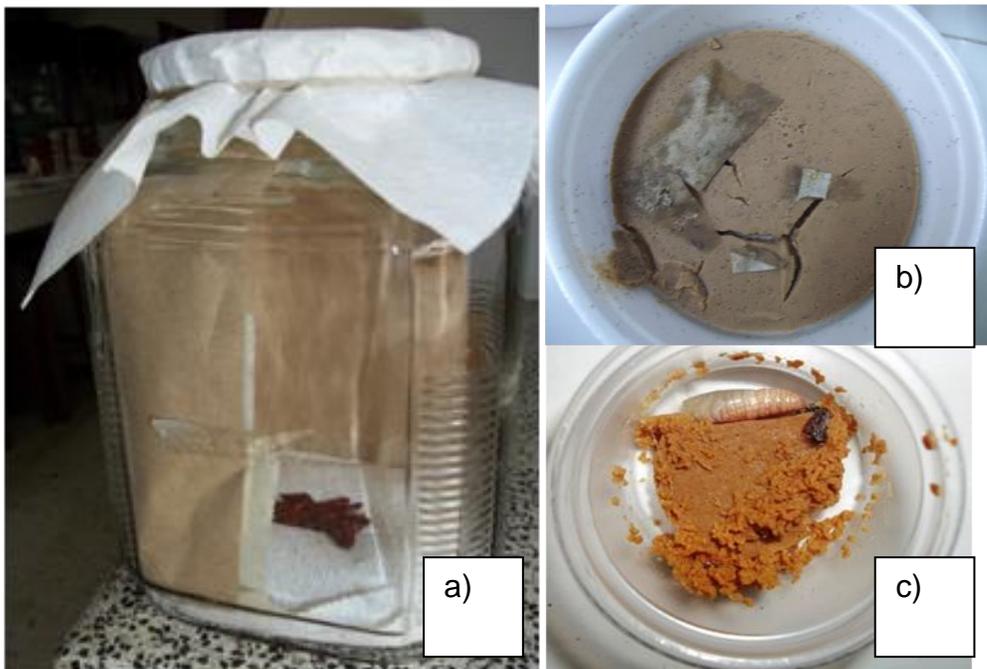


Ilustración 17. a) Cámara de oviposición. b) Posturas en emergencia sobre dieta; c) Crisálida de seda, tejida antes de empupar por la larva.

Se colocaron en cajas de petri de a 20 a 10 pupas dependiendo de la cantidad existente después de la cría de desarrollo de larvas, cubiertas por aserrín y posteriormente ubicadas en frascos bomboneros con una capa interna en papel kraff y cubiertos con papel absorbente asegurada con una banda de caucho, se utilizó dicho frasco como tubo de emergencia de adultos y tubo de oviposición.



Ilustración 18. Adultos de *Spodoptera frugiperda*. En cámara de oviposición.

Aunque se hicieron algunas investigaciones acerca de cómo diferenciar el macho de la hembra, observando detalladamente en el estereoscopio las pupas de *S. frugiperda* no fué posible determinar el sexo de futuros adultos por lo que todos los adultos obtenidos de una cría se dejaron en el mismo frasco para asegurar mayor probabilidad de la existencia de los dos sexos, poco tiempo después proporcionándoles a estos adultos una buena cantidad de luz solar fué posible lograr que las hembras adultas ovipositaran en cautiverio, lo que nos facilitó continuar con la cría y así poder obtener larvas de todos los instares durante la parasitación.

2.2. SEGUNDA ETAPA: PARASITACIÓN DE LARVAS DE Spodoptera frugiperda Por Cotesia marginiventris.



Ilustración 19. Cultivo de maíz, Altillanura (Dpto., Meta)

2.2.1. RECOLECCIÓN DE AVISPAS PARASITOIDES EN CAMPO

Se realizaron recorridos en cultivos de arroz (Oriza sativa), sorgo(Sorghum vulgare) y maíz(Zea maíz) con edades menores a 90 días después de la siembra, donde se recolectaron cocones de Cotesia marginiventris; en total se encontraron 24 individuos de dos lugares distintos, siendo positivo el hallazgo en cultivos de sorgo y maíz, en mayor proporción en el cultivo de maíz.



Ilustración 20. Cocón *Cotesia marginiventris*, sobre haz de hoja de maíz. Puerto López (META)

Sitio de recorrido	Cultivo	Total encontrados	cocones
CIAT- Santa Rosa Villavicencio	Arroz	0	
CORPOICA C.I. La Libertad	Arroz y maíz	0	
Km 50 vía puerto López	Maíz	21	
Municipio- San Lorenzo: Finca "La Gabriela"	Sorgo	3	

Las pupas encontradas se ubicaban en el haz de las hojas en plantas con alturas desde los 20 cm hasta los 90 cm, encontrándose máximo 2 cocones por planta, en cultivos con fin comercial. Durante los recorridos las pupas se encontraron en mayor concentración cerca a los bordes del cultivo que colindaban con ecosistemas como bosques secundarios y morichales.

2.2.2. MULTIPLICACIÓN DEL PARASITOIDE



Ilustración 21. Cocón parasitoide en sitio de emergencia del adulto, con larvas para parasitar.

Al momento de la recolección los cocones se colocaban en recipientes transparentes con tapas y al interior se colocaba papel absorbente para evitar excesos de humedad en la cámara, luego se llevaban a laboratorio donde se colocaron en frascos bomboneros y una vez emergía el adulto se alimentaban con miel y agua en relación 2-1. En los frascos bomboneros que contenían las avispas se colocaron larvas de primero y segundo instar que la avispa usó como hospedero, logrando así hacer la cría del parasitoide, y obtener el número de adultos necesarios para las evaluaciones descritas en los objetivos del proyecto.

2.2.3. EXPOSICIÓN DE LARVAS Spodoptera frugiperda. AL PARASITOIDE Cotesia marginiventris. Y EVALUACIÓN DEL HÁBITO PARASÍTICO.

Posteriormente se seleccionaron las larvas de primero, segundo, tercero, y cuarto instar. Se evaluaron en bloques completos al azar, cada bloque correspondiente constó de 4 repeticiones y cada muestra tuvo 20 larvas de Spodoptera frugiperda.



Ilustración 22. Larvas segundo instar sobre hojas de higuera

Se organizaron las muestras en cámaras de parasitación compuestas por frascos bomboneros de 25 de ancho por 30 de alto, con hojas de higuera *Ricinus communis*. en su interior previamente desinfectadas y con la boca del frasco cubierta con una toalla de papel absorbente asegurándola con una banda de caucho, posteriormente se liberó en el interior del frasco 1 pareja de *Cotesia marginiventris*. de dos días de haber emergido el adulto.



Ilustración 23. Avispa de *Cotesia marginiventris*, realizando búsqueda de hospedero.

Para verificar la relación macho- hembra fue necesario llevar las avispas a bajas temperaturas para someterlos a un periodo de hibernación para así poder observarlos en el estereoscopio y separarlos por la presencia del ovipositor, después se dejaron a temperatura ambiente para reiniciar nuevamente la actividad de parasitación.



Ilustración 24. Adulto de *Cotesia marginiventris*, 16, 64X

Con el fin de relacionar las condiciones de cría y hacer observaciones sobre el efecto de la temperatura, la humedad relativa y la luz, en el ciclo de vida del parasitoide y la parasitación lograda, se utilizó un higrotermógrafo, en el sitio de trabajo siempre se mantuvo limpieza extrema, limpiando la superficies con hipoclorito de sodio y evitando la presencia de agentes contaminantes.



Ilustración 25. Evaluación parasitación primer instar.

Se realizaron observaciones de las larvas expuestas a los 5 días, bajo un estereoscopio para calcular los porcentajes de parasitación y el número de larvas que parasita una hembra de Cotesia marginiventris. En la verificación de la parasitación se tuvo en cuenta el color amarillo de la larva huésped en su abdomen y la disminución en sus movimientos de traslación.

2.2.4. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE PARASITACIÓN

Para realizar los estudios de la efectividad de la parasitación se realizaron tres repeticiones colocando 30 larvas de Spodoptera frugiperda de dos días de edad en frascos bomboneros exponiéndolas a 5 parejas de avispas de Cotesia marginiventris. Al cabo de 10 días se realizó una revisión de los hospederos expuestos, se aislaron sólo aquellos parasitoides emergidos de las larvas de S. frugiperda y se registraron aquellas larvas parasitadas muertas por causas ajenas a la parasitación.

Se evaluó la eficacia de un parasitoide = Porcentaje de parasitismo. Teniendo en cuenta el número inicial de hospedero relacionado con el número final de parasitoides emergidos del hospedero.

$$\% \text{ Parasitismo} = (P/N) * 100$$

N= número Inicial de hospederos (larvas de S. frugiperda); P= número final de parasitoides emergidos del hospederos.

3. RESULTADOS

Bajo condiciones de laboratorio con una temperatura de 28°C y humedad relativa del 80 % se logró mantener una producción continua de adultos de adulto de Spodoptera frugiperda., obteniendo de ellos masas de huevos y larvas de los siete instar con las cuales se pudo sostener la cría inicial de cotesia y hacer las evaluaciones. Los recipientes de plástico con dieta para la cría de larvas de S. frugiperda redujeron notablemente la mortalidad de larvas, en la cría con higuera se demostró que colocando algodón húmedo en el tallo a través del corte de cosecha se prolongaba la vida útil de la planta y así se logró obtener un buen desarrollo de las larvas hasta el estado de pupa en mejores condiciones.



Ilustración 11. Evaluación de parasitación 2 Instar de Spodoptera frugiperda; b y c) Cocón obtenido en laboratorio.

En la tabla 3. se presentan los resultados obtenidos al exponer por 5 días larvas de *Spodoptera frugiperda* del primero, segundo, tercero y cuarto instar a la parasitación por adultos de *Cotesia marginiventris* (Himenóptera, Braconidae).

El porcentaje de parasitación en el primer instar estuvo entre un 10% con un promedio total del 10% sobre el total de larvas expuestas en el tratamiento. En el segundo instar el % de parasitación fue de un 18,75% con un promedio de 3,75 sobre el total de larvas expuestas en el tratamiento.

El número de larvas de *S. frugiperda* que puede parasitar una hembra de *Cotesia m.* fueron 2 larvas de primer instar, y 3,75 larvas de segundo instar según los datos obtenidos.

TABLA 3. NUMERO DE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) PARASITADAS POR *Cotesia marginiventris* % DE PARASITACIÓN POR INSTAR LARVAL. LAB DE CONTROL BIOLÓGICO UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS 2011

INSTAR LARVAL	N° DE REPETICIÓN	N° DE LARVAS POR TRATAMIENTO	N° DE LARVAS PARASITADAS	% DE PARASITACIÓN
Primer instar	1	20	2	10
	2	20	2	10
	3	20	2	10
	4	20	2	10
Total promedio		80	2.	10
Segundo instar	1	20	4	20
	2	20	4	20
	3	20	4	20
	4	20	3	15
Total promedio		80	3.75	18.75
Tercer instar	1	20	0	0
	2	20	0	0
	3	20	0	0
	4	20	0	0
Total promedio		80	0	0

Cuarto instar	1	20	0	0
	2	20	0	0
	3	20	0	0
	4	20	0	0
Total promedio		80	0	0

Tabla 4. ANÁLISIS DE VARIANZA INSTAR DE *Spodoptera frugiperda*. DE MAYOR PARASITACIÓN PRUEBA DE TUKEY, TABLA DE DATOS

OBSERVACIÓN	INSTAR	REPETICION	PARASITADA
1	1	1	2
2	1	2	2
3	1	3	2
4	1	4	2
5	2	1	4
6	2	2	4
7	2	3	4
8	2	4	3
9	3	1	0
10	3	2	0
11	3	3	0
12	3	4	0
13	4	1	0
14	4	2	0
15	4	3	0
16	4	4	0

**EVALUACIÓN INSTAR DE MAYOR PARASITACIÓN PRUEBA TUKEY:
Procedimiento GLM**

Tabla. 5 Información del nivel de clase

Clase	Niveles	Valores			
Instar	4	1	2	3	4

Numero de observaciones: 16

TABLA 6. Procedimiento GLM Prueba Tukey: Variable dependiente: Parasitada

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	3	39,18750000	13,06250000	209,00	<.0001
Error	12	0,75000000	0,06250000		
Total correcto	15	39,93750000			
R-cuadrado		Coefficiente Variación		Raíz MSE	Parasitación Media
0,981221		17,39130		0,250000	1,437500

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para parasitadas

NOTA: Este test controla el índice de error experimental de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa:	0.05
Error de grados de libertad:	12
Error de cuadrado medio:	0.0625
Valor crítico del rango estudentizado:	4.19852
Diferencia significativa mínima:	0.5248

TABLA 7. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey agrupamiento	Media	N	Instar
A	3,7500	4	2
B	2,0000	4	1
C	0,0000	4	3
C	0,0000	4	4

3.1. EVALUACIÓN DEL HÁBITO PARASÍTICO

Cuando las larvas de S. frugiperda en diferentes instares se sometieron a la parasitación, con condiciones de temperaturas de 28 °C y penumbra el parasitoide no mostró actividad de búsqueda hacia su huésped, luego de colocarlos en un lugar de mayor intensidad de luz solar, fue posible que la hembra iniciara su búsqueda pasándose rápidamente por encima de las larvas y otros sitios de la cámara de parasitación. Cuando se dirigió a parasitar la larva la sostenía con sus dos patas delanteras provocando que este doblara su cuerpo y tomara forma de rosquilla en este mismo instante introducía el ovipositor, proceso que duro de 3-5 segundos. Después se retiraba se hacia una limpieza y proseguía con su trabajo de búsqueda, haciendo movimientos rápidos.

La larva de S. frugiperda después de ser parasitada sigue su actividad normal, al cabo de 48 horas aproximadamente disminuyen sus movimientos arrastrando su parte trasera y presentan una coloración amarillenta en su abdomen. A los 8 días de ser parasitado emerge la larva del parasitoide “La cual ha pasado por tres instar larvales dentro de su huésped” MARIN-LOAYZA R, REDOLFI DE HUIZA I. 1992. La larva de S. frugiperda muere poco después que el parasitoide emerge dejando un orificio externo. Luego la larva de C. marginiventris se envolvió en un capullo o cocón de color blanco de 4 mm de longitud y duró entre 4-5 días en emerger por un extremo del cocón, según las condiciones ambientales que se presentaron en el laboratorio. Los adultos de C. marginiventris emergieron después de 14 días de haberse iniciado la parasitación; como adultos la longevidad máxima que se alcanzó en el laboratorio fluctuó entre 10 días la hembra y el macho 13 días proporcionándoles alimento.

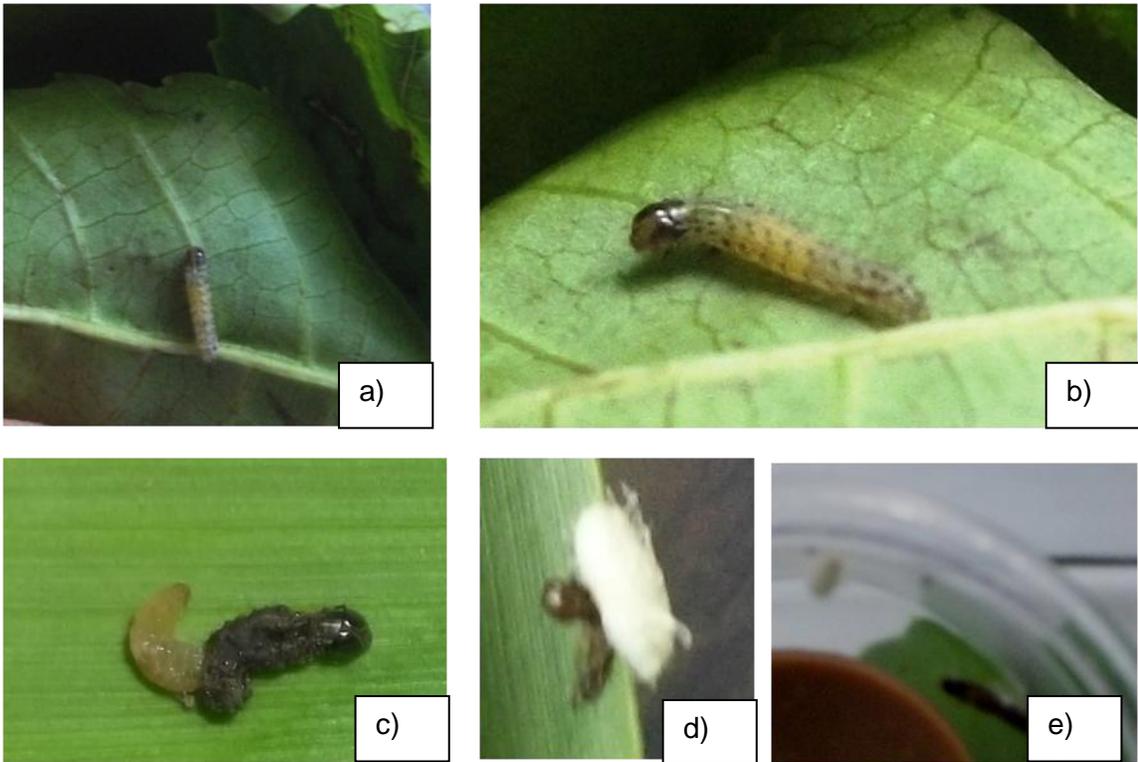


Ilustración 27.a,b)Larva parasitada *Spodoptera frugiperda* por *Cotesia marginiventris*, c) Larva de *Cotesia marginiventris* emergiendo de larva muerta de *Spodoptera frugiperda*, d) y e) Cocon de *Cotesia marginiventris* dos días de emergida la larva.

Observaciones morfológicas al estereoscopio indicaron que no hay diferencias significativas entre el tamaño de la hembra y el macho, en el abdomen de la hembra es visible el ovipositor y termina en punta, las antenas de machos y hembras son filiformes con 16 segmentos, siendo las del macho de menor longitud que las de la hembra.

3.2. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE PARASITACION



Ilustración 28. Cocon de *Cotesia marginiventris* con abertura de salida de adulto.

La efectividad de la parasitación muestra que es difícil obtener suficientes adultos de *Cotesia marginiventris*. para mantener una cría de esta especie en laboratorio según los resultados obtenidos. Con 30 larvas y cinco parejas de adultos de *C. marginiventris*, en una misma cámara de parasitación se presentó una efectividad de un 21,1% promedio la cual fluctuó entre un 16-26 %.

Aquellas larvas parasitadas que murieron por causas ajenas a la parasitación o por contaminantes disminuyeron la efectividad del parasitismo, estas larvas ocuparon un 34,3 %, del total de larvas por tratamiento.

TABLA 8. NUMERO DE LARVAS DE *Cotesia marginiventris* EMERGIDAS DEL HUESPED *Spodoptera frugiperda*, Y EFECTIVIDAD DE LA PARASITACIÓN. LAB DE CONTROL BIOLÓGICO UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS 2011

N° DE REPETICIÓN	N° DE LARVAS POR TRATAMIENTO	N° DE LARVAS DE <i>C. marginiventris</i> . EMERGIDAS DEL HUESPED	N° FINAL DE DESEDIENTES ADULTOS	% TOTAL DE PARASITISMO	LARVAS MUERTAS POR CAUSAS AJENAS AL PARASITOIDE
1	30	8	6	26.66	10
2	30	6	6	20	9
3	30	5	4	16.66	12
TOTAL PROMEDIO		6.33	5.33	21.10	10.3

N= no. Inicial de huéspedes (larvas de *S. frugiperda*)

P= no. final de parasitoides emergidos del huésped

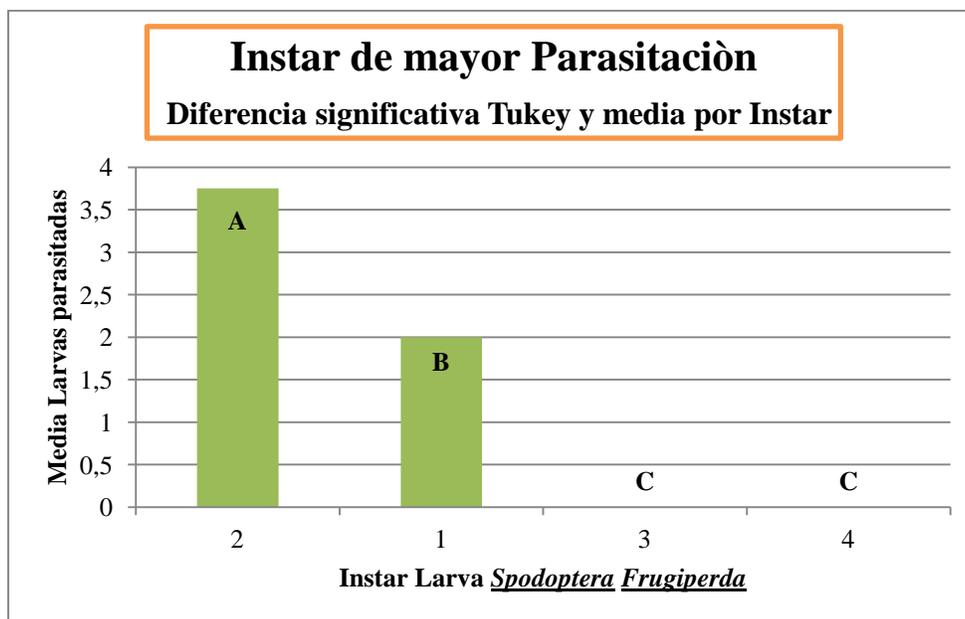
$$\% \text{ Parasitismo} = (P/N) * 100$$

$$\% \text{ PARASITISMO} = (6.33/30) * 100 = 21,11 \%$$

4. DISCUSION

4.1. EVALUACIÓN DE INSTAR DE *Spodoptera frugiperda*. CON MAYOR PARASITACIÓN.

Claramente se observó que las larvas de *S. frugiperda* solamente fueron parasitadas en el primero y segundo instar, teniendo el máximo dentro del segundo instar. Esto nos permite concluir que *Cotesia marginiventris* prefiere larvas de 3 y 5 días de edad, y no parasita larvas de tercero y cuarto instar o con más edad.



INSTAR	Media Parasitación
2	3,75
1	2
3	0
4	0

De acuerdo a el análisis realizado a través de la prueba de Tukey se encontró que el coeficiente de variación es de 17,39130 lo que indica que el diseño experimental realizado fue el adecuado pues siempre dicho coeficiente debe ser menor al 25%, La parasitación Media entre todos los instares es de 1,437500 larvas, la regresión lineal o **R-cuadrado** 0,981221 indica que los datos obtenidos son muy homogéneos por la cercanía al valor 1; la prueba de Tukey también llamada «Diferencia Significativa Honesta», se utiliza para realizar comparaciones múltiples de medias, en este caso para que haya diferencia significativa la diferencia entre la media de larvas parasitadas de un instar a otro debe ser mayor a 0,5248 larvas parasitadas, y se clasificó por niveles A,B y C siendo A el nivel donde mayor número de larvas se parasitó y C el nivel donde menor número de larvas se parasitó. El nivel A corresponde al instar 2, el nivel B corresponde al instar 1, y el nivel C corresponde a los instares larvales 3 y 4 entre los cuales no existió diferencia significativa porque no ocurrió parasitación a diferencia del instar 2 que ocupa la mayor media de parasitación.

Estudios indican que la mayor tasa de parasitismo por *Cotesia marginiventris* ocurre en larvas de *S. frugiperda* del segundo estadio, colectadas de plantas de hojas dañadas por larvas del cogollero, pero ningún parasitismo se ha observado de aquellas larvas colectadas del cogollo (Julliet).

Estos resultados nos muestran que en general el % de parasitación por *C. marginiventris*, fue mínimo posiblemente porque el medio ambiente en el que se encontraban altero el comportamiento de búsqueda del parasitoide hacia su huésped y disminuyó su capacidad de responder a estímulos y señales necesarias para iniciar la parasitación. Los parasitoides han involucrado al menos tres estrategias para explotar el sistema tritrófico, una de estas es la estrategia sinomonas que se refiere a la capacidad del parasitoide para responder a la emisión de gases volátiles causados por la planta cuando es dañada por el insecto, por ejemplo plantas de maíz dañadas por *Spodoptera sp.* Liberan gases volátiles que atraen al parasitoide *Cotesia marginiventris* (Turlin (turlings, 1990) gs et al 1990; Vet et al. 1991; Tuinfinson, 1993), esta estrategia fue modificada durante el ensayo ya que el parasitoide debía adaptarse a las emisión de volátiles causados por plantas de higuierilla sustrato de alimentación de *S. frugiperda* lo que pudo estar involucrado en la baja parasitación presentada.

Es posible que Cotesia marginiventris, use otra estrategia llamada desvío infoquímico “En la cual involucra el uso de la información del instar más detectable en el ciclo de vida del hospedero” lo que explica la parasitación hallada en el primero y segundo instar. Los parasitoides pueden usar estímulos olfativos, visuales y vibraciones como señales para estrechar la búsqueda del hospedero. (Vet 19 (vinson, 1984)91; Vinson 1984).

Otra razón causante de esta poca parasitación pudo haber sido que no hubo fecundación de las hembras de Cotesia marginiventris y esto llevó a que se presentara partenogénesis arrenotokia lo que significa que estas sin ser fecundadas pudieron haber parasitado pero esta progenie solo fueron machos.

4.2. HABITO PARASITICO

La humedad relativa y la temperatura influyen en la duración del ciclo de vida del parasitoide, con condiciones de temperatura de 28°C y humedad relativa del 80 %, la duración del desarrollo de esta avispa pasando por huevo, larva y pupa fué en promedio de 14 días y la longevidad del adulto para la hembra fue de 10 días y para el macho de 13, para un ciclo de vida aproximado de 24 días suministrándole alimento.

En estudios realizados en el Perú acerca de la biología y comportamiento de Cotesia marginiventris. (Hymenóptera: Braconidae) con condiciones de temperatura de 25 °C y humedad relativa del 78% la duración de días de los estados de desarrollo de la avispa fué de 13,6 días con alimento, la longevidad de la hembra promedio fué 7 días y el macho 8,8 días, para un ciclo de vida aproximado 21 días. (MARIN LOAYZA R, REDOLFI DE HUIZA I. 199

Estudios preliminares sobre varios aspectos del comportamiento de parasitoides de la familia Braconidae indican que estos son más activos a altas temperaturas y baja humedad (Julliet). La alta humedad presente en el transcurso del ensayo en el laboratorio, posiblemente está relacionado con la poca parasitación por parte de las hembras de C. marginiventris, ya que estas no se encontraban suficientemente activas. Igualmente la poca disponibilidad de luz presente en el laboratorio fue un factor determinante para la actividad de parasitación, por ser de sangre fría los insectos necesitan determinada cantidad

de luz para acumular energía y así poder iniciar sus actividades normales en este caso la parasitación de larvas de *S.frugiperda*.

Las larvas de de *S frugiperda* parasitadas por *C. marginiventris* redujeron su peso en un 80% en relación con aquellas larvas no parasitadas, no excediendo la longevidad de estas larvas hasta el cuarto estadio. Claramente se observó en los ensayos que las larvas disminuían su movimiento y poco a poco dejaban de comer lo que indiscutiblemente reducía su peso en comparación con las otras larvas no parasitadas las cuales seguían su desarrollo pasando de un instar a otro.

4.3. EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE PARASITACION

En algún momento una hembra parasitoide desarrolla un afán por buscar huéspedes, el cual presumiblemente está inducido por un conjunto de condiciones fisiológicas, (Taylor 1974) *Cotesia marginiventris*. no inició su mecanismo de búsqueda tan pronto como emergió el adulto. El afán de búsqueda se asocia con una serie de factores internos tales como hambre, necesidad de limpieza, edad, descarga de huevos y su comportamiento innato de búsqueda y factores externos como disponibilidad de refugio condiciones ambientales, enfermedades y disponibilidad de alimento. En los ensayos realizados se demostró claramente que estos factores más explícitamente la disponibilidad de luz y la temperatura juegan un papel determinante en la actividad parasítica de estos insectos ya que la poca luz no les generaba la energía suficiente para iniciar su parasitación, y las bajas temperaturas retardaba su ciclos de desarrollo. Otro dato importante es que los cocones recogidos inicialmente para comenzar con la cría del parasitoide, fueron traídos de cultivos ubicados en la Altillanura donde se presenta condiciones climáticas diferentes a las del Piedemonte zona donde se desarrollo la investigación.

En los braconidos el apareamiento dura menos de un minuto y el superparasitismo en laboratorio es común. Sin embargo, algunas especies pueden discriminar a sus hospederos, lo cual puede estar relacionado con cambios en la hemolinfa (Julliet) cambios que fueron ocasionados por las condiciones ambientales del laboratorio y que está relacionado con la baja efectividad de la parasitación.

CONCLUSIONES

Los estudios sobre el comportamiento parasítico de Cotesia marginiventris usando como huésped larvas de Spodoptera frugiperda permiten ampliar los conocimientos sobre como perfeccionar la metodología de una cría masiva de este parasitoide.

Los resultados sobre el instar de S. frugiperda. de mayor parasitación, la cual se encontró en el segundo instar con un 18.75%, coinciden con los estudios realizados por otros investigadores. Lo mismo ocurre con la influencia de factores abióticos en el proceso de parasitación dándonos un resultado de tan solo un 21.11% de efectividad de la parasitación de larvas de S. frugiperda. en condiciones de laboratorio.

Cotesia marginiventris como parasitoide de larvas de Spodoptera frugiperda de primero y segundo instar es eficiente, pero hasta ahora no podemos concluir que sea efectivo y que se justifique criarlo en laboratorio, se requiere desarrollar técnicas más avanzadas para lograr minimizar todos aquellos factores internos y externos que no favorecen el mantenimiento de una cría masiva del parasitoide, sin embargo los resultados nos demuestran que si existe parasitación y que se puede continuar con los estudios en un próximo ciclo, y con base a la experiencia obtenida desarrollar una técnica de cría más eficiente. Todo ello encaminado al propósito de diversificar tecnologías y entregar más alternativas biológicas que ayuden a implementar programas de manejo integrado del gusano cogollero del maíz.