

Respuesta comportamental de *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) al salicilato de metilo en condiciones de laboratorio

Autor:

JOSE LUIS FERNÁNDEZ ORJUELA

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de Agrónomo

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
PROGRAMA DE AGRONOMÍA
BOGOTÁ D.C.

2019

Respuesta comportamental de *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) al salicilato de metilo en condiciones de laboratorio

Autor:

JOSE LUIS FERNÁNDEZ ORJUELA

Asesor:

JORDANO SALAMANCA BASTIDAS, Ing. Agr. Ph. D. Entomología Agrícola.

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de Agrónomo

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
BOGOTÁ D.C.
2019

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del presidente del jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Bogotá, 2019.

DEDICATORIA.

A Dios.

Por guiarme y mostrarme un camino de valor, humildad, desinterés material, paciencia, espiritualidad y bondad, también por darme buena salud para lograr mis metas.

A mi madre Myriam.

Por su apoyo incondicional, por los valores que me ha inculcado, por la motivación a seguir progresando, por su incomparable forma de educarme, y por el infinito amor que me ha brindado.

A mi hermano Diego.

Quien con su humor me permitió ver la parte jocosa de la vida, mi mejor amigo y confidente, con quien he compartido momentos de felicidad, tristeza y alegría, quien me ha apoyado y motivado incondicionalmente durante lo largo de mi vida.

A mis maestros.

Por guiarme y motivarme en este proceso de educación superior y a distancia, al Ph Jordano Salamanca Bastidas por guiarme, apoyarme y motivarme durante el trabajo de grado.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por el apoyo y motivación brindado durante mis años de estudio.

A la Universidad Nacional Abierta Y A Distancia quien me brindó la posibilidad de formarme como Agrónomo profesional y laborar al mismo tiempo.

Mi más grande y sincero agradecimiento al PhD Jordano Salamanca Bastidas quien me brindó la oportunidad de realizar este proyecto de investigación pese a las limitaciones de tiempo; quien con su dirección, conocimiento, apoyo y motivación permitió el desarrollo de este trabajo de investigación.

Resumen

Los volátiles inducidos por la herbivoría (HIPVs), son compuestos emitidos por diversas especies de plantas cuando atacadas por artrópodos de diferentes guildas (chupadores y masticadores). Uno de estos compuestos es el salicilato de metilo (MeSA), el cual ha sido identificado por su efecto atrayente sobre diversos enemigos naturales de los herbívoros plaga de cultivos de importancia agrícola. Dentro de los enemigos naturales que presentan una alta respuesta atractiva al MeSA se destaca el predador *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae), el cual es usado en programas de control biológico para la regulación de plagas en agroecosistemas. Hasta donde se conoce, hay pocos estudios que han evaluado la atracción y predación de larvas de *C. carnea* al MeSA y la respuesta de oviposición de los adultos. Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo evaluar en condiciones de laboratorio el MeSA sobre la respuesta comportamental de *C. carnea*. Específicamente se evaluará: 1) la atracción y predación a huevos centinela de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) por larvas (I y II instar) de *C. carnea* y 2) la atracción y oviposición de los adultos (hembras grávidas) de *C. carnea*. Para el experimento con las larvas, fueron realizados ensayos en arenas con dos opciones para escoger, donde en cada extremo de la arena se colocó un vial con o sin MeSA. Adicionalmente, se instalaron huevos centinela de *G. mellonella*. En medio de las arenas se dispuso larvas de I o II instar (ocho y cinco ejemplares, respectivamente) y a cada 20 minutos durante dos horas se evaluó la atracción. Luego de dos horas en las condiciones mencionadas, se procedió a evaluar la predación de los huevos de *G. mellonella* mediante el conteo de huevos predados haciendo uso de un estereoscopio. Para los adultos se desarrollaron experimentos en jaulas, donde se colocaron cuatro plantas artificiales, considerando que, a dos de estas plantas se les dispuso un vial con MeSA y a las restantes un vial sin el compuesto. Posteriormente, en medio de la jaula se liberaron 10 hembras grávidas y cada hora durante seis horas se evaluó la atracción, mediante conteos de visitas de *C. carnea* en o cerca de plantas artificiales (a un radio de 7 cm). Luego de 24 horas se evaluó la oviposición, mediante el conteo de huevos de *C. carnea* en o cerca de plantas artificiales (a un radio de 7 cm). Se demostró que larvas de I y II instar fueron atraídas al MeSA, sin embargo, esta atracción no tuvo una influencia en la predación de los huevos centinela. Por otra parte, hembras grávidas de *C. carnea* evidenciaron mayor atracción a las plantas tratadas con el MeSA, y esta atracción aumentó la oviposición. Estos resultados tienen implicaciones en el control biológico aumentativo, donde el MeSA puede ser

incorporado en programas de Manejo Integrado de Plagas, sin embargo, son necesarios estudios en casa de malla y campo para evaluar la eficiencia del compuesto sobre el predador *C. carnea*.

Palabras clave: Volátiles de plantas inducidos por herbivoría, enemigos naturales, atracción, predación, y oviposición.

Abstract

Herbivore-induced plant volatiles (HIPVs), are compounds emitted by diverse plant species when attacked by arthropods of different feeding guilds (suckers and chewers). One of these compounds is methyl salicylate (MeSA), which has been identified by its attractive effect on various natural enemies of herbivorous pests of crops. Among the natural enemies that present a high attractive response to MeSA, *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) is the most important predator that react to this compound. This natural enemy is used in biological control programs for the regulation of agroecosystem pests. As far as is known, there are few studies that have evaluated the attraction and predation of *C. carnea* larvae to MeSA and the oviposition response of adults. Therefore, this work aims to evaluate MeSA under laboratory conditions about the behavioral response of *C. carnea*. Specifically, the following will be evaluated: 1) the attraction and predation of larvae (I and II instar) of *C. carnea*, and 2) the attraction and oviposition of adults (gravid females) of *C. carnea*. For the experiment with the larvae, sand trials were carried out with two options to choose, where a vial with or without MeSA was placed at each end of the sand. Additionally, *G. mellonella* sentinel eggs were installed. Samples of I or II instar larvae were arranged in the middle of the sands (eight and five specimens, respectively) and the attraction was evaluated every 20 minutes for two hours. After two hours in the mentioned conditions, the predation of *G. mellonella* eggs was evaluated by counting the predated eggs using a stereoscope microscope. For adults, experiments were developed in cages, where four artificial plants were placed, considering that two of these plants had a vial with MeSA and the remaining one vial without the compound. Subsequently, 10 gravid females were released in the middle of the cage, and attraction was assessed every hour for six hours by visiting counts of *C. carnea* on or near artificial plants (at a radius of 7 cm). After 24 hours, oviposition was evaluated by counting eggs of *C. carnea* in or near artificial plants (at a radius of 7 cm). It was shown that I and II instar larvae were attracted to MeSA, however, this attraction did not influence the predation of sentinel eggs. On the other hand, gravid females of *C. carnea* showed greater attraction to the plants treated with MeSA, and this attraction increased oviposition. These results have implications in augmentative biological control, where the MeSA can be incorporated in Integrated Pest Management programs, however, studies are needed at home of mesh and field to evaluate the efficiency of the compound on the predator *C. carnea*.

Key words: Herbivore-induced plant volatiles, natural enemies, attraction, predation, and oviposition.

Contenido

Resumen	vi
Abstract.....	viii
Contenido	x
Listado de figuras	xii
1 Introducción	1
2 Objetivos	3
3 Marco Teórico	4
3.1 Concepto de domesticación	4
3.2 Consecuencias otorgadas a la domesticación de plantas	4
3.3 Volátiles de plantas inducidos por la herbivoría (HIPVS).....	6
3.4 Salicilato de metilo	8
3.5 Generalidades de <i>Chrysoperla</i>	9
3.5.1 <i>Chrysoperla</i> en programas de control biológico.	10
3.6 <i>Chrysoperla carnea</i> Stephens	11
3.6.1 Ciclo biológico.	11
3.6.2 Ecología de <i>C. carnea</i>	12
3.6.3 Morfología de <i>C. carnea</i>	13
4 Metodología	14
4.1 Sitio de estudio.....	14
4.2 Obtención de <i>C. carnea</i>	15
4.3 Experimentos en arenas con dos opciones de escoger.....	16
4.4 Experimentos en jaulas de malla.....	19
4.5 Análisis de datos	22
5 Resultados.	22
5.1 Atracción y predación en instares de larvas de <i>C. carnea</i>	22
5.1.1 Instar I de larvas de <i>C. carnea</i>	22
5.1.2 Instar II larvas de <i>C. carnea</i>	23
5.2 Atracción y ovoposición en adultos de <i>C. carnea</i>	24
5.2.1 Atracción.	25
5.2.2 Oviposición.....	25
6 Discusión.....	26
7 Conclusiones.	29

8	Recomendaciones.....	29
9	Referencias Bibliográficas	30

Listado de figuras

Figura 1. Domesticaron del maíz (<i>Zea mays</i>), comparación con sus ancestros silvestres y parcialmente domesticados. Los especímenes de <i>Zea mays</i> se diferencian de la planta silvestre llamada teocintle su antecesor en varias características como: cantidad de tallos, tamaño, forma del fruto, y aspecto del grano (fuente: Diaz, 2010).....	5
Figura 2. Compuestos volátiles liberados por plantas en el aire y en la tierra atraen enemigos naturales predadores o parasitoides (fuente: Marín y Céspedes, 2007).	7
Figura 3. Estructura química del salicilato de metilo.....	8
Figura 4. Ciclo biológico de <i>C. carnea</i> (fuente: Shelton, 2014).	12
Figura 5. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), sede Jose Celestino Mutis, Bogotá, Cundinamarca.	14
Figura 6. Frasco con larvas de <i>C. carnea</i> de I y II instar.	15
Figura 7. Tubos bidireccionales dispuestos en el laboratorio con tratamientos (MeSA y control).	16
Figura 8. Frasco con ependorf y masa de huevos de <i>G. mellonella</i>	17
Figura 9. Disposición de larvas 24 horas antes del ensayo.	17
Figura 10. Larvas de <i>C. carnea</i> atraída a MeSA, predando huevos de <i>G. mellonella</i>	18
Figura 11. Microscopio estereoscopio para el conteo de huevos.....	18
Figura 12. Vista de huevos de <i>G. mellonella</i> en el microscopio estereoscopio.	19
Figura 13. Jaula con plantas artificiales, tratamientos (MeSA y control).	19
Figura 14. Jaulas dispuestas en el laboratorio con plantas artificiales y tratamientos (MeSA y control).	20
Figura 15. Elementos para trasvaso de MeSA a tubos ependorf (frasco de litro de MeSA al 99%, pipeteador, pipeta de 1 ml, tubos ependorf de 1.5 ml).	20
Figura 16. Adulto de <i>C. carnea</i> atraído a planta artificial con vial de MeSA.	21
Figura 17. Planta artificial con tratamiento de MeSA ovipositada por <i>C. carnea</i>	21
Figura 18. Limpieza de plantas artificiales.	22
Figura 19. Número de visitas de <i>C. carnea</i> a plantas artificiales tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).	25
Figura 20. Respuesta de oviposición de <i>C. carnea</i> a plantas artificiales tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).	26
Figura 21. Respuesta de atracción y predación de larvas de I instar <i>C. carnea</i> tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).....	23
Figura 22. Respuesta de atracción y predación de larvas de II instar de <i>C. carnea</i> tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).....	24

1 Introducción

La domesticación de los cultivos es uno de los cambios fundamentales en las sociedades humanas para abastecer sus necesidades alimentarias (Martínez & Tenaillon, 2016). Las plantas cultivadas presentan rasgos particulares, el cual debido al “síndrome de domesticación” se diferencian de sus parientes silvestres, respecto a rasgos relacionados con el rendimiento, uso de los alimentos, y rasgos relacionados con el cultivo (Martínez & Tenaillon, 2016). Por tanto, la domesticación de plantas está acompañada de cambios en la asignación de recursos, resultado de la selección de agricultores para conseguir altos rendimientos en hábitats agrícolas (Mondolot *et al.*, 2008).

Como consecuencia de la domesticación, las plantas pueden perder sus defensas indirectas, las cuales las protegen del ataque de herbívoros plaga. Por ejemplo, en plantas de maíz nativas, la oviposición de *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae) induce la emisión de volátiles que atraen parasitoides de huevos, sin embargo, los híbridos comerciales de maíz han perdido la habilidad de emitir estos compuestos volátiles (Tamiru *et al.*, 2012). En otro estudio, variedades híbridas de arándanos rojos producen bajas cantidades de sesquiterpenos volátiles inducidos por el daño de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) comparado con las variedades ancestrales (Rodríguez, Kaplan, Braasch, Chinnasamy, & Williams, 2011). Esta baja emisión de volátiles por las plantas puede comprometer la atracción de diversos enemigos naturales de la plaga.

Una forma de mejorar los problemas causados por la domesticación sobre las defensas indirectas es mediante el uso de volátiles sintéticos para la atracción de enemigos naturales en los agroecosistemas. La liberación de volátiles sintéticos de plantas inducidas por la herbivoría (HIPVs) es una estrategia usada a nivel mundial para la atracción de enemigos naturales de los herbívoros plaga en diversos agroecosistemas (Gardiner *et al.*, 2009; Salamanca, Souza, Lundgren, & Rodríguez-Saona., 2017).

Dentro de los compuestos volátiles, se destaca el salicilato de metilo (MeSA), el cual es emitido por muchas especies de plantas cuando son atacadas por insectos de diferentes hábitos alimenticios (Rodríguez-Saona *et al.*, 2011). El MeSA se ha convertido en un compuesto volátil muy importante en las interacciones tri-tróficas debido a su atracción de diversos enemigos naturales en agroecosistemas (Anurag, 2000; James & Price, 2004). Este compuesto se ha considerado un atrayente eficiente en cultivos de arándanos (Rodríguez-Saona *et al.*, 2011), uva (James & Price,

2004), fresa (Lee, 2010), soya (Zhu & Park, 2005), entre otros. También ha mostrado una respuesta positiva hacia predadores por las familias Syrphidae (Gadino, Walton & Lee, 2012; James & Price, 2004; Khan, James, Midega & Pickett, 2008), Anthocoridae (Gadino *et al.*, 2012), Geocoridae (Khan *et al.*, 2008), Coccinellidae (Gadino *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2008) y Chrysopidae (Tóth *et al.*, 2009; Salamanca *et al.*, 2017).

La familia Chrysopidae presenta especies que son altamente promisorias para programas de control biológico (Khan *et al.*, 2008), destacándose *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae), la cual es una predatora generalista y se alimenta de diversas plagas de cuerpo blando, como huevos y larvas de algunos lepidópteros (Urbaneja, Muñoz, Garrido & Jacas, 2004), áfidos (Salamanca, Pareja, Rodríguez-Saona, Resende & Souza, 2015), mosca blanca (Breene, Meagher, Nordlund & Wang, 1992) y trips (Salamanca, Varón & Santos, 2010).

Por lo tanto, el potencial atractivo del MeSA sobre importantes predadores, especialmente por la familia Chrysopidae (Salamanca *et al.*, 2015, 2017) y la eficiencia de este predador sobre las poblaciones de diversas plagas, los convierten en una alternativa en programas de control biológico aumentativo, contribuyendo así al cuidado del medio ambiente y del ser humano, buscando la disminución de la aplicación de productos de síntesis química, específicamente los insecticidas. En este sentido, el presente trabajo se planteó la hipótesis que larvas y adultos de *C. carnea* sean atraídos al MeSA y esta atracción genere aumento en la predación y en la oviposición respectivamente. Para esto, se evaluó el efecto del MeSA sintético sobre la atracción, predación por larvas de *C. carnea* a *G. mellonella* y oviposición de hembras grávidas de *C. carnea* en o cerca de plantas con o sin MeSA, con el fin de generar recomendaciones de liberación del volátil en cultivos agrícolas para atraer insectos de esta especie y que ello desenlace en la eficiencia en el control de plagas.

2 Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar en condiciones de laboratorio el salicilato de metilo (MeSA) sobre la respuesta comportamental de *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae).

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la atracción de larvas de *C. carnea* (I y II instar) y la predación de huevos centinela de *G. mellonella* mediadas por el MeSA.
- Evaluar la atracción y la tasa de oviposición de las hembras grávidas de *C. carnea* mediadas por el MeSA.

3 Marco Teórico

3.1 Concepto de domesticación

Para cultivar una especie silvestre se hace necesario modificar su esquema genético adaptándolo a condiciones manejadas por el hombre, incluyendo mecanismos de manipulación de genotipos, adecuando de esta manera la diversidad biológica a las necesidades de la humanidad (Diaz, 2010). La domesticación se puede describir como un conjunto de etapas consecutivas que, buscando el aumento en la frecuencia de uno o varios rasgos deseables de una especie, resulta en la aparición de poblaciones cultivadas, que se adaptan a necesidades humanas y a un ambiente de cultivo (Martínez & Tenaillon, 2016). De esa manera, las plantas domesticadas difieren de sus progenitores silvestres en varios rasgos morfo-fisiológicos (Abbo *et al.* 2014). Los rasgos de que forman diferencias morfológicas o fisiológicas entre plantas domesticadas y sus parientes silvestres se consideran como síndrome de domesticación (Martínez & Tenaillon, 2016).

3.2 Consecuencias otorgadas a la domesticación de plantas

Generalmente se puede apreciar con facilidad los cambios en uno o varios rasgos de una planta cultivada cuando se compara con su progenitor silvestre (Diaz, 2010), esto es apreciable cuando se compara al maíz (*Zea mays*) con teocintle (*Zea perennis*) su antecesor en donde difieren de varias características morfo-fisiológicas (Figura 1). Los rasgos característicos que se asocian al síndrome de domesticación en una especie modificada por selección artificial se clasifican básicamente en tres categorías: 1) rasgos relacionados con el rendimiento, en donde se afecta la retención, forma, y tamaño de propágulos. 2) rasgos relacionados con la distribución de energía en la planta como reducción en defensas físicas y químicas, reducción o pérdida de mecanismos de dispersión en propágulos. 3) rasgos relacionados con el habito de crecimiento y pérdida de latencia en la semilla (Martínez & Tenaillon, 2016; Bautista, Parra y Espinosa, 2012).

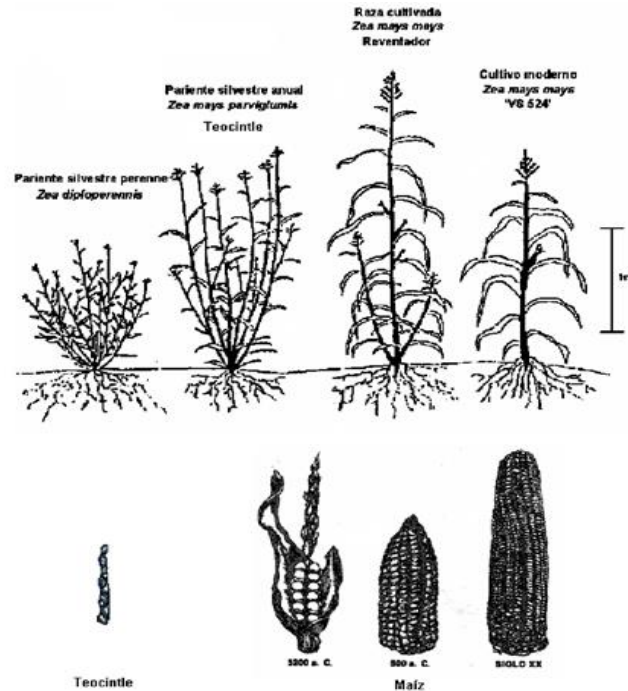


Figura 1. Domesticación del maíz (*Zea mays*), comparación con sus ancestros silvestres y parcialmente domesticados. Los especímenes de *Zea mays* se diferencian de la planta silvestre llamada teocintle su antecesor en varias características como: cantidad de tallos, tamaño, forma del fruto, y aspecto del grano (fuente: Diaz, 2010).

La diversidad genética contenida en los conjuntos de genes domesticados es concluyente en la evolución de plantas cultivables y se hace relevante respecto al conjunto de genes ancestrales silvestres, debido a la importancia que adquiere en la evolución de plantas en respuesta de presiones de selección en el medio silvestre y en programas de mejoramiento (Gepts & Papa, 2002). La pérdida de diversidad puede traer consecuencias severas como epidemias de enfermedades en cultivos excesivamente uniformes. Como ejemplo, el caso de las hambrunas de la papa en Irlanda a mediados del siglo XIX que sumado a la excesiva dependencia a este alimento provocó una hambruna generalizada, cuando la mayoría de los cultivos fueron devastados por una enfermedad fúngica (tizón tardío de la papa), pues las condiciones ambientales favorables y la uniformidad genética que presentaron los cultivos, detonaron en una acelerada diseminación de la enfermedad que terminó destruyendo nueve décimas de la cosecha y como consecuencia dejó alrededor de un millón de personas muertas por inanición y un número similar de personas que emigraron a Europa continental y América del norte (Gepts & Papa, 2002). Algunos análisis de especies silvestres,

respecto a su descendiente domesticado, concluyeron en el hallazgo de diferencias respecto a la diversidad genética, pues el último solo tiene una fracción del progenitor silvestre (Martínez & Tenaillon, 2016; Gepts & Papa, 2002).

La domesticación de plantas ha conllevado a cambios en los niveles de concentración y mezclas de metabolitos secundarios (MS), afectando las interacciones bióticas de las plantas cultivadas con su entorno, siendo el resultado indirecto del incremento en la productividad (Bautista *et al.*, 2012). Esto conlleva a cambios en la distribución de energía que, al afectar funciones como la síntesis de MS, hace a la planta más vulnerable a insectos fitófagos, patógenos, y competidores difiriendo así de su contraparte silvestre (Bautista *et al.*, 2012). En consecuencia, las plantas domesticadas presentan algún tipo de dependencia al ser humano, ya sea parcial o completa para sobrevivir o tener éxito reproductivo (Martínez & Tenaillon, 2016).

3.3 Volátiles de plantas inducidos por la herbivoría (HIPVS)

Las plantas tienen diferentes estrategias de resistencia, las cuales son empleadas o desencadenadas por factores abióticos y bióticos (Kalaivani *et al.*, 2017). Dentro del contexto biótico, las plantas responden al ataque de herbívoros emitiendo mezclas complejas de compuestos volátiles para la atracción de enemigos naturales (Vet & Dicke, 1992; Clavijo, Unsicker & Gershenzon, 2012), los cuales usan esta información para la búsqueda de sus presas u hospederos (Stelzl & Devetak, 1999) (Figura 2). Estudios han mostrado que más de 50 especies de plantas producen mezclas de diferentes compuestos volátiles inducidos por herbívoros, que atraen una variedad de enemigos antagonistas entre predadores y parasitoides de diferentes órdenes de insectos (Titayavan & Altieri, 1990; James & Price, 2004; Salamanca *et al.*, 2015; Amala, & Shivalingaswamy, 2018), ácaros (Dicke, Sabelis & De Jong, 1988; De Boer & Dicke, 2004) y nematodos (Ali & Lowe, 2015; Tourtois, Ali & Grieshop, 2017).

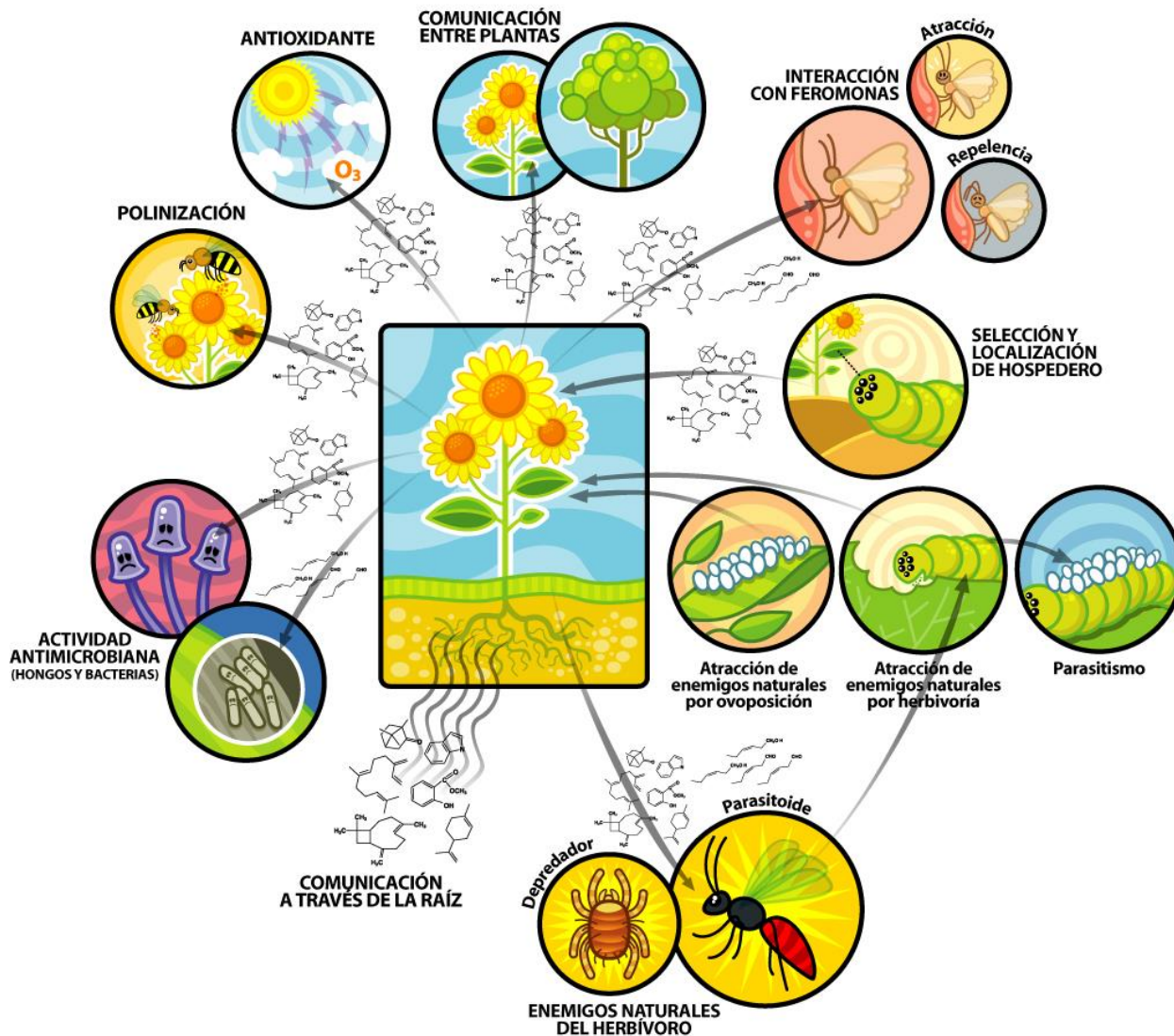


Figura 2. Compuestos volátiles liberados por plantas en el aire y en la tierra atraen enemigos naturales predadores o parasitoides (fuente: Marín y Céspedes, 2007).

Diferentes trabajos realizados en laboratorio, casa de vegetación y en condiciones de campo, han mostrado el importante papel que juegan los volátiles de plantas inducidos por la herbivoría (HIPVs) sobre la atracción de los enemigos naturales de las principales plagas de los agroecosistemas. Uno de los estudios pioneros, demostró que plantas de frijol son capaces de emitir compuestos volátiles, específicamente sinomonas cuando atacadas por el acaro *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). La emisión de este compuesto llevó a la atracción de predadores de la familia Phytoseiidae (Dicke *et al.*, 1988). Por otra parte, ensayos con olfatómetro y túnel de viento, mostraron que el parasitoide *Anaphes iole* Girault (Hymenoptera: Mymaridae)

es atraído por el (Z)-3-hexenil acetato, α -farneseno y el salicilato de metilo. Además, se evidenció en condiciones de campo en cultivos de algodón que *A. iole* muestra una mayor atracción al (Z)-3-hexenil acetato y al α -farneseno incrementando el parasitismo de huevos centinela (Williams, Rodríguez-Saona, Castle & Zhu, 2008). En estudios recientes en plantas de fresa cuando cebadas con el salicilato de metilo presentan una atracción significativa a predadores de las familias Chrysopidae y Anthocoridae (Lee, 2010). Insectos predadores y parasitoides se han visto atraídos por algunos compuestos volátiles inducidos por la herbivoría (Turlings, Tumlinson & Lewis, 1990; Steinberg, Dicke & Vet, 1993; Ninkovic, Abassi & Pettersson, 2001), destacándose el salicilato de metilo (MeSA), debido a su poder atractivo a un número considerable de predadores o parasitoides de diferentes plagas de cultivos agrícolas (Dicke *et al.*, 1988; James 2005; Rodríguez-Saona *et al.*, 2011; Braasch, Wimp & Kaplan, 2012; Salamanca *et al.*, 2017; Xu, Hatt, Lopes, Yong, Bodson & Chen, 2018).

3.4 Salicilato de metilo

Es un derivado del ácido salicílico y metanol, que en laboratorio se obtiene mediante la esterificación de los compuestos mencionados anteriormente, es líquido, incoloro o presenta un tenue color amarillo, su fórmula química es $C_8H_8O_3$ (Montalvo, 2014) (Figura 3).

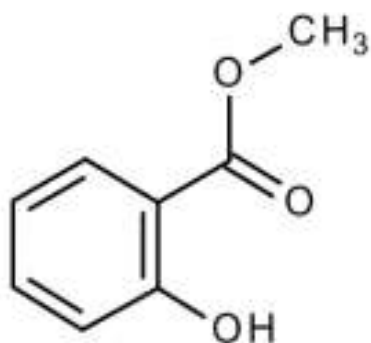


Figura 3. Estructura química del salicilato de metilo.

El salicilato de metilo (MeSA) es un compuesto volátil liberado por diversas especies de plantas, debido al daño causado por la herbivoría. Este compuesto es de gran importancia para la

agricultura, puesto que ha mostrado gran potencial como atrayente de enemigos naturales de los herbívoros (Rodríguez-Saona et al., 2011; Kaplan, 2012). En previos estudios, Salamanca *et al.* (2015), encontraron que rosas infestadas de áfidos emiten como compuesto mayoritario el MeSA, al cual se le atribuyo la atracción y aumento de la oviposición de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) Gadino *et al.* (2012), demostraron que la liberación de la versión sintética de MeSA en viñedos fue capaz de atraer diferentes especies de Coleoptera: Coccinellidae como *Stethorus punctum picipes*, *Cycloneda polita* Casey y *Coccinella septempunctata* L. Por otra parte, en cultivos de lúpulo, trampas pegajosas cebadas con MeSA, presentaron una mayor atracción de predadores de las familias Syrphidae, Geocoridae, Anthocoridae y Miridae en comparación con las trampas sin MeSA (James, 2003).

Cuando se emplean HIPVs sintéticos es la evaluación del impacto en poblaciones dañinas de plagas en presencia de una mayor abundancia y actividad de enemigos naturales (Gadino *et al.*, 2012). En cultivos de lúpulo la atracción del predador *Stethorus* spp. por el MeSA, condujo a una reducción significativa de poblaciones de ácaros plaga (James & Price, 2004; Woods, James, Lee & Gent, 2011). En otros estudios Mallinger, Hogg & Gratton (2011), demostraron que la liberación del MeSA en cultivos de soya atrae enemigos naturales como especies de las familias Syrphidae y Chrysopidae, llevando entonces a una reducción del áfido de la soya *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae).

MeSA puede ser una buena alternativa para el control biológico de insectos plaga, el cual ha demostrado atraer gran variedad de insectos predadores y parasitoides en una importante diversidad de plantas, ofreciendo así una alternativa ecológica para la agricultura.

3.5 Generalidades de *Chrysoperla*

Son insectos correspondientes al orden Neuroptera, de mediano a grande tamaño, de apariencia generalmente verdosa, presentan una longitud del ala delantera entre 6 - 35mm; las antenas son filiformes y largas, de mandíbulas fuertes y patas cursoriales; las alas son de gran tamaño y subiguales; la venación es generalmente verde, aunque algunas de estas tienden a ser oscuras; sus huevos miden aproximadamente 3 mm de largo y presentan una forma ovalada, estos son depositados en grupos sueltos o en racimos pendiendo de un pedicelo, siendo esto característico de la especie (Stelzl & Devetak, 1999).

Las larvas de crisópidos presentan unas piezas bucales simples y poco modificadas, se puede encontrar muchas especializaciones en las larvas dada su transformación en sus partes bucales chupadoras, donde la mayoría de las larvas de crisopa se encuentran ligadas a ciertos grupos de organismos de presas u hospederos (Stelzl & Devetak, 1999). Generalmente se alimentan de insectos de cuerpo blando como huevos de Lepidoptera, áfidos, trips (Salamanca *et al.*, 2010; Shaukat, 2018) y algunos ácaros (Woods *et al.*, 2011).

Los adultos de *Chrysoperla* son conocidos como pollino-glycinophagous, debido a su hábito alimenticio de polen y néctar (Stelzl & Devetak, 1999), además de su preferencia por la honeydew que excretan algunas plagas (McEwen, Jervis & Kidd, 1993; Amala & Shivalingaswamy, 2018), es por esto que muchas especies de este género muestran una menor densidad de población en verano, que es cuando la población de áfidos disminuye (Stelzl & Devetak, 1999).

3.5.1 *Chrysoperla* en programas de control biológico.

A principios del siglo XX empezaron los intentos por industrializar el control biológico, destacándose trabajos relevantes que dieron una visión de la importancia de algunas especies de Neuroptera en el control biológico. Bodenheimer & Gutfeld (1929) en huertos de cítricos mostraron la efectividad de *Symphorobius fallax* Navas (Neuroptera: Hemerobiidae) contra *Pseudococcus citri* Risso (Hemiptera: Pseudococcidae). Doult & Hagen (1949) mostraron la eficiencia de huevos de *C. carnea* contra *Pseudococcus maritimus* complex (Homoptera: Pseudococcidae) en perales. Otros estudios han demostrado eficacia de *Chrysoperla* para el control biológico. Albuquerque, Tauber, & Tauber (1994) evidenciaron el potencial de *C. externa* para reproducirse y criarse de forma masiva en regiones de América central y del sur dadas las condiciones climáticas que la favorecen, así como su eficacia como agente de control biológico en regiones tropicales y templadas. En diferentes cultivos, como es el caso de la implementación de *Chrysoperla rufilabris* Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae) como agente control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) en un cultivo de *Hibiscus rosa-sinensis* L. bajo invernadero resulto en plantas de calidad comerciables (Breene *et al.*, 1992). Se ha demostrado que el uso de varios insecticidas no afecta seriamente a las larvas del ultimo instar y a adultos, por lo que la presencia de este enemigo natural puede incorporarse en programas de manejo

integrado de plagas como agente de control biológico (Garzón, Medina, Amor, Viñuela & Budía, 2015).

Dentro de este género se destaca la especie *C. carnea* Stephens, el cual se puede encontrar en diferentes cultivos y es un enemigo natural destacable para diferentes plagas de cultivo (García, 2012).

3.6 *Chrysoperla carnea* Stephens

Esta especie pertenece al reino animalia, filo arthropoda, clase insecta, orden Neuroptera, familia Chrysopidae (García, 2012). Anteriormente se creía que *C. carnea* era una especie única, debido a la similitud de la morfología de especímenes adultos; sin embargo, estudios recientes han demostrado que *C. Carnea* es solo un miembro de un grupo diverso de crisopas (Henry, Brooks, Duelli & Johnson, 2002). Las crisopas del grupo carnea producen canciones transmitidas por el sustrato mediante vibración abdominal (tremulación) el cual es un requisito para la cópula, siendo así la única forma de diferenciar esta especie (Cc4 – motor de lancha) de su pariente más parecido (Cc2 – motor de lancha lenta) (Henry *et al.*, 2002).

3.6.1 Ciclo biológico.

El ciclo biológico de *C. carnea* varía de acuerdo con las condiciones climáticas, el cual se hace más lento en climas fríos o templados a diferencia de climas cálidos (Khan *et al.*, 2012). El ciclo biológico consta de siete etapas: 1) huevo, 2) tres instares larvales, 3) pupa, y 4) adulto (Figura 4) (Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM), 2014).

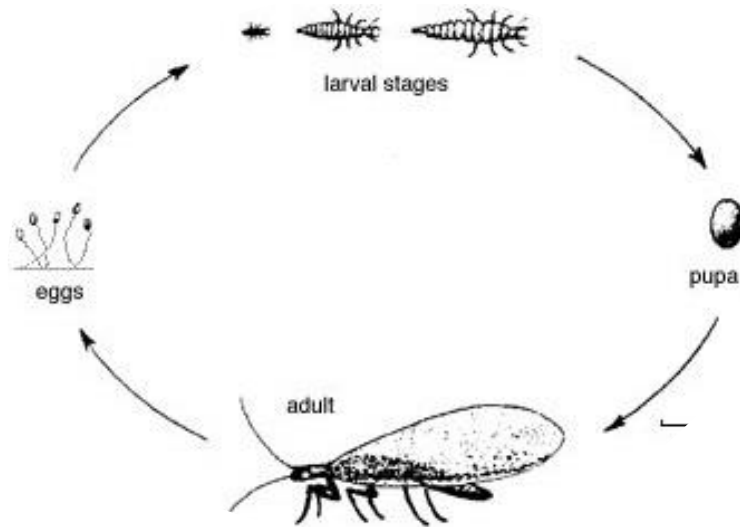


Figura 4. Ciclo biológico de *C. carnea* (fuente: Shelton, 2014).

3.6.2 Ecología de *C. carnea*.

En regiones templadas las especies adultas de *Chrysoperla* hibernan entrando en diapausa, cambiando de color como respuesta al cambio de temperatura y al fotoperiodo durante la diapausa invernal, de esta forma *C. carnea* exhibe un color de fondo rojo-rosado brillante o áspero con marcas amarillas y rojas adicionales; *C. carnea* emite señales largas que consisten en muchas voleas cortas de vibración abdominal que estimula al género opuesto (cortejo) y mediante señales cortas corresponde al llamado entre machos (llamadas) (Henry *et al.*, 2002).

Las larvas de *C. carnea* se hallan en crecimiento durante el verano generalmente en la vegetación herbácea en campos abiertos y en campos agrícolas, aunque también se les puede hallar en árboles y arbustos; en primavera y otoño esta especie experimenta altas tasas de movimiento, desplazándose desde y hacia sitios de hibernación en bosques; en primavera se empieza a encontrar huevos luego del periodo de apareamiento (Henry *et al.*, 2002).

Se ha mostrado la adaptabilidad de *C. carnea* a diferentes hábitats, dentro de los que se encuentran ecosistemas agrícolas, bosques naturales y seminaturales, así como pastizales o vegetación baja siendo este tipo de vegetación el de mayor preferencia por parte de esta especie (Stelzl & Devetak 1999).

3.6.3 Morfología de *C. carnea*.

3.6.3.1 Huevos.

Presentan forma ovalada, su longitud puede encontrarse entre 0.7 a 3 mm (Stelzl & Devetak, 1999; García, 2012). El huevecillo se sostiene por un pedicelo gelatinoso que puede medir entre de 4 a 6 mm (Salazar, 2016). Los huevecillos son de color verdoso y se tornan de color grisáceo a medida que maduran, el pedicelo tiene como función evitar que los huevos sean predados por insectos carnívoros, atacados por enfermedades, o por exceso de humedad (García, 2012).

3.6.3.2 Larva.

Son campodeiformes con cuerpo alargado hacia los extremos al madurar se tornan de un color grisáceo o café; la cabeza es ancha tipo prognata aplanada y poseen una mandíbula grande especializada que forma una pinza con la que atrapa sus presas y les inyecta enzimas digestivas, el cual posteriormente succiona los fluidos corporales de las presas (García, 2012; Salazar, 2016).

Presenta tres instares bien definidos, se difieren notablemente por su tamaño; en el primer instar las larvas miden menos de 1 mm y cuando están completamente desarrolladas (3 instar) miden de 6 a 8 mm; en el tercer instar son notablemente predadoras (incluso caníbales) alcanzando a consumir un 80% del total de alimento consumido (García, 2012). Las larvas no poseen ocelos, sus antenas son cortas, filiformes y multi-segmentadas, estas últimas nacen encima de las mandíbulas; la duración promedio del estado larval es de 10 días (García, 2012). Las larvas satisfechas evitan comportamientos caníbales y por tanto ante un ataque se retiran rápidamente cuando se encuentran atacadas (Duelli, 1981).

3.6.3.3 Pupa.

Tiene lugar una vez la larva se encuentra en la madurez suficiente, inicia cuando la larva deja de alimentarse y elabora el cocón mediante hilos de color verdoso abarcando el tamaño de todo el individuo (Salazar, 2016). De forma esférica y apariencia algodonosa, la pupa mide de 1,5 a 7 mm de longitud siendo de color blanquecino o verdosa, y generalmente se encuentra dispuesta en lugares protegidos en la planta (García, 2012).

3.6.3.4 *Adulto.*

Presentan cuerpos frágiles de color verdusco pálido, en el dorso del tórax y el abdomen presentan bandas de coloración amarilla (García, 2012; Salazar, 2016), presentan una mancha genal de color marrón oscuro, las setas del pronoto son gruesas y de color negruzco en la base; los adultos se alimentan de néctar, melaza y polen; su tamaño varia de 12 a 20 mm de longitud (García, 2012) sus antenas son largas y brillantes; los ojos presentan un color dorado sus alas son grandes, transparentes, y de color verde pálido miden entre 6–35 mm (Stelzl & Devetak, 1999).

4 Metodología

4.1 Sitio de estudio

La investigación tuvo lugar en el laboratorio de multipropósito de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) en la sede Jose Celestino Mutis, en la ciudad de Bogotá, Cundinamarca. Los ensayos fueron realizados en el periodo comprendido entre septiembre y octubre del 2018 (Figura 5).

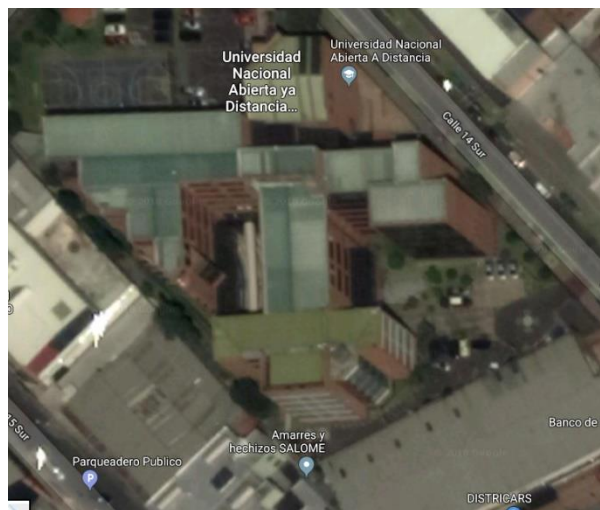


Figura 5. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), sede Jose Celestino Mutis, Bogotá, Cundinamarca.

4.2 Obtención de *C. carnea*

Adultos de *C. carnea*, fueron comprados en la empresa especializada en control biológico Productos Biológicos Perkins LTDA (Cali – Valle, Colombia), del cual se obtuvo un recipiente de 200 adultos.

Una vez obtenidos los ejemplares adultos de *C. carnea*, se depositaron en un frasco plástico el cual se cubrió por dentro con papel blanco, con el fin de disminuir el ingreso de luz (Figura 6). Los adultos se alimentaron con una mezcla de levadura de cerveza más miel a una proporción de 2:1, también se les dispuso día de por medio un algodón humedecido con agua destilada para saciar su sed.

Cuando las hembras grávidas de *C. carnea* realizaron sus posturas y al cabo de 3 – 4 días se obtuvo larvas de I instar, estas se dispusieron en un frasco al que se le dispuso un recuadro de vinipel transparente que se arrugo con el fin de evitar ataques o canibalismo entre larvas, también se dispuso masas de huevos de *G. mellonella* el cual cada 2 días se cambiaron y se adicionaron más huevos con el fin de mantener y permitir el desarrollo de la especie.



Figura 6. Frasco con larvas de *C. carnea* de I y II instar.

Para la obtención de masas de huevos de *G. mellonella* se dejó en frascos, adultos de esta especie con una dieta basada en una mezcla de levadura de cerveza, cera para abejas, miel, germen de trigo, salvado de trigo y glicerina, adicionalmente se dispuso hojas de papel mantequilla dobladas en varias secciones con el fin de que ovipositaran en dichas hojas y de esta forma obtener sus huevos.

4.3 Experimentos en arenas con dos opciones de escoger

Fueron creadas arenas con dos opciones para escoger que consistieron en un cilindro central de 4.5 cm de diámetro en su base, con una altura de 20 cm al que se le dispuso en la mitad una abertura de $1.5 \times 1.5 \times 1.5$ cm que se usó para introducir larvas de *C. carnea*, soldando en cada extremo un frasco de 8 cm de diámetro de base y 15 cm de altura (Figura 7 y 8). Para los ensayos de atracción y predación, en un frasco se aplicó el tratamiento con MeSA y en el otro se aplicó el tratamiento control, para el tratamiento con MeSA se le dispuso al frasco un ependorf en la base que contenía en el interior un trozo de algodón impregnado con 1 ml de MeSA, para ambos tratamientos se colocó una masa de huevos cerca de la base del frasco, realizando un conteo de huevos haciendo uso de un estereoscopio, la masa de huevos pertenecía a la especie *G. mellonella* Linnaeus. Este experimento fue replicado 8 veces.



Figura 7. Tubos bidireccionales dispuestos en el laboratorio con tratamientos (MeSA y control).



Figura 8. Frasco con ependorf y masa de huevos de *G. mellonella*.

Atracción y predación de larvas de instares I y II. Para estos ensayos se dejó las larvas de *C. carnea* 24 horas sin dieta alguna y separadas en cajas de Petri envueltas en vinipel (Figura 9). A continuación, se dispuso en el centro del tubo bidireccional ocho larvas de I instar o cinco larvas de II instar (dependiendo el factor a medir) mediante el uso de un pincel y luego se tapó la abertura mediante un trozo de algodón (Figura 7).

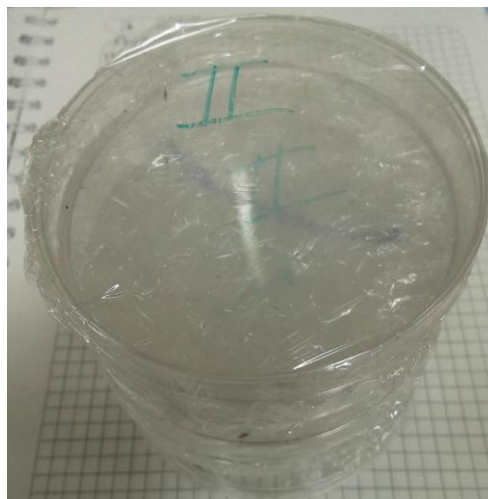


Figura 9. Disposición de larvas 24 horas antes del ensayo.

Atracción. Este ensayo se llevó a cabo validando el número de visitas que realizaron los insectos en cada frasco cada 20 minutos (Figura 10), durante 2 horas (10:00 a.m. hasta las 04:00 p.m.).

Predación. Se evaluó luego de transcurridas 2 horas (12:00 m, 02:00 p.m. y 04:00 p.m.) contando el número de huevos predados por larvas de *C. carnea* mediante el uso de un Microscopio estereoscopio en masas de huevos de *G. mellonella* (Figura 11 y 12) discriminando el tratamiento en el cual ocurrió.

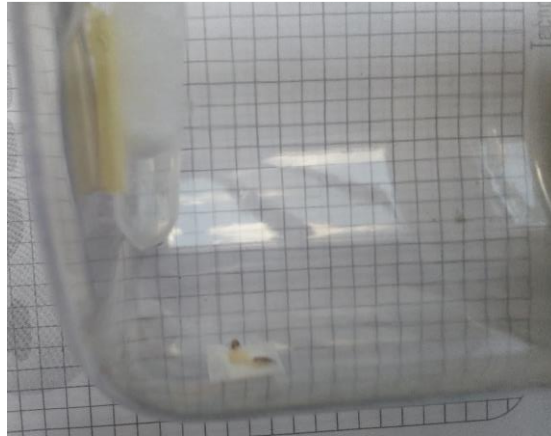


Figura 10. Larvas de *C. carnea* atraída a MeSA, predando huevos de *G. mellonella*.



Figura 11. Microscopio estereoscopio para el conteo de huevos.

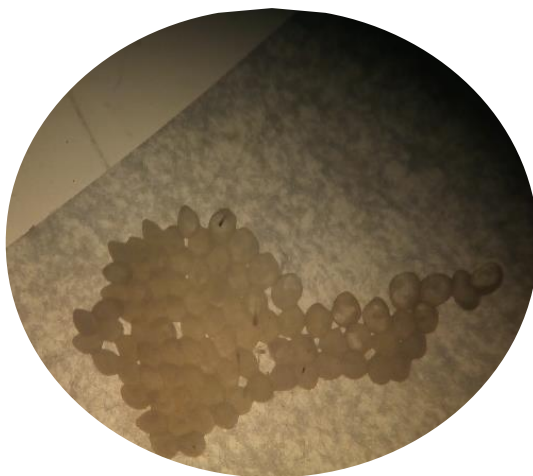


Figura 12. Vista de huevos de *G. mellonella* en el microscopio estereoscópico.

4.4 Experimentos en jaulas de malla

En jaulas (44,8 cm ancho \times 44,8 cm largo \times 37,5 cm alto) cubiertas por tela de malla (50%) y plástico transparente (50%), se colocaron 4 plantas artificiales en vasos térmicos de 300 cm³ el cual se llenaron con arena (Figura 13 y 14). Para el ensayo de atracción y oviposición de adultos del predador, se dispuso en dos plantas artificiales un tubo eppendorf con 1 ml de MeSA y las otras dos con un tubo eppendorf sin compuesto alguno (Figura 15). Dentro de la jaula, en la parte inferior y en el centro fueron dispuestas 10 hembras grávidas en cajas de Petri, posteriormente fueron liberadas. Para este experimento se realizaron 12 réplicas.



Figura 13. Jaula con plantas artificiales, tratamientos (MeSA y control).



Figura 14. Jaulas dispuestas en el laboratorio con plantas artificiales y tratamientos (MeSA y control).



Figura 15. Elementos para trasvaso de MeSA a tubos ependorf (frasco de litro de MeSA al 99%, pipeteador, pipeta de 1 ml, tubos ependorf de 1.5 ml).

Atracción de adultos. La medición se realizó validando el número de visitas que realizó el insecto cada hora, durante 6 horas en o cerca (a razón de un radio de 7 cm aproximadamente) de las plantas artificiales con o sin MeSA (Figura 16) (12:00 a.m. hasta las 06:00 pm).



Figura 16. Adulto de *C. carnea* atraído a planta artificial con vial de MeSA.

La oviposición. Se evaluó luego de transcurridas 24 horas (12:00 m) contando el número de huevos ovipositados por parte de los adultos en las plantas artificiales y en las paredes de la jaula a razón de un radio de 7 cm aproximadamente en el tratamiento o en el control (Figura 17).

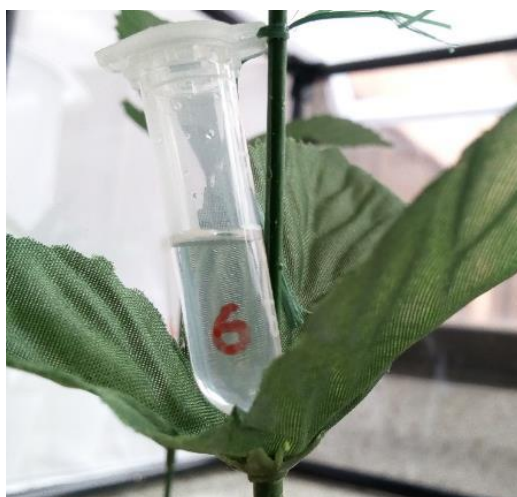


Figura 17. Planta artificial con tratamiento de MeSA ovipositada por *C. carnea*.

Limpieza de materiales. Una vez terminada la prueba, en cada replica se le realizó limpieza de los tubos ependorf mediante agua y jabón antibacterial, y en el caso de las plantas artificiales se limpiaron con alcohol al 70%. De esta forma se procuró retirar cualquier desecho orgánico e inorgánico que pudiera afectar los resultados de la prueba (Figura 18).



Figura 18. Limpieza de plantas artificiales.

4.5 Análisis de datos

Todos los datos fueron analizados con R 3.3.1 (R Development Core Team 2016), mediante el análisis paramétrico con paired *t* tests donde se evaluó el efecto de las fuentes de olor (MeSA o inoloro) sobre la atracción (número de visitas), porcentaje de oviposición de hembras grávidas de *C. carnea* y número de huevos predados por larvas de *C. carnea*.

5 Resultados.

5.1 Atracción y predación en instares de larvas de *C. carnea*

5.1.1 Instar I de larvas de *C. carnea*.

Las larvas de I instar de *C. carnea* mostraron una atracción significativa al tratamiento de MeSA en comparación al tratamiento control ($t = 6.59$, $gl = 23$, $p = 0,001$), mostrando que las larvas de I instar de *C. carnea* son atractivas a MeSA en ensayos de tubo bidireccional en condiciones de laboratorio. La atracción conllevó a una mayor predación por parte de *C. carnea*, sin embargo, la predación no fue significativa del tratamiento con MeSA respecto al tratamiento control ($t = 0.42$, $gl = 3$, $p = 0.70$) (Figura 21).

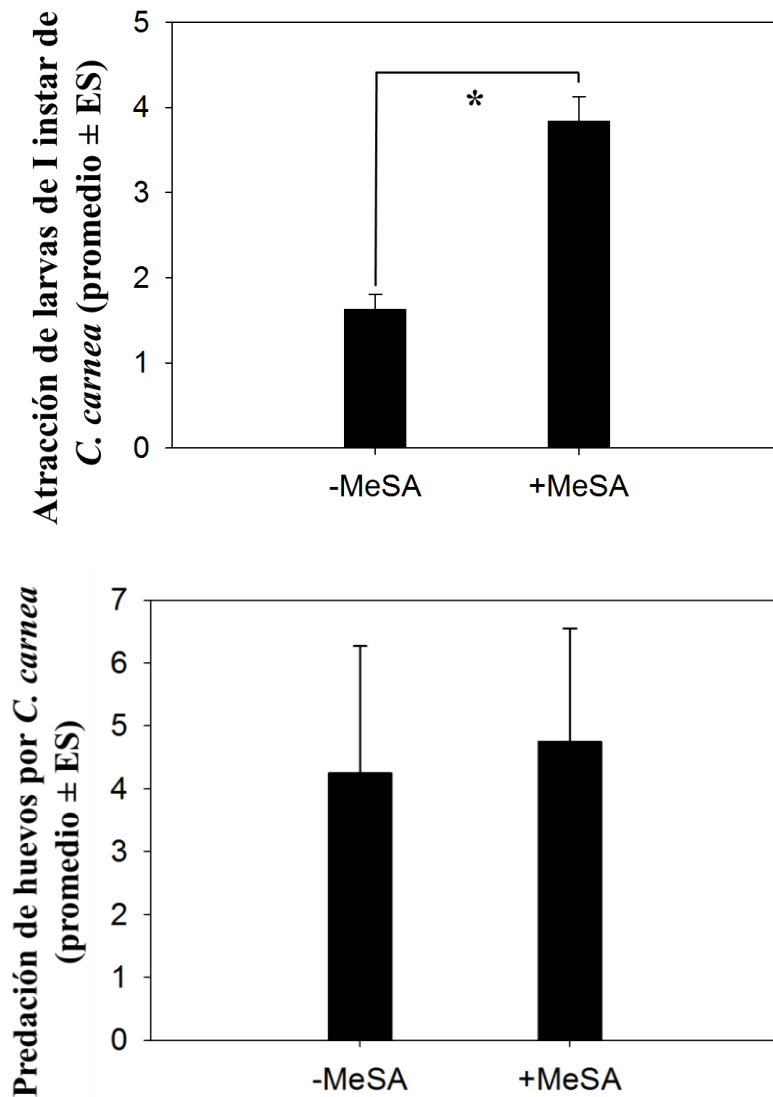


Figura 19. Respuesta de atracción y predación de larvas de I instar *C. carnea* tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).

5.1.2 Instar II larvas de *C. carnea*.

Las larvas de II instar de *C. carnea* mostraron una atracción significativa al tratamiento de MeSA en comparación al tratamiento control ($t = 5.85$, $gl = 23$, $p = 0,005$), mostrando que las larvas de I instar de *C. carnea* fue atractivo a MeSA en ensayos de tubo bidireccional en condiciones de laboratorio. La atracción conllevó a una mayor predación por parte de *C. carnea*, sin embargo, la predación no fue significativa del tratamiento con MeSA al tratamiento control ($t = 0.97$, $gl = 3$, $p = 0.39$) (Figura 22).

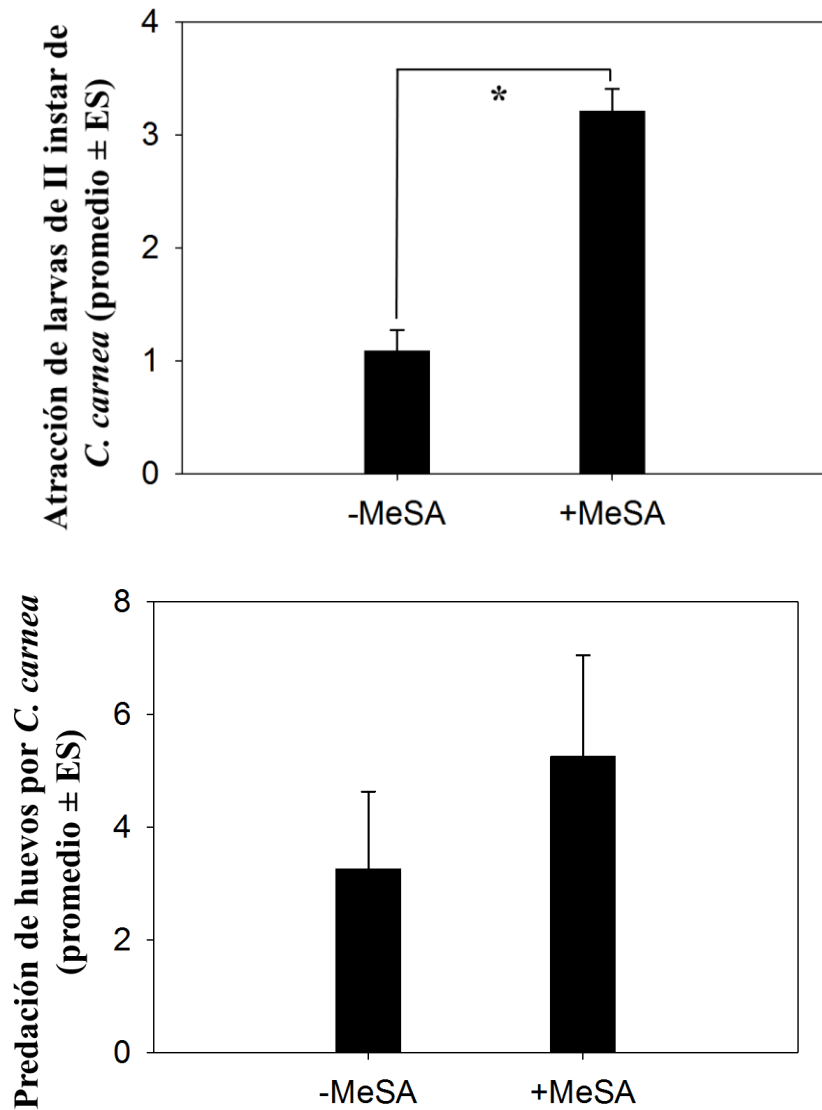


Figura 20. Respuesta de atracción y predación de larvas de II instar de *C. carnea* tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).

Adicional a esto, se realizó una prueba ANOVA para corroborar el tratamiento (instar) que mostro más atracción al MeSA, sin embargo, no se encontró una diferencia significativa entre tratamientos ($t = 210.69$, $gl = 2.27$, $p = 0.108$).

5.2 Atracción y ovoposición en adultos de *C. carnea*

5.2.1 Atracción.

Las hembras grávidas de *C. carnea* mostraron un mayor número de visitas en o cerca de plantas artificiales con el tratamiento de MeSA cuando comparado al control en jaulas ($t = 2.48$, $gl = 47$, $p = 0.016$) (Figura 19), indicando así que MeSA atrae hembras grávidas de *C. carnea* a plantas o cerca de ellas cuando este compuesto se encuentra sobre las mismas.

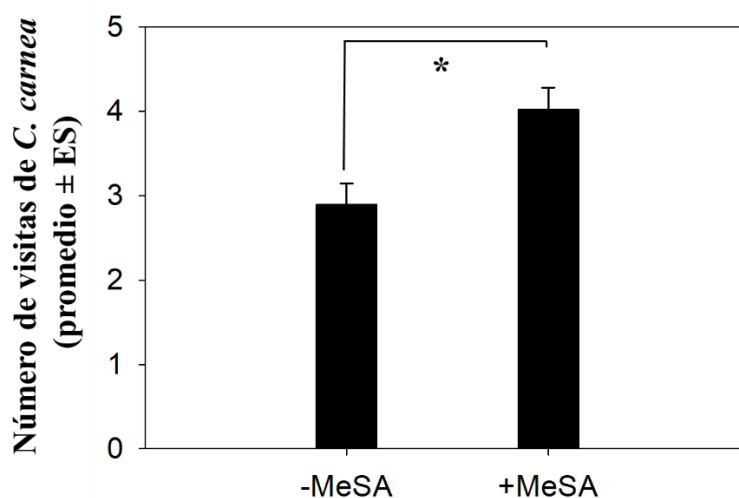


Figura 21. Número de visitas de *C. carnea* a plantas artificiales tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).

5.2.2 Oviposición.

Se halló una diferencia marginal en la respuesta de oviposición de hembras grávidas de *C. carnea* a la concentración de 1 ml de MeSA ($t = 2.15$, $gl = 19$, $p = 0.04$) (Figura 20), lo que indica que el MeSA atrajo y detuvo a hembras grávidas de *C. carnea* quienes posteriormente optaron por ovipositar en las plantas con dicho compuesto o cerca de ellas.

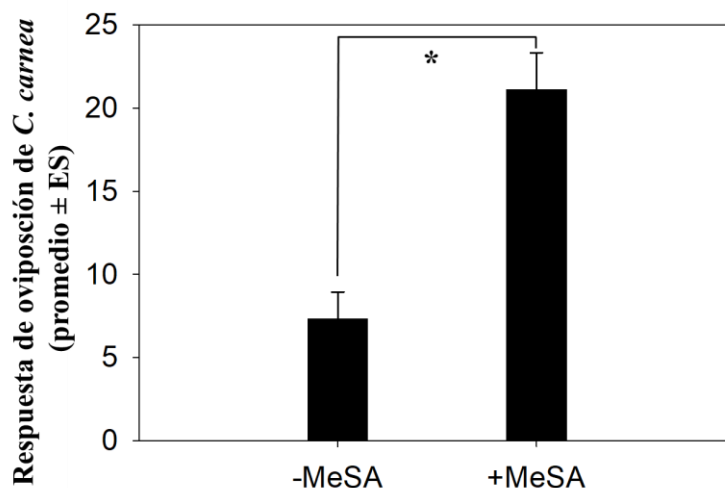


Figura 22. Respuesta de oviposición de *C. carnea* a plantas artificiales tratadas con salicilato de metilo (+MeSA) y sin el compuesto (-MeSA).

6 Discusión

Mediante experimentos realizados en laboratorio, se demostró que *C. carnea* fue atraída a MeSA en los instares I, II y hembras grávidas, en donde dicha atracción resultó en una mayor oviposición por parte de hembras grávidas en plantas artificiales o cerca de ellas y una mayor predación por parte de larvas de I y II instar de esta especie a huevos de *G. mellonella*.

En lo que respecta a atracción, los resultados concuerdan con estudios anteriores. Estudio que demostró atracción por parte de *C. externa* a plantas de rosas (*Rosa hybrida L.*) infestadas de áfidos el cual se le atribuyó la atracción a MeSA que fue uno de los compuestos volátiles mayormente emitido en este cultivo, y esta atracción indujo a una mayor oviposición por parte de hembras grávidas de *C. externa* (Salamanca *et al.*, 2015). Los resultados encontrados en este estudio muestran que posiblemente MeSA está relacionado con la atracción de hembras grávidas de *C. carnea*, lo que concuerda con estudios en donde se demostró una mayor atracción de enemigos naturales a MeSA. Estudio realizado por Salamanca *et al.* (2017) se halló atracción significativa de *Hippodamia convergens* y *C. rufilabris* a MeSA a diferencia del control. En otro estudio, se observó que MeSA atrae significativamente a especies del género *Syrphidae*, y *Chrysopidae* difiriendo así del tratamiento control (Xu *et al.*, 2018). Otros estudios en campo abierto y en patio en plantas de lúpulo (*Humulus lupulus*) determinó la atracción de enemigos naturales a MeSA

mediante trampas adhesivas, en donde encontró atracción significativa por parte de *Chrysopa nigricornis*, *Stethorus spp.*, *Orius tristicolor*, *Geocoris pallens*, y familias de Syrphidae, Empididae, Sarcophagidae, Agromyzidae, y microhimenópteros respecto al tratamiento control (James, 2003, 2005). En cultivos de arándanos (*Vaccinium Oxycoccus*) haciendo uso de MeSA (PredaLure) en trampas pegajosas amarillas y sin aditivos se obtuvo un mayor número de moscas de la familia adultas, coccinellidae y chrysopidae en comparación con las trampas sin cebo (Rodríguez-Saona *et al*, 2011). Un experimento realizado en brassicas como col (*Brassica oleracea* L. subsp. *capitata*), coliflor (*Brassica oleracea* L. subsp. *botrytis*), colinabo (*Brassica oleracea* L. subsp. *gongylodes*), y el brócoli (*Brassica oleracea* L. subsp. *italica*) mostro una atracción significativa de hembras de *C. carnea* a col y coliflor (37 ± 7.3 ; 29 ± 2.6 respectivamente) especialmente, lesionadas por *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) (Reddy, Tabone & Smith, 2004).

Por otra parte, los resultados obtenidos contrastan con algunos estudios en donde no se encontró significancia en la atracción de enemigos naturales por parte de MeSA. Estudio en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) demostró que MeSA no fue significativamente atractivo a *Podisus maculiventris* Say, pero si atrajo insectos parasitoides (Kelly, Hagler & Kaplan, 2014). En otro estudio en frutales de cerezos (*Prunus avium*) y albaricoqueros (*Prunus armeniaca*) no se halló respuesta significativa en la atracción de especies del generó *Chrysoperla* al MeSA respecto al control, sin embargo, cuando se agregó MeSA a la mezcla de fenil acetaldérido y ácido acético mostro una respuesta significativa de atracción a especies de dicho género (Tóth *et al.*, 2009).

De acuerdo con la respuesta obtenida en este estudio respecto a oviposición, es posible que hembras grávidas de *C. carnea* busquen un lugar adecuado donde disponer sus huevos y de esta forma fomentar el adecuado desarrollo y conservación de la descendencia. Una forma de conseguir esto es mediante la detección de señales químicas por parte del Chrysopidae detectando así sinomonas, kairomonas, etc. que permitan detectar un ambiente favorable para sus crías (Salamanca *et al.*, 2017).

La respuesta de interacción de MeSA con la oviposición de hembras grávidas de *C. carnea* encontrada en este estudio, concuerda con el estudio de (Salamanca *et al.*, 2015, 2017) en donde se halló que la atracción de *C. rufilabris* y *C. externa* a MeSA conlleva a una mayor oviposición. Por otra parte (Kunkel & Cottrell, 2007) demostraron una respuesta significativa en cuanto a

oviposición por parte de *C. rufilabris* en tratamientos de atrayentes + alimento en arboles de *Carya illinoensis* infestados con *Monellia caryella* (Fitch). Esto concuerda con experimentos similares realizados con hembras de *Ischnura elegans* Vander Linden (Odonata: Coenagrionidae) que mostraron mediante ensayos conductuales y electrofisiológicos que adultos fueron atraídos por señales olfativas emitidas por presas y esta atracción conlleva a una oviposición significativa en agua de acuarios de cría de larvas a diferencia del agua destilada o de grifo (Fрати, Piersanti, Reborá & Salerno, 2016), este resultado apoya la teoría de que "la madre sabe mejor" en donde la madre busca ovipositar en lugares adecuados que garanticen el desarrollo de la descendencia. Se evaluó en brassicas la preferencia de *C. carnea* a ovipositar en hojas lesionadas por *P. xylostella*, el cual fue significativamente mayor a diferencia de hojas intactas (62.8 ± 5.2 , 31.3 ± 1.2 respectivamente) (Reddy *et al.*, 2004).

No hay muchos estudios que evalúen la repuesta de atracción y predación de larvas de I y II instar de la familia Chrysopidae mediada por compuestos volátiles, en especial de *C. carnea*. Sin embargo, un estudio en donde se midió la predación de *C. externa* sobre *Neohydatothrips signifer* se obtuvo una mayor predación por parte del estadio I ($27,22 \pm 0,009$) a diferencia del estadio II ($26,11 \pm 0,007$) (Salamanca *et al.*, 2010), lo que contrasta con los resultados del presente estudio, sin embargo, concuerda en que la diferencia en capacidad de predación no es significativa entre los estadios I y II.

Se han realizado algunos estudios con el fin de evaluar la disminución de insectos fitófagos por parte de *C. carnea* en condiciones de laboratorio y campo sin uso de compuestos volátiles, por ejemplo un estudio realizado en cajas de Petri al cual se dispuso un par de hojas de frijol en el centro de la caja, fueron infestadas con ninfas de *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae), y posteriormente se introdujo larvas de I y II instar de *C. carnea* para tratamientos de 4, 12 y 24 horas (siendo el ultimo el más significativo en lo referente a predación) se halló un consumo en predadores de I y II instar de $12,9 \pm 0,057$ y $73,9 \pm 5,72$ respectivamente y luego de 24 horas sin alimento (Hassanpour *et al.*, 2015), esto concuerda con los resultados hallados en el presente estudio puesto que el II instar mostro una mayor predación. Por otra parte, un estudio en campo llevado a cabo en un cultivo de canola (*Brassica napus*) atacado por *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) al cual se realizó aplicaciones de larvas de I, II y III instar de *C. carnea* mostro una disminución significativa de la población de áfidos por parte del I y II instar seguidas

del III instar de *C. carnea* (35, 47 y 60 pulgones por planta respectivamente) a diferencia del control (74 pulgones por planta) (Sarwar, 2013), lo cual contrasta con los resultados obtenidos, dado que en este caso las larvas de I instar fueron más voraces, sin embargo es posible que se deba a que al ser un ensayo en campo las larvas pueden tener un comportamiento distinto al experimentado en laboratorio y por ende pueden consumir mayor cantidad de plagas en áreas tratadas sin descansar o sin tener que ubicarse en otro lugar. Otro estudio llevado a cabo en condiciones controladas evaluó la predación de *C. carnea* sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* Sulc (Homoptera: Psyllidae) en cajas de Petri, en donde se encontró una diferencia significativa respecto a la predación de los tres instares de *C. carnea* a diferentes densidades poblacionales de *B. cockerelli*, siendo el instar I el predador menos voraz, seguido del II y el III instar mostro ser el más voraz ($2,1901 \pm 0,4249$, $2,4897 \pm 0,2582$, y $3,5739 \pm 0,2189$ respectivamente), posiblemente debido a que el tercer instar no requiere tanto tiempo de manipulación con su presa, lo que concuerda con el presente experimento puesto que a medida que se desarrolla el insecto se tornó más voraz (Ail *et al.*, 2012). En brassicas se evaluó la tasa de depredación de *C. carnea* a *P. xylostella* en diferentes plantas hospedantes mostrando una mayor significancia en colinabo (94.6%) y brócoli (82.2%), a diferencia de coliflor (48.4%) y el repollo (52.8%) (Reddy *et al.*, 2004).

7 Conclusiones.

En conclusión, MeSA mostro ser atractivo para hembras grávidas de *C. carnea*, y esta atracción conlleva a una mayor probabilidad de oviposición por parte del insecto en o cerca de las plantas que emitan este compuesto inclusive de forma artificial. Posiblemente este resultado se deba a que la hembra de *C. carnea* busque el lugar más adecuado donde dejar a sus descendientes con el fin de que puedan encontrar alimento con facilidad y de esta forma se puedan desarrollar adecuadamente. Por otra parte, larvas de I y II instar de *C. carnea* mostraron ser atraídas a MeSA y esta atracción conlleva a una mayor predación de huevos centinela.

8 Recomendaciones.

Se recomienda llevar a cabo este estudio en campo abierto con el fin de realizar pruebas y determinar si MeSA es percibido por los diferentes instares de *C. carnea* en condiciones de campo, de esta forma comprobar si hay atracción dadas las condiciones climáticas, y cuantificar si esta atracción implica una disminución de alguna plaga en específico, y si aumenta la oviposición por parte de hembras grávidas en dichas condiciones. De esta forma se busca determinar si *C. carnea* mediada por MeSA en condiciones de campo se puede usar con fines de control biológico dentro de un programa de manejo integrado de plagas.

9 Referencias Bibliográficas

- Abbo, S., Pinhasi, R., Gopher, A., Saranga, Y., Ofner, I., & Peleg, Z. (2014). Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. *Trends in Plant Science*. 19(6). 351-360.
- Albuquerque, G., Tauber, C., & Tauber, M., (1994) *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Life History and Potential for Biological Control in Central and South America. *Biological Control*. 4(1), 8-13.
- Ail, C., Flores, M., Cerna, E., Badii, M., Landeros, J., Ochoa, Y., & Aguirre, L. (2012). Functional response of different larval instars of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) on nymphs of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae). *Revista FCA UNCUYO*. 44(2): 279-288.
- Ali, G. & Lowe, E. (2015). Chapter Eight - Plant Cues and Factors Influencing the Behaviour of Beneficial Nematodes as a Belowground Indirect Defense. *Advances in Botanical Research, Academic Press*. 75, 191-214.
- Amala, U., & Shivalingaswamy, T. (2018) Effect of intercrops and border crops on the diversity of parasitoids and predators in agroecosystem. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 28, 11.
- Anurag, A. (2000) Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(4), 329-335.

- Bautista, A., Parra, F., y Espinosa, F. (2012) Efectos de la domesticación de plantas en la diversidad fitoquímica. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bodenheimer, F.S. & Gutfeld, M. (1929). Über die Möglichkeiten einer biologischen Bekämpfung von *Pseudococcus citri* Risso (Rhy. Cocc.). *Palästina. Zeitschrift für Angewandte Entomologie*. 15, 67–135.
- Braasch J, Wimp G.M. & Kaplan I. (2012) Testing for phytochemical synergism: arthropod community responses to induced plant volatile blends across crops. *Journal of Chemical Ecology*. 38, 1264–1275.
- Breene, R., Meagher, R., Nordlund, D., & Wang, Y. (1992) Biological control of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in a greenhouse using *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae), *Biological Control*. 2(1), 9-14.
- Clavijo, A., Unsicker, S. & Gershenzon, J. (2012). The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*. 17(5), 303-310.
- De Boer, J., & Dicke, M. (2004). The Role of Methyl Salicylate in Prey Searching Behavior of the Predatory Mite *Phytoseiulus persimilis*. *Journal of Chemical Ecology*. 30(2), 255-271.
- Diamond, J. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*. 418(6898). 700-707.
- Diaz, F. (2010). El proceso de domesticación en las plantas. *Casa del tiempo*. 3(28). 66-69.
- Dicke, M., Sabelis, M. & De Jong, M. (1988). Analysis of prey preference in phytoseiid mites by using an olfactometer, predation models and electrophoresis. *Experimental & Applied Acarology*. 5(3–4), 225–241.
- Doutt, R.L., & Hagen, K.S. (1949). Periodic colonisation of *Chrysopa californica* as a possible control of mealybugs. *Journal of Economic Entomology*. 42(3), 560–561.
- Duelli, P. (1981). Is larval cannibalism in lacewings adaptive? *Researches on population Ecology*, 23, 193-209.
- Fрати, F., Piersanti, S., Reborá, M., & Salerno, G. (2016). Volatile cues can drive the oviposition behavior in Odonata. *Journal of Insect Physiology*. 91–92, 34-38.

- Gadino, A., Walton, V., & Lee, J. (2012) Evaluation of methyl salicylate lures on populations of *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) and other natural enemies in western Oregon vineyards. *Biological Control*. 63(1), 48-55.
- García, O. (2012). *Efecto letal y subletal de insecticidas sobre diferentes instares de Chrysoperla carnea (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae)* (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Gardiner, M., Landis, D., Gratton, C., DiFonzo, C., O'Neal, M., Chacon, J., Wayo, M., Schmidt, N., Mueller, E. & Heimpel, G. (2009). Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest in the north-central USA. *Ecological Applications*. 19(1), 143–154.
- Garzón, A., Medina, P., Amor, F., Viñuela, E., & Budia, F. (2015) Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere*. 132, 87-93.
- Gepts, P. & Papa, R. (2002). Evolution during Domestication. *Encyclopedia of life sciences*. 1-7.
- Hassanpour, M., Maghami, R., Rafiee-Dastjerdi, H., Golizadeh, A., Yazdani, M., Enkegaard, A. (2015). Predation activity of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) upon *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae): Effect of different hunger levels. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 18(2), 297-302.
- Henry, C., Brooks, S., Duelli, P., & Johnson, J. (2002). Discovering the True *Chrysoperla carnea* (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae) Using Song Analysis, Morphology, and Ecology. *Annals of the Entomological Society of America*. 95(2), 172-191.
- James, D. (2003). Synthetic herbivore-induced plant volatiles as field attractants for beneficial insects. *Environmental Entomology*. 32(5), 977-982.
- James, D. & Price, T. (2004). Field-testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. *Journal of Chemical Ecology*. 30(8), 1613-1614.
- James, D. (2005). Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. *Journal of Chemical Ecology*. 31(3), 481–495.

- Kaplan, I. (2012) Attracting carnivorous arthropods with plant volatiles: The future of biocontrol or playing with fire? *Biological Control*. 60(2), 77-89.
- Kelly, J., Hagler, J., & Kaplan, I. (2014). Semiochemical lures reduce emigration and enhance pest control services in open-field predator augmentation. *Biological Control*. 71. 70–77.
- Khan, J., Ul Haq, E., Akhtar, N., Ahmad, W., Assad, N., Masood, M., & Raza, Irum. (2012). Effect of temperature on biological parameters of immature stages of *chrysoperla carnea* (neuroptera: chrysopidae) feeding on rice meal moth, *corcyra cephalonica* eggs. *National Agricultural Research Center Islamabad*. 25(3). 224-227.
- Khan, Z., James, D., Midega, C., & Pickett, J. (2008). Chemical ecology and conservation biological control, *Biological Control*. 45(2), 210-224.
- Kunkel, B., & Cottrell, T. (2007). Oviposition Response of Green Lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) to Aphids (Hemiptera: Aphididae) and Potential Attractants on Pecan. *Environmental Entomology*. 36(3): 577 – 583.
- Lee, J. (2010) Effect of Methyl Salicylate-Based Lures on Beneficial and Pest Arthropods in Strawberry. *Environmental Entomology*. 39(2), 653–660.
- Mallinger, R., Hogg, D., & Gratton, C. (2011). Methyl Salicylate Attracts Natural Enemies and Reduces Populations of Soybean Aphids (Hemiptera: Aphididae) in Soybean Agroecosystems. *Journal of Economic Entomology*. 104(1), 115-124.
- Marín, C., y Céspedes, C. (2007). Compuestos volátiles de plantas. origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Fitotec*. 30(4). 327-351.
- Martínez, N. & Tenaillon, M. (2016). Superheroes and masterminds of plant domestication. *Comptes Rendus Biologies*. 339(7, 8), 268-273.
- Mondolot, L., Marlas, A., Barbeau, D., Gargadennec, A., Pujol, B., & McKey, D. (2008). Domestication and defence: Foliar tannins and C/N ratios in cassava and a close wild relative. *Acta Oecologica*. 34(2), 147-154.

- Montalvo, Y. (2014). *Desarrollo y formulación de una solución en spray con efecto analgesico*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma De México. Ciudad de México, México.
- McEwen, P., Jervis, M., & Kidd, N. (1993) Influence of artificial honeydew on larval development and survival in *Chrysoperla carnea* [Neur., Chrysopidae]. *Entomophaga*. 38(2), 241-244.
- Ninkovic, V., Abassi, S. A. & Pettersson, J. (2001). The influence of aphid-induced plant volatiles on ladybird beetle searching behavior. *Biological Control*. 21(2), 191–195.
- Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM). (2014). Risk assessment of the biological control product “Gulløyelarver” with the active organism *Chrysoperla carnea*. 13-211.
- R Development Core Team. (2016). A language and environment for statistical computing: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reddy, G., Tabone, E., & Smith, M. (2004). Mediation of host selection and oviposition behavior in the diamondback moth *Plutella xylostella* and its predator *Chrysoperla carnea* by chemical cues from cole crops. *Biological Control*. 29(2), 270-277.
- Rodríguez-Saona, C., Kaplan, I., Braasch, J., Chinnasamy, D., & Williams, L. (2011). Field responses of predaceous arthropods to methyl salicylate: A meta-analysis and case study in cranberries. *Biological Control*. 59(2), 294-303.
- Salamanca, J., Pareja, M., Rodríguez-Saona, C., Resende, A.L.S. & Souza, B. (2015) Behavioral responses of adult lacewings, *Chrysoperla externa*, to a rose-aphid-coriander complex. *Biological Control*. 80, 103–112.
- Salamanca, J., Souza, B., Lundgren, J.G. & Rodríguez-Saona, C. (2017) From laboratory to field: electro-antennographic and behavioral responsiveness of two insect predators to methyl salicylate. *Chemoecology*. 27, 51–63.
- Salamanca, J., Varón, E., & Santos, O. (2010). Cría y evaluación de la capacidad de depredación de *Chrysoperla externa* sobre *Neohydatothrips signifer*, trips plaga del cultivo de maracuyá. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 11(1), 31-40.

- Salazar, K. (2016). Capacidad de predación de larvas de *Chrysoperla externa* Hagen sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en condiciones de laboratorio del museo de entomología Klaus Raven Buller – Lima. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Del Centro Del Perú. Satipo - Perú.
- Sarwar, M. (2013). The propensity of different larval stages of lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) to control aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) evaluated on Canola *Brassica napus* L. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 36(2), 143-148.
- Shapiro, S. & Wilk, M. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591–611.
- Shaukat, M. (2018) Feeding behaviour and life durations of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) feeding on a variety of hosts. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(1), 691-697.
- Shelton, A. (2014) *Chrysoperla* (Chrysopa) *carnea*, *C. rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). New York, EU. Recuperado de <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/predators/Chrysoperla.php>
- Steinberg, S., Dicke, M., & Vet, L. E. (1993). Relative importance of infochemicals from first and second trophic level in long-range host location by the larval parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of Chemical Ecology*. 19, 47–59.
- Stelzl, M. & Devetak, D. (1999). Neuroptera in agricultural ecosystems, *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 74(1-3), 305-321.
- Tamiru, A., Bruce, T., Midega, C., Woodcock, C., Birkett, M., Pickett, J., & Khan, Z. (2012). Oviposition Induced Volatile Emissions from African Smallholder Farmers' Maize Varieties. *Journal of Chemical Ecology*. 38(3), 231–234.
- Titayavan, M., & Altieri, M.A. (1990) Synomone-mediated interactions between the parasitoid *Diaeretiella rapae* and *Brevicoryne brassicae* under field conditions. *Entomophaga*. 35(4), 499-507.

- Tóth, M., Szentkirályi, F., Vuts, J., Letardi, A., Tabilio, M., Jaastad, G., & Knudsen, G. (2009) Optimization of a Phenylacetaldehyde-Based Attractant for Common Green Lacewings (*Chrysoperla carnea* s.l.). *Journal of Chemical Ecology*. 35(4), 449–458.
- Tourtois, J., Ali, J., & Grieshop, M. (2017). Susceptibility of wounded and intact black soldier fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) to entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*. 150,121-129.
- Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H., & Lewis, W. J. (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*. 250, 1251–1253.
- Urbaneja, A., Muñoz, A., Garrido, A., & Jacas, J. (2004). Which role do lacewings and ants play as predators of the citrus leafminer in Spain? *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2(3), 377-384.
- Vavilov, N., (1935). The Phytogeographical Base for Plant Breeding, vol. 1. Moscú. 15-44.
- Vet, L., & Dicke, M. (1992). Ecology of info chemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Reviews Entomology*. 37, 141-72.
- Williams, L., Rodríguez-Saona, C., Castle, S., & Zhu, S. (2008). EAG-Active Herbivore-Induced Plant Volatiles Modify Behavioral Responses and Host Attack by An Egg Parasitoid. *Journal of Chemical Ecology*. 34(9), 1190–1201.
- Woods, J., James, D., Lee J., & Gent, D. (2011) Evaluation of airborne methyl salicylate for improved conservation biological control of two-spotted spider mite and hop aphid in Oregon hop yards. *Experimental and Applied Acarology*. 55(4), 401-416.
- Xu, Q., Hatt, S., Lopes, T., Yong, Z., Bodson, B., & Chen, J. (2018). A push-pull strategy to control aphids combines intercropping with semiochemical releases. *Journal of Pest Science*. 91, 93–103.
- Zhu, J., & Park, K. (2005). Methyl Salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. *Journal of Chemical Ecology*. 31(8), 1733- 1746.