

Caracterización de los instares larvales de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) a cuatro temperaturas constantes.

Francia Torres¹, Rodolfo Marcano², Raiza Torres³

¹Departamento de Agronomía, Universidad Nacional Experimental del Táchira. Paramillo San Cristóbal 5001, estado Táchira, Venezuela. fdelvalletw@gmail.com.

²Instituto de Zoología Agrícola, Universidad Central de Venezuela, apartado 4579, Maracay 2101- A estado Aragua, Venezuela.

³Departamento de Evaluación y Estadística, Universidad de los Andes, Núcleo Táchira. Santa Cecilia 5001, estado Táchira, Venezuela.

Resumen

TORRES F, MARCANO R, TORRES R. 2012. Caracterización de los instares larvales de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) a cuatro temperaturas constantes. ENTOMOTROPICA 27(2): 49-56.

Se caracterizó la fase de larva de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), considerando el ancho torácico, ancho de la cápsula cefálica y el largo de las larvas, a cuatro temperaturas constantes de 20, 25, 30 y 35 °C. La larva en el instar I, midió en promedio 1,28; 0,39 y 0,31 mm de largo, ancho torácico y ancho de la cápsula cefálica respectivamente, bajo condiciones ambientales del laboratorio a 26 °C. Los otros instares larvales a las temperaturas constantes ya señaladas, mostraron un promedio del largo que van desde 2,28–2,92 mm en el instar II; 4,18–4,82 mm en el instar III y entre 6,36–6,82 mm en el instar IV. El ancho torácico presentó valores entre 0,59–0,82 mm en el instar II; 0,96 a 1,09 mm en el instar III y en el cuarto instar desde 1,55 a 1,82 mm. El ancho de la cápsula cefálica varió entre 0,39–0,47 mm en el instar II, entre 0,58 - 0,59 mm en el instar III y 0,80–0,83 mm en el instar IV. Se observó que la temperatura no afectó el número de instares. Se generaron 3 modelos predictivos por temperatura para los instares II, III y IV, los cuales consideraron las variables ancho de la cápsula cefálica y ancho torácico a 20 y 30 °C, y solo ancho de la cápsula cefálica a 25 y 35 °C, descartándose el largo como variable discriminante.

Palabras clave adicionales: Depredador, cochinilla harinosa, instares, larva.

Abstract

TORRES F, MARCANO R, TORRES R. 2012. Characterization of the larval instars of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) at four constant temperatures. ENTOMOTROPICA 27(2): 49-56.

Larval stage of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) was characterized, considering the wide of the thorax and head capsule and the body length of the larvae, at four constant temperatures of 20, 25, 30 and 35 °C. The larvae in instar I measured 1.28, 0.39 and 0.31 mm of body length, wide of thorax and head capsule respectively, under laboratory conditions of 26 °C. At temperatures of 20, 25, 30 and 35 °C, the body length ranged from 2.28-2.92 mm in the instar II, 4.18-4.82 mm in the instar III and 6.36-6.82 mm in the instar IV. Thorax wide showed values between 0.59-0.82 mm in instar II, 0.96-1.09 mm in instar III and 1.55-1.82 mm in instar IV. Head capsule wide ranged from 0.39-0.47 mm in instar II, 0.58-0.59 mm in instar III and 0.80-0.83 mm in instar IV. Temperature did not affect the number of instars. Three predictive models by temperature were generated for instars II, III and IV. At 20 and 30 °C the discriminant variables were wide of the head capsule and wide of the thorax and only wide of the head capsule at 25 and 35 °C. The body length was discarded as a discriminant variable.

Additional key words: Predator, mealybugs, instars, larvae.

Introducción

El depredador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) nativo de Australia, es el enemigo natural más usado en el control de cochinillas. Fue introducido a los EE.UU. en 1891 desde Australia por Albert Koebele, para controlar la cochinilla de los cítricos *Planococcus citri* (Risso) en California. Actualmente es reportado en Nueva Zelanda, Indonesia, Hawái, EE.UU., Egipto, Filipinas, Rusia, España, África, India, Perú, Puerto Rico (Gautam 1996); Cuba (Alemán et al. 2005) y en Venezuela fue detectado en el estado Nueva Esparta en 1999 con la plaga *Maconellicoccus hirsutus* (Cermeli et al. 2002). En California (EE.UU., Fisher 1963 (citado por Malais y Rave 1992) reportó cuatro instares larvales para *C. montrouzieri* utilizando como presa *P. citri*, así mismo señala, que las condiciones óptimas para el crecimiento de la población fueron de 25 °C y humedad relativa de 70 – 80 %. Ramesh y Azam (1987) en la India, realizaron los estudios de biología de *C. montrouzieri* criados con *M. hirsutus* a temperaturas ambientales entre 25 y 31 °C, encontrando un tiempo de desarrollo para la fase de larva desde 29,9 a 13,8 días con cuatro instares larvales. En Venezuela Torres y Marcano (2007) utilizando *M. hirsutus* como presa, observaron cuatro instares larvales con la cápsula cefálica y el escudo protorácico con un diseño simétrico similar en los tres primeros instares; el cuarto instar mostró un diseño diferente principalmente en la cápsula cefálica. Gautam (1996), indica que el mejor material a ser liberado del depredador es el adulto, ya que puede adaptarse al nuevo ambiente; sin embargo, las larvas del segundo y tercer instar pueden ser liberadas conjuntamente con éstos, para una rápida supresión de la plaga. Para ello recomienda realizar liberaciones inoculativas en áreas restringidas, usando 100-200 larvas y algunos adultos, los cuales pueden ser monitoreados semanalmente antes de las liberaciones inundativas del adulto. De allí la importancia de conocer la estructura de

los estados inmaduros del depredador, en el momento de la toma de decisión para el control de la plaga. Por estas razones nos planteamos como objetivo del trabajo, determinar el efecto de las cuatro temperaturas constantes en el desarrollo de la larva, en cuanto a características morfométricas y número de instares larvales; así como también, desarrollar una metodología que permita determinar el instar al que pertenece una larva de *C. montrouzieri*.

Materiales y Metodos

El estudio se realizó en cámaras climáticas del Instituto de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, en Maracay, estado Aragua. Las temperaturas constantes evaluadas fueron de 20, 25, 30 y 35 °C manteniendo un fotoperíodo 12:12 horas luz:oscuridad y una humedad relativa promedio de 76 %. Para el establecimiento de la cría de *M. hirsutus*, se recolectaron en El Limón, estado Aragua, cogollos de cayena (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) infestados con la cochinilla rosada, los cuales se colocaron sobre tubérculos de papa (*Solanum phureja*) brotados. Posteriormente se procedió a recolectar larvas del depredador *C. montrouzieri* en el mismo lugar de recolección de la presa y se colocaron sobre tubérculos brotados de papa infestados con *M. hirsutus*, para su alimentación. Establecida esta cría, se colocaron varias parejas de *C. montrouzieri* en tubos de ensayo con brotes de papa infestados con ninfas de *M. hirsutus* para su alimentación y se taparon con un trozo de algodón para la obtención de los huevos. Los algodones con los huevos, se mantuvieron en el laboratorio en condiciones naturales a 26 °C y 76 % de H.R. en promedio y se revisaron diariamente hasta obtener 100 larvas del primer instar para cada temperatura. Paralelamente, se tomó una muestra de 40 larvas del primer instar para la medición de la cápsula cefálica, ancho torácico y largo del cuerpo.

Las larvas recién emergidas fueron colocadas sobre un brote de papa infestado con la

cochinilla y estos a su vez se colocaron en envases de plástico de 7 x 4,50 x 3,50 cm de alto, diámetro superior e inferior respectivamente, acondicionados con tela organdí para facilitar el intercambio gaseoso. Al mudar, la larva se colocaba sobre un nuevo tubérculo de papa infestado con cochinilla. Los envases de cría por temperatura, se colocaron sobre bandejas y éstas a su vez en cada cámara climática, calibrada previamente a la temperatura escogida para el estudio. Diariamente se revisaba cada envase, a fin de observar el momento de cada muda y así determinar el número y duración de los instares larvales. Una vez ocurrida la muda, se seleccionaron 5 larvas por temperatura y por instar, a fin de medir el ancho de las cápsulas cefálicas, el largo del cuerpo y el ancho torácico de las larvas. Para ello las larvas vivas se extrajeron del tubérculo mediante un pincel, se colocaron en agua recién hervida y luego en un frasco de vidrio con alcohol etílico al 75 %, para posteriormente realizar las mediciones correspondientes. Se relacionó el ancho de la cápsula cefálica con el número de instares larvales mediante la Ley de Dyar (Gaines y Campell 1935) y se graficó dicha distribución de frecuencia.

Para determinar los modelos predictivos que permitirán determinar el instar al que corresponde una larva de *C. montrouzieri*, se analizaron las variables: ancho torácico, ancho de la cápsula cefálica y largo del cuerpo de las larvas, utilizando el análisis discriminante múltiple de Fisher que presenta el SPSS 12; el cual se vale de la prueba de Lambda de Wilks y del análisis de las matrices de covarianza según la prueba de Box al 5 % de significación (Pardo y Ruiz 2002). Cada individuo se podrá clasificar en el instar a que corresponde, según la puntuación más alta alcanzada al sustituir los valores en los tres modelos para los instares II, III y IV a una temperatura promedio similar a las estudiadas.

Los datos de los promedios de las medidas, se analizaron utilizando los paquetes estadísticos

de SPSS 12 (Ferrán 1996) y STATISTIX 7, revisando previamente los supuestos básicos de normalidad, homogeneidad de la varianza y aditividad de los datos. Aquellos que no cumplieron con los supuestos básicos para el análisis de la varianza, se analizaron a través de la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis y los que cumplieron con los supuestos, se realizaron vía paramétrica, con la comparación múltiple de medias de Duncan.

Resultados

Se observaron cuatro instares larvales de *C. montrouzieri* a las cuatro temperaturas estudiadas. Autores como, Fisher (1963) y Ramesh et al. (1987) confirman también el desarrollo de cuatro instares larvales en *C. montrouzieri*.

En la Cuadro 1, se muestra la medida del largo del cuerpo, ancho torácico y ancho de la cápsula cefálica de los instares larvales por temperatura. La larva en el instar I, midió en promedio 1,28; 0,39 y 0,31 mm de largo del cuerpo, ancho torácico y ancho de la cápsula cefálica, respectivamente. Se observó que el largo aumentó casi dos mm al pasar del instar II al III y de este al IV, variando desde 2,28 a 2,92 mm en el instar II; de 4,18 a 4,38 mm en el Instar III y desde 6,18 a 6,82 mm en el cuarto Instar; presentando diferencias significativas solo en el instar II, en donde las larvas a 20 °C fueron las de menor tamaño en relación a las de 25 y 35 °C. El ancho torácico por su parte, aumentó de modo más irregular, con valores de 0,59 a 0,85 mm en el instar II; de 0,96 a 1,09 mm en el instar III y en el cuarto instar desde 1,55 a 1,82 mm, encontrándose diferencias significativas para el Instar II, siendo este valor a 20 °C más pequeño que a 25 °C.

En relación con el ancho de la cápsula cefálica, se obtuvo un promedio entre 0,39 - 0,47 en el instar II, entre 0,58 - 0,59 en el instar III y de 0,80 - 0,83 mm en el instar IV, no presentándose

Cuadro 1. Largo promedio (mm.) ancho torácico y ancho de la cápsula cefálica de los instares larvales de *C. montrouzieri* a cuatro temperaturas constantes.

Temperatura		Instar	Largo (mm)	Ancho Torácico (mm)	Ancho Cápsula Cefálica (mm)
° C	n		$\bar{x} \pm D.E$	$\bar{x} \pm D.E$	$\bar{x} \pm D.E$
26	40	I	1,28 ± 0,48	0,39 ± 0,02	0,31 ± 0,01
20	5	II	2,28 ± 0,19 a	0,59 ± 0,04 a	0,40 ± 0,04
25	5	II	2,92 ± 0,31 b	0,82 ± 0,06 b	0,41 ± 0,02
30	5	II	2,65 ± 0,35 ab	0,65 ± 0,12 ab	0,39 ± 0,02
35	5	II	2,87 ± 0,29 b	0,73 ± 0,11 ab	0,47 ± 0,06
20	5	III	4,18 ± 0,46	1,09 ± 0,06	0,58 ± 0,00
25	5	III	4,38 ± 0,37	1,08 ± 0,15	0,59 ± 0,02
30	5	III	3,82 ± 0,59	0,96 ± 0,07	0,58 ± 0,00
35	5	III	4,33 ± 0,21	1,01 ± 0,17	0,58 ± 0,03
20	5	IV	6,82 ± 0,32	1,55 ± 0,07	0,80 ± 0,00
25	5	IV	6,80 ± 0,38	1,71 ± 0,11	0,83 ± 0,04
30	5	IV	6,21 ± 0,78	1,82 ± 0,25	0,82 ± 0,04
35	5	IV	6,36 ± 0,55	1,76 ± 0,15	0,82 ± 0,04

Valores en la columna largo (mm) para el Instar II seguidos por letras diferentes, difieren estadísticamente al 5% de significación según la prueba de medias de Duncan. Valores en la columna de ancho torácico (mm) para el instar II seguidos por letras diferentes, difieren estadísticamente a 5% de significación según la prueba de Kruskal y Wallis.

diferencias significativas a las temperaturas evaluadas.

En la Figura 1 se grafican las medias del ancho de las cápsulas cefálicas para cada temperatura. Estas medidas evidencian dos situaciones: El ancho de la cápsula cefálica aumentó de tamaño a medida que el insecto cambiaba de instar. Por otro lado se observa, que en los instares larvales III y IV los valores del ancho cefálico son similares en las cuatro temperaturas; pero en el instar II se aprecia cierta diferencia a la temperatura de 35° C, en el cual los valores son más altos que a las otras temperaturas.

Para la determinación del número de instares larvales, los resultados fueron interpretados de acuerdo a la ley de Dyar (Gaines y Campell 1935) la cual dice “las partes esclerosadas de un insecto no aumentan de tamaño durante un instar y que su incremento en tamaño durante el desarrollo larval, ocurre sólo durante la ecdisis”

Cuando observamos la distribución de frecuencia del ancho de la cápsula cefálica por temperatura (a partir del segundo instar) (Figura 2), se observan claramente tres grupos o instares, en los cuales no hay solapamiento de los valores en las temperaturas de 20, 25 y 30 °C. A 20 °C se observa variabilidad del ancho cefálico del segundo instar (cuatro barras que corresponden a medidas diferentes del ancho cefálico), mientras que en el tercer y cuarto instar se presenta un solo grupo porque las medidas son más homogéneas. Igualmente para las temperaturas de 25 y 30 °C, se presentan una o dos barras del ancho cefálico por instar más o menos homogéneos. Sin embargo, en la temperatura de 35 °C se observa solapamiento de valores entre el segundo y el tercer instar; es decir, hay medidas del ancho de la cápsula cefálica del tercer instar con iguales dimensiones a muestras del segundo instar. Situación que puede estar ocurriendo debido al efecto de esta alta temperatura en el desarrollo de la larva. En

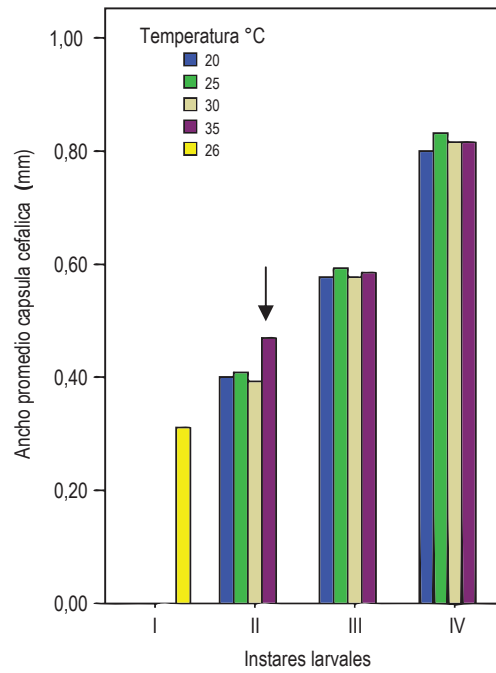


Figura 1. Ancho promedio de la cápsula cefálica de los instares larvales de *C. montrouzieri* a cuatro temperaturas constantes.

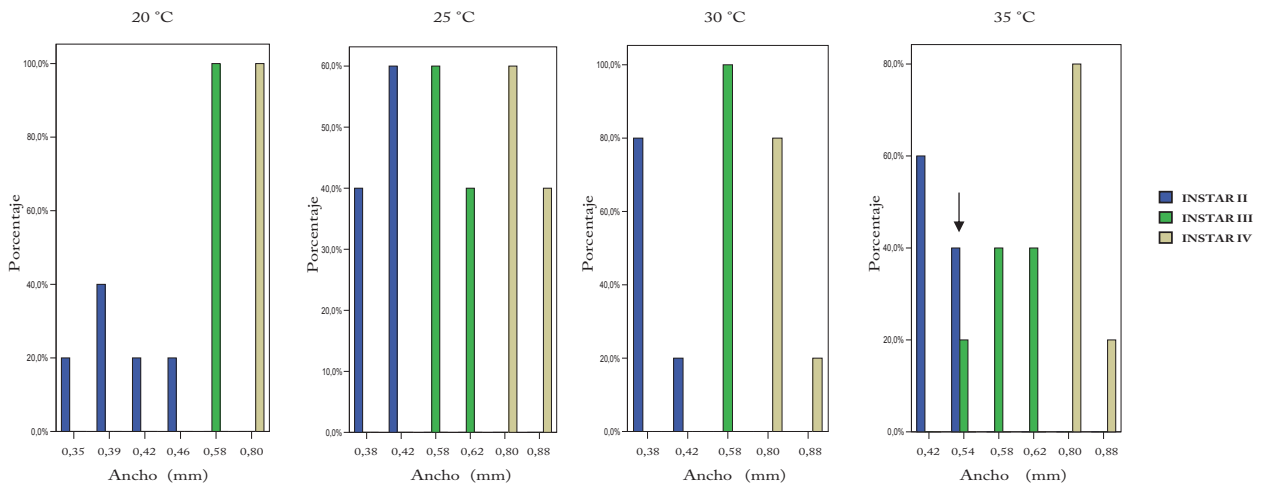


Figura 2. Distribución de frecuencia del ancho de la cápsula cefálica de las larvas de *C. montrouzieri* a cuatro temperaturas constantes.

Cuadro 2. Ancho promedio (mm) de la cápsula cefálica de las larvas de *C. monrouzieri* y la relación entre los instares II, III y IV por temperatura.

Temperatura	$\bar{x}(II) \pm DE$	r III/II	$\bar{x}(III) \pm DE$	r IV/III	$\bar{x}(IV) \pm DE$
20	0,400 ± 0,044	1,442	0,577 ± 0,000	1,386	0,800 ± 0,00
25	0,408 ± 0,021	1,451	0,592 ± 0,021	1,405	0,832 ± 0,044
30	0,392 ± 0,017	1,472	0,577 ± 0,000	1,414	0,816 ± 0,036
35	0,469 ± 0,063	1,247	0,585 ± 0,032	1,395	0,816 ± 0,036

Cuadro 3. Coeficientes de la función lineal discriminante de Fisher y modelos discriminantes para los instares II, III y IV de *C. monrouzieri* a cuatro temperaturas constantes.

T (°C)	Coeficientes de la Función de clasificación	Instares Larvales			Modelos Predictivos Discriminantes
		II	III	IV	
20	Ancho cápsula cefálica	558,307	747,174	1,026,971	Instar II: D1= -136,847 + 558,307 ACC + 81,334 AT
	Ancho torácico	81,334	189,214	273,655	Instar III: D2= -319,969 + 747,174 ACC + 189,214 AT
	Constante	-136,847	-319,969	-624,243	Instar IV: D3= -624,243+1026,971 ACC +273,655 AT Tasa de discriminación del 100%
25	Ancho cápsula cefálica	435,635	632,903	889,024	Instar II: D1= -89,901 + 435,635 ACC
	Constante	-89,901	-188,535	-370,933	Instar III: D2= -188,535 + 632,903 ACC Instar IV D3= -370,933 + 889,024 ACC Tasa de discriminación del 100%
30	Ancho cápsula cefálica	902,952	1,321,328	1,913,612	Instar II: D1=-201,527 + 902,952 ACC + 66,602 AT
	Ancho torácico	66,602	95,153	153,666	Instar III: D2= -427,997+1321,328ACC +153,666 AT
	Constante	-201,527	-427,997	-921,995	Instar IV: D3= -921,612+1913,612ACC +153,666 AT Tasa de discriminación del 100 %
35	Ancho cápsula cefálica	223,104		277,965	Instar II: D1= -53,442 + 223,104 ACC
	Constante	-53,442		-82,350	Instar III: D2= -82,350 + 277,965 ACC Instar IV: D3= -159,395 + 387,981 ACC Tasa de discriminación del 86,7%

Nota: ACC=Ancho cápsula cefálica , AT= Ancho torácico.

general, se observa que a las temperaturas de 25 y 30 °C, hay mayor homogeneidad del ancho de la cápsula cefálica de los instares larvales de *C. monrouzieri*, seguida por la temperatura de 20 °C. Este resultado nos puede indicar, que estas temperaturas ofrecen las mejores condiciones para el desarrollo larval de esta especie.

En el Cuadro 2, se presentan el promedio del ancho de la cápsula cefálica de los instares larvales II, III y IV y la relación de crecimiento “ r “ entre un instar y el que lo precede. Este valor en todas las temperaturas, presenta pequeñas variaciones, a pesar que Gaines y Campell (1935), sostienen que debe mantenerse constante, para que la tasa de crecimiento sea perfectamente geométrica. Al

observar el cuadro, podemos ver que en el instar II y a la temperatura de 35 °C es donde hay más discordancia de "r". No obstante, el número de muestras pudo incidir en estos resultados.

Al determinar los modelos predictivos, se tuvo en cuenta que para el primer instar se tienen los datos únicamente para la temperatura ambiente de laboratorio a 26 °C. En este caso debe considerarse el intervalo de confianza que ofrece el promedio del ancho de la cápsula cefálica obtenido, más o menos su desviación estándar (0,311 ± 0,007 mm) para estimar este instar. Para los otros instares, al analizar las variables, ancho de la cápsula cefálica, ancho torácico y largo de la larva, se encontró que el largo no mostró tener poder discriminante. En el Cuadro 3, se muestran los coeficientes de la función discriminante lineal de Fisher y los modelos obtenidos para cada instar por temperatura. Para la temperatura de 20 °C, las variables que tienen poder discriminante son el ancho de la cápsula cefálica y el ancho torácico, con una tasa de capacidad explicativa de los modelos discriminantes del 100 %.

Para la temperatura de 25 °C, la única variable con poder discriminante es el ancho de la cápsula cefálica y es la única variable que entra en el modelo, la tasa de capacidad discriminante es del 100 %. En la temperatura de 30 °C, las variables con poder discriminante son ancho de la cápsula cefálica y ancho torácico, con una tasa de capacidad discriminante del 100 %. En la temperatura de 35 °C, al igual que la temperatura de 25 °C, la única variable con poder discriminante es la variable ancho de la cápsula cefálica, no obstante es importante señalar, que la tasa de capacidad discriminante en esta temperatura disminuyó a 86,7 %, lo cual indica que un 13,3 % de los datos están mal ubicados dentro de los instares por estos modelos. Este problema radica en que se presentaron larvas del segundo y tercer instar con anchos de cápsulas cefálicas con iguales dimensiones, tal como se observó cuando se graficó la distribución de

frecuencias del ancho de la cápsula cefálica para la temperatura de 35 °C (Figura 2), donde se observa solapamiento de los referidos instares. Situación que puede estar ocurriendo por el efecto de esta alta temperatura en el desarrollo de la larva de *C. montrouzieri*.

Como ejemplo de uso de los modelos predictivos para encontrar el instar a que corresponde una larva con una dimensión de la cápsula cefálica de 0,58 mm a una Temperatura aproximada de 25 °C, tenemos:

$$\text{Instar II: } D1 = -89,901 + 435,635 (0,58) = 162,7673.$$

$$\text{Instar III: } D2 = -188,535 + 632,903 (0,58) = 178,54874 \text{ (valor más alto)}$$

$$\text{Instar IV: } D3 = -370,933 + 889,024 (0,58) = 144,70092$$

Según este ejemplo, la larva corresponde al instar III, debido que el valor más alto generado por el modelo fue de 178,54.

Conclusiones

Al considerar las variables ancho de la cápsula cefálica, ancho torácico y largo del cuerpo de la larva, el largo no mostró tener poder discriminante, en los instares II, III y IV de *C. montrouzieri*. El Análisis Discriminante Múltiple de Fisher, generó modelos predictivos para las temperaturas de 20, 25, 30 y 35 °C que nos permitirá ubicar el instar al que pertenece una determinada larva. El ancho de la cápsula cefálica fue la variable discriminante para 25 y 35 °C y el ancho de la cápsula cefálica + el ancho torácico lo fue para 20 y 30 °C.

Referencias

- ALEMAN J, MARTINEZ M, MILIAN O, MASSO E, RIJO E. 2005. Monitoreo de calidad en la cría de *Cryptolaemus montrouzieri*. *Fitosanidad* 9(1): 71-72.
- FERRAN M. 1996. *SPSS para windows, Programación y análisis estadístico*. 345 p.

- CERMELI M, MORALES P, GODOY F, ROMERO R, CÁRDENAS O. 2002. Presencia de la cochinilla rosada de la cayena *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) en Venezuela. *Entomotropica* 17(1): 103-105.
- GAINES J, CAMPBELL F. 1935. Dyar's rule as related to the number of instars of the corn ear worm *Heliothis obsoleta* (Fab) collected in the field. *Annals of the Entomological Society of America* 28: 445-461.
- GAUTAM RD. 1996. *Multiplication and use of exotic coccinellids*. Technical manual. The Caribbean Agricultural Research and Development Institute. 34 pp.
- MALAIS M, RAVE WJ. 1992. *Knowing and recognizing the biology of glasshouse pest and their natural enemies*. Segunda edición. Editor B. V. Holanda.
- PARDO M, RUIZ M. 2002. *SPSS 11 Guía para el análisis de datos*. McGRAW – Hill/ Interamericana de España, S.A.U. 715 pp.
- RAMESH T, AZAM K. 1987. Biology of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) in relation with temperature. *Entomophaga* 32(4): 381-386.
- TORRES F, MARCANO R. 2007. Efecto de la temperatura en el desarrollo de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) utilizando como presa *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae). *Entomotropica* 22(1): 17-25.