

Estudio de algunos aspectos biológicos de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) parasitoide de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae).

Dilcia Hernández

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Agronomía. Apartado 400, Barquisimeto, Venezuela.

✉ dilciabernandez@ucla.edu.ve

Resumen

HERNÁNDEZ D. 2010. Estudio de algunos aspectos biológicos de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) parasitoide de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). ENTOMOTROPICA 25(2): 69-81.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Entomología del Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA) a temperatura constante de 27 ± 2 °C y 80 % HR. Se determinó el ciclo de vida y se evaluó el efecto de la edad de *Cotesia flavipes* Cameron y del hospedero *Diatraea saccharalis* (Dyar) sobre el parasitismo y emergencia (progenie) del parasitoide. Para el estudio del ciclo de vida se utilizaron 120 hembras del parasitoide de un día de edad, apareadas y 120 larvas del hospedero del IV instar. Para evaluar el parasitismo y emergencia se utilizaron hembras de *C. flavipes* apareadas de 1, 2, 3 y 4 días de edad y larvas del hospedero del tercer y cuarto instar. La duración del ciclo de vida fue 18,51 días. La duración de las fases fueron: huevo $3,2 \pm 0,25$ días, larvas $9,47 \pm 0,36$ días, prepupa y pupa $5,47 \pm 0,36$ días. No se detectó efecto de la edad del parasitoide y edad del hospedero sobre el parasitismo. El porcentaje de parasitismo en las diferentes edades de *C. flavipes* y *Diatraea* osciló entre 6,25 y 62,50 %. Se encontró un efecto de la edad del parasitoide y edad del hospedero sobre la emergencia del parasitoide de un día de edad; la mayor emergencia se encontró en larvas del hospedero de 16 días (57,5 parasitoides). En larvas de *Diatraea* de 18 días la mayor emergencia se encontró en parasitoides de tres días (74,25 parasitoides).

Palabras clave adicionales: Control biológico, Insecta, taladradores de la caña de azúcar.

Abstract

HERNÁNDEZ D. 2010. Some biological aspects of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) a parasitoid of *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). ENTOMOTROPICA 25(2): 69-81.

This research was conducted in the Entomology Laboratory of the University Lisandro Alvarado (UCLA) at a constant temperature of 27 ± 2 °C and 80 % RH. We determined the life cycle and assessed the effect of age of *Cotesia flavipes* Cameron and host *Diatraea saccharalis* (Dyar) on parasitism and parasitoid emergence. To study the life cycle we used 120 one day old mated female parasitoids, and hosts of the fourth larval instar. To evaluate parasitism and emergence of *C. flavipes*, female parasitoids were paired with 1, 2, 3 and 4 days old host larvae of the third and fourth instar. Life cycle was 18.51 days. Egg stage 3.2 ± 0.25 days, 9.47 ± 0.36 days for larvae, prepupae and pupae 5.47 ± 0.36 days. We found no effect of the parasitoid or host age on parasitism. Parasitism ranged between 6.25 and 62.50 %. We found an effect of parasitoid and host age on emergence (offspring) in one day old *C. flavipes*; the highest emergence was found on 16 days old *D. saccharalis* larvae (57.5 parasitoids). In 18 days old *Diatraea* larvae the highest emergence was found in three day old parasitoids (74.25).

Additional key words: Biological control, Insecta, sugarcane borer.

Introducción

Cotesia flavipes Cameron (Hymenoptera: Braconidae), es un endoparásitoide larval nativo del sur-este de Asia (Mohyuddin 1971) que fue encontrado por primera vez parasitando larvas del género *Chilo* (Lepidoptera: Pyralidae) (Wiedeman y Smith 1993). Para esta especie han sido reportados una gran cantidad de especies hospederos de la familia Pyralidae y Noctuidae (Moutia y Courtois 1952, Kajita y Drake 1969, Mohyuddin 1971, Gifford y Manm 1967, Wiedenman *et al.* 1992). Se han realizado estudios de *C. flavipes* para evaluar el control natural de este parasitoide sobre larvas del género *Chilo* en China (Li *et al.* 2005).

C. flavipes es utilizado exitosamente en programas de control biológico de los taladradores de la caña de azúcar en Florida (Gifford y Manm 1967), Barbados (Alan *et al.* 1971), Brasil (Macedo *et al.* 1984) y al sur de Texas (Fuchs *et al.* 1979). Más recientemente Lva *et al.* (2010) evaluaron el valor potencial de *C. flavipes*, como agente de control biológico en *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) en el cultivo del arroz en Texas y encontraron que este parasitoide no es efectivo para esta plaga en este cultivo en esta región, y concluyen que las condiciones climáticas (área subtropical) y el cultivo (no perenne) impiden al parasitoide tener condiciones óptimas para su establecimiento.

En Venezuela este parasitoide es utilizado en programas de control biológico para el control de *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) (taladradores de la caña de azúcar) a nivel comercial desde el año 1988 (Linarez y Ferrer 1990), obteniéndose resultados bastante satisfactorios (Ramon *et al.* 2002, Ramon *et al.* 2008). En los actuales momentos el parasitoide es producido y distribuido a diferentes zonas

productoras por laboratorios comerciales del país (Godoy 2010 comunicación personal).

A nivel de campo se ha encontrado parasitismo de 53,4 % (Wiedenmann y Smith 1993), de 50 y 43 % en Venezuela en los estados Táchira y Sucre (Linarez y Ferrer 1990). En condiciones de laboratorio se han reportado parasitismos de 42 y 76 % sobre larvas de *C. partellus* (Walker) y *C. orichalcociliellus* (Walker) (Overholt *et al.* 1994), también se han realizado estudios para evaluar cuantos hospederos parasita una hembra del parasitoide, en este sentido, Wiedenmann *et al.* (1992) señalaron que *C. flavipes* parasita 2 hospederos, un 69 % parasitó una larva y un 3 % una segunda larva hospedera; Pottinng *et al.* (1997) reportaron que *C. flavipes* coloca el 80 % de sus huevos parasitando 3 hospederos, Lva *et al.* (2010) menciona que *C. flavipes* parasita 2 larvas hospederas, un 50 % parasita una larva y un 15 % parasita 2 hospederos.

Se han realizado estudios de algunos parámetros biológicos para evaluar capacidad de ovipostura, ciclo biológico y longevidad del parasitoide Gifford y Mann (1967) señalan que la hembra puede ovipositar inmediatamente después de la emergencia y que el porcentaje de oviposición incrementa con la edad del parasitoide; Ayquipa (1980) señala que la duración de huevo a larva fue de 9 días en verano y 11 días en invierno y la pupa de 5,7 y 6,4 días en cada época respectivamente; más recientemente se han evaluado la capacidad del parasitoide en discriminar hospederos ya parasitados (Campos-Farinha y Chaud-Netto 2000) y el número de larvas que *C. flavipes* puede parasitar y su efecto sobre la descendencia o progenie de este parasitoide (Scaglia *et al.* 2005).

En Venezuela, los taladradores del género *Diatraea* han sido comúnmente catalogados como los insectos plagas de mayor importancia en el cultivo después de la candelilla (Ramón *et al.* 2008). El adulto coloca los huevos en las láminas o en las vainas de las hojas, luego se trasladan a los tallos y se introducen en su interior

y hacen túneles, a veces perforan sus cogollos internamente, a medida que la larva crece y antes de transformarse en pupas prolongan el túnel hasta la superficie del tallo, allí dejan un orificio y sale el adulto, además permite la entrada de hongos, bacterias y otras plagas (Guagliumi 1962). Cuando las larvas se alimentan del tallo y no hay un control apropiado, esto se traduce en pérdidas en tonelaje de caña de azúcar por unidad de producción, en este sentido Ferrer y Guedez (1990) encontraron para la zona del Río Turbio, estado Lara, que por cada 1 % de entrenudos perforados en campo o índice de infestación (I.I.), la producción disminuye en 480 toneladas de azúcar.

En la década de los 40, la infestación por *Diatraea* estaba por encima de 25 % de entrenudos perforados, a partir de 1947 se inició el programa de liberación de la mosca amazónica, *Lidella minense* Townsend (Diptera: Tachinidae), en el área de influencia del Central El Palmar (Salazar 2004), esta especie fue muy efectiva en el control, sin embargo resultó muy específica al atacar casi exclusivamente a *D. saccharalis*, lo cual llevó a una declinación de esa especie y al incremento de las otras especies; esta situación obligó a buscar nuevos parasitoides siendo *C. flavipes* la que surgió como una solución ya que no posee selectividad de las especies que incluyen el complejo *Diatraea* (Linarez y Ferrer 1990). En 1987 se introdujo comercialmente *C. flavipes* el cual ha complementado el efecto del primer biorregulador a tal punto que pueden lograrse disminuciones por debajo del 1% lo que representa una meta tangible en los actuales programas de manejo (Salazar 2004).

La producción comercial de *C. flavipes* tiene un alto costo de producción y esto ya ha sido señalado como uno de los factores limitantes en el uso del parasitoide (Lva et al. 2010), de allí la importancia de optimizar este material biológico, por ello, es necesario conocer cuales factores afectan el parasitismo y la emergencia de este parasitoide. La temperatura y la humedad

relativa son los factores abióticos responsables del éxito del parasitismo y establecimiento de *C. flavipes* (Getu et al. 2004), como factores bióticos se señala principalmente la edad del hospedero, que a su vez está relacionado con la competencia intrínseca que se establece en el sistema parasitoide-hospedero. *C. flavipes* deposita sus huevos dentro del hemocele de la larva hospedera y tiene la capacidad de manipular el estado fisiológico del hospedero para que se desarrollen exitosamente sus huevos y larvas; a su vez, el hospedero tiene un sistema de defensa que impide que el parasitoide se desarrolle, esta defensa depende de su edad y su estado nutricional, es una defensa externa, la larva regurgita un líquido por la boca que mata al parasitoide (Scaglia et al. 2005, Lva et al. 2010) y una defensa interna (sistema inmunológico), son células denominadas teratocitos que encapsulan los huevos y larvas del parasitoide (Beckage y Buron 1997, Pennacchio et al. 1998, Digilio et al. 2000). Las larvas del hospedero de los estados más avanzados (últimos instares) matan un mayor porcentaje de parasitoides con el sistema de defensa externa (Takasu and Overholt 1997), también se ha señalado en otras especies que la proporción de huevos encapsulados aumenta con la edad de la larva (instares más avanzados) (Bauer et al. 1998). Es importante mencionar que en trabajos de investigación *C. flavipes* escogió para su oviposición hospederos de últimos instares (IV y V instar), se considera que a pesar del riesgo de una mayor mortalidad por el sistema de defensa del hospedero, el parasitoide lo compensa al lograr parasitar la larva con un gran éxito reproductivo, ya que las larvas de los parasitoides dispondrán de suficiente alimento con estas larvas de mayor tamaño y de mayor peso (Lva et al. 2010).

Durante la oviposición, los huevos no son el único elemento introducido por la avispa parasitoide dentro del hospedero, ya que los huevos antes de ser colocados pasan por el cáliz, el cual contiene un líquido que contiene

polydnavirus (PDV), viriones (Vinson y Scott 1979, Vinson 1993), proteínas secretadas del ovario (Stoltz et al. 1984, Buron y Beckage 1992). Este líquido y su contenido, junto con los huevos son colocados dentro del hospedero en el momento de ovipostura y son descritas como los responsables de la supresión de la respuesta inmune del hospedero (Davies et al. 1987, Vinson et al. 1979, Fleming 1991).

Scaglia et al. (2005) encontraron para *C. flavipes* que el número de descendientes (progenie) es mayor en la primera oviposición y menor en la segunda y tercera, y señalan que probablemente esto se deba a que los huevos del parasitoide son envueltos en una mayor cantidad de virus (PDV) en esta ovipostura, también señalan que se encontraron una gran cantidad de larvas encapsuladas en la segunda y tercera ovipostura.

Dada la importancia de *C. flavipes* como agente de control biológico de los taladradores de la caña de azúcar y motivado a la necesidad de tener un mayor conocimiento de la especie, así como evaluar las combinaciones óptimas de la relación parasitoide-hospedero, mejorar la cría del parasitoide y el hospedero y optimizar los controles de calidad del producto a ser liberado en el campo; se realizó este trabajo de investigación, con el fin de: determinar el ciclo de vida *C. flavipes* sobre el hospedero *D. saccharalis* en condiciones de laboratorio; y el efecto de la edad del hospedero *D. saccharalis* y la edad del parasitoide sobre el número de larvas parasitadas y la emergencia (progenie) de *C. flavipes*.

Materiales y Métodos

Obtención y mantenimiento del parasitoide *C. flavipes* y las larvas del hospedero *D. saccharalis*

Este ensayo fue realizado en los meses de Julio a Septiembre del año 2002. El parasitoide *C. flavipes* usado en este estudio fue obtenido de una cría mantenida en el laboratorio comercial Fundacaña, de Chivacoa, estado

Yaracuy. Trescientos adultos (150 hembras y 150 machos) del parasitoide recién emergidos fueron colocados dentro de viales de 500 cc de capacidad para el apareamiento. El frasco fue previamente desinfectado con hipoclorito de sodio 10 % y enjuagado con agua destilada. Para tapar el envase se usó tela organdí, la cual permitió la circulación del aire. Se colocó sobre la tela del frasco, una mota de algodón impregnada con una solución de miel 50 % para la alimentación de los parasitoides.

Las larvas del hospedero *D. saccharalis* fueron obtenidas de una cría mantenida también en el laboratorio antes mencionado. Este material biológico fue llevado al laboratorio de Entomología, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA) y mantenidos a temperaturas de 27 ± 2 °C y 80 % HR y fotoperíodo de 12:12 horas.

Ciclo de vida de *C. flavipes*

Se evaluó este ensayo siguiendo la forma de parasitación comercial, utilizada en el laboratorio de Fundacaña (parasitación directa). Se utilizaron 120 hembras de *C. flavipes* previamente apareadas de dos días de edad, estas hembras fueron mantenidas individualmente en viales de 5 cc de capacidad y fueron alimentadas diariamente con una solución de miel al 50 % colocadas en motas de algodón. Cada tubo fue debidamente identificado. A cada hembra del parasitoide se le ofreció fuera del recipiente una larva de *D. saccharalis* de 18 días de edad (IV instar). Una vez expuesta la larva hospedera se observó el momento de oviposición del parasitoide, posteriormente estas larvas parasitadas fueron colocadas individualmente en envases de 10 cc de capacidad que contenía dieta artificial. Estos envases fueron etiquetados, colocando la fecha y hora a la cual ocurrió el parasitismo. Las larvas parasitadas fueron observadas diariamente y cuando las masas de pupas se formaron, se retiraron y se colocaron individualmente en envases de 10 cc hasta la salida de los adultos, la fase de prepupa, pupa

y el ciclo total se determinó desde el momento de parasitismo hasta la construcción del capullo y desde este instante hasta la emergencia del adulto.

Para estudiar la duración de la fase de huevo, cada 12 horas se disecaban 10 larvas del hospedero, mientras que las disecciones para determinar la duración y desarrollo las fases larvales, se hacían cada 24 horas. Para estos fines, las larvas se adormecían ligeramente introduciéndolas en una siracusa que contenía alcohol etílico al 75 % (5 segundos) y posteriormente fueron colocadas en un portaobjeto socavado que contenía glicerina y con la ayuda de dos agujas hechas con micro alfileres que sostenían la larva hospedera por el protórax se realizaba una incisión lateral en el último segmento abdominal, el huevo o la larva del parasitoide salía impulsado por la presión de la hemolinfa (Díaz 1990).

Huevos

Se evaluó la duración de la fase de huevo, desde el momento de ovipostura hasta la emergencia del primer instar larval.

Larvas

Larvas de los distintos instares fueron colocados en una siracusa que contenía agua destilada a 100 °C donde morían, de aquí eran pasadas a portaobjetos socavados, con lactofenol y se realizó la medición de la longitud del cuerpo utilizando una lentilla micrométrica adaptada a un ocular 20×, en un microscopio estereoscópico marca Olympus, con aumento 60× para los primeros instares y 20-30× para el último instar, además se observó la conformación del sistema digestivo. Para realizar la medición de la mandíbula y cápsula cefálica, se procedió a realizar el montaje de la cápsula cefálica del segundo y tercer instar larval. Para este último instar se hizo montaje de las cápsulas cefálicas extraídas de las pupas donde se encontraba sus exuvias.

A las larvas del primer instar solo pudo medírsele la longitud de las mandíbulas,

porque no se observó formación completa de la cápsula cefálica. Para realizar este montaje se realizó el siguiente procedimiento: estas larvas fueron aclaradas utilizando Hidróxido de Potasio (KOH) al 5 %, luego de ese tiempo el material fue pasado por alcohol y agua destilada para luego ser montado en una solución Hoyer sobre portaobjetos. Las láminas fueron llevadas a la estufa a 55 °C por una semana, este procedimiento fue similar al descrito por Fernández y Terán (1990). Las mediciones de la mandíbula y ancho de la cápsula cefálica se realizó utilizando una lentilla micrométrica adaptada a un ocular 10×, en un microscopio compuesto marca Olympus, con aumento 100×.

Pupa

Para esta fase se juntan los días de duración en prepupa, es decir, desde el momento que los parasitoides salen de la larva hospedera hasta que terminan de tejer el capullo y la duración de la pupa desde que forman el capullo hasta la emergencia del adulto.

Adulto

Efecto de la edad del hospedero *D. saccharalis* y edad del parasitoide sobre el parasitismo y la emergencia (progenie).

Se utilizaron hembras de *C. flavipes* de 1, 2, 3 y 4 días de emergidas, previamente apareadas y larvas del hospedero del cuarto instar (16, 17 y 18 días). Los parasitoides de cada edad fueron colocados individualmente en seis envases de 250 cc de capacidad que contenía dos larvas hospederas de cada edad respectiva y permanecieron dentro de los envases durante cuatro horas. Cada recipiente fue identificado y el experimento replicado ocho veces por cada edad del hospedero. Las larvas hospederas fueron retiradas de los envases y fueron colocadas en envases de 10 cc de capacidad que contenían dieta artificial. Diariamente las larvas fueron revisadas para evaluar el desarrollo de las mismas. El número de larvas parasitadas se obtuvo de aquellas que produjeron pupas del

parasitoide y el total de parasitoides emergidos mediante conteo de adultos que emergían de las pupas del parasitoide.

Se compararon los porcentajes de parasitismo promedio para cada edad del parasitoide en función de la edad del hospedero y entre las diferentes edades del parasitoide, mediante un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis y la prueba de comparación de rangos de media ($P > 0,05$)) (Conover 1999). Para evaluar el número de parasitoides emergidos en función de la edad del hospedero y entre las edades del parasitoide, se realizó un ANAVAR para un diseño completamente aleatorio y la prueba LSD de comparación de rangos de medias ($P > 0,05$) (Cochran y Cox 1965). Para estos análisis se utilizó el paquete estadístico Statistic for Windows versión 7.0.

Resultados y Discusión

1. Ciclo de vida de *Cotesia flavipes*.

La duración del ciclo de vida desde oviposición hasta emergencia del adulto, osciló entre 17,30 y 19,70 días. La duración para las distintas fases del parasitoide fueron: Huevo 3,2 días, larva 9,47 días, prepupa y pupa 5,47 días (Cuadro 1).

Larva.

Los resultados de las mediciones del cuerpo, cápsula cefálica y mandíbula son presentados en el Cuadro 2. Existen tres instares larvales, de los cuales los dos primeros mudan dentro de la larva hospedera y el tercero sale del hospedero, forma su capullo y muda transformándose en pupa.

El período larval lo realiza el parasitoide en el interior de la larva hospedera, el tercer instar larval de *C. flavipes* sale del hospedero haciendo agujeros en la pleura, inmediatamente inician el proceso de formación del capullo. Se observó que en algunos casos no emerge el total de larvas del parasitoide, muriendo en el interior del hospedero, algunas larvas también mueren fuera del hospedero; según Ayquipa (1980), la

muerte de estas larvas se debe a competencia entre ellas.

De acuerdo a la ley de Dyar, las mediciones lineales de las estructuras cuticulares de muchos insectos se incrementan en una progresión geométrica regular en instares sucesivos. Es importante mencionar que en el primer instar solo se midió la longitud de la mandíbula izquierda y que no se observó la formación completa de la cápsula cefálica.

Estas larvas son del tipo caudada vesiculada (Clausen 1962), con una vesícula anal en el extremo posterior, de color cremoso, similar a lo descrito por Ayquipa (1980). El desarrollo larval del parasitoide osciló entre nueve y diez días (Cuadro 1). Estos resultados son similares a lo encontrado por Ayquipa (1980), quien encontró una duración promedio de 10,5 días para esta fase a 28 °C y 87 % HR.

Primer instar.

La larva del primer instar es muy móvil, de color blanco, translúcida. Sólo es observable el tracto digestivo cerrado como un tubo muy delgado a todo lo largo del cuerpo (Figura 1a). Este instar duró en promedio $6,22 \pm 0,26$ días, similar a lo señalado por Kajita y Drake (1969). La longitud del cuerpo, excluyendo la vesícula anal varió desde 0,70 hasta 1,00 mm en larvas en desarrollo. El largo de la mandíbula promedió $163,75 \pm 37,47 \mu$ con un rango de 100 a 220 μ (Cuadro 2).

Segundo instar.

La larva del segundo instar se caracteriza porque el último segmento en forma de vesícula es más corto y grueso que en el instar anterior. La larva es de forma cilíndrica, de color blanco y a través del integumento puede apreciarse el sistema digestivo. El contenido intestinal abarca la mayor parte del cuerpo de la larva (Figura 1b). Este instar es menos móvil que el anterior. Kajita y Drake (1969), señalaron que durante este instar la larva es capaz de desplazarse a través del cuerpo de hospedero. La longitud del

Cuadro 1. Duración promedio en días de los estados de desarrollo y el ciclo de vida total de *C. flavipes*, utilizando larvas de *D. saccharalis* del IV instar a $27 \pm 2^\circ \text{C}$ y 80 % HR.

Fase	n	$\bar{x} \pm \sigma$ (días)	Límites
Huevo	10	$3,2 \pm 0,25$	3,00 - 3,50
Instares larvales			
I	15	$6,22 \pm 0,26$	6,00 - 6,5
II	16	$2,19 \pm 0,08$	2,13 - 2,29
III	10	$1,06 \pm 0,02$	1,00 - 1,08
Prepupa y pupa	17	$5,47 \pm 0,68$	5,17 - 6,33
Total		18,14	17,30 - 19,70

$\bar{x} \pm \sigma$ = media \pm desviación estándar. n= número de individuos.

Cuadro 2. Dimensiones promedio de larvas de *C. flavipes*.

		Longitud del cuerpo (mm)	Ancho de la cápsula cefálica (μ)	Longitud de la mandíbula (μ)
Primer Instar	n	17	-	20
	$\bar{x} \pm \sigma$	0,81 0,12	- -	163,75 37,47
	límites	0,7 - 1,0	- - -	100 - 220
Segundo Instar	n	17	7	18
	$\bar{x} \pm \sigma$	2,07 0,12	1035 57,98	200 8,46
	límites	2,0 - 2,2	1000 - 1100	190 - 230
Tercer Instar	n	19	8	8
	$\bar{x} \pm \sigma$	2,29 0,09	1.425 26,73	303,75 5,18
	límites	2,1 - 2,5	1400 - 1450	300 - 310

$\bar{x} \pm \sigma$ = media \pm desviación estándar. n= número de individuos. * no se observó

cuerpo, excluyendo la vesícula anal es de 2,02 a 2,20 mm. La duración de este instar fue en promedio de $2,19 \pm 0,08$ días (Cuadro 1). Kajita y Drake (1969) señalaron un rango de 2 a 2,5 días de duración.

Las mandíbulas con una longitud promedio de $200 \pm 8,46 \mu$, el ancho de la cápsula cefálica osciló entre 1000 a 1100 μ (Cuadro 2).

Tercer instar.

El tercer instar también es del tipo caudado vesiculado, similar al segundo instar. No se observa el sistema traqueal. El sistema digestivo se extiende hasta el último segmento corporal. El cuerpo posee un tamaño de 2,1 a 2,5 mm.

de longitud. La cápsula cefálica se observó completamente esclerotizada. La longitud de la cápsula cefálica osciló entre 1400 y 1450 micras, y las mandíbulas tienen un promedio de $303,75 \pm 5,18 \mu$ (Cuadro 2). La duración de este instar fue de $1,06 \pm 0,02$ días (Cuadro 1).

Se observó que la larva del tercer instar al completar el desarrollo, se mueve hacia las paredes del cuerpo del hospedero las ataca y raspa con las mandíbulas, haciendo su hueco de emergencia; después de dos a tres minutos, rompen la cutícula, continua raspando esta abertura para hacerla mas grande y finalmente empuja la cabeza a través del hueco. Se

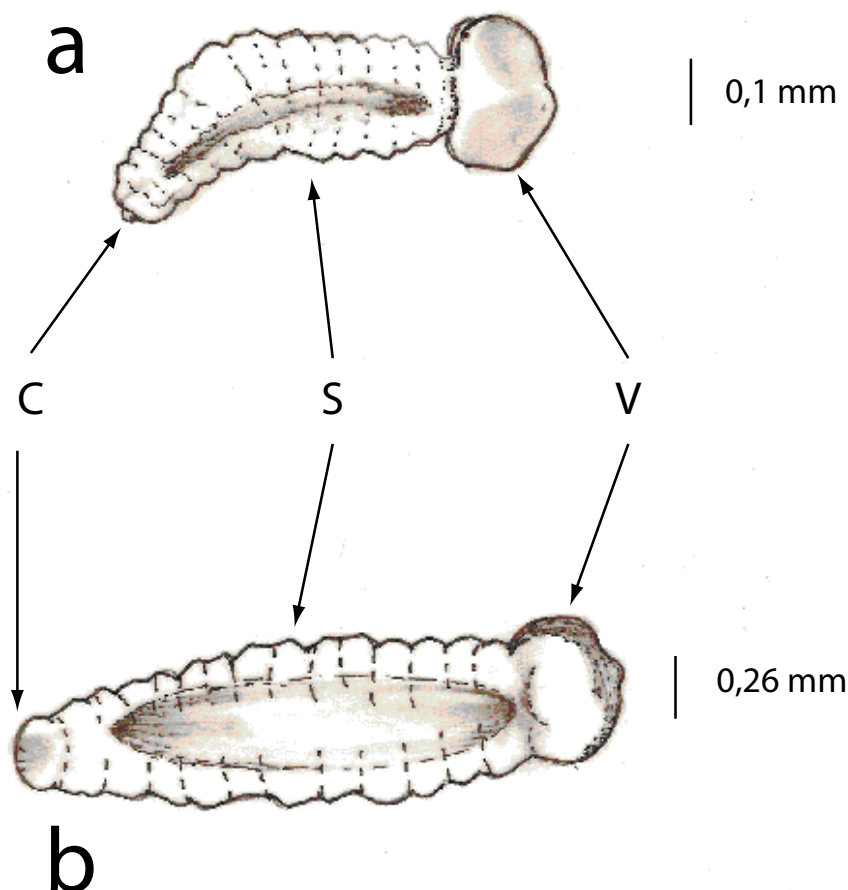


Figura 1. Larvas de *C. flavipes*. a: Primer instar en desarrollo. b: Segundo instar larval. C= Cabeza; S= Segmentos del cuerpo; V= Vesícula

observaron luego movimientos peristálticos hasta que todo el protórax sale del cuerpo del hospedero, similar a lo descrito por Kajita y Drake (1969).

Prepupa y pupa.

El estado de pupa ocurre dentro de un capullo de seda construido por la larva del tercer instar, después de salir del hospedero. El tiempo que tarda la larva del tercer instar en construir el capullo corresponde a la prepupa. La duración de la prepupa y pupa fue en promedio $5,47 \pm 0,68$ días (Cuadro 1).

La pupa es del tipo exárata, al principio es de color blanco y luego toma una coloración grisácea oscura. La duración de esta fase es similar a la descrita por Gifford y Mann (1967) y Ayquipa (1980).

Bajo condiciones similares de temperatura y humedad relativa, el ciclo total de vida de *C. flavipes*, así como el tiempo de desarrollo de las fases de huevo, larva y pupa fueron similares a las encontradas por Ayquipa (1980) para esta misma especie a 28 °C y 87% HR (ciclo total: 19,5 días machos y 19,6 días las hembras). A temperaturas menores (25 °C y 66 % HR), el desarrollo del parasitoide se hace mas lento, y

Cuadro 3. Número de larvas parasitadas (LP) y % de parasitismo de *C. flavipes* de un día de edad a varias edades del hospedero.

Edad <i>Diatraea</i> (días)	Repeticiones								LP	%
	1	2	3	4	5	6	7	8		
16	1	1	0	0	0	1	1	1	5	31,25
17	2	0	1	0	0	0	0	0	3	18,75
18	1	0	0	0	1	1	1	1	5	31,25

Los datos provienen de dos larvas del hospedero expuestas en cada repetición.

Cuadro 4. Número de larvas parasitadas (LP) y % de parasitismo de *C. flavipes* de dos días de edad a varias edades del hospedero.

Edad <i>Diatraea</i> (días)	Repeticiones								LP	%
	1	2	3	4	5	6	7	8		
16	1	1	2	1	0	0	1	1	7	43,75
17	0	0	1	1	2	1	0	2	7	43,75
18	2	1	1	1	1	0	1	0	7	43,75

Los datos provienen de dos larvas del hospedero expuestas en cada repetición.

Cuadro 5. Número de larvas parasitadas (LP) y % de parasitismo de *C. flavipes* de tres días de edad a varias edades del hospedero.

Edad <i>Diatraea</i> (días)	Repeticiones								LP	%
	1	2	3	4	5	6	7	8		
16	0	0	0	0	1	1	1	1	4	25,00
17	0	1	2	2	0	1	0	0	6	37,50
18	2	1	1	1	1	2	1	1	10	62,50

Los datos provienen de dos larvas del hospedero expuestas en cada repetición.

Cuadro 6. Número de larvas parasitadas (LP) y % de parasitismo de *C. flavipes* de cuatro días de edad a varias edades del hospedero.

Edad <i>Diatraea</i> (días)	Repeticiones								LP	%
	1	2	3	4	5	6	7	8		
16	0	0	1	0	0	0	0	0	1	6,25
17	0	0	0	0	1	1	0	1	3	18,75
18	0	2	0	1	0	0	0	1	4	25,00

Los datos provienen de dos larvas del hospedero expuestas en cada repetición.

el ciclo total más largo (21 días machos y 20,6 días las hembras) (Ayquipa 1980). Otros autores señalan que la principal variación es observada en la fase larval; la duración de esta fase a 25 °C

aumenta a 10,5 días (Kajita y Drake 1969), 11 días (Gifford y Mann 1967) y a 24 °C y 50-60 % HR a 13,1 días (Wiedenmann y Smith 1995).

Cuadro 7. Porcentaje de parasitismo de *C. flavipes* varias edades del parasitoide y del hospedero.

	Edad de <i>C. flavipes</i> (días)			
	1	2	3	4
Edad <i>Diatraea</i> (días)	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$
16	31,25 ± 25,88	43,75 ± 32,04	25,00 ± 23,15	6,25 ± 17,68
17	18,75 ± 37,20	43,75 ± 41,72	37,50 ± 44,32	18,75 ± 25,88
18	31,25 ± 25,88	43,75 ± 32,04	62,50 ± 23,15	25,00 ± 37,79
$\bar{x} \pm \sigma$	27,08 ± 29,41	43,75 ± 33,98	41,67 ± 36,86	16,67 ± 28,23

Los datos provienen de ocho repeticiones para cada edad del parasitoide y dos larvas expuestas del hospedero.

Cuadro 8. Total de parasitoides de *C. flavipes* emergidos a varias edades del parasitoide y de las larvas de *D. saccharalis*.

	Edad de <i>C. flavipes</i> (días)		
	1	2	3
Edad <i>Diatraea</i> (días)	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$
16	57,5 ± 8,19 a A	66,50 ± 13,99 a A	80,75 ± 46,52 a A
17	31,25 ± 22,73 ab B	40,75 ± 29,62 a A	66,25 ± 29,26 a A
18	28,25 ± 17,99 b B	49,25 ± 27,15 a AB	74,25 ± 46,63 a A
$\bar{x} \pm \sigma$	39,00 ± 20,88	52,17 ± 24,88	73,75 ± 38,15

Los datos provienen de 4 repeticiones para cada edad del parasitoide. Valores dentro de una columna seguidos por letras iguales (a,b) no presentan diferencias significativa; prueba LSD (P>0,05). Valores dentro de una fila seguidos por letras iguales (A,B) no presentan diferencias significativa; prueba LSD (P>0,05).

Según estos resultados la temperatura y humedad relativa son los factores ambientales más importantes que influyen sobre el desarrollo de las fases inmaduras de este insecto (Odum 1983).

El establecimiento de estos parasitoides en el campo como controladores biológicos, está afectado por las condiciones de temperatura y humedad relativa de la zona donde se realice la liberación, de allí la importancia de tomar en cuenta los resultados de estos trabajos.

2.3 Efecto de la edad del hospedero *D. saccharalis* y edad de *C. flavipes* sobre el parasitismo y la emergencia (progenie) del parasitoide.

En los cuadros tres al ocho se presentan el porcentaje de parasitismo y emergencia (progenie) de *C. flavipes* en función de la edad

del hospedero (larvas de *D. saccharalis* del IV instar) y la edad del parasitoide.

Comparando el porcentaje de parasitismo para cada edad del parasitoide entre las diferentes edades del hospedero y entre las diferentes edades del parasitoide, no se detectó efecto de la edad del parasitoide y edad del hospedero sobre el parasitismo (P > 0,05) (Cuadro 7). El porcentaje de parasitismo en las diferentes edades de *C. flavipes* y de *Diatraea* osciló entre 6,25 y 62,50 % (Cuadros 3 al 6). Wiedenmann et al. (1992), encontraron para esta especie un 69 % de parasitismo sin evaluar el efecto de las edades del parasitoide y hospedero, Lva et al. (2010) encontraron un mayor porcentaje de parasitismo en larvas del hospedero del quinto instar (71,8 %), pero no especifican la edad del parasitoide.

En los tratamientos donde se observó un bajo porcentaje de parasitismo, pudiera deberse al comportamiento de defensa de la larva hospedera al segregar un líquido que envuelve al parasitoide. Lva et al. (2010) señalaron un alto porcentaje de larvas muertas por este comportamiento. También pudo deberse a las alteraciones bioquímicas y hormonales que regulan la condición fisiológica del hospedero actuando sobre su sistema inmunológico. Estas alteraciones son provocadas por virus depositados dentro del hospedero por los parasitoides al momento de la ovipostura (Vinson 1990), la cantidad de virus liberado depende a su vez de la secuencia de las oviposiciones (Morales et al. 1999) y es mayor en la primera oviposición y disminuyen en la segunda y tercera oviposición de *C. flavipes* (Scaglia et al. 2005).

En cuanto a la emergencia, se encontró un efecto de la edad del parasitoide y la edad del hospedero sobre la emergencia (progenie) de *C. flavipes* (Cuadro 8). Para los parasitoides de un día de edad, la mayor emergencia se encontró en larvas del hospedero de 16 días (57,5 parasitoides emergidos) presentando diferencias significativas con larvas del hospedero de 18 días (28,25 parasitoides emergidos). Cuando se utilizaron parasitoides de dos y tres días de edad, la emergencia osciló entre 40,75 y 80,75 parasitoides sin presentar diferencias significativas entre las edades del hospedero. También se encontró un efecto en la edad de las larvas de *Diatraea* y las diferentes edades de *C. flavipes*. Cuando se utilizaron hospederos de 17 y 18 días de edad, la mayor emergencia se encontró al utilizar parasitoides de tres días, presentándose diferencias significativas en relación a los parasitoides de un día de edad.

Para esta especie son pocos los trabajos que se han realizado evaluando el efecto de estos dos factores (edad parasitoide, edad hospedero). Wiedenmann et al. (1992), evaluaron el efecto de diferentes instares larvales de *D. saccharalis*, pero utilizando una sola edad del parasitoide (2

horas de emergidos) y el tiempo de exposición de los hospederos al parasitoide fue mayor (24 horas) y no encontraron diferencias significativas en el número de parasitoides emergidos en hospederos de *D. saccharalis* del segundo al sexto instar larval (osciló entre 45,7 y 62 parasitoides). Campos-Farinha (2000) evaluó la discriminación de *C. flavipes* entre hospederos parasitados y no parasitados trabajando con hospederos del quinto instar y parasitoides de 24, 48 y 72 horas de edad; para hospederos no parasitados encontró una emergencia de *C. flavipes* que osciló entre 29,71 y 40,87 parasitoides sin encontrar diferencias significativas entre las diferentes edades. Scaglia et al. (2005) evaluaron el efecto de la secuencia de oviposición en la descendencia en hembras vírgenes y apareadas del parasitoide, utilizando una sola edad del hospedero (larvas de *D. saccharalis* del IV instar), y hembras de *C. flavipes* recién emergidas (vírgenes) y de 4 horas de emergidas (apareadas) y encontraron un mayor número de parasitoides emergidos en la primera y segunda oviposición con respecto a la tercera. El número de parasitoides emergidos osciló entre 30,32 y 36,36 para la primera y segunda oviposición y 17,57 y 20,26 parasitoides para la tercera oviposición. Lva et al. (2010) en larvas de *D. saccharalis* parasitadas por *C. flavipes* y colectadas en ensayos de campo en el cultivo del arroz encontraron un 27,9 % de parasitoides emergidos.

Agradecimientos

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la UCLA proyecto 035-AG-2001, por el financiamiento de este trabajo y al laboratorio FUNDACANA por facilitar los insectos necesarios para la realización de estos ensayos.

Referencias

- ALAN M, BENNETT F, CARL K. 1971. Biological control of *Diatraea saccharalis* (F.) in Barbados by *Apanteles flavipes* Cam. and *Lixophaga diatraea*. *Entomophaga* 16: 151-158.
- AYQUIPA G. 1980. Estudios sobre *Apanteles flavipes* (Cameron), introducido para controlar *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Revista Peruana Entomología* 23(1): 73-76.
- BAUER E, TRENCEK T, DORN S. 1998. Instar-dependent hemocyte changes in shape *Pieris brassicae* after parasitisation by shape *Cotesia glomerata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88: 49-58.
- BECKAGE NE, BURON I. 1997. Developmental changes in teratocytes of the Braconidae wasp *Cotesia congregata* in larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology* 43: 915- 930.
- BURON I, BECKAGE NE. 1992. Characterisation of a polydnavirus (PDV) and virus-like filamentous particles (VLFP) in the braconid wasps *Cotesia congregata* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 59: 315-327.
- CAMPOS-FARINHA AE, CHAUD-NETTO J. 2000. Biología reproductiva de *Cotesia flavipes* (Cam). IV. Discriminación entre lagartas parasitadas e não parasitadas de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), tempo de desenvolvimiento e razão sexual dos parasitoides. *Arquivos do Instituto de Biologia* 65: 57-61.
- CLAUSEN C. 1962. *Entomophagous insects*. New York Publishing Company. 688 pp.
- COCHRAN WG, COX GM. 1965. *Diseños Experimentales*. Editorial F. Trillas S.A. México. 661 pp.
- CONOVER WJ. 1999. *Practical Nonparametric Statistics*. 3th Ed. John Wiley and Sons. 584 pp.
- DAVIES DH, STRAND MR, VINSON SB. 1987. Changes in differential haemocyte count and *in vitro* behaviour of plasmocytes from *Heliothis virescens* caused by *Campoplex sonorensis* polydnavirus. *Journal of Insect Physiology* 33: 143-153.
- DIGILIO MC, ISIDORO N, TREMBLAY N, PENNACCHIO F. 2000. Host Castration by *Aphidius ervi* venom proteins. *Journal of insect Physiology*. 46: 1041-1050.
- DÍAZ F. 1990. Biología de *Diadegma insulare* (Cresson) y revisión de las especies venezolanas del género *Diadegma* Foerster (Hymenoptera: Ichneumonidae). [Tesis de Doctorado]. Consultado 30 Mar. 2006. Disponible en: <http://www.postgrado.ucv.ve/biblioteca/tesis.asp?id=TA195>.
- FERNÁNDEZ R, TERÁN J. 1990. Morfología de la cabeza de larvas del tercer instar de *Meteorus laphygmae* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Boletín de Entomología Venezolana NS* 5(20): 189-191.
- FERRER F, GUEDEZ E. 1990. Estudio de los daños causados por *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) en el área de influencia de la azucarera Río Turbio en los años 1986, 1987 y 1988. *Caña de Azúcar* 8(1) 25-86.
- FLEMING JGW. 1991. The Integration of polydnavirus genomes in parasitoid genomes: Implications for biological and genetic analysis of parasitoid wasp. *Biological Control* 1: 127-135.
- FUCHS T, FUFFMAN F, SMITH J. 1979. Introduction and establishment of *Apanteles flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in Texas. *Entomophaga* 24: 109-114.
- GETU E, OVERHOLT W, KAIRU E. 2004. Los estudios comparativos sobre la influencia de la humedad relativa y la temperatura sobre los parámetros de la tabla de vida de dos poblaciones de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol Science and Technology* 14(6): 595-605.
- GIFFORD J, MANN G. 1967. Biology, rearing, and trial release of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to control the sugarcane borer. *Journal of Economic Entomology* 60: 44-47.
- GUAGLIUMI P. 1962. *Las plagas de la caña de azúcar en Venezuela*. Ministerio de Agricultura y Cría, CIA, Maracay, 2 v., 850 p.
- KAJITA H, DRAKE F. 1969. Biology of *Apanteles chilonis* and *A. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) parasites of *Chilo suppressalis*. *Mushi*. *Mushi* 42: 163-179.
- LINARES B, FERRER F. 1990. Introducción de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) para el control de *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) en Venezuela. *Caña de Azúcar* 8: 5-11.
- LVA J, WILSONA LT, BEUZELIM JM, WHITE WH, REAGAN TE. 2010. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. *Biological Control* 56(2): 159-169.

- LI Z, YOU L, MA J, CHEN L, XIAO F. 2005. Analysis of the phylogenetic relationships among the *Cotesia flavipes* Complex (Hymenoptera: Braconidae: Microgasterinae) (en Chino). *Journal of Human Agricultural University* 31: 24-28
- MACEDO N, MENDOÇA F, MORENO J, PINAZA A. 1984. Evaluation of the economic advantage of 10 years of biological control of *Diatraea* spp. through *Apanteles flavipes* Cameron, in the state of Alagoas (Brazil). *Entomology Newsletter* 16: 9-10.
- MORAES CM, CORTESERO AM, STAPEL JO, LEWIS W. 1999. Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. *Ecological Entomology* 24: 402-410.
- MOUTIA L, COURTOIS C. 1952. Parasites of the moth borers of sugarcane in Mauritius. *Bulletin of Entomological Research* 43: 325-359.
- MOHYUDDIN A. 1971. Comparative biology and ecology of *Apanteles flavipes* (Cam.) and *A. sesamiae* Cam. as parasites of graminaceous borers. *Bulletin of Entomological Research* 61: 33-39.
- ODUM EP. 1983. *Basic Ecology*. Holt-Saunders International Edition. New York. 613 pp.
- OVERHOLT W, NGI-SONG A, KIMANI A, MBAPILA J, LAMMERS P, KIOTO E. 1994. Environmental consideration and the introduction of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) for biological control of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae), an introduced gramineous stemborers in Africa. *Biocontrol News and Information* 15: 19-24.
- PENNACCHIO FP, FALABELLA M, SORDETTI R, VARRICCHIO P, MALVA C, VINSON SB. 1998. Prothoracic gland inactivation in *Heliothis virescens* (F) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae parasitized by *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Physiology* 44: 845-857.
- POTTING RP, OVERHOLT WA, DANSO FO, TAKASU K. 1997. Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 13-29.
- RAMON M, PEREZ M, MENDOZA C, MAURIELLO F. 2002. Reacción de 18 cultivares de caña de azúcar al ataque del taladrador de la caña de azúcar *Diatraea* spp. en el Estado Portuguesa, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ* 19: 210-218.
- RAMON M, MAURIELLO F, GRATEROL Y, VANEGAS H, MENDOZA C, PÉREZ M, IZARRAGA R. 2008. Asociación entre las características varietales y el daño ocasionado por el taladrador de la caña de azúcar, en el estado Portuguesa, Venezuela. *Agronomía Tropical* 58(2): 111-116.
- SALAZAR J. 2004. Taladradores o barrenadores de la caña de azúcar *Diatraea* spp. Plagas agrícolas de Venezuela. Sociedad Venezolana de Entomología. Consultado 15 Jul. 2005. Disponible en: www.plagas-agricolas.info.ve/fichas/ficha.php?id=243
- SCAGLIA M, CHAU-NETTO J, BROCHETTO-BRAGA M, CEREGATO S, GOBBI N, RODRÍGUEZ A. 2005. Oviposition sequence and offspring of mated and virgin females of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Diatraea saccharalis* larvae (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 11(3): 283-298.
- STOLTZ DB, KRELL PJ, SUMMERS MD, VINSON SB. 1984. Polydnviridae - a proposed family of insect viruses with segmented, double-stranded, circular DNA genomes. *Intervirology* 21: 1-4.
- TAKASU K, OVERHOLT WA. 1997. Aggressive behaviour of *Chilo partellus* (Swinhoe) larvae against the parasitoid, *Cotesia flavipes* Cameron. *Insect Science and its Application* 17: 131-135.
- VINSON SB, EDSON KM, STOLTZ DB. 1979. Effect of virus associated with reproductive system of the parasitoid wasp, *Campoletis sonorensis*, on host weight gain. *Journal of Invertebrate Pathology* 34: 133-137.
- WIEDENMANN R, SMITH J, DARNELL PO. 1992. Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environmental Entomology* 21: 1160-1167.
- WIEDENMANN R, SMITH J. 1993. Functional response of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at low densities of the host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environmental Entomology* 21 (5):1160-1167.