



**EFFECTO DE LA DIETA SOBRE EL CICLO BIOLÓGICO Y LOS VOLÁTILES
ALMACENADOS EN LA GLÁNDULA SEXUAL DE HEMBRAS DE *Copitarsia
uncilata* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

LINA MARCELA YAGÜE DÁVILA

Universidad Militar Nueva Granada
Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas
Programa de Biología Aplicada
Cajicá, Colombia
2017

**EFFECTO DE TRES DIETAS SOBRE EL CICLO BIOLÓGICO Y LOS VOLÁTILES
ALMACENADOS EN LA GLÁNDULA SEXUAL DE HEMBRAS DE *Copitarsia
uncilata* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

LINA MARCELA YAGÜE DÁVILA

Trabajo de grado presentado para optar al título de:

BIÓLOGO

Director:

MSc. Diana Elizabeth Pérez Maldonado – Universidad Militar Nueva Granada

Docente

Coodirector:

Ericsson David Coy Barrera PhD. – Universidad Militar Nueva Granada

Docente

Grupo de Investigación:

Desarrollo e integración de estrategias alternativas para la protección de cultivos
de importancia económica, con énfasis en control biológico.

Universidad Militar Nueva Granada
Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas
Programa de Biología Aplicada
Cajicá, Colombia

2017

Nota de aceptación: _____

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Cajicá, marzo de 2017

**EFFECTO DE TRES DIETAS SOBRE EL CICLO BIOLÓGICO Y LOS VOLÁTILES
ALMACENADOS EN LA GLÁNDULA SEXUAL DE HEMBRAS DE *Copitarsia
uncilata* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Lina Marcela Yagüe Davila¹

¹ Universidad Militar Nueva Granada, Km 2 vía Cajicá-Zipacquirá, Cundinamarca.
Producto derivado del proyecto INV-CIAS-, financiado por la Vicerrectoría de
Investigaciones de la UMNG – Vigencia 2014. *Correo electrónico para
correspondencia lina.yague.davila@gmail.com

Resumen

C. uncilata (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las principales plagas en cultivos de flores de corte en la Sabana de Bogotá. Este insecto fitófago en estado larval provoca disminución del rendimiento de los cultivos. Actualmente se han desarrollado técnicas alternativas para el manejo de la plaga, tales como el uso de semioquímicos, enfocado en feromonas sexuales. Por lo anterior, esta investigación tuvo como finalidad determinar la duración del ciclo de vida de *C. uncilata* y determinar la composición de los volátiles almacenados en la glándula por ello, se realizó una cría de los individuos alimentados con coliflor, *Alstroemeria* y dieta artificial, bajo condiciones controladas de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo, y se estableció la duración de cada uno de las etapas de desarrollo de la especie, las cuales no presentaron diferencias significativas. Se seleccionaron hembras vírgenes de cinco y seis días de edad, a las cuales se les realizó la disección de la glándula sexual. Se realizó un extracto de las glándulas sexuales de hembras, con diclorometano, el cual fue analizado por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, el cual determinó que el alimento si tiene influencias sobre la producción de los compuestos de la glándula sexual, al igual que en la fertilidad.

Palabra clave: Ciclo de vida, comportamiento reproductivo, feromona sexual, *Copitarsia uncilata*, dietas

Abstract

C. uncinata (Lepidoptera: Noctuidae) is the mayor plague that it is presented on potted flowering crops on the Bogotá's Sabana. This phytophagous bug in its larval status provokes a low performance in all crops. Nowadays it has developed some unusual techniques to plagues control, such as using semiochemicals in relation with sex pheromones. Therefore, this research resulted to determinate the *C. uncinata* lifecycle and establish all volatile compounds storage on the species' sexual gland, fed by two natural and one artificial diets. For this, it was created a rearing from each individual fed by cauliflower, alstroemeria and an artificial diet, all of them under controlled conditions of temperature, relative humidity and photoperiod also was established its lifespan on each development stage of the specie, and every one of them didn't show up significant differences. Chose virgin females from 5 and 6 days age and from them were dissected its sexual gland. A female sexual gland extract, was made using dichloromethane, and analyzed by a gas chromatography coupled to a mass spectrometry and determinate that food has positive influences on the production on sex glands compounds, as same as fertility.

Palabra clave: lifecycle, reproductive behavior, sex pheromones, *Copitarsia uncinata*, influential diets with pheromones compounds.

INTRODUCCIÓN

El sector floricultor en Colombia lleva más de 40 años exportando gran parte del mercado internacional de flores exóticas de corte. Actualmente, ha incrementado su participación en el mercado, ya que en el 2009 se reportó una participación del 13,7% y en el 2012 del 15,4% del total de las exportaciones a nivel mundial; por esta razón Colombia se clasifica como el segundo país exportador de flores de corte, pues en el 2013 presento el 29,4% de las ventas a nivel mundial (MinCIT, 2012).

Según el DANE las ventas de flores colombianas se realizan en 90 mercados, los cuales representan ganancias de \$1.270 millones de dólares al año, a su vez, de

lo total exportado, Estados Unidos recibe el 75.7% de la producción de flores corte anual (Ascolflores, 2013). Sin embargo, actualmente Estado Unidos ha llamado la atención sobre el creciente avance de bajos indicadores de importaciones de flores de corte con procedencia Colombiana, esto debido a que el Servicio de Inspección de Salud Animal y Plantas (APHIS) de Estados Unidos realiza intercepciones periódicas a los productos agrícolas que entran al país, con el fin de evitar el paso de plagas cuarentenarias (Guerra y Forero, 2002), si estas son encontradas en los productos agrícolas, estos pueden ser puestos en cuarentena, tratados con insecticidas, incinerados o retornados al país de origen (Ascolflores, 2005).

Las intercepciones y pérdidas de producción mencionadas anteriormente, se deben en gran medida, a la afectación que generan las larvas de insectos del orden Lepidóptera de la familia Noctuidae; grupos taxonómico en donde se encuentra el género *Copitarsia* spp., más conocidos como “Cogolleros”, plaga que según el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), afecta significativamente la producción y exportación de flores de corte colombianas, con especial énfasis en la comercialización de *Alstroemeria* (*Alstroemeria* sp.) (Torrado *et al.*, 2005)”

El género *Copitarsia* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hampson, 1906), está compuesto por 21 especies de polillas (mariposas nocturnas) (Angulo y Olivares, 2003), las cuales se distribuyen a lo largo del Centro y sur de América (Simmons y Poque, 2004). Los individuos de este género también representan un problema económico en la producción de cultivos agrícolas de consumo humano (Gutiérrez y MacGregor, 1983), principalmente en estado larval, etapa en el cual su alimentación se basa en el consumo de cogollos, hojas e inflorescencias de diferentes cultivos (Moreno y Serna, 2006).

Estudios realizados por Londoño *et al.*, (2001), demostraron que *Copitarsia* spp., además de causar pérdidas económicas en las flores de corte, también es considerada un limitante en cultivos de crucíferas (coliflor, brócoli y repollo) por

afectar la etapa de formación de los cogollos, lo cual afecta la calidad y aumenta la susceptibilidad al rechazo en los diferentes mercados (Londoño *et al.*, 2001). Adicionalmente, investigaciones estiman que la plaga puede perdurar hasta dos generaciones en el cultivo, antes de su cosecha, lo cual indica la posibilidad de pérdidas significativamente altas en la pos cosecha (Cardona *et al.*, 2004).

En Colombia, la presencia de *Copitarsia* spp., ha alcanzado gradualmente importancia en las plantaciones de Crucíferas, Tomates, Papa, Calabaza y Plantas ornamentales (Bautista y Flores, 2003), por esta razón y porque pueden llegar a generar hasta entre el 80 y 100% de pérdidas en la producción nacional de dichos cultivos (Vergara, 2011 y Bautista y Flores, 2003), *Copitarsia* spp., ya están catalogados como una plaga potencial de importancia internacional (Torrado *et al.*, 2005 y Quimbayo *et al.*, 2010),

El método tradicional para el manejo de esta plaga, se basa en el uso de plaguicidas químicos, lo cual da lugar a graves consecuencias tales como residualidad tóxica, resistencia de los individuos, presencia de plagas secundarias, y en general problemas de toxicidad afectando el ambiente y los cultivos (Vacas, 2011). En consecuencia, se han desarrollado métodos alternativos para el control de plagas, tales como el control biológico, el control etológico usando semioquímicos, entre otros (Muñis *et al.*, 2007; Barrientos *et al.*, 2011). A pesar de dichos esfuerzos, la cantidad de interceptaciones aduaneras a exportaciones provenientes de Colombia a causa del ataque de *Copitarsia* spp., sigue en aumento; por tal motivo, se hace necesario el estudio y desarrollo de estrategias para combatir los efectos nocivos causados por *C. unilata* (USDA, 2000 y Caton *et al.*, 2006).

Los semioquímicos, por su parte, están implicados en la comunicación química de seres vivos, en especial las feromonas, las cuales son encargadas de la comunicación intraespecífica (Vacas, 2011); el uso de feromonas en el control de plagas, está enfocado en las feromonas sexuales, las cuales generan cambios

comportamentales en el receptor, teniendo como finalidad la atracción de machos a trampas con los componentes químicos de las feromonas que han sido identificadas y sintetizadas previamente (Nicholls, 2008), reduciendo de esta manera la población adulta, evitando que estadios de huevo y larva lleguen a los cultivos (Moreno y Serna, 2006).

El uso de trampas cebadas con componentes identificados de la síntesis de feromonas sexuales de *Copitarsia decolora* y *Copitarsa corruda*, ha sido exitosas en el control de estas plagas en México y en Perú (Barrientos *et al.*, 2011 y Espinosa *et al.*, 2012). Sin embargo, en Colombia no se han realizado estudios sobre *Copitarsia uncialata*. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo: establecer la duración de cada uno de las etapas de desarrollo del ciclo de vida de la especie alimentada con dos dietas naturales y una artificial, y determinar la composición de los volátiles almacenados en la glándula sexual de las hembras de *C. uncialata* de cinco y seis días de edad alimentada con dos dietas naturales y una artificial.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Angulo**, A., Olivares. S. 2003. Taxonomic Update of the species of *Copitarsia* Hampson 1906 (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae) Gayana 67:33-38pp.
2. **Angulo**, A., Weigert, G. 1975. Estados inmaduros de lepidópteros nóctuidos de importancia económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae). *Sociedad de biología de Concepción*. 2, 153pp.
3. **Asocolflores**. 2005. Procedimiento para la inspección fitosanitaria en Miami: Mejor estar informados para evitar fumigaciones innecesarias. En Noticias Frescas, 185:15pp.
4. **Asocolflores**. (2013). Asociación Colombiana de Exportadores de Flores. Flor y Cultura Colombiana. Edición N°2, Abril-Junio 2013.
5. **Barrientos**. I., Hernandez. G., Cibrian. J. 2011. Tasa de liberación de la feromona sexual de *Copitarsia Corrua* (Lepidoptera: Noctuidae) y capturas de machos con trampas en brócoli. ENTOMOTROPICA. 26(2): 47-58pp.
6. **Bautista**. M., Flores. P. (2003). Memorias del primer simposio nacional sobre *Copitarsia incommoda*. *Sociedad Mexicana de Entomología*. Mexico. 3pp.
7. **Burgos**. R., Leiva. R., Angulo. A., Olivares. T. 2010. *Rev Copitarsia uncinata* Burgos y Leiva sp. Nov. De Cucullinae para Colombia y Mexico (Lepidoptera, Noctuidae). *Bras. Entomol.* 54:372-375pp.
8. **Cardona**. C., Londoño. Z., Jaramillo. J. 2004. Estudios biológicos de *Copitarsia* sp. (Lepidoptera:Noctuidae) bajo condiciones de insectario. *Rev. Colomb.Entomol.* 30:205-209pp.
9. **Guerra**, J., Forero, D. 2002 Principales intercepciones de plagas en flores provenientes de la sabana de Bogotá en el puerto de Miami y su implicación fitosanitaria [Publicación periódica] // Revista Asocolflores. Vol. 62. 50-58pp
10. **Gutierrez**, O., MacGregori, R. 1983. Guía de Insectos nocivos para la agricultura en México. Editorial Alambra Mexicana, S.A. México D.F.
11. **Guerra**. J., Forero. D, 2002. "Principales intercepciones de plagas en

- flores provenientes de la Sabana de Bogotá en el puerto de Miami, y su implementación fitosanitaria. en *Resvista Asocolflores*. 62:50-58pp.
12. **Londoño**. M., Fernández, C., Jaramillo. J. 2001. Lepidópteros asociados a la formación de cabeza o florete en crucíferas. En: Hortalizas. Plagas y enfermedades. CORPOICA, SOCOLEN. Rio negro, septiembre 2001.p. 63-71pp.
 13. **Nicholls** C (2008) Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Editorial Universidad de Antioquia.
 14. **Ministerio** de Comercio, Industrial y Turismo (MinCIT). (2012). Exportaciones colombianas enero de 2012. <https://www.mincomercio.gov.co/publicaciones>. [Fecha de revisión 13 de febrero de 2014].
 15. **Moreno**, O., Serna F. 2006. Biología de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae), en flores cultivadas del híbrido comercial de *Alstroemeria* spp en Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 59:1, 3257-3270pp.
 16. **Muñis**. E., Cibrián. J., Rojas. O., Diaz. J., Valdes. C., Bautista. (2007). "Captures of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) whit traps baited with varying ratios of sex pheromones. *Agrociencia*. 41,575-581pp.
 17. **Simmons**, R., Poque, M. 2004. Redescription of two often-consused noctuid pest, *Copitarsia decolora* and *Copitarsoia incommoda* (Lepidoptera; Noctuidae; Cuculiinae). Ann. Entomol. Soc. Am. 97:1157-1164.
 18. **Torrado**, E. León, R., Lee, F., Serna, N., Muñoz. R.,(2005) "Reconocimiento de Noctuidae (Lepidoptera) plaga en cultivo de flores" en *Memorias VIII Congreso Técnico Flores 2005*, Bogotá, 26 de agosto. 2005. 40-42pp.
 19. **USDA**., (2000) " Memorandum of understanding between the United States Department of Agriculture and the Office of the United States Trade Representative, and the Secretariat of Agriculture, Livestock, Rural Development, Fisheries and Food and the Secretariat of Economy of the United Mexican States regarding areas of food and agricultural trade".
 20. **Vacas**. S. 2011. Uso de semioquímicos en el control de plagas. Estudios

básico y de aplicación. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.

21. **Vergara, R.** (2011) “Manejo Integrado de Plagas en Cultivos de Colombia: Alternativas para reducir el uso de plaguicidas”. *Seminario Internacional de Plaguicidas*. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja.

CAPÍTULO 1

CICLO DE VIDA DE *Copitarsia uncilata* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ALIMENTADA CON DOS DIETAS NATURALES Y UNA ARTIFICIAL

Resumen

Copitarsia uncilata (Lepidoptera: Noctuidae) es reportada como una plaga potencial para cultivos de flores en la sabana de Bogotá, pues en estado larval causa daños que tienen como consecuencia disminuir el rendimiento del cultivo. Actualmente se han desarrollado alternativas para el control de individuos del género *Copitarsia*, y para tal efecto es indispensable estudiar las poblaciones de los individuos. Por esta razón, el presente trabajo se realizó para conocer el ciclo biológico de *C. uncilata* alimentada con dos dietas naturales y una artificial. De esta manera, se estableció una cría bajo condiciones controladas $19,72 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$, HR de $58,41 \pm 5,63\%$ y fotoperiodo natural, la cual permitió establecer la duración de su ciclo de vida. La duración del ciclo de vida de los individuos alimentados con Coliflor fue de 77 días, con la dieta artificial la duración fue de 77,8 días y los alimentados con Alstroemeria duraron 80 días. Adicional a esto, se estableció la longevidad de los adultos, curvas de sobrevivencia y fecundidad. Según los resultados, *C. uncilata*, no presenta diferencias significativas en la duración total del ciclo de vida, siendo alimentada por 2 dietas naturales y una artificial. Finalmente, se concluyó que las tres dietas pueden ser usadas en un pie de cría para estudios posteriores. Sin embargo, si se tienen en cuenta ventajas adicionales a la duración del ciclo de vida, la dieta artificial sería la dieta ideal para el desarrollo y cría masiva de individuos de *C. uncilata* en laboratorio.

Palabra clave: *Copitarsia uncilata*, dieta natural, dieta artificial, duración de ciclo de vida

Abstract

Copitarsia uncinata it is reported as a potential plague for flowers crops on Bogotá's Sabana, because in its larval status causes damages that brings consequences such as a decrease on the crops performance. Nowadays it has developed some unusual techniques to control of subjects of *Copitarsia*, and for this purpose it is essential to study individual's population. For that reason, the present paper was made to give knowledge on the lifecycle of *C. uncinata* fed by types of diet, two naturals and one artificial. In this way, was established a rearing under control conditions $19,72 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$, RH $58,41 \pm 5,63\%$ and a natural photoperiod, which permits to stablish its lifecycle duration. Lifecycle duration of every individual fed by cauliflower was of 77 days, with artificial dietary its duration was 77.8 days and the ones that were fed by alstroemeria lasting for 80 days. Also, established adult's longevity, survival and fertility curves. According with the results, *C. uncinata*, doesn't present significate differences on the total length of lifecycle, when it is feeding by 2 natural diet and 1 artificial. Finally, was concluded that all 3 diets can be use on a breeding foot for subsequent studies. Nevertheless, if it is keep on the count all additional advantages on the duration of lifecycle, artificial diet it would be the ideal diet for develop and massive breeding of individuals of *C. uncinata* in laboratory.

Key words: *Copitarsia uncinata*, natural diet, artificial diet, lifecycle duration..

ESTADO DEL ARTE

Taxonomía y Distribución del género *Copitarsia*

El género *Copitarsia* pertenece a la familia Noctuidae, y a la subfamilia Cucullinae, actualmente se conocen 21 especies polillas (mariposas nocturnas), las cuales están agrupadas en dos complejos: *C. complejo turbata* que comprende 3 especies y el *C. complejo naenoides* que comprende 18 especies (Angulo y Olivares, 2003), *C. uncinata* pertenece al complejo *turbata* (Burgos *et al.*, 2010).

Copitarsia spp. se distribuye a lo largo del borde occidental del centro y sur de América, desde el extremo sur de Argentina hasta el centro de México. Las intercepciones realizadas por APHIS en el 2006, reportan que los productos con presencia de esta especie, provienen principalmente de Colombia, México, Ecuador, Guatemala Chile, costa Rica, Perú, entre otros (Tabla 1). (Venette y Gould, 2006).

Tabla 1. País de origen de los productos en que *Copitarsia* spp. Intercepciones por USDA, APHIS Tabla modificada de (Venette y Gould, 2006).

| Origen | Intercepciones |
|------------|----------------|
| Colombia | 4054 |
| México | 2166 |
| Ecuador | 424 |
| Guatemala | 241 |
| Chile | 195 |
| Costa rica | 91 |
| Perú | 74 |

Generalidades del *Copitarsia uncilata*

Copitarsia uncilata Burgos y Leiva, se distribuye en México y Colombia (Burgos *et al.*, 2010), estudios realizados reportan que esta especie se ha logrado mantener en diferentes hospederos como el brócoli (*Brassica oleracea* var *italica*), coliflor (*Brassica oleracea* var *botrytis*), repollo (*Brassica oleracea* var *viridis*) y altromeria (*Altromeria* sp.), por otra parte, morfológicamente los individuos *C. uncilata* son similares a *C. decolora*, *C. incommoda* y *C. corruda*, por ello, para su identificación es indispensable la genitalia masculina, ya que está a diferencia de las otras

especies tiene un uncus ancho apicalmente, que termina abruptamente con una punta pequeña, valvas alargadas, una corona marcada, y el ápice cóncavo, un tercio del largo de la valva, tal como se ilustra en la figura 1 (Burgos *et al.*, 2010).



Figura 1. *Copitarsia uncilata* (1) Genitalia masculina (2) Genitalia femenina (3) Macho adulto. Tomada y modificada de (Burgos *et al.*, 2010).

La caracterización externa de larvas de *Copitarsia* sp. se determina a partir de la presencia de dos barras oscuras en la base de las setas medias, presentando setas dorsales blancas y setas alineadas a la cabeza, además dos triángulos oscuros en los segmentos abdominales posteriores (Figura 2) (Riley, 1998).



Figura 2. Larva de *C. uncilata* (Yagüe, 2014)

Ciclo de vida de *Copitarsia* sp.

Según estudios realizados por Castro y Rodríguez (2015), el ciclo de vida de *C. uncilata* (Figura 3) dura $76,47 \pm 1,01$ días para hembras criadas con *Alstroemeria* bajo condiciones de temperatura de $19.7 \pm 0.4^{\circ}$ C y $58.4 \pm 5.6\%$ de humedad relativa (HR) , el cual comprende 4 etapas: huevo, larva (cinco instares), pupa y adulto (Figura 3) (Castro y Rodríguez, 2015).

Las especies de *Copitarsia* comienzan el ciclo de vida con la etapa de huevo, estos son depositados por una hembra adulta (Velásquez, 1988), esta puede producir entre 570 y 1640 huevos, esto depende de la calidad del ambiente y el hospedero (Rojas y Cibrian, 1994); se caracterizan por tener forma esférica aplanada sobre la base, su coloración varía entre blanco a café, tienen un promedio de $0,58 \pm 0,02$ mm de diámetro y $31,13 \pm 2,10$ estrías radiales; según estudios realizados por Moreno y Serna (2006), sobre *C. decolora*, los huevos de esta especie duran en promedio 4 días bajo condiciones controladas y 6 días en condiciones naturales (Moreno y Serna, 2006).

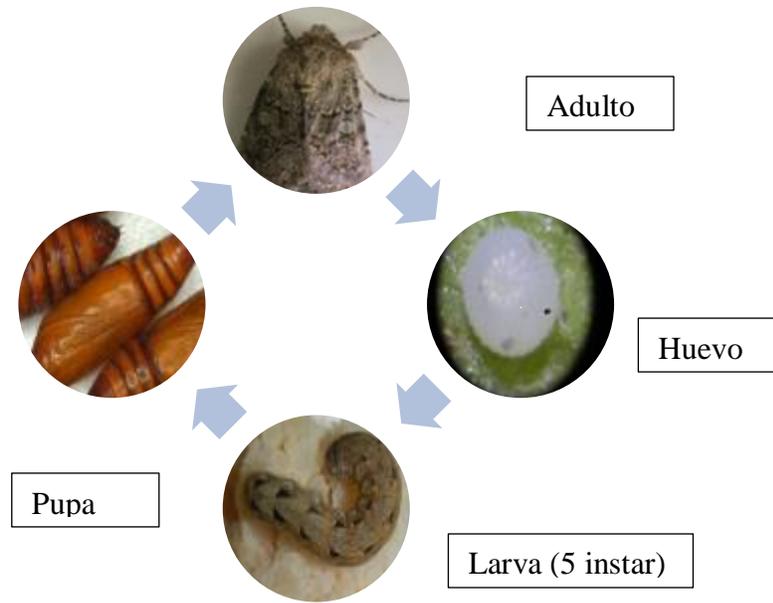


Figura 3. Fases del desarrollo morfológico del ciclo de Vida de *C. uncinata* (Yagüe, 2014)

La etapa larval se subdivide entre cinco o seis instares dependiendo la especie, en los cuales la coloración varía entre verde, amarillo y marrón, esta depende de la dieta y el nivel de desarrollo; en esta etapa los individuos producen daños estructurales en las plantas, ya que su alimentación se basa principalmente de cogollos, hojas y tallos, los cuales son evidenciados por la presencia de pequeñas zonas raspadas o perforaciones en las hojas y la presencia de excremento en forma redonda con coloración oscura; según estudios realizados por Moreno y Serna (2006), sobre *C. decolora* esta etapa de desarrollo larval, suele durar en promedio 17 días bajo condiciones controladas y 35 días en condiciones naturales usando como hospedero *Alstroemeria* sp. (Moreno y Serna, 2006).

Antes de emerger el adulto, los individuos pasan por un estado de pupa, la cual es inmóvil con un color característico anaranjado brillante (Moreno y Serna, 2006); en este estado se logran diferenciar las aperturas abdominales, estas ayudan a determinar el sexo de los individuos (Figura 4) (Pedraza, 2011). Según estudios

realizados por Moreno y Serna (2006), sobre *C. decolora* esta etapa de desarrollo en promedio dura 15.4 días bajo condiciones controladas y 30 días promedio en condiciones naturales usando como hospedero *Alstroemeria* sp. (Moreno y Serna, 2006).

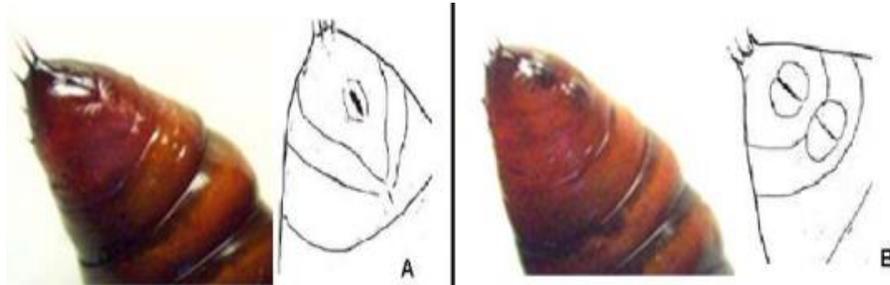


Figura 4. Dimorfismo sexual de *C. decolora*. (A). Hembra, (B). Macho (Ceballos, 2006).

Los individuos adultos, son de hábito nocturno, razón por la cual son difícil de observar en el cultivo; las hembras generalmente colocan los huevos en el envés de las hojas después de cinco días de su emergencia; según estudios realizados por Moreno y Serna (2006), sobre *C. decolora*, su longevidad varía según el sexo, las hembras pueden vivir en promedio 12 días bajo condiciones controladas y 18 días en condiciones naturales; por su parte los machos duran en promedio 12 días en condiciones controladas y 15 días en condiciones naturales (Moreno y Serna, 2006).

El desarrollo desde huevo hasta adulto depende de muchos factores, la temperatura, la humedad y el hospedero (Vennette y Gould, 2006). Estudios revelan que la duración del estadio de larva en la especie de *C. Turbata* varía según el alimento; en lechuga (*Lactuca savita*) dura 43 días a 24,5°C y con dieta artificial 82,5 días a 20,4°C (Hamity y Roman, 1993). En general se conoce que las especies del género *Copitarsia* pueden tener dos a cuatro generaciones por año (Artiagas y Angulo, 1973), sin embargo otros autores afirman que *C. humilis* sobre el hospedero alfalfa (*Medicago sativa* L.) solo tienen una generación en el año en Chile (Hichins y Mendoza, 1976).

Enemigos naturales de *Copitarsia spp*

Estudios realizados por diferentes autores determinan que *Copitarsia spp.*, es susceptible a patógenos microbianos e insectos patógenos asociados a 24 taxa, dentro de estos están las bacterias; *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, y *Entomophthora sphaerosperma*, que atacan principalmente a las larvas (Aruta *et al.*, 1874), así mismo , los huevos son atacados por insectos patógenos tales como *Aphelinidae*, *Braconidae*, *Ichneumonidae*, *Trichogrammatidae* (Lamborot *et al.*, 1995; Loo y Aguilera, 1983). Según Cortes (1976), el uso de estos enemigos naturales en el control de *Copitarsia ssp.*, puede reducir el uso de plaguicidas, disminuyendo así, los impactos negativos en el ambiente y los altos costos asociados a la implementación de los mismos (Cortes, 1976).

Cría de insectos

La cría de insectos en laboratorio bajo condiciones controladas, es llevada a cabo para estudiar las poblaciones de los individuos, pues mediante esta, se obtienen un alto número de individuos, ya que las condiciones en las que se realiza son controladas para su óptimo desarrollo; la finalidad es obtener especímenes viables, garantizando así una mortalidad limitada que favorezcan la producción de los organismos (Schowalter, 2006). Un factor importante en la cría es la dieta suministrada a los individuos, la cual suele ser natural o artificial, esta influye sobre los parámetros del ciclo de vida, tales como la fertilidad, tamaño de larvas, proporción de sexo y sobrevivencia (Schowalter, 2006; Cohen, 2004).

Las dietas naturales, permiten a los individuos ser alimentados con tallos, hojas, y frutos de los cuales, naturalmente son hospederos, de esta manera se les proporciona las cantidades necesarias de nutrientes para el desarrollo del organismo (Schowalter, 2006), sin embargo, estas dietas tienen un alto costo para crías masivas; por esta razón, el uso de las dietas artificiales, fue un auge para cría masiva de insectos en la década de los cincuenta para investigaciones acerca

de la fisiología, ecología y genética de insectos, y de esta manera planificación de nuevas técnicas de control de plagas (Singh, 1976). Principalmente lo que se busca con las dietas artificiales es reducir costos, disminución de contaminación de patógenos y riesgo de enfermedades, los cuales podrían influir negativamente sobre la población de la cría (Reguilon *et al.*, 2013).

Las dietas artificiales en insectos se clasifican en tres grupos: la primera dieta de tipo holídicas, se caracteriza por contener elementos puros; la segunda de tipo merídicas, se caracteriza por tener elementos químicos conocidos y componentes químicos no definidos y las de tipo oligídicas, caracterizadas por ser de origen animal y vegetal; este último tipo fue la que se utilizó en la presente investigación, ya que el uso de las dietas artificiales de tipo oligídicas, resultaron exitosas para la cría de larvas de *C. incommoda*, (Cibrian y Sigimoto, 1992).

Para la evaluación de las alternativas de control de *C. uncinata* es necesario tener el organismo en sus diferentes etapas de desarrollo (huevo, larva, pupa y adulto), lo cual se logra estableciendo un pie de cría lo que permite conocer su ciclo de vida y a su vez determinar las condiciones alimenticias óptimas de desarrollo. Esto se puede lograr mediante la utilización de dietas naturales y artificiales, las cuales permitan determinar cuál es más eficiente en cuanto a la obtención de poblaciones que completen su ciclo de vida en el menor tiempo posible. En este caso en particular, se estableció la duración de cada una de las etapas de desarrollo del ciclo de vida de *C. uncinata* alimentados con dos dietas naturales y una artificial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El seguimiento del ciclo de vida de *C. uncinata* se realizó en el laboratorio de Control Biológico del campus Cajicá de la Universidad Militar Nueva Granada (Kilometro 2 Vía Cajicá- Zipaquirá, costado Oriental), en una cámara de cría con una temperatura promedio de $19,72 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $58,41 \pm 5,63\%$ y fotoperiodo natural (12 horas luz, 12 horas Oscuridad) (Castro y Rodríguez, 2015).

Se utilizaron especímenes adultos de *C. uncilata*, colectados en la finca el Secreto (El Rosal- Cundinamarca), 04° 86,03 '31 "N y 74° 22,41' 12" para establecer el pie de cría.

Duración ciclo de vida de *C. uncilata*

La identificación de la especie fue realizada por Castro (2015), mediante la disección de la genitalia masculina, tomando como referencia el estudio realizado por Suarez *et al.*, (2006) y Brambilia (2009). En cuanto a los tratamientos (dietas) naturales se utilizó coliflor (*Brassica oleracea var Botrytis*) (alimento refrigerado) y Alstroemeria (*Alstroemeria sp*) (en fresco) debido a que se ha reportado que *Copitarsia spp.* se alimenta del follaje de dichas variedades (Barrios *et al*, 2004 y Suarez, *et al.*, 2006); estas fueron obtenidas del invernadero de Control Biológico de la Universidad. En cuanto a la dieta artificial fue empleada la reportada por cenicaña para cría masivas de *Diatrea saccharalis* (Cenicaña, 2006).

Cría de insectos para evaluar ciclo de vida de *C. uncilata*

La investigación se llevó a cabo entre los meses de octubre de 2014 a diciembre del 2015. Se colocaron parejas de *C. uncilata* (hembra y macho) en cámaras de copula (recipientes de plástico de 14 x 17 x 9 cm), donde fueron colocadas hojas de alstroemeria como sustrato para la ovoposición; a cada cámara se le incluyó un copo de algodón impregnado de agua y azúcar, en una relación 1:1, a modo de alimento.

Posteriormente, los huevos (n=90) depositados por la hembra de *C. uncilata*, se recogieron con un pincel de punta fina y fueron dispuestos individualmente en un recipiente (9 cm de diámetro x 5 cm de altura). Después de la eclosión, los individuos empezaron a ser alimentados con cada uno de los tratamientos propuestos, así: Tratamiento 1. hojas, tallos y flores de Alstroemeria (n=30); Tratamiento 2. Cabezas de coliflor (n=30) y tratamiento 3. cuadros de 3cm x 3cm de dieta artificial (n=30). En adelante, se limpiaron diariamente los recipientes de los excrementos y se

proporcionaron alimentos frescos, hasta que los individuos alcanzaron la etapa de desarrollo de pupa.

Las unidades experimentales fueron dispuestas en un diseño totalmente al azar, siendo monitoreadas diariamente y cada individuo fue tomado como una repetición. El ciclo de vida fue evaluado por la duración de cada etapa biológica; la etapa de pupa fue fundamental para la identificación del sexo en los individuos; esto se realizó mediante la observación de las aperturas genitales de estas, observadas en un estereoscopio (Motic SMZ-168). La duración de la pupa se registró mediante observaciones diarias, estas fueron individualizadas y separadas por sexo. Los adultos fueron mantenidos en recipientes de plástico por parejas (hembra: macho) y fueron monitoreados hasta el momento de su muerte, evaluando de esta manera la longevidad y la proporción sexual en cada uno de los tratamientos.

Tasa de sobrevivencia y fecundidad

La tasa de sobrevivencia y fecundidad fueron estimadas de las cohortes del ciclo de vida. Cada 24 horas se registraron larvas, pupas y adultos sobrevivientes. Con estos datos se construyeron tablas de vida según Vera *et al.*, (1997), usando el programa Microsoft Excel Mac. Cuando los individuos alcanzaron la edad adulta fueron dispuestos por parejas, en cámaras de copula (macho y hembra), en las cuales se midió cada dos días el número de huevos depositados por cada hembra, determinando así, la tasa de fecundidad.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza (en el programa estadístico R Project versión 2.12.2 de libre distribución), para determinar si habían diferencias significativas en los tratamientos, para este fin se utilizaron las variables de duración de cada una de las etapas de desarrollo en cada uno de los

tratamientos (se utilizó un valor de confiabilidad $p < 0.05$), se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para determinar si los datos eran normales y luego se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey para determinar qué tratamientos presentaban diferencias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Duración de ciclo biológico

La duración de cada etapa del desarrollo del ciclo de vida de *C. uncinata* se resume en la tabla 2. Para la determinación de cada etapa, se efectuaron comparaciones con los tiempos que se reportan para la duración de las etapas de *C. decolora*, ya que morfológicamente presentan estructuras externas similares (Burgos *et al.*, 2010) lo cual permite que sean biológicamente relacionados y fácilmente comparables.

El ciclo de vida de *C. uncinata*, en individuos alimentados con alstroemeria, y criados bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa $19,72 \pm 0,45^\circ\text{C}$ y $58,41 \pm 5,63\%$ respectivamente, tuvieron una duración promedio de 80 días. Según Moreno y Serna (2006), el ciclo de vida de *C. decolora*, alimentadas con alstroemeria bajo condiciones controladas de temperatura de $23,72^\circ\text{C}$ y Humedad Relativa (HR) $82,93\%$, dura en promedio 49,23 días para las hembras y 49,19 días para los machos; adicionalmente, los mismos autores realizaron el mismo ensayo bajo condiciones de invernadero con temperatura promedio de $17,72^\circ\text{C}$ y HR $65,26\%$, para el cual obtuvieron una duración del ciclo de vida de las hembras de 80,54 días y para machos aproximadamente 77,1 días promedio (Moreno y Serna 2006). Este último resultado de la duración del ciclo de vida de *C. decolora* en condiciones de invernadero, es similar a los resultados de a la duración del ciclo de vida obtenido en esta investigación sobre *C. uncinata*, en individuos alimentados con alstroemeria bajo condiciones de controladas, pues las

condiciones de temperatura y humedad relativa administradas en la presente investigación fueron similares a las condiciones de temperatura y humedad relativa administradas en el invernadero por los autores. Por lo anterior, se determina que la temperatura y la humedad relativa influyen en la duración total del ciclo de vida, pues a mayor humedad relativa y mayor temperatura, menor duración en el ciclo de vida, lo cual es el objetivo para generar crías masivas de insectos. Sin embargo, se ha comprobado que la cría de *Copitarsia* spp., bajo condiciones controladas, la humedad relativa alta no favorece del todo los estados de desarrollo de los individuos, ya que propicia la formación de enfermedades (Restrepo, *et al.*, 2012).

El periodo de desarrollo embrionario (huevo) fue el de menor duración siete días para todas las dietas, en comparación con el desarrollo larval, que tuvo la mayor duración: en coliflor la duración promedio fue de $33,9 \pm 6,74$, con Alstroemeria $35,14 \pm 11,2$ y con la dieta artificial fue de $35,28 \pm 13,7$. Por otra parte, la mayor longevidad en los adultos, se presentó en los individuos alimentados con Alstroemeria: $21,3 \pm 7,3$ días en promedio, seguidos por los alimentados con coliflor con un promedio de $19 \pm 5,6$ días de longevidad y $18,3 \pm 12,3$ en promedio de longevidad en los individuos adultos alimentados con la dieta artificial (tabla 2). Sin embargo, estos datos no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Moreno y Serna (2006) evaluaron la longevidad en adultos de *C. decolora* y determinaron que la duración en promedio de los individuos alimentados con alstroemeria es de 12,60 días bajo condiciones controladas y en condiciones naturales un promedio de 16,72 días (Moreno y Serna, 2006). Teniendo en cuenta lo anterior y los resultados de esta investigación, se hace evidente que los individuos criados bajo las dietas de Alstroemeria, coliflor y la dieta artificial, bajo las condiciones controladas, tuvieron una mayor longevidad (Moreno y Serna, 2006), lo cual podría corroborar lo mencionado anteriormente, donde a mayor humedad relativa y temperatura menor duración del ciclo de vida, y por supuesto que no hay efecto de la dieta sobre el ciclo biológico de *C. uncinata*.

Tabla 2. Duración promedio en días (d) de las diferentes etapas de desarrollo de individuos de *C. uncinata* criados bajo condiciones controladas de laboratorio. 19,72± 0,45°C, y 41± 5,63% HR. n=cantidad de individuos

| Etapas de desarrollo | Días (Media±DE) Dieta | | | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------------|----|-------------|----|---------------|
| | n | Alstroemeria(d) | n | Coliflor(d) | n | Artificial(d) |
| Huevo | 30 | 7 ±0 | 30 | 7 ±0 | 30 | 7 ±0 |
| Larva | 11 | 33,9±6,74 | 7 | 35,14±11,2 | 25 | 35,28±13,7 |
| Pupa | 11 | 25±12,4 | 7 | 22,85 ±8,8 | 25 | 15,32±1,7 |
| Adulto (longevidad) | 11 | 21,3±7,3 | 7 | 19±15,6 | 24 | 18,3± 12,3 |
| Total | | 80±7,5 | | 77±7,2 | | 77,8 ±14 |

Por otra parte, estudios realizados sobre el ciclo de vida de *C. incommoda* sobre cultivos de *Brasica oleracea* L. (Coliflor, Brocoli y Col), muestra que la duración del ciclo de vida en individuos alimentados con coliflor es de 75 días, por otra parte, determinan que la duración en estado larval es la más duradera en comparación con las otras etapas de desarrollo (Flores, 2004). Adicional a esto, se determinó la proporción de sexo, la cual fue para todas las dietas una relación 1:1 de hembras y machos. Al respecto, se observó que diferentes autores reportan la misma proporción sexual en individuos de *Copitarsia* spp., alimentados con diferentes dietas (Castro y Rodríguez, 2015; Flores, 2014).

Tasa de sobrevivencia y fecundidad de *C. uncinata*

Con el objetivo de conocer la tasa de sobrevivencia, se estimaron las curvas de sobrevivencia (Figura 5), la cual es la mortalidad en función del tiempo. Estas se construyeron con los datos de la tabla de vida, desde la etapa larval hasta el adulto. Se observó que la mortalidad en función del tiempo para coliflor y la dieta artificial, presentaron una curva de sobrevivencia tipo I, ya que se evidencia que, aunque hay mortalidad en las primeras etapas de vida, los individuos alcanzan un

momento donde existe baja mortalidad, la cual es constante, y otro en donde esta aumenta rápidamente. Por el contrario, con la curva de sobrevivencia obtenida en *Alstroemeria*, la cual presenta una curva tipo II, hace referencia a una mortalidad que varía poco con la edad; de esta manera el número de individuos que muere en cada tramo de edad es constante (Arribalzaga, 2007). Estudios realizados por Acantila et al., (2004), sobre *C. incommoda*, demostraron que la sobrevivencia de individuos alimentados con una dieta artificial a base de coliflor fue baja en comparación con otras cuatro dietas artificiales a base de trigo y maíz (Acantila et al., 2004), lo que se debe a bajos contenidos de nutrientes o deficiencias de algún nutriente del coliflor (Cibrian, 1994). Por otro lado, estudios realizados por Peraza (2011), muestra que en individuos de *C. decolora* alimentados con hojas de *Alstroemeria* sp, presentaron mayor sobrevivencia y el desarrollo fue más rápido, a diferencia de individuos alimentados con individuos alimentados con cebolla, papa, trébol, uchuva y ají (Peraza, 2011).

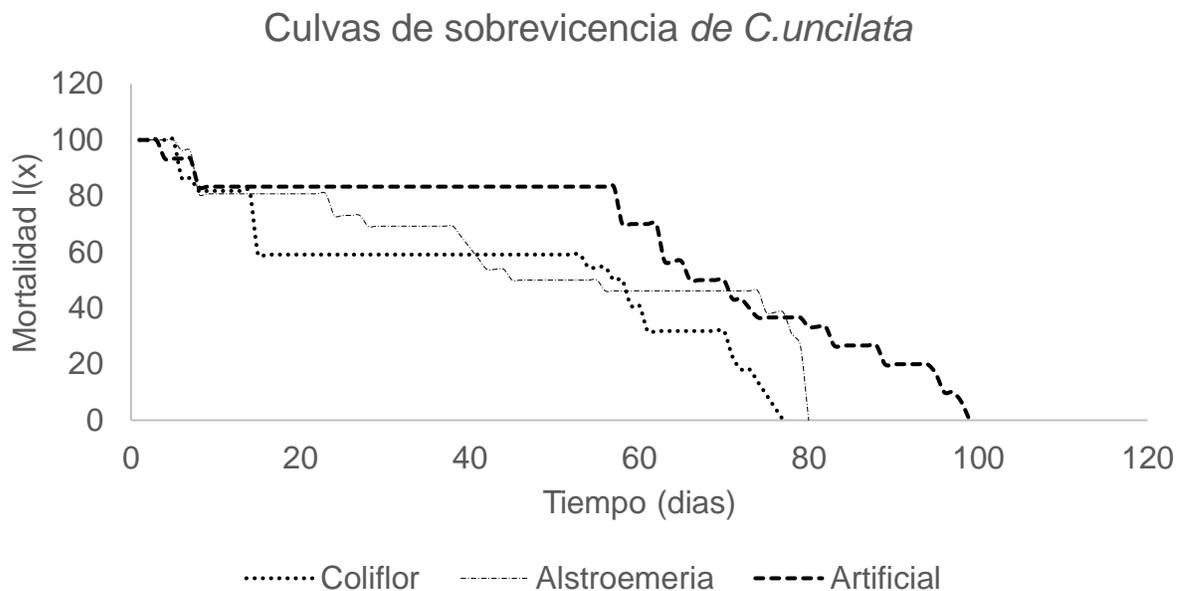


Figura 5. Curva de sobrevivencia de *C. uncilata*, desde la etapa larval alimentados con dos dietas naturales y una artificial

En la figura 6, se presenta la curva de fecundidad de *C. uncilata*, la cual muestra el número promedio de huevos producidos por unidad de tiempo por hembra, según

su edad (Vera *et al.*, 1997). En esta, se puede observar que, en primer lugar, los adultos cuyas larvas se alimentaron con Alstroemeria, presentaron un período más fecundo desde el día 7 al día 10, con un máximo en el día 8; en segundo lugar, los adultos cuyas larvas se alimentaron con Coliflor, presentaron un periodo más fecundo entre los días 9 y 13, con un máximo en el día 11; finalmente, los adultos cuyas larvas fueron alimentadas con la dieta artificial, se observó el periodo más fecundo entre los días 15 y 17, con un máximo en el día 16.

Según flores (2004), quien realizo estudios de fecundidad sobre *C. incommoda* Walker, muestra que los individuos cuyas larvas fueron alimentadas con coliflor obtuvieron una mayor postura de huevos entre las edades 2 y 8, con un máximo de ovoposición en el día 4; pues un factor importante del desarrollo es la dieta suministrada a los individuos y esta influye sobre los parámetros del ciclo de vida, tales como, tamaño de larvas, proporción de sexo, la fertilidad y sobrevivencia (Schowalter, 2006; Cohen, 2004).

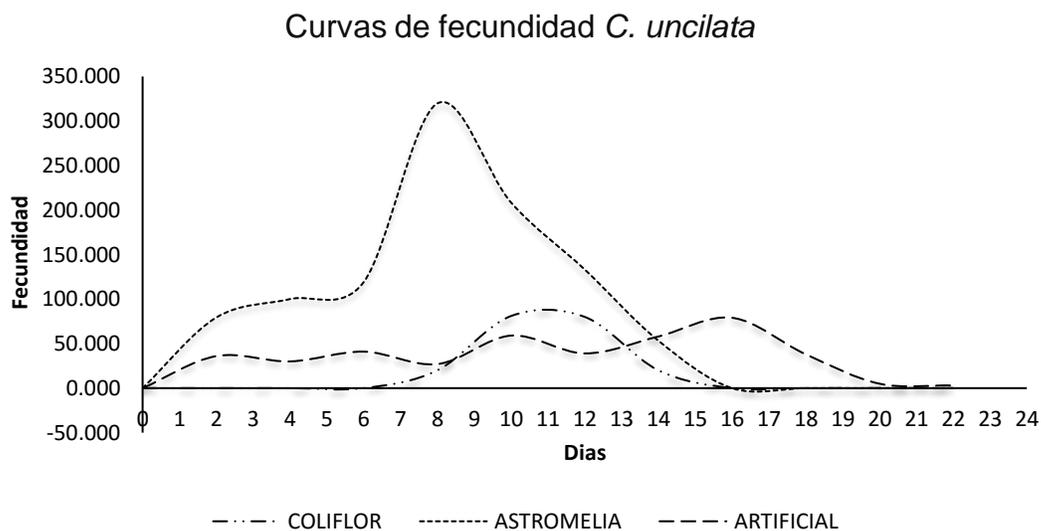


Figura 6. Curvas de fecundidad de *C. uncinata*, alimentadas con dos dietas naturales y una artificial

Por otra parte, las características morfológicas, la calidad nutricional de las plantas y el contenido de metabolitos secundarios, pueden afectar en el desarrollo del insecto, especialmente en estados de larva, pupa y adulto, teniendo consecuencia en la sobrevivencia y fecundidad (Awmack y Leather, 2002)

CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvo información sobre la duración del ciclo de vida de *C. uncinata* en individuos alimentados con alstroemeria, coliflor y una dieta artificial. El ciclo de vida fue más largo en las cohortes alimentadas con la dieta artificial. Sin embargo, los individuos de *C. uncinata*, no presentan diferencias significativas en la duración del ciclo de vida, a pesar de ello, se demostró que el alimento suministrado a las cohortes si influyen en la cantidad de huevos puestos por hembra en el periodo adulto. Por lo tanto, la dieta influye en las tasas de fecundidad de *C. uncinata*. Finalmente se concluye que el alimento no influye de forma significativa en la duración del ciclo de vida de los individuos de *C. uncinata*.

RECOMENDACIONES

Para la cría masiva de *C. uncinata*, se recomienda el uso de la dieta artificial, pues esta dieta presenta ventajas frente a las dietas naturales: en cuanto a su manejo, no requiere mantenimiento diario, ya que al contener antimicrobiales y conservantes, el tiempo útil es mayor que en los alimentos naturales, los cuales duran alrededor de un día. A esto se suma el alto porcentaje de sobrevivencia por ejemplo, del día 7 al día 55 el 80% de los individuos alimentados con la dieta artificial sobrevivieron, en comparación con los individuos alimentados con alstroemeria que al día 55 solo el 50% de los individuos sobrevivieron y en los individuos alimentados con coliflor al día 55 solo el 40% de los individuos sobrevivieron; pues la poca manipulación de los individuos alimentados con la dieta artificial disminuye la probabilidad de mortalidad en los individuos de etapas de desarrollo inmaduro. Por estas razones, si se requiere realizar una cría masiva

de *C. uncinata*, se recomienda alimentar a los individuos con la dieta artificial (Cenicaña, 2006) manejada en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Acantila.** C., Bautista. N., Vera. J., Romero. J., Calyecac. H. 2004. Ciclo Biológico y tasa de supervivencia y reproducción de *Copitarsia incommoda* WALKER (Lepidoptera: Noctuidae) en cinco dietas artificiales. Instituto Fitosanitario . Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de Mexico.. Agrociencia. 38: 355-363pp.
2. **Angulo,** A., Olivares. S. 2003. Taxonomic Update of the species of *Copitarsia* Hampson 1906 (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae) Gayana 67:33-38pp.
3. **Artiagas.** J., Angulo. A. 1973. *Copitarsia consueta* (Walker), biología e importancia en el cultivo de raps (Lepidoptera: Noctuidae). Bol Soc Biol Concep. 46: 199-216pp.
4. **Arestegui.** P. 1976. Plagas de la papa en Andahuaylas, Apurimac. Rev Peru Entomol. 19:97-98pp.
5. **Arribalzaga,** E. (2007). Interpretación de las curvas de supervivencia. *Revista chilena de cirugía*, 59(1), 75-83.
6. **Awmack.** C., Leather. S. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insectis. Annual Review of Entomology 47: 817-844pp.
7. **Barrios,** D., Alatorre, R., Calyecac, G., Bautista, N., (2004) "Identificación y fluctuación poblacional de plagas de col (*Brassicaoleraceavar. capitata*) y sus enemigos naturales" en *Acatzingo, Puebla. Agrociencia*. 38,239-248pp.
8. **Brambila,** J. 2009. Pasos para la disección de las polillas macho de los Spodoptera (Lepidoptera: Noctuidae) y notas sobre la distinción de *S. litura* y *S. littoralis* de especies nativas de Spodoptera. USDA-APHIS-PPQ.
9. **Burgos.** R., Leiva. R., Angulo. A., Olivares. T. 2010. *Rev Copitarsia uncilata* Burgos y leiva sp. Nov. De Cucullinae para Colombia y Mexico (Lepidoptera, Noctuidae). *Bras. Entomol.* 54:372-375pp.
10. **Castro.** A., Rodriguez. D.2015. Life cycle parameters of *Copitarsia uncilata* (Lepidoptera: Noctuidae) on three natural diets. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* 69(1), 7763-7771pp.

11. **Cenicaña**. 2006. La cría de *Diarea saccharalis* (**F.**) para la producción masiva de sus enemigos naturales. Centro de investigación de la caña de azúcar de Colombia. 3: 19-22pp.
12. **Ceballos**. M., Schmelz. E., Meagher. R., Teal. P. 2006. Attraction of Spodoptera frugiperda larvae to volátiles from Herbivore-Damaged Maize Seedlings J Chem Ecol, 32:1911-1924pp.
13. **Cibrian**. J., Sugimoto. A. 1992. Elaboracion de una dieta artificial para la cría de Copitarsia consueta Walker (Lepidoptera: Noctuidae).
14. **Cibrian**. J. 1994. Factores que influyen en la cría de insectos en condiciones controladas. *In*: Técnicas para la Cría de Insectos. Bautista, M. N., G. Vejar C. y J. L. Carrillo S. (eds). Colegio de Posgraduados. Instituto de Fitosanidad. Montecillo, Estado de México. pp: 11-23
15. **Flores**. L., Bautista. N., Vera. J., Valdez. J., Angulo. A. 2004. Ciclo de vida y tasas de supervivencia y reproducción de *Copitarsia incommoda* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) en tres cultivares de *Brassica oleracea* L. Instituto Fitosanitario . Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de Mexico.. Agrociencia.38: 517-523pp.
16. **Hamity**. A., Roman. N. 1993. Morfología de los estados inmaduros y aspectos etológicos de *Copitarsia turbata* (Herrich-Schaffer) (Lepidoptera:Noctuidae). Neotrop. 39:29-33pp.
17. **Hamity**. A., Roman. N. 1992. Aspectos bioecologicos de *Copitarsia turbata* (Herrich-Schaffer) importante en la determinación del daño económico en cultivos de Lactuca sativa L. De la qurbrada de Humahuca, Jujuy, Argentina. Rev Soc Entomol Arg.50:73:87pp.
18. **Hichins**, N., Mendoza. M. 1976. Algunas observaciones sobre hábitos y costumbres de estadios larvarios de Noctuidios asociados a la alfalfa en Lluta y camarones (Lepidoptera: Noctuidae). Indesia. 4:163-169pp.
19. **Moreno**, O., Serna F. 2006. Biología de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae), en flores cultivadas del híbrido comercial de *Alstroemería* spp en Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 59:1, 3257-3270pp.

20. **Lamborot.** L., Arretz. P., Guerrero. M., Araya. J. 1995. Parasitismo de huevos y larvas de *Copitarsia turbata* (Herrich y Schaffer) (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos hortícolas en la región metropolitana. Act Entomol Chile. 19:129-133pp.
21. **Larrin.** P. 1984. Plagas de la alcachofa. Invest Prog Agropec La platina. 25:19-22pp.
22. **Lopez.** A. 1996. Plagas de ajo y cebolla. In. Anon, "El cultivo de ajo y las cebollas en Colombia. 61-71pp.
23. **Loo.,** E., Aguilera. P. 1983. Multiplicación experimental de *Trichogramma brasiliensis* (Ashm) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en la IV Region de Chile. Idesia. 7:45-52pp.
24. **Peraza.** A. 2011. Preferencia de hospedero y parámetros de desarrollo de *Copitarsia decolora* sobre plantas seleccionadas para la diversificación del cultivo de Uchuva (*Physalis peruviana*). (*Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia*).
25. **Restrepo.** J., Sanchez. R., Gallego.J., Beltran. T., Soto. C., Nieto. F., Hernandez. H. 2012. Manejo Integrado de Plagas enfermedades en el cultivo del caucho (*Havea brasiliensis*) Medidas para la temporada invernal. ICA. Bogota, Colombia. 19p.
26. **Rojas.** J., Cibrian. J. 1994. Reproductive behavior of *Copitarsia consueta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae): Mating Frequency, effect of age of mating and influence of delayed mating on fecundity and egg fertility. Pan-pacific Entomol. 70:276-28.
27. **Riley,** D.,(1998). "Identification key for *Copitarsia*, *Spodoptera exigua*, and *Peridormasauca*" en *US Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service (Internal report), Pharr, TX.*
28. **Schowalter** T. 2006. Insect Ecology: An Ecosystem Approach. Academic press, segunda ediccion. 576p.
29. **Singh.** P. 1976. Artificial Diets for Insects, Mites, and Spiders. Entomology Division, Department of Scientific and Industrial Research. Auckland, New Zealand. 1-25pp.

- 30. Suarez, D., Bautista. N., Valdez. J., Angulo., A., Alatorre. R., Vera. J., Equihua. A., Pinto. V.** 2006. Fluctuación poblacional de *Copitarsia decolora* (Gueéne) y su asociación con crucífera comerciales. *Agrociencia*. 40(4):501-509pp.
- 31. Vennette. R., Gould. J.** 2006. A pest risk assessment for *Copitarsia* spp., Insects associated with importation of commodities into the United States. Department of Entomology and Midwest Ecological Risk Assessment Center, University of Minnesota, *Euphytica*. 148: 165-183pp.
- 32. Velasquez. Z.** 1988. Ciclo biológico de *Copitarsia turbata* (Lep:Noctuidae) sobre cebolla, en Antioquia. *Rev Peru Entomol*. 30:108-110pp.
- 33. Vera, G., Pinto. V., Lopez. J.** 1997. Ecología de la población de insectos. Univesidad Autonoma chapingo. Mexico. 132p.

CAPITULO 2

VOLÁTILES ALMACENADOS EN LA GLÁNDULA SEXUAL DE *Copitarsia uncilata* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ALIMENTADAS CON DOS DIETAS NATURALES Y UNA ARTIFICIAL.

Resumen

La comunicación entre insectos está regulada por compuestos químicos mensajeros conocidos como semioquímicos, los cuales pueden ser feromonas, que en el caso de Lepidópteros de la familia Noctuidae se encuentra sintetizada en la glándula sexual de las hembras. El uso de las feromonas, actualmente ha sido una herramienta potencial para el control de plagas, ya que disminuye el uso de insecticidas para el control de plagas. Por esta razón la presente investigación tuvo como objetivo determinar los componentes volátiles de la glándula sexual de *C. uncilata* alimentada con dos dietas naturales y una artificial, con el fin de evaluar la influencia que estos tenían sobre la composición de la glándula. Para ello se realizó un ensayo de comportamiento, el cual determinó que el potencial reproductivo de la especie era entre los cinco y seis días de edad adulta. Para analizar los componentes volátiles, se seleccionaron hembras vírgenes de cada uno de los tratamientos: individuos alimentados con coliflor, alstroemeria y una dieta artificial, para cada tratamiento se seleccionaron hembras a las cuales se les realizó disección de la glándula sexual, la cual fue diluida en diclorometano, el extracto fue evaluado por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas. Se encontró que los individuos evaluados bajo las diferentes dietas contenían en la glándula sexual un componente mayoritario y uno minoritario presentes en la feromona sexual de Noctuidae, adicionalmente se determinó que el alimento influye en la composición de la glándula sexual y asimismo en la fecundidad.

Palabra clave: *Copitarsia uncilata*, dieta natural, dieta artificial, duración de ciclo de vida

Abstract

Communication between insects is regulated by chemical compounds known as semiochemicals, which can be pheromones, in the case Noctuidae family is stored in the female's sexual glands. Nowadays, the using of pheromones has been a potential tool for plague control, because it reduces the side effects of pesticides. Nevertheless, it is not known about its dynamics of production on the insect and its variation neither, depending its diet. For this reason, this research had as a target to determine the volatile components of the *C. uncilata* sexual gland, feeding with two natural diets and an artificial one, to evaluate the influence that these(diets) had over the gland composition. For fulfil that, it was made a behavioral, which determined that the reproductive potential of the species was between five and six days of its adult age. To analyze volatile components, virgin females were selected from each one of the treatments: individuals fed with cauliflower, alstroemeria and one with an artificial diet. For each treatment, females were selected and dissected its sexual gland, which was placed on dichloromethane. The final extract was analyzed by a gas chromatography coupled to a mass spectrometry. It was determined that all evaluated individuals under the different diets presented as a principal component the and the as minor component in present sexual gland`s. In addition, it was determined that food influences in the production of compounds of the sexual gland and fertility.

Key words: Semiochemicals, sexual pheromone, *Copitarsia uncilata*, natural and artificial diets, sexual gland's chemical composition.

ESTADO DEL ARTE

Semioquímicos

La comunicación entre insectos está regulada por compuestos químicos mensajeros conocidos como semioquímicos (Howse, 1998); estos se clasifican en feromonas y aleloquímicos; las feromonas están implicadas en la comunicación intraespecíficas y los aleloquímicos están implicados en la comunicación interespecífica (tabla 1) (Vacas, 2011)

Tabla 1. Clasificación y función de los semioquímicos en los insectos. Tomado y modificado de (Vacas, 2011)

| Semioquímicos | Tipos | Función |
|---------------|------------|----------------------------------|
| Feromonas | Inductoras | De alarma, sexuales, agregación |
| | Primarias | De maduración sexual, desarrollo |
| Aleloquímicos | Kairomonas | Benefician al receptor |
| | Alomonas | Benefician al emisor |
| | Sinomonas | Benefician emisor y receptor |
| | Antimonas | No beneficia a ninguno |

Feromonas en los insectos

Las primeras investigaciones en etología de polillas (Lepidoptera:Noctuidae) fueron realizadas por J.H Fabre a finales del siglo XIX, en donde afirmó que las hembras eran capaces de emitir una sustancia que atraía a los machos (Jones, 1998). Hasta el siglo XX estas sustancias fueron identificadas como compuestos orgánicos de tipo hidrocarburo de cadena lineal (Vacas, 2011).

La palabra feromona significa "*Portador de excitación*", la cual se refiere a las sustancias de origen animal que logran producir una reacción específica en

miembros de la misma especie (Karlson y Luscher, 1959). En 1959 fue descubierta la primera feromona sexual de un insecto, la polilla de seda (*Bombyx moli* L.) (Jutsum y Gordon, 1989). Desde entonces, se han venido haciendo diferentes investigaciones sobre estas, autores como: Wilson y Bossert (1963), clasificaron las feromonas en inductoras y primarias, las primeras provocan un cambio inmediato en el comportamiento, y las segundas provocan cambios en el desarrollo (Wilson y Bossert, 1963). Dentro de las feromonas de inducción se encuentran las feromonas sexuales, las cuales son emitidas por las hembras, y generan una respuesta inmediata de atracción en los machos ocasionando la copula (Vacas, 2011).

Las feromonas sexuales son emitidas desde la glándula sexual de la hembra, los análisis muestran feromonas compuestas de dos, tres y hasta 10 compuestos elementales diferentes, los cuales se caracterizan por tener cadenas de hidrocarburos lineales comprendidos por 10 a 18 átomos de carbonos que llevan una función primaria, acetato o aldehído, además tienen presente uno o dos radicales insaturados cuya información es fundamental para la especificidad del mensaje químico (Pierre, 1989).

La identificación de estos compuestos es llevada a cabo mediante diferentes técnicas, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas la espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases (CG-EM) o líquida (EM-HPLC), espectroscopia de infrarrojo, espectroscopia de ultravioleta-visible y la resonancia magnética nuclear (RMN) (Vacas, 2011). Por su parte la (CG-EM) es una técnica de separación ideal, lo que se contribuye a su alta sensibilidad (Jones et al., 1999).

Uso de las feromonas para el control de plagas

Las plagas en los cultivos, provocan graves daños y por lo tanto pérdidas para la agricultura, por esta razón es importante evaluar nuevos métodos de control que sean más eficientes, generando menos efectos negativos en el ambiente, lo cual genere un desarrollo de la agricultura de una forma sostenible, por consiguiente, el uso de feromonas es una herramienta potencial para esto (Vacas, 2011), ya que ayuda a la detección y seguimiento de las poblaciones y de esta manera evalúa métodos directos de control (Campion y Nesbitt, 1981).

Métodos directos de control con el uso de feromonas sexuales

Captura masiva: consiste en el uso masivo de trampas de feromona por hectárea, con el fin de conseguir control la plaga con la captura de individuos de la población en un número elevado, en este, ocurre la atracción: una vez el individuo es atraído, es expuesto a un toxico que lo infecta o lo esteriliza (trasmite esto a la población) o directamente produce su muerte y la confusión sexual: esta técnica bloquea la comunicación entre macho y hembra, saturando el medio donde se transporta la feromona sexual, logrando impedir las copulas y de esta manera evitar la reproducción de la especie (Vacas, 2011).

La desorientación de los machos por el método directo de confusión sexual puede darse por diferentes mecanismos: (Weatherston, 1990), adaptación/habituación, este tiene efectos neurofisiológicos directos sobre el insecto por la elevada exposición de la feromona, ocasionando que no responda al estímulo natural, otro mecanismo es el de pista falsas, el cual ocurre cuando el macho recibe muchas señales desde distintos puntos emisores de la feromona, las cuales compiten con las señales de las hembras, finalmente el mecanismo de camuflaje que puede ocasionar que la emisión natural sea camuflada por la sintética, por las altas concentraciones de la feromona en la trampa (Vacas, 2011).

Feromonas estudiadas en *Copitarsia* spp.

Diferentes autores reportan estudios en la identificación de la feromona sexual de *Copitarsia* spp.; Espinoza *et al.*, (2012), evaluó en *C. corruda*, la composición de los compuestos volátiles de un extracto diclorometano de las glándulas sexuales de insectos hembra, por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, donde se identificó el compuesto acetato de (*Z*)-tetradec-9-enilo, el cual describen como el compuesto principal de la feromona sexual (Espinoza, *et al.*, 2012).

Una de las especies más estudiadas es *C. decolora*, pues es hospedera de varios cultivos de importancia económica; Barriento *et al.*, (2011) evaluaron la tasa de liberación de la feromona sexual de *C. decolora*, (Lepidoptera: Noctuidae) en brócoli, donde determinaron la presencia de tres compuestos: acetato de (*Z*)-tetradec-9-enilo (Z9-14:Ac) , (*Z*)-tetradec-9-en-1-ol (Z9-14:OH), en los cuales la emisión y estabilidad de la feromona varía por factores como la temperatura y humedad relativa (Barrientos , *et al.*, 2011). Por otro lado, Rojas *et al.*, (2005), recolectaron volátiles y extractos de la glándula sexual de hembras vírgenes e identificaron los componentes de la feromona sexual de *C. decolora*. Dentro de estos, el Z9-14: OH y Z9-14:Ac fueron activos electrofisiológicamente, cuya prueba en campo dio como resultado captura de machos adultos (Rojas *et al.*, 2006).

El uso de trampas cebadas con componentes identificados de la síntesis de feromonas sexuales de *C. decolora* y *C. corruda*, ha sido exitosas en el control de estas plagas en México y en Perú (Barrientos *et al.*, 2011 y Espinosa *et al.*, 2012). Sin embargo, en Colombia no se han realizado estudios sobre *C. uncinata* ni su dinámica de producción en el insecto. Por esta razón, la siguiente investigación tuvo como finalidad determinar la

composición de los volátiles almacenados en la glándula sexual de las hembras de *C. uncinata* de cinco y seis días de edad alimentadas con dos dietas naturales y una artificial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar la composición de los volátiles almacenados en la glándula sexual de *C. uncinata* se utilizaron los individuos del pie de cría establecido en el primer capítulo del presente estudio. En el laboratorio de Control Biológico del campus Cajicá de la Universidad Militar Nueva Granada, los individuos fueron monitoreados hasta la edad adulta, los cuales se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo invertido ($19,72 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$, $58,41 \pm 5,63\%$, 12:12 (L:O)) (Castro y Rodríguez, 2015). De la misma manera, las larvas fueron alimentados con coliflor (*Brassica oleracea* var *Botrytis*) (alimento refrigerado) y Alstroemeria (*Alstroemeria* sp) (en fresco) debido a que se ha reportado que *Copitarsia* spp. se alimenta del follaje de dichas variedades (Barrios *et al*, 2004 y Suarez, *et al.*, 2006); estas fueron obtenidas del invernadero de Control Biológico de la Universidad. En cuanto a la dieta artificial fue empleada la reportada por cenicaña para cría masivas de *Diatrea saccharalis* (Cenicaña,2006).

Ensayo de Comportamiento Reproductivo

Con el fin de determinar el efecto de la edad en el comportamiento reproductivo de los individuos de *C. uncinata*, se evaluaron 46 parejas (hembra y macho) de un día de emergidas (alimentadas con una solución azucarada en una relación 1:1), las cuales fueron dispuestas en cámaras de copula. Los individuos fueron monitoreados mediante un avistamiento con luz roja durante 12 horas (18:00 horas- 06:00 horas), por siete días, en donde se evaluaron, cada 20 minutos, aspectos comportamentales de los individuos adultos como actividades reproductivas (exposición de la

glándula de la hembra, exposición de los claspers de los machos, cortejo, intento de copula, copula). La copula se caracterizó por la visualización de la unión de los genitales de la hembra y el macho, quedando ambos viendo a lados opuesto, y terminando al momento de separarse. Así mismo, se midió la fecundidad, teniendo en cuenta el número total de huevos ovipositados.

Análisis e identificación de compuestos volátiles de *Copitarsia pos uncilata*

Preparación del extracto glandular

El ensayo de comportamiento marco tres rangos de edad, de 1 a 2 días (E1), de 2 a 4 días (E2) y de 4 a 6 días (E3). A partir de esto se utilizaron individuos de la edad 3, edad en la cual se generó mayor exposición de glándula sexual por mayor proporción de fecundidad de los individuos. A partir de esto, se seleccionaron hembras vírgenes de 5 a 6 días de edad, discriminando la alimentación en el estado larval: brócoli, alstroemeria y la dieta artificial. La extracción de la glándula se realizó entre las dos y cuatro horas de escotofase (Altamar, 2016). Para este fin, se realizó una incisión, seguido de una leve presión, en la región terminal del abdomen para ser posible la exposición de la glándula y posterior corte con tijeras de disección. Cada glándula disectada se sumergió en viales de 2 mL conteniendo diclorometano en una relación de 5 μ L/glándula (Figura 1). El extracto se analizó ocho días después de la extracción, el cual se mantuvo a -20°C.

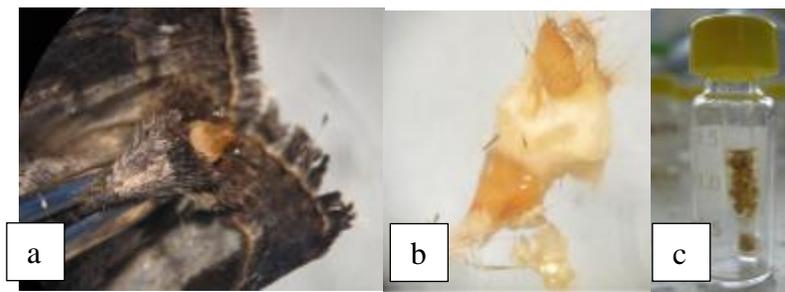


Figura 1. Pasos de extracción de glándula sexual de *Copitarsia uncinata*. (a) Segmento terminal del abdomen, glándula expuesta, (b) corte de la glándula. (c) vial (Altamar, 2015)

Análisis e identificación de compuesto volátiles de la feromona sexual de *Copitarsia uncinata*

Para el análisis de la composición de los extractos glandulares, se inyectaron 10 μL del extracto glandular en un cromatografo de gases acoplado a espectrofotometria de masas (CG-EM), técnica analítica dedicada a la separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles. La inyección se llevó a cabo teniendo en cuenta dos programas de temperaturas descrito por Altamar *et al.*, (2016), el cual indica que la temperatura inicial empleada es de 100°C, la cual se incrementa cada cinco minutos hasta alcanzar 250°C, temperatura que se mantuvo durante cinco minutos, seguido a esto, se incrementó 10°C hasta alcanzar una temperatura de 280°C, temperatura que se mantuvo por cinco minutos más. Por otra parte, se utilizó helio como gas de arrastre a un flujo constante de 2 mL/min. La identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante la utilización del Software Thermo Xcalibur por medio de la librería de espectros de masa del Instituto Nacional de estándares y Tecnología (NIST).

Para el análisis de los datos obtenidos y para determinar el efecto de las dietas sobre la composición de la feromona sexual de *C. uncinata*, se realizó

un análisis multivariado mediante el software SIMCA v. 13.03.3, el cual permitió evaluar las variables con respecto a la dieta, determinando de esta manera similitudes y diferencias. Para tal fin, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) (Pearson, 1901), para determinar varianzas entre todas las muestras. Después de esto, se realizaron correlaciones de dietas mediante mínimos cuadrados parciales ortonormalizado discriminando por dietas (OPLS-DA) (Worsley *et al.*, 1996). Para determinar varianzas y correlaciones entre las muestras, se discriminaron los datos de esta manera: Alstroemeria con Artificial, Alstroemeria con coliflor, Artificial con coliflor, (de cada uno de estos tratamientos (dietas), se realizaron tres repeticiones ver tabla 2) y finalmente se determinó si existía una relación con la tasa de fecundidad en los individuos alimentados con diferentes dietas y la composición de la feromona bajo estas condiciones.

Tabla 2. Nomenclatura de repeticiones en cada uno de los tratamientos (dietas). E3: edad tres (cinco y seis días)

| Tratamiento_Repetición | | | | | |
|-------------------------------|---------|----------|---------|------------|---------|
| | AlsE3_1 | | ColE3_1 | | ArtE3_1 |
| Alstroemeria | AlsE3_2 | Coliflor | ColE3_2 | Artificial | ArtE3_2 |
| | AlsE3_3 | | ColE3_3 | | ArtE3_3 |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento reproductivo de *C. uncinata*

En el ensayo de comportamiento, se pudo observar que la fluctuación del comportamiento reproductivo de los individuos se encuentra ligado a la edad, pues entre la edad 2, la actividad de cortejo se presenta en el 50% de los individuos, por otro lado el pico de copula se encuentra en los individuos con 3 días de edad, con el 30% de los individuos, y en el día 7 se observa que la fecundidad aumenta exponencialmente (Figura 2). Según Reyes *et al.*, (2015), en *C. decolora* la edad

de los individuos afecta el potencial reproductivo de los mismos; por esta razón la E3 a evaluar en esta investigación fue seleccionada, ya que el alto porcentaje de individuos en esa edad estaban ovipositando y por lo tanto exponiendo la glándula sexual, ya que en esta se encuentra el ovipositor. (Burgos y Leiva, 2006)

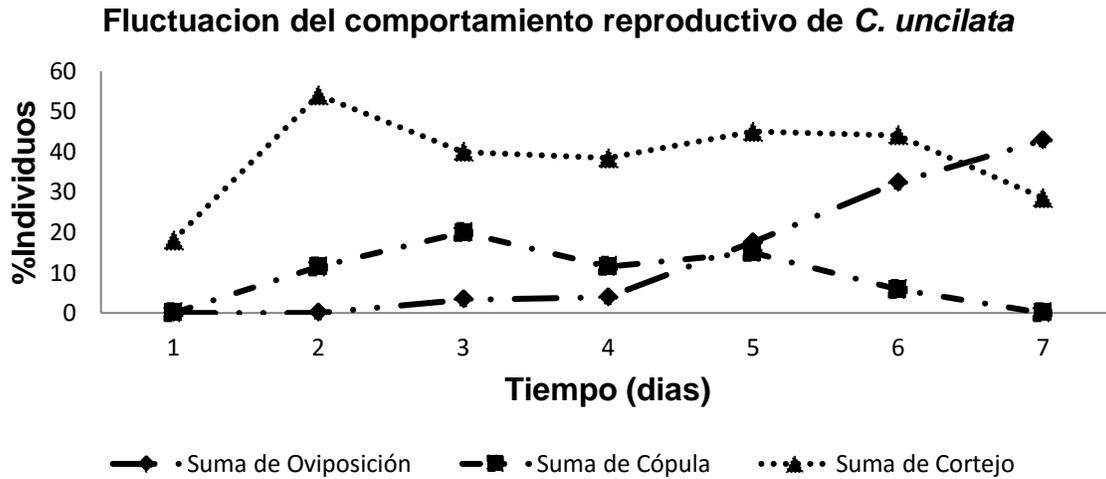


Figura 2. Fluctuación del comportamiento reproductivo de *C. uncilata* representado por el porcentaje de individuos en función del tiempo.

Análisis e identificación de compuestos volátiles de *C. uncilata*

El análisis por CG-EM de los compuestos volátiles de las glándulas sexuales de *C. uncilata* alimentadas con dos dietas naturales y una artificial, detectaron 10 compuestos diferentes (Tabla 3). Entre ellos, se destacan hidrocarburos, alcoholes de cadenas largas y ácidos grasos. Dentro de los hidrocarburos, el más abundante fue el tetradec-9-en-1-il acetato en las tres dietas, presentando mayor abundancia relativa en individuos alimentados con *Alstroemeria* (17,7%). De la misma manera, algunos autores han determinado que este compuesto, el acetato de (Z)-tetradec-9-en-1-ol, es una feromona potencial del insecto *C. corruda* (Espinoza *et al.*, 2012). Además, el compuesto tetradec-9-en-1-ol también está presente en la feromona sexual de *C. decolora* (Rojas *et al.*, 2006), al igual que en *C. corruda*, pues estos compuestos tienen una respuesta electrofisiológica positiva en las antenas del macho (Espinoza *et al.*, 2012). Sin embargo, este compuesto no está

presente en los individuos criados bajo la dieta artificial, lo que puede estar sujeto al tipo de alimento empleado, pues la mayor parte de los componentes glandulares, que para este caso son ácidos grasos, el 41% de la composición, se derivan del alimento o planta hospedera consumido por el insecto en estado larval (Wadhams, 1990 y Muñis, 2007).

Tabla 3. Composición de los volátiles almacenados en las glándulas sexuales de *C. uncinata* de cinco y seis días de edad (TR: tiempo de retención) (IR: índices de retención)

| No | Nombre compuesto | Tr(min) | IR | Abundancia relativa (%) | | |
|----|-----------------------------|---------|------|-------------------------|-------------|------------------|
| | | | | Alstroemeria | Coliflor | Dieta artificial |
| 1 | 4,11-dimetil tetradecano | 16,32 | 1498 | 0,58 ± 0.02 | 2,1 ± 1.2 | 25 ± 1.4 |
| 2 | 2,6,19-trimetil tetradecano | 17,39 | 1548 | 0,9± 0.26 | 2,0 ± 1.6 | 3,3± 1.8 |
| 3 | tetradec-9-en-1-ol | 20,42 | 1673 | 0,9± 0.44 | 0,64 | - |
| 4 | tetradec-9-en-1-il acetato | 23,23 | 1792 | 17,7 ± 10,6 | 6,9 ± 7,3 | 8,4 ± 2,6 |
| 5 | octadecano | 23,35 | 1802 | 2,0 ± 0.7 | 3,5 ± 1.22 | 4,2 ± 0.6 |
| 6 | tetradec-1-il acetato | 24,46 | 1806 | 3,7± 2,7 | 1,6 ± 0,3 | 1,8 ± 0.6 |
| 7 | nonadecano | 25,65 | 1902 | 0,7 ± 0.08 | 1,9± 0.83 | 1,44± 0.26 |
| 8 | octadecan-1-ol | 28,98 | 2078 | 0,8 ± 0.35 | 1,56± 0.9 | 1,2 ± 0.56 |
| 9 | octadec-9,12,15-trienal | 30,57 | 2023 | 2,4 ± 2.5 | 1,05 ± 0.56 | 1,03± 0.3 |
| 10 | 2,4,10-trimethyl eicosano | 32,94 | 2189 | 1,0 ± 0.34 | 1,2 ± 0,12 | 4,7 ± 1,1 |

Por otra parte, también se evidenció la presencia de 4,11-dimetil tetradecano en la glándula sexual de *C. uncinata*, en individuos alimentados en estado larval con alstroemeria, coliflor y la dieta artificial, siendo más abundante en la dieta artificial (2,5 %). Este mismo compuesto se fue evidenciado en las glándulas abdominales de *Pachycodyla sennaarensis* (Formicidae: Poreninae) hormiga de fuego (Reza, *et al.*, 2009) y en *Trichodema harzianum* (Hymenoptera: Hypocreae) (Shafiqzaman, *et al.*, 2012), hongo fungicida usado para el control de plagas en plantas, *Trichoderma* spp. están presentes en casi todos los suelos (Yedidia, *et al.*, 1999). Por lo tanto, este compuesto se puede transmitir por el alimento de los individuos y es almacenado por las hembras en la glándula sexual.

La presencia del compuesto octadecano en la glándula sexual de *C. uncinata* fue evidenciado, siendo más abundante en la dieta artificial (4,2%), este compuesto se ha reportado en diferentes especies de insectos, dentro de los cuales se encuentra *Amauris niavius* (Lepidoptero: Danainae) (Pherobase, 2017) y en plantas, en donde cumple una función antihelmíntica, es decir ayuda a prevenir infecciones por parásitos (Moya y Escudero, 2015).

Finalmente, en el extracto de la glándula sexual de *c. uncinata*, fueron encontrados compuestos de tipo alcohol primario (Tabla 3): tetradec-9-en-1-ol (3), tetradec-9-en-1-il acetato (4), tetradec-1-il acetato (6), octadecan-1-ol (8) y octadec-9-12-15-trienal (9). De estos compuestos, se han reportado que tetradec-1-il acetato y octadecan-1-ol son compuestos minoritarios de las feromonas en lepidópteros (Martínez *et al.*, 1990), de igual forma los mismos compuestos han sido reportados por Altamar *et al.* (2015), en *Copitarsia pos. uncinata*. Adicionalmente compuestos como tetradec-9-en-1-ol (3), tetradec-9-en-1-il acetato (4), tetradec-1-il acetato (6), están presentes en especies pertenecientes al orden Lepidóptera de la familia Noctuidae, al igual que en otros ordenes de insectos (Pherobase, 2017), pues estos compuestos presentan la estructura típica de las feromonas tipo I, las cuales se caracterizan por tener alcoholes primarios y derivados de acetatos y aldehídos (Ando *et al.*, 2004).

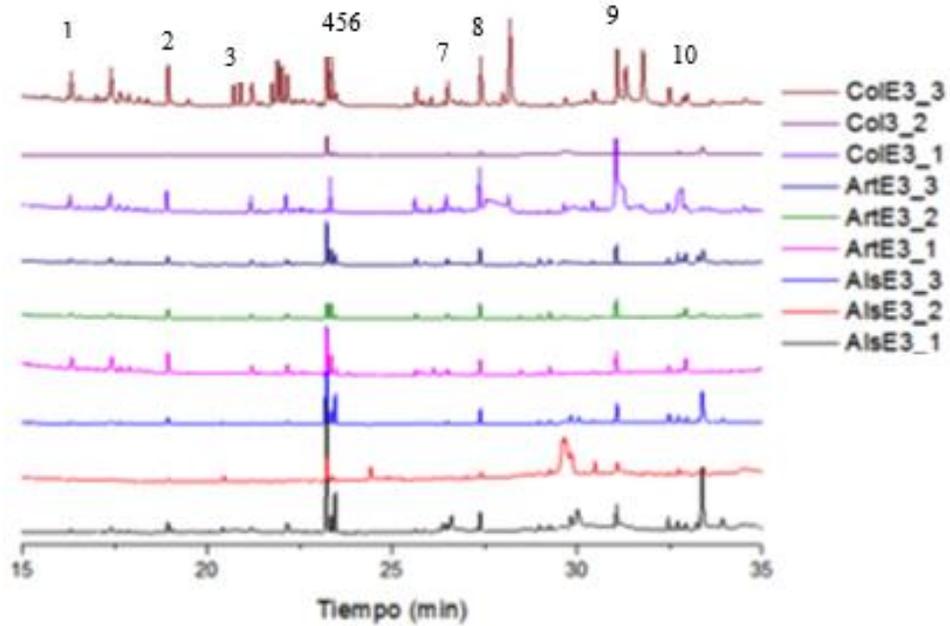


Figura 3. Cromatogramas de los compuestos volátiles de las glándulas sexuales de hembras de *C. uncinata* alimentadas con Coliflor (Col3), Dieta artificial (Art3) y Alstroemeria (Als3). Cada uno de los tratamientos presenta tres cromatogramas (dieta_repeticion) (cada una de las señales o picos hacen referencia al número del compuesto de la tabla 3)

Análisis multivariado

Por medio del análisis de componentes principales, se realizó en primer lugar, una discriminación por grupos similares, lo cual arrojó cinco grupos diferentes (Figura 4). Estos asociaron a las muestras ArtE3_1, ArtE3_2, ArtE3_3, ColE3_1 y ColE3_2 en el grupo 1, lo cual describe que estas muestras son similares entre sí. Las muestras AlsE3_1 grupo 2, AlsE3_3 grupo 3, AlsE3_2 grupo 4 y ColE3_3 fue designada en el grupo 5. Lo anterior determina que las muestras tienen diferencias entre sí; sin embargo, las muestras de pertenecientes a individuos alimentados con Alstroemeria se encuentran en el mismo cuadrante y cercanas

entre ellas, diferente a las muestras de individuos alimentados con coliflor que se encuentran en cuadrantes diferentes a las otras muestras y muy alejado entre los mismos. Esto puede deberse a que los individuos analizados en esta repetición se les suministró coliflor adquirido en almacenes de altas superficies (Carulla), al contrario de las otras dos repeticiones que se alimentaron con coliflor cultivado en la universidad. Esta diferencia se puede correlacionar con que las características químicas de los suelos pueden variar las composiciones químicas de las plantas (Fassbender y Bornemisza, 1987), esto explicaría la gran diferencia de esta muestra con las otras.

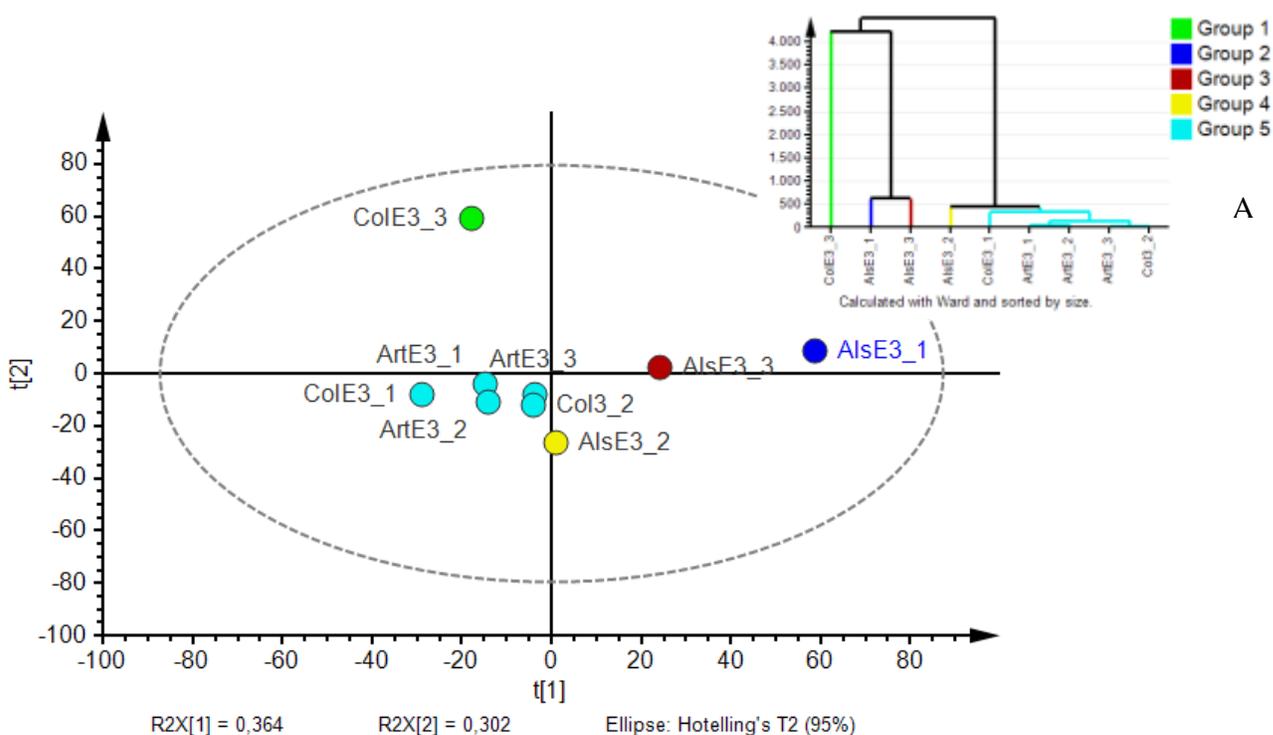


Figura 4. Modelo PCA derivado de los cromatogramas obtenidos por el análisis de los compuestos de la glándula sexual de *C. uncinata* alimentadas con tres dietas diferentes (Alstroemeria: AlsE3_n), (Coliflor: ColE3_n), (Artificial: ArtE3_n), donde n es el número de repetición. (A). Análisis jerárquico de grupos.

Después de realizar PCA, se realizó en segundo lugar un OPLS-DA, en el primer caso (Figura 5), se observa que se diferenciaron tres grupos, los cuales

pertencen a cada una de las dietas, lo que determina que cada una de las dietas genera un efecto diferente sobre los volátiles almacenados en la glándula sexual de *C. uncinata*, dado que el alimento suministrado a los individuos en estado larval, afecta la composición química en los insectos en estado adulto (Blanco, 2004 y Lahoz, 2003).

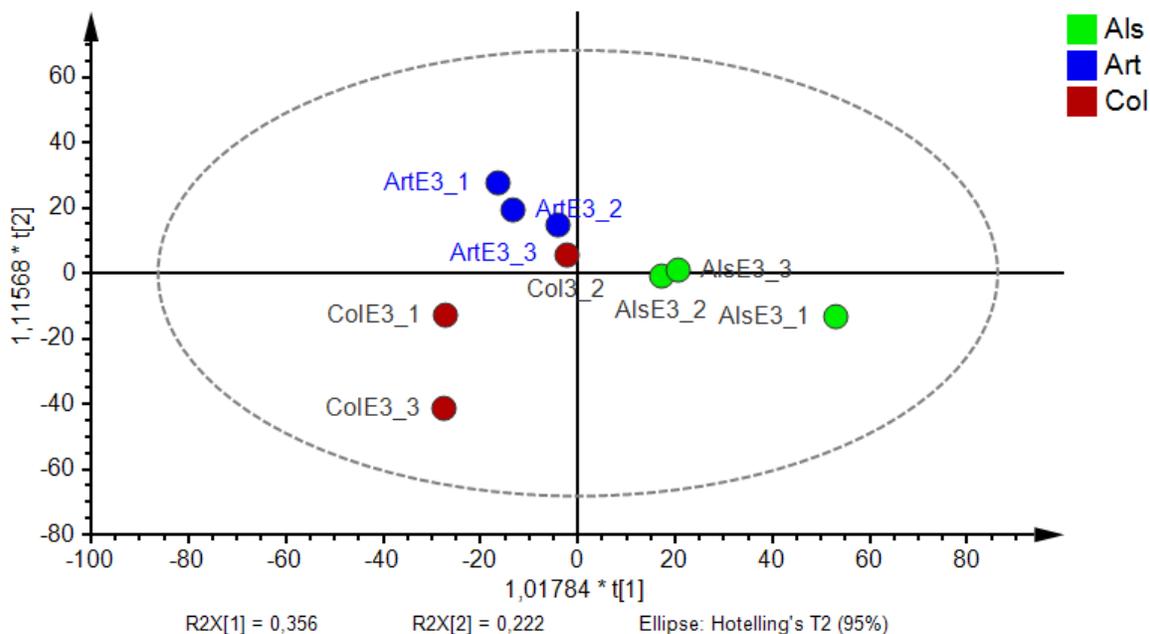


Figura 5. Modelo OPLS-DA derivado de los Cromatogramas obtenidos del análisis de los compuestos de la glándula sexual de *C. uncinata* alimentadas con tres dietas diferentes (Alstroemeria: AlsE3_n), (Coliflor: ColE3_n), (Artificial: ArtE3_n), donde n es el número de repetición.

En tercer lugar, se discriminaron los datos por dietas, para determinar varianzas o correlaciones entre las muestras mediante OPLS-DA. En la figura 6, se observa que las muestras de individuos alimentados con alstroemeria y dieta artificial son diferentes en cuanto a la composición de los volátiles almacenados en la glándula sexual, pues se encuentran distantes y en cuadrantes diferentes. Esto se corrobora observando en S-line (figura 7), donde se observa que la dieta artificial no está generando diferencias en la composición de la glándula sexual de *C. uncinata*, ya que no se observan compuestos que influyan en la parte positiva del s-line, al contrario de la dieta de Alstroemeria, donde los compuestos 4 (tetradec-9-

en-1-il acetato), 8 (octadecan-1-ol) y 10 (2,4,10-trimethyl eicosano) mostrados en la tabla 3, marcan una diferencia sobre la dieta artificial, lo cual indica que la abundancia de estos compuestos en la dieta Alstroemeria son mayores que en la dieta artificial. Lo que nos lleva a decir que la dieta artificial tiene deficiencias nutricionales, pues según estudios la mezcla de ingredientes no llega a ser homogénea, lo que lleva a deficiencias nutricionales, lo cual genera baja oviposición de las hembras (Vargas, 1985). Asimismo, investigaciones comprueban que las deficiencias nutricionales en las dietas artificiales evitan que los individuos pasen de una etapa de desarrollo a la otra (Vargas, *et al.*, 1988)

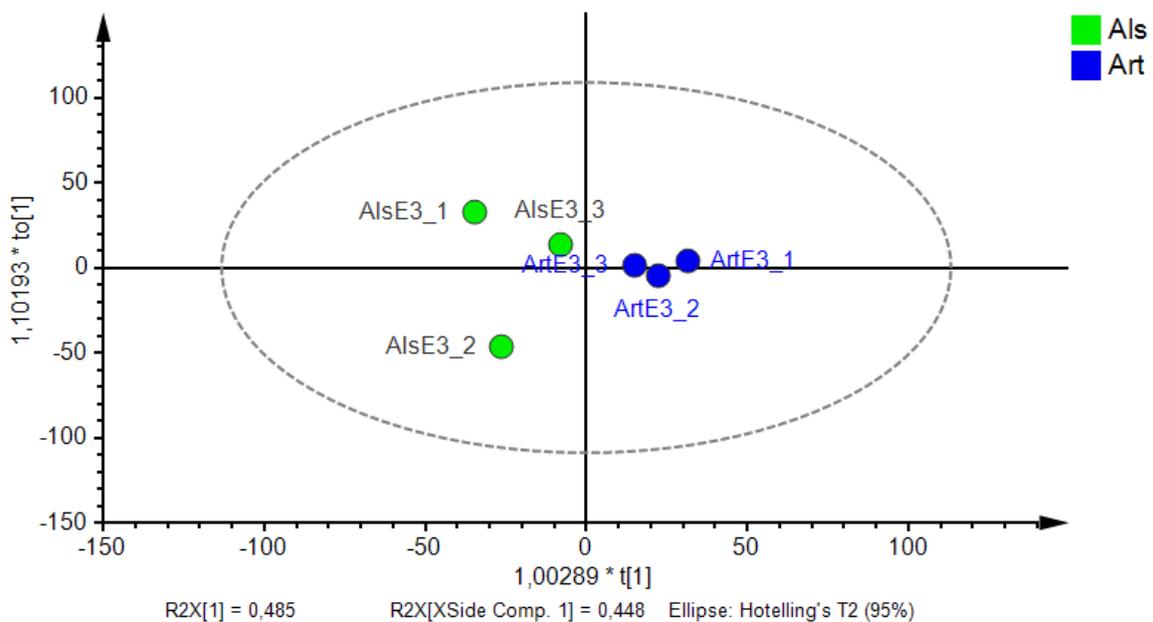


Figura 6. Modelo OPLS-DA derivado de los Cromatogramas obtenidos del análisis de los compuestos de la glándula sexual de *C. uncinata* alimentadas con Alstroemeria (Alstroemeria: AlsE3_n), y Dieta artificial (Artificial: ArtE3_n), donde n es el número de repetición.

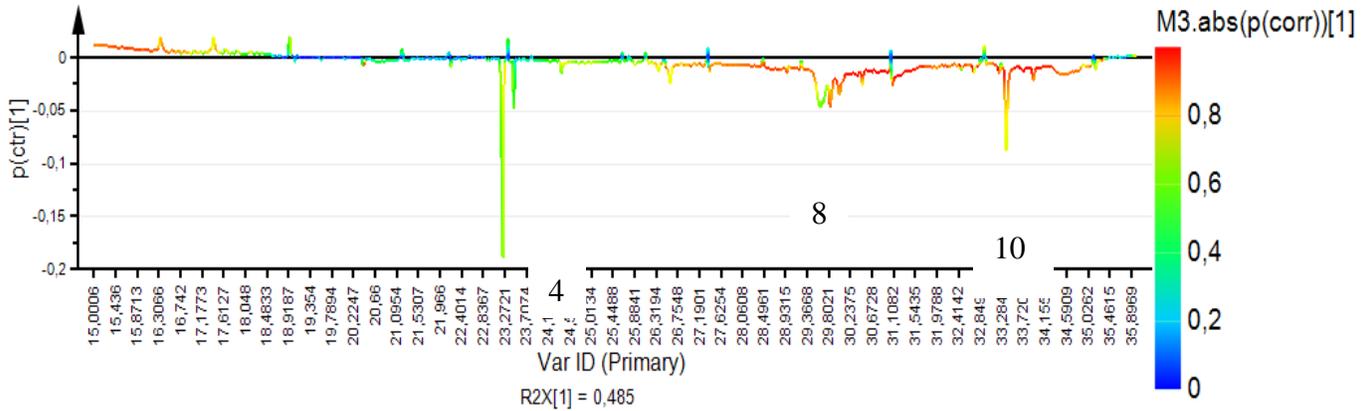


Figura 7. S-line derivado de OPLS-DA (Alstroemeria vs Artificial). El eje x (Var ID) corresponde al tiempo de retención en el Cromatogramas. Mapa de calor (derecha): de rojo a azul: mayor a menor influencia sobre variables.

Por otra parte, se evaluó la variación de los compuestos en la glándula sexual de individuos alimentados con alstroemeria y coliflor. Este análisis determinó que las dos muestras son diferentes entre sí, pues fueron separadas en dos grupos, aunque cada repetición se encuentra distante. Adicional a esto, se observa en el S-line (figura 9), que la alstroemeria tiene mayor producción del compuesto 4 (tetradec-9-en-1-il acetato) (tabla 3), lo que lo hace diferente de la dieta de coliflor, sin embargo, esta dieta presenta mayor producción del compuesto (8), el cuál es el compuesto minoritario reportado para feromonas en Lepidópteros (Martínez. *et al.*, 1990).

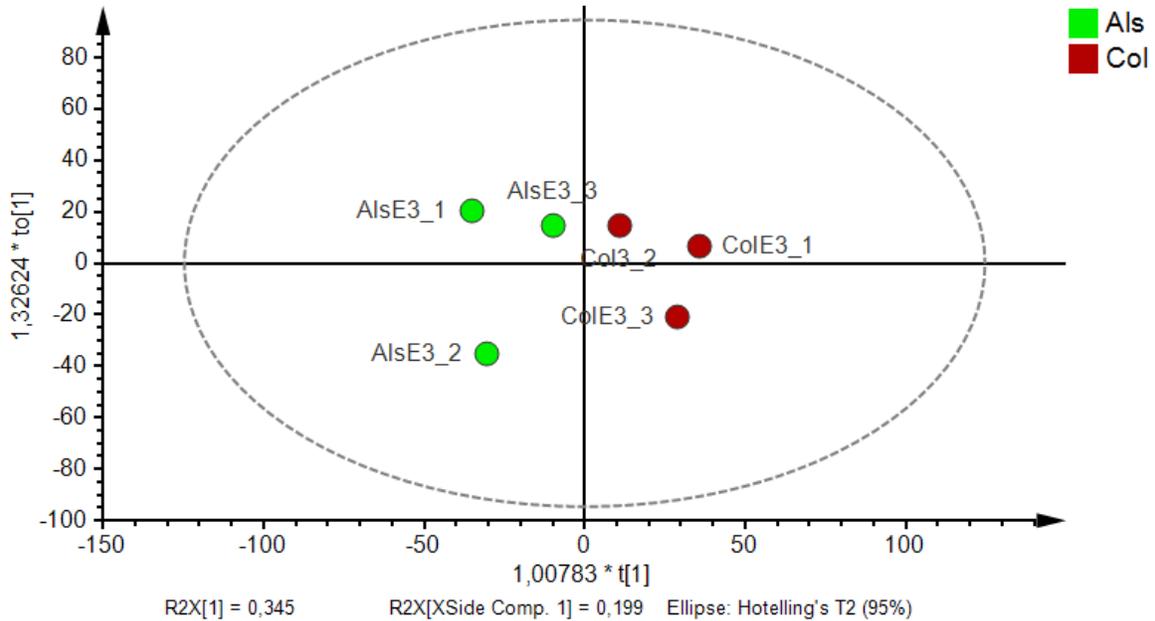


Figura 8. Modelo OPLS-DA derivado de los Cromatogramas obtenidos del análisis de los compuestos de la glándula sexual de *C. uncinata* alimentadas con Alstroemeria (: AlsE3_n), y Coliflor (Coliflor: ColE3_n), donde n es el número de repetición.

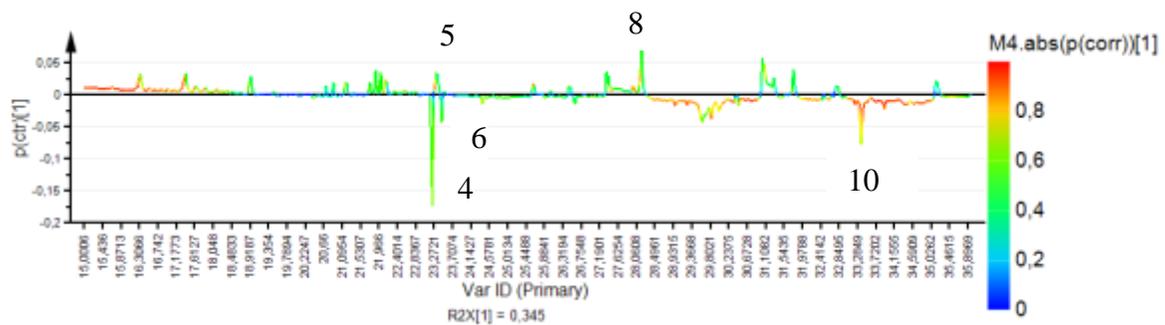


Figura 9. S-line derivado de OPLS-DA (Alstroemeria vs Coliflor) El eje x (Var ID) corresponde al tiempo de retención en el Cromatogramas. Mapa de calor (derecha): de rojo a azul: mayor a menor influencia sobre variables.

Por otra parte, se comparó la dieta artificial y la de coliflor. Según la figura 10, el OPLS-DA arroja dos grupos, lo que determina que las dos dietas influyen de manera diferente en la composición de la glándula sexual de *C. uncinata*. Esto se corrobora en el S-line (figura 11), donde se observan que diferentes compuestos

tienen una influencia sobre la composición de la glándula sexual de la especie, dentro de estos compuestos encontramos en la dieta del coliflor, mayor abundancia en los compuestos 5 (octadecano) ,6 (tetradec-1-il acetato) ,8 (octadecan-1-ol) ,9 (octadec-9,12,15-trienal) mostrados en la tabla 3, lo cual la hace diferente de la dieta artificial en cuanto a la composición de la glándula sexual de la especie estudiada. Por lo tanto, la composición de la glándula sexual en insectos está influenciada por el alimento que los individuos consumen en estados inmaduros (Nicholls, 2008).

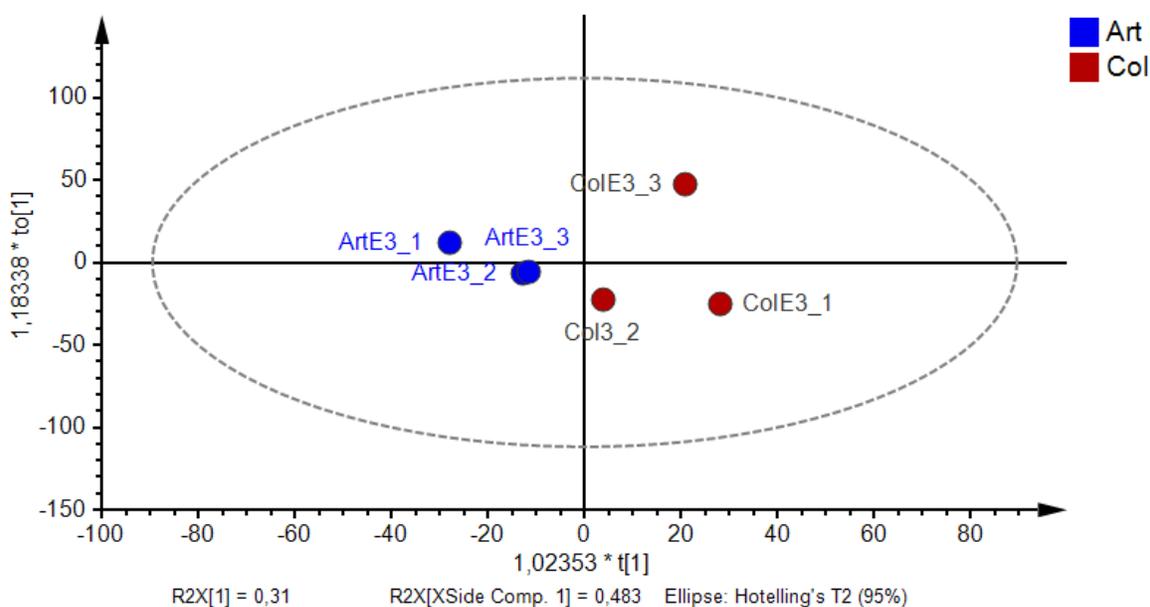


Figura 10. Modelo OPLS-DA derivado de los cromatogramas obtenidos del análisis de los compuestos de la glándula sexual de *C. unilata* alimentadas con Dieta artificial (Artificial: ArtE3_n) y Coliflor (Coliflor: ColE3_n), donde n es el número de repetición.

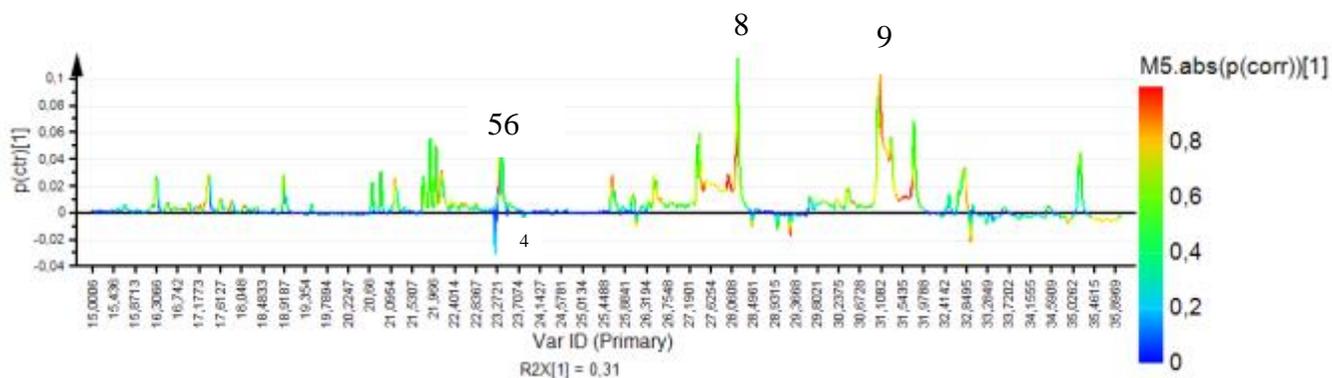


Figura 11. S-line derivado de OPLS-DA (Artificial vs Coliflor) El eje x (Var ID) corresponde al tiempo de retención en el Cromatogramas. Mapa de calor (derecha): de rojo a azul: mayor a menor influencia sobre variables.

Finalmente, se evaluó la influencia de las dietas sobre los compuestos volátiles de la glándula sexual de *C. uncinata*, asociado a la fecundidad acumulada de las hembras adultas mediante un análisis OPLS con variable simple. En la figura 12, se muestra que todas las dietas presentaron diferente fecundidad, siendo mayor en AlsE3_1. Sin embargo, este parámetro de fecundidad estaría siendo afectado por diferentes compuestos (figura 13), cuya producción a su vez está siendo influenciada por el alimento. Se puede evidenciar que las dietas naturales presentan mayor abundancia de los compuestos 4,6,9 y 10, mostrados en la tabla 3, por lo tanto, estos compuestos favorecen el proceso de fecundidad de *C. uncinata*, no obstante, los compuestos 5 (octadecano) y 8 (octadecan-1-ol) de la tabla 3, no están influyendo en la fecundidad de la especie.

De esta manera, se determinó que el alimento no solo estaría influyendo en la composición de la glándula sexual de *C. uncinata*, sino también está afectando en la tasa de fecundidad de los individuos, la cual está influenciada en gran medida a la exposición de la glándula sexual y por ende liberación del compuesto 4 (tetradec-9-en-1-yl acetato) como componente mayoritario de la feromona sexual, pues este sería necesario para que ocurra la copula y, por lo tanto, promueve a la

oviposición lo que aporta a la fecundidad de la población (Schowalter, 2006; Cohen, 2004).

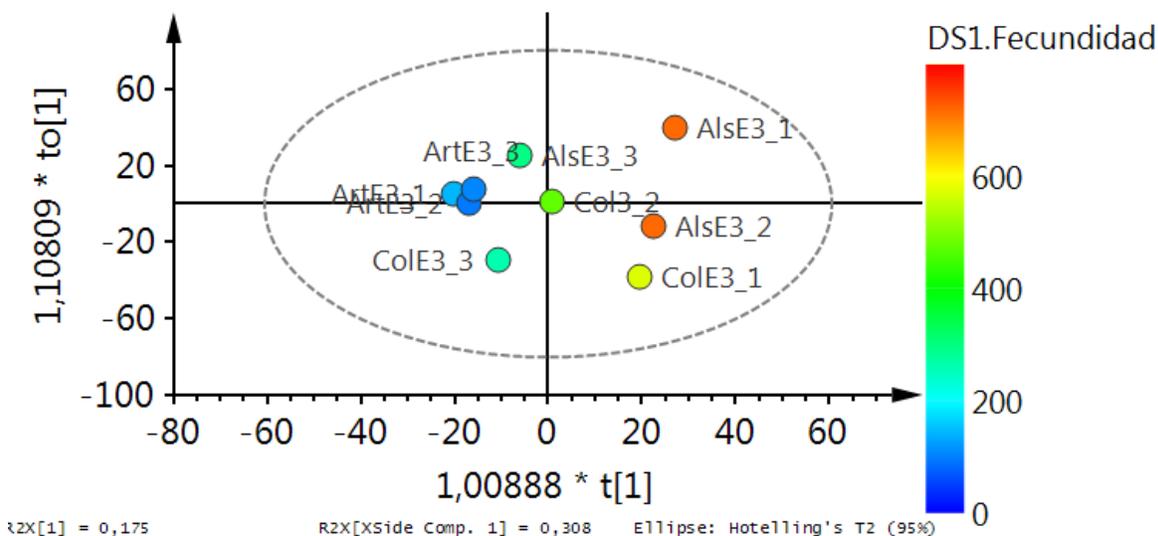


Figura 12. Modelo OPLS, supervisado con el porcentaje de fecundidad, derivado de los Cromatogramas obtenidos del análisis de los compuestos de la glándula sexual de *C. uncinata* alimentadas con Alstroemeria (Alstroemeria: AlseE3_n), y Dieta artificial (Artificial: ArtE3_n), donde n es el número de repetición,

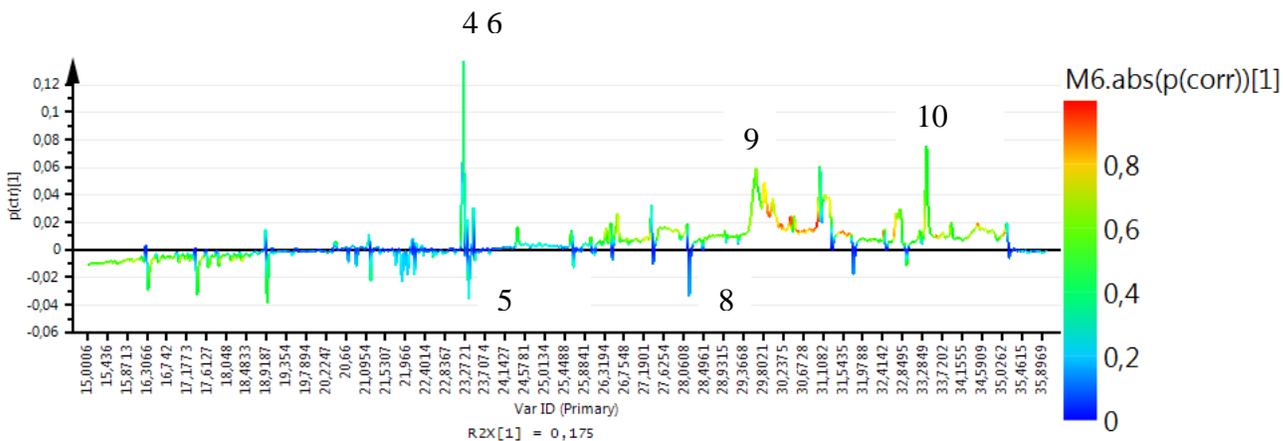


Figura 13. S-line derivado de OPLS (Fecundidad como variable continua). El eje x (Var ID) corresponde al tiempo de retención en el Cromatogramas. Mapa de calor (derecha): de rojo a azul: mayor a menor influencia sobre variables.

CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvo información sobre la composición de la glándula sexual de *C. uncinata* en individuos alimentados con alstroemeria, coliflor y una dieta artificial. Los individuos alimentados con las dietas naturales presentaron los mismos compuestos, pero con abundancias diferentes, siendo mayores en los individuos alimentados con Alstroemeria, al contrario de los individuos alimentados con la dieta artificial, los cuales presentaron ausencia del componente minoritario reportado para las feromonas sexuales de individuos pertenecientes a la familia Noctuidae.

Adicionalmente, se observó que el componente mayoritario y minoritario fueron los más influyentes en la composición de la glándula sexual de *C. uncinata*, lo cual hace que existan diferencias entre la composición de la glándula sexual en individuos alimentados con diferentes fuentes alimenticias.

En cuanto a las dietas, la Alstroemeria presenta mayor abundancia de compuestos pertenecientes a la feromona sexual según reportes, seguido por el coliflor y la dieta artificial. En esta última fue evidente las bajas abundancias de los compuestos de la glándula sexual, más aún de los componentes pertenecientes a la feromona sexual, lo cual se atribuye a bajos niveles nutricionales de esta dieta.

Finalmente se observó un efecto de la dieta y la composición de la glándula sexual sobre la tasa de fecundidad de las hembras, la cual está siendo influenciada en gran medida por el componente mayoritario de la feromona sexual.

RECOMENDACIONES

Una vez identificada la composición de la glándula sexual de *C. uncinata* alimentada en estado larval con dos dietas naturales y una artificial, se recomienda realizar ensayos comportamentales sobre las respuestas a estos compuestos en diferentes proporciones, lo cual ayude a determinar la influencia de la composición de la glándula sexual de la especie sobre la funcionalidad de los compuestos, y de esta manera analizar la respuesta de los machos frente a estos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Altamar.** P., Perez. D., Rodriguez. D., Coy. E. Analisis preliminar de los volatiles almacenados en la glandula sexual de *Copitarsia pos. uncilata*. con miras a su control etologico en cultivos ornamentals. Vcongreso Latinoamericano de Agroecologia.SOCLA.
2. **Ando.** T, Inomata S, Yamamoto M .2004. Lepidopteran Sex Pheromones. Topics in current Chemistry 239: 51-96.
3. **Barrietos.** I., Hernandez. G., Cibrian. J. 2011. Tasa de liberación de la feromona sexual de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera:Noctudae) y Capturas de machos con trampas de Brocoli. Entomotropica. 26:47-58pp.
4. **Blanco Metzler,** H. (2004). Las feromonas y sus usos en el manejo integrado de plagas. Disponible online: <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/6481> accedido:13 marzo 2017.
5. **Burgos.** R., Leiva. R., Angulo. A., Olivares. T. 2010. *Rev Copitarsia uncilata* Burgos y leiva sp. Nov. De Cucullinae para Colombia y Mexico (Lepidoptera, Noctuidae). *Bras. Entomol.* 54:372-375pp.
6. **Campion.** D., Nesbitt. B. 1981. Lepidopteran sex-pheromones and pest-management in developing countries. *Trop. Pest Manage.* 27:53-61pp.
7. **Castro.** A., Rodriguez. D.2015. Life cycle parameters of *Copitarsia uncilata* (Lepidoptera: Noctuidae) on three natural diets. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* 69(1), 7763-7771pp.
8. **Cenicaña.** 2006. La cría de *Diarea saccharalis* (F.) para la producción masiva de sus enemigos naturales. Centro de investigación de la caña de azúcar de Colombia. 3: 19-22pp.
9. **Espinoza.** G., Gambetta. J., Rojas. R. 2012. Identificación de una potencial feromona sexual de *Copitarsia corruda* por cromatografía de gases y electroantenografía, con miras al manejo integrado de plagas del esparrago. Unidad de Investigación en Productos Naturales. Lima – Peru. Scielo. Vol 78, n.4. 225-233pp.

10. **Fassbender**, H. W., & Bornemisza, E. 1987. *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. IICA.
11. **Gallado**. M. 2012. Efecto de la edad, peso y apareamiento múltiple de *Copitarsia decolora* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) en su potencial reproductivo. Instituto Politecnico Nacional: Centro de desarrollo de productos Bioticos. Yaupec, Morelos
12. **Jones**. G., Oldhan. N. 1999. Pheromone analysis using capillary gas chromatographic techniques. *J. Chrom. A*. 843: 199-236pp.
13. **Jones**, O.T. 1998. Practical applications of pheromones and other semiochemicals. p. 263- 356. In P.E. Howse, I. Stevens and O.T. Jones (eds.) *Insect pheromones and their use in pest management*. Chapman & Hall, London.
14. **Jutsum**. A., Gordon. S. 1989. Introduction Pheromones: Importance to insects and role in pest management . 1-13pp.
15. **Karlson**, P. and M. Luscher. 1959. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183: 55-56pp.
16. **Kotze** M, Jürgens A, Johnson S, Hoffmann J .2010. Volatiles associated with different flower and leaves of *Acacia cyclops* and their potential role as host attractants for *Dasidiella* (Diptera: Cecidomyiidae). *South African Journal of Botany* 76: 701-709.
17. **Martínez** T, Friás G, Camps F (1990. Sex pheromone biosynthetic pathway in *Spodoptera littoralis* and its activation by a neurohormone. *J. Biol. Chem* 265: 1381-1387pp.
18. **Moya**. M., Escudero. V. 2015. Las plantas medicinales en el control de nematodos gastrointestinales en cabras: potencial de las plantas que crecen en la region de Coquimbo, Chile. *Bras. Pl. Med. Campinas*. 17(3): 480-494pp.
19. **Muñiz**. E., Cibrián. J., Rojas. J., Díaz. O., Valdés., J., Bautista., N. 2007. Capturas de *Copitarsia decolora* (Lepidóptera: Noctuidae) en trampas cebadas con diferentes proporciones de feromona sexual. *Agrociencia*. 2007; 41: 575-581pp.

20. **Nicholls** C (2008) Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Editorial Universidad de Antioquia.
21. **Nikbakhtzadeh**. M., Akbarzadeh. K., Tirgari. S. 2009. Bioecologia and chemical diversity of abdominal gland in the iranian samsun ant *Pachycondyla sennaarensis* (Formicidae: Ponerinae). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*.15(3): 509:526pp.
22. **Lahoz**. R. 2003. Un hormiguero en el ordenador. *Historia Natural*, (1), 60-63pp.
23. **Pearson**, K. LIII. 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science, vol. 2(11), páginas 559–572pp.
24. **Reyes**. H., Arzuffi. R., Robledo. N. 2015. Effects of male age and mating status on response to the female sex pheromone of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae): Florida Entomologist Society, 98(1):47-51pp.
25. **Rojas** J, Valdez. J., Cibrian. J. 1995. Morphological evidence for possible sites of production of the female sex pheromone of *Copitarsia consueta* (Lepidoptera: Noctuidae) Florida Entomologist 78(2): 360-363.
26. **Rojas**. J., Cruz. L., Malo. E., Diaz. O., Calyeca. G., Cibrian. J. 2006. Identification of the sex Pheromone of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol.99(3): 797-802pp.
27. **Soto**, A., Moreira, M. D., & Pallini, A. 2011. Análisis De La Composición Química De La Cutícula De *Tetranychus Evansi* Backer & Pritchard Y De *Tetranychus Urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Boletín Científico. Centro De Museos. Museo De Historia Natural*, 15(2), 171-190.
28. **Schowalter** T. 2006. Insect Ecology: An Ecosystem Approach. Academic press, segunda ediccion. 576p.
29. **Shafiquzzaman**. S., Bo Eng. C., Khanam. T., Hossain. K., Md Mainul. H. 2012. Separation and identification of volatile compounds from liquid cultures of *Trichoderma harzianum* by GC-MS using three different

- capillary columns. Oxford Academic. *J Chromatogr Sci.* 50(4):358-367pp.
30. **Vacas.** S. 2011. Uso de semioquímicos en el control de plagas. Estudios básicos y de aplicación. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España. .
 31. **Vargas.** C. 1985. Dietas artificiales para la cría de Chrysopas verdes. Fedepalma.37p.
 32. **Vargas.** C., Luque. E., Villanueva. 1988. Uso de dietas artificiales para la cría de larvas y Adultos de *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Agronomía Colombiana.* 60-68pp
 33. **Wadhams.** L. 1990. The use of coupled gas chromatography: electrophysiological techniques in the identification of insect pheromones.
 34. **Weatherston.** I. 1990. Principles of design of controlled-release formulations. 93-112pp.
 35. **Wilson,** E.O. and W.H. Bossert. 1963. Chemical communication among animals. *Recent Prog. Horm. Res.* 19:673-716.
 36. **Worsley,** K. J., Poline, J. B., Friston, K. J. y Evans, A. C. 1996. Characterizing the response of PET and fMRI data using multivariate linear models. *NeuroImage*, vol. 6(4), páginas 305–319pp.
 37. **Yedidia.** I., Benhamou. N., Chet. I. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl Environ Microbiol.* 65:1061-1070pp.