

Método de cría de *Hyposoter didymator* (Thunberg) (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoide de noctuidos de importancia agrícola

F. BAHENA, A. ADÁN, M. GONZÁLEZ, E. VIÑUELA y P. DEL ESTAL

Muestréos de campo han demostrado la presencia frecuente de *Hyposoter didymator* (Thunberg) regulando en diferente medida las poblaciones de plagas como *Spodoptera exigua* (Hübner), *S. littoralis* Boisduval y *Helicoverpa armigera* (Hübner), por lo que puede considerarse a esta especie de gran interés para su uso potencial en programas de control de dichas plagas. En este trabajo se describe el método de cría puesto a punto utilizando la especie *Mythimna umbriger*a (Saalmüller) como huésped de sustitución. Con este método de cría, los porcentajes medios de parasitismo y descendencia obtenidos fueron 73,6% y 51,1%. La proporción de sexos se alteró progresivamente a lo largo de varias generaciones en laboratorio, probablemente debido a una pérdida de variabilidad genética, por lo que hay que seguir optimizando la cría con vistas a un uso práctico del enemigo.

A. ADÁN, M. GONZÁLEZ, E. VIÑUELA y P. DEL ESTAL: Protección de Cultivos, E.T.S.I. Agrónomos, 28040-Madrid.

F. BAHENA: Dirección actual: Centro Nacional de Investigación para la Producción Sostenible, Apdo. 7-116, Morelia 58261. Michoacán, México.

Palabras clave: *Hyposoter didymator*, *Mythimna umbriger*a, cría en laboratorio, proporción de sexos, parasitismo, descendencia.

INTRODUCCIÓN

La presencia frecuente de *Hyposoter didymator* (Thunberg), en varias zonas de España (Andalucía, Cataluña, Extremadura, etc.), regulando en diferente medida las poblaciones de algunos noctuidos plaga como *Spodoptera exigua* (Hübner), *S. littoralis* (Boisduval) y *Helicoverpa armigera* (Hübner), dan a este parasitoide un gran interés para su uso potencial en programas de control biológico de dichas plagas (CABELLO, 1989; CABALLERO *et al.*, 1990; IZQUIERDO *et al.*, 1994).

Un paso previo, tanto para el uso práctico de los enemigos naturales, como para estudiar los diversos parámetros biológicos de la especie, es la puesta a punto de su cría en laboratorio. En general se acepta que el objetivo final de todo sistema de cría de enemi-

gos naturales será producir la mayor cantidad de organismos con el menor coste de producción y el mínimo esfuerzo posible de trabajo, y además con un nivel óptimo de calidad (MACKAUER, 1976; RAVENSBERG, 1992). No obstante, FINNEY y FISHER (1964) y RAVENSBERG (1992), advierten que la producción a gran escala de enemigos naturales no es un requisito imprescindible para su establecimiento con éxito. Por tanto, los estudios de la eficiencia o economía de la operación pueden aplazarse para cuando se justifique realmente una producción masiva.

En este trabajo se describe el método empleado para la puesta a punto de la cría en laboratorio de *H. didymator* sobre su huésped de sustitución *Mithymna umbriger*a (Saalmüller) (Figura 1).

Cría del parasitoide *Hyposoter didymator*

Los adultos del parasitoide se mantuvieron en un cilindro de plástico transparente (50 × 20 cm). Éste, tiene ventilación en la parte superior y en la parte lateral un orificio circular para facilitar la retirada o inclusión de los parasitoides, así como una ranura horizontal para la introducción del alimento, consistent-

te en miel de abeja untada en un soporte estriado de plástico. También, en el interior del cilindro, se colocaron bebederos con agua destilada, que son recipientes de cristal con tapa perforada de la que sobresale una mecha de Spontex®, de la que por capilaridad, pueden beber los insectos (Figura 2).

Las larvas del huésped expuestas al parasitoide se colocaron en cajas de plástico con

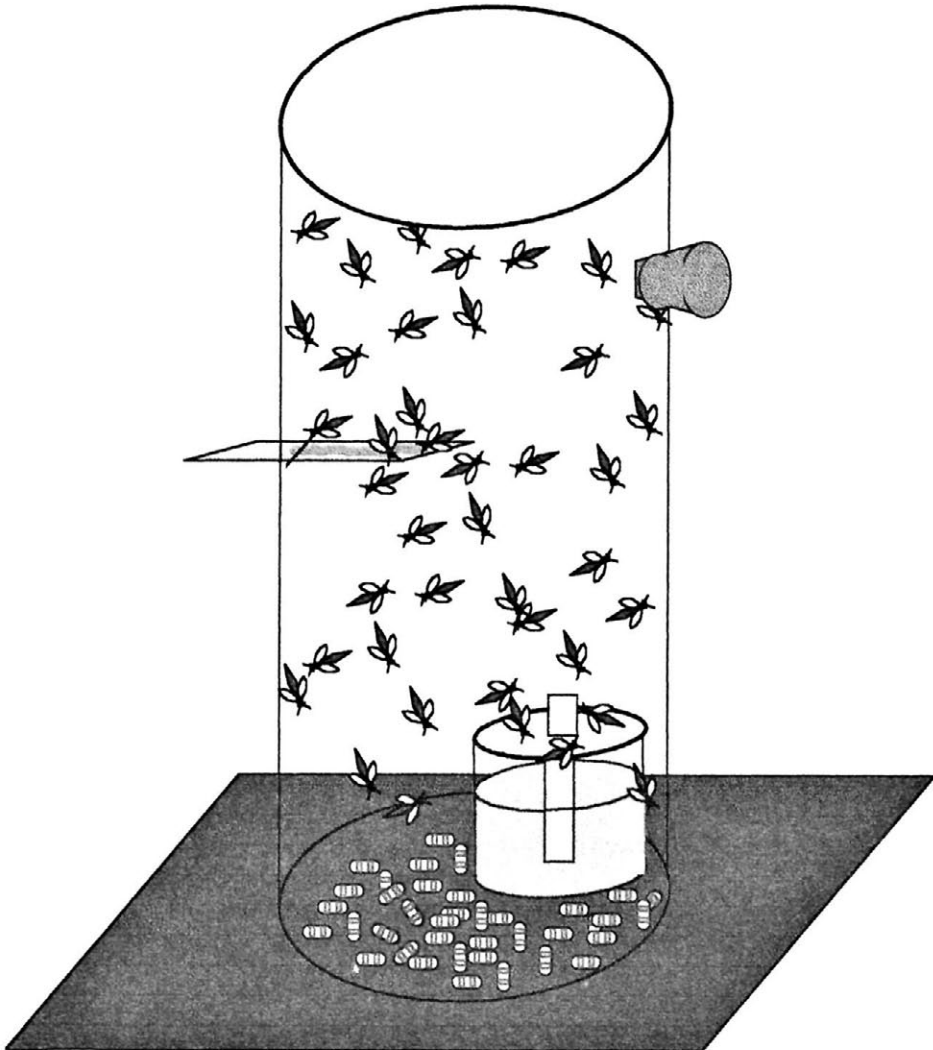


Fig. 2.—Jaula de cría de los adultos de *Hyposoter didymator*.

la base forrada de papel de filtro y con las tapas con orificios (de malla metálica y luz muy pequeña) para una buena ventilación. Se suministró al huésped una pequeña cantidad de dieta artificial, que se reemplazaba periódicamente (cada tres días), y se cubrieron con una o más capas de papel de filtro (en función del número de larvas) para garantizar una mejor distribución de éstas dentro de la caja. En una caja de dimensiones 25×16 cm se pueden concentrar sin problemas unas 100 larvas.

A partir del cuarto día de la fecha de parasitación, en cada revisión de las cajas, se procedía a retirar aquellas larvas que por su mayor tamaño y aspecto «sano», aparentaban no estar parasitadas. Antes del abandono del huésped por el parasitoide (días 6 ó 7 a partir de la exposición), el papel de filtro se sustituyó por un cartón acanalado, de forma que las orugas (cada vez menos móviles) pudieran refugiarse en las acanaladuras, disminuyendo así, en unos momentos muy vulnerables para el parasitoide, las pérdidas que producían estas larvas más activas, al depredar al parasitoide que acababa de emerger, o incluso alimentarse de otras orugas más debilitadas.

Transcurridos entre 7 y 9 días desde la exposición, la larva del parasitoide abandona el huésped e inmediatamente inicia la formación del capullo donde pupará y del cual saldrá la avispa adulta. Cuatro o cinco días después de que los capullos se hayan formado en su totalidad éstos pueden retirarse de las cajas donde se han desarrollado las larvas expuestas al parasitoide y pasarse a las jaulas de apareamiento. El periodo de la pupa dentro del capullo abarca entre 6 y 7 días.

Parasitación

El método empleado para parasitar (basado en parte en lo trabajos de KUMAR *et al.*, 1988 y HARRINGTON *et al.*, 1993) consistió en liberar a dos hembras y un macho del parasitoide junto con 15 larvas de tercer estadio de *M. umbriger*, durante 4 ó 5 h, en

una caja cilíndrica de plástico y ventilada de dimensiones 5×12 cm. Durante el tiempo en que duraba esta actividad, las avispas adultas tenían como alimento ocho gotas de miel de abeja distribuidas en la cara inferior de la tapa y a las orugas se les proporcionaron también de 10 a 15 gránulos de dieta artificial (bastante pequeños para que no sirvan para refugiarse del parasitoide), que se distribuían uniformemente en el fondo de la caja. Las hembras, antes de ser usadas en la parasitación, se habían unido a los machos durante al menos 48 horas para asegurar el apareamiento.

Para mantener la población de la cría en condiciones normales y a la vez estar suministrando adultos utilizados para los ensayos, usualmente se exponían 150 larvas en un primer día, 150 al día siguiente y otras 150 al tercer día; es decir, un total de 450 larvas cada semana. Repitiendo esta actividad cada dos o tres semanas, de acuerdo a las necesidades de parasitoides.

Evaluación de los parámetros

Para las estimaciones de parasitismo se siguieron en parte los criterios expuestos por VAN DRIESCHE (1983) y VAN DRIESCHE *et al.* (1991), sobre los individuos, huéspedes y parasitoides, que deben ser cuantificados. Así, del total de larvas expuestas a los parasitoides durante cada fecha de parasitación ($150 \text{ larvas} \times 3 \text{ días} = 450 \text{ larvas}$), se registró el porcentaje de descendientes adultos del parasitoide (*emergencia de adultos*), y el porcentaje de huéspedes parasitados (*parasitismo total*). Este último se obtenía sumando a los adultos emergidos, los capullos del parasitoide que no se abrieron y las larvas parasitadas muertas. Paralelamente, se registraron las larvas que se perdían por diversas causas (sin poder llegar a determinar si estaban o no parasitadas), así como aquellas que no eran parasitadas y se desarrollaban normalmente.

La proporción de sexos se evaluó como el porcentaje de machos partido por el del total de adultos obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parasitismo y descendencia

Como endoparásito solitario, la hembra de *H. didymator* normalmente sólo coloca un huevo por huésped. A diferencia de lo observado por KUMAR *et al.* (1988), que indican que la parasitación sólo se da en el primer segmento de las larvas del huésped, en nuestro caso encontramos huevos tanto en los primeros como en los últimos segmentos y en posición dorsolateral.

Las diferencias entre nuestro método de cría y el propuesto por HARRINGTON *et al.* (1993) están principalmente en el recipiente usado para la parasitación y el tiempo de exposición de las larvas a los parasitoides. Estos autores colocaron las 150 larvas de cada día, en una botella de 2 l y las expusieron durante 24 h a seis hembras y tres machos del parasitoide. Con nuestro método mejoramos el porcentaje de parasitismo y utilizamos un menor tiempo de exposición de las larvas al parasitoide. Además, lo que es más importante, se utiliza mejor el potencial genético y se reduce la endogamia, ya que además de emplear una mayor cantidad de hembras, cada una de ellas sólo tiene oportunidad de parasitar a 15 larvas huéspedes.

Como se puede ver en el Cuadro 1, con el método de cría descrito, el porcentaje medio de parasitismo total fue del 73,6%, pero de esta cantidad solamente en el 51,1% de los casos los parasitoides completaron su desa-

rollo hasta adultos. Es decir, en el 22,3% de las larvas expuestas, a pesar de estar parasitadas, el parasitoide no llegaba al estado adulto, principalmente por dos razones: en primer lugar, porque estas orugas eran atacadas por las que no estaban parasitadas, o lo que era más raro, porque eran depredadas por orugas también parasitadas, pero menos debilitadas porque tenían un desarrollo más lento que la mayoría; en segundo lugar y en menor medida, porque había superparasitismo, lo que estaba muy relacionado, como veremos más adelante, con el tiempo de exposición.

HARRINGTON *et al.* (1993) obtuvieron un 63% de parasitismo usando como huésped a *Spodoptera litura* Fabricius y cuando parasitaron con *Mythimna spp* sus resultados fueron todavía menores, incluso usando el doble de tiempo de exposición. Por otra parte, en los ensayos de KUMAR *et al.* (1988), si bien el parasitismo obtenido fue del 90,8%, también sobre *S. litura*, la descendencia no llegó al 35%.

En nuestros ensayos un 16,5% de las larvas expuestas se consideraron «perdidas». Este término incluye a aquellas que eran dañadas en el manejo, y a las muertas por alguna infección patogénica. Es muy probable que dentro de este porcentaje también quedarán incluidas algunas larvas que se encontraban parasitadas, ya que por su misma situación se convertían en más susceptibles, pero esta situación no es posible precizarla con seguridad, pues en estos casos solamen-

Cuadro 1.—Porcentajes medios de parasitismo y descendencia, en la cría de *Hyposoter didymator*

| Larvas expuestas | % larvas no parasitadas | % larvas perdidas | % larvas parasitadas incompletas | % adultos emergidos | % parasitismos total |
|------------------|-------------------------|-------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------|
| 450* | 7,6 | 13,6 | 24,0 | 54,9 | 78,8 |
| 450* | 9,3 | 18,2 | 23,1 | 49,3 | 72,4 |
| 450* | 11,1 | 22,2 | 20,4 | 46,2 | 66,7 |
| 450* | 11,2 | 12,0 | 21,8 | 54,4 | 76,2 |
| Media | 9,9 | 16,5 | 22,3 | 51,1 | 73,6 |

Los datos son media de 3 días de exposición con 150 larvas/día durante 4-5 horas.

te se observaban restos de la larva o bien simplemente no se encontraban dentro de las cajas de cría.

Se comprobó también que los porcentajes de parasitismo se incrementaban gradualmente a lo largo de los tres días continuos de parasitación, al emplear de forma repetida a las mismas hembras para parasitar, lo que demuestra la adquisición de «experiencia» en la oviposición por parte de las hembras. Esto puede ser útil si se emplea un alto número de hembras en la parasitación, pues de acuerdo a nuestro trabajo y a las necesidades que se tenían de adultos, nunca se explotó todo el potencial posible de oviposición de las hembras. Sobre este aspecto, ya ha sido demostrada la alta cantidad de huevos que son capaces de producir las hembras de la familia Ichneumonidae (JERVIS y COPLAND, 1996). Respecto al género *Hyposoter*, MUESEBECK y PARKER (1933), citados por CLAUSEN (1940), observaron cómo las hembras de *H. disparis* ponen un promedio de 561 huevos, encontrando casos extremos de una hembra que puso hasta 1.228 huevos.

Proporción de sexos

La proporción de sexos es un problema importante en la cría en laboratorio de esta especie. Esta situación también ha sido observada por otros investigadores que han trabajado con este parasitoide (KUMAR *et al.*, 1988; HARRINGTON *et al.*, 1993). En nuestro caso pudimos observar cómo, proporcionalmente al empleo de un menor número de hembras en la parasitación, la descendencia que se obtiene muestra una proporción sexual más inclinada hacia los machos, agravándose el problema de generación en generación. También pudimos notar cómo la reproducción arrenotóquica, frecuente entre los ichneumonidos, es clara para esta especie, ya que cuando se parasitó con hembras vírgenes la descendencia fue exclusivamente de machos, obteniéndose los dos sexos sólo cuando las hembras se habían apareado.

En la Figura 3 se representa la proporción de machos respecto del total a lo largo de más de dos años de la cría en laboratorio de la población. Después del primer año,

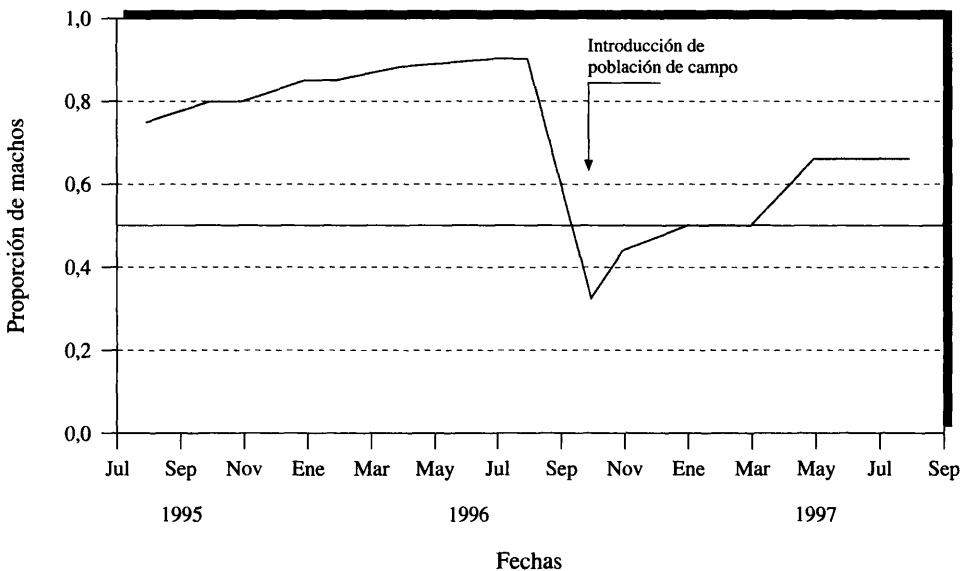


Fig. 3.—Evolución de la proporción de sexos en dos años de cría del parasitoide *Hyposoter didymator*.

vemos que tuvo lugar una pérdida gradual y constante de hembras, hasta llegar a una proporción sexual de 9 machos por cada hembra (0,9). Esta situación también fue observada por HARRINGTON *et al.* (1993), que tras partir inicialmente de una proporción de hembras del 45% en el verano, se redujo al 10% en el invierno. Estos autores relacionan este deterioro de la población con variaciones de la temperatura en la cámara de cría. Por otra parte, KUMAR *et al.* (1988) también trabajaron con una proporción de sexos muy desigual, pues de una descendencia de 51 adultos, 44 fueron machos (0,86), resultados que atribuyen al hecho de parasitar con hembras que acababan de aparearse, por lo que supone que las avispas ovipositaban huevos no fecundados.

En nuestro caso, suponemos una pérdida en la variabilidad genética de la población de laboratorio por haberla iniciado a partir de pocos individuos. De hecho, al llegar al punto de una proporción sexual de 9 machos por hembra, se incorporaron a la cría 12 hembras y 4 machos provenientes de colectas de campo, hechas en la provincia de Badajoz, que se cruzaron con los machos y hembras del laboratorio. Posteriormente realizamos la parasitación en las mismas condiciones climáticas y de la misma forma en que se venía realizando con anterioridad (hembras previamente apareadas), y los resultados fueron espectaculares, puesto que en la primera generación obtenida se invirtió la proporción de sexos, pasando a contar con 1 macho por cada 2 hembras (0,33). Esta situación se equilibró 1:1 (0,5) a partir de la tercera generación.

Al final del segundo año de cría en laboratorio, la proporción de sexos se encontraba en 2 machos por cada hembra (0,66). Esta situación ha sido posible mantenerla, debido a que en todas las parasitaciones realizadas, después de haber hecho la introducción de los adultos de campo, se ha procurado el uso de la mayor cantidad posible de hembras y se ha cuidado, dentro de lo posible, la combinación de los machos con que éstas han sido apareadas. Teniendo en cuen-

ta los objetivos de la cría del parasitoide en laboratorio, la proporción sexual de 2 machos por 1 hembra, puede ser aceptable, siempre y cuando se esté produciendo una alta cantidad de adultos. No obstante, es importante señalar que es necesario incorporar individuos de campo de forma periódica, para que se renueve la variabilidad genética y se reduzca la endogamia.

Tiempo de exposición

Respecto al tiempo de exposición de las larvas al parasitoide, podemos observar en la Figura 4 como los porcentajes de parasitismo y descendencia obtenidos se incrementaron proporcionalmente con el aumento de este parámetro.

Para nuestro propósito de la cría los mejores resultados se obtuvieron al exponer las larvas del huésped durante cuatro o cinco horas, aunque como se observa en la Figura 4, el porcentaje de pérdidas de larvas parasitadas que no completaban su desarrollo, aumentó con el tiempo de exposición. Así de una media del 15,3% de pérdidas para una exposición de 1 hora, se pasó a un 36,4% para 5 horas.

No convenía aumentar el tiempo de exposición porque observamos que a partir de las 5 horas de exposición, la dieta artificial del huésped se deshidrató notablemente y empezaba a ocurrir una agregación entre las orugas, que favorecía el canibalismo, lo que aumentaba el porcentaje de pérdidas.

KUMAR *et al.* (1988), señalan que dos hembras del parasitoide requieren entre 30 y 40 minutos para parasitar a 25 larvas de *S. litura*. Con nuestro método esto no fue posible obtenerlo en ninguno de los casos, a pesar del gran número de repeticiones empleadas. En el Cuadro 2 se puede ver como con 1 hora de exposición se obtuvo como media un parasitismo del 32,4%, y con 4 horas alcanzamos casi un 80%. Por el contrario, HARRINGTON *et al.* (1993), exponiendo 150 larvas de *S. litura* durante 24 horas, sólo observaron un parasitismo del 63%.

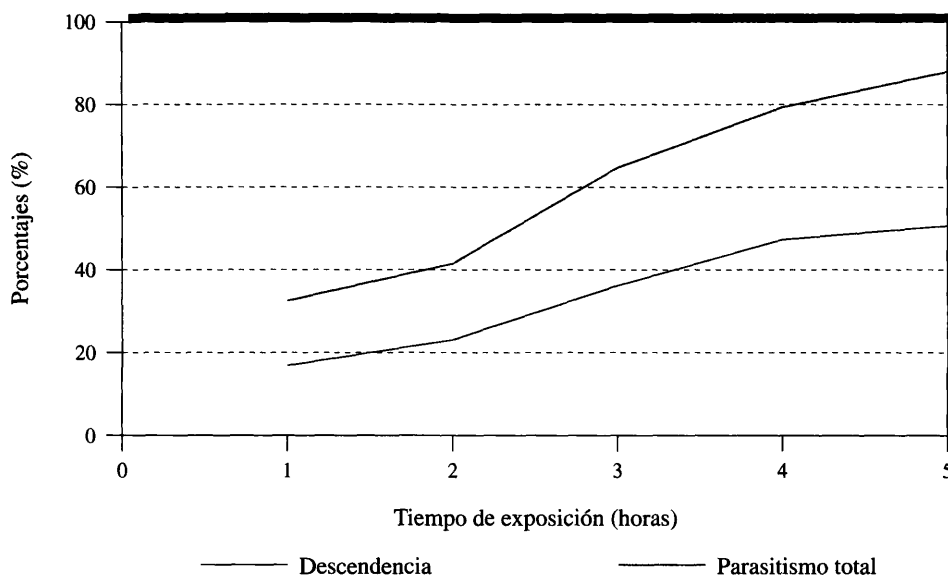


Fig. 4.—Porcentaje de parasitismo y descendencia de *Hyposoter didymator*, en función del tiempo de exposición del huésped.

Cuadro 2.—Porcentajes de parasitismo y descendencia de *Hyposoter didymator* con diferentes tiempos de exposición al huésped

| Tiempo de exposición (horas) | % parasitismo total (A) | % descendencia (B) | A-B |
|------------------------------|-------------------------|--------------------|------|
| 1 | 32,4 | 17,1 | 15,3 |
| 2 | 41,3 | 23,0 | 18,3 |
| 3 | 64,4 | 36,2 | 28,2 |
| 4 | 79,1 | 47,4 | 31,7 |
| 5 | 87,5 | 51,1 | 36,4 |

Datos obtenidos de las exposiciones de 15 larvas con 2 hembras y 1 macho.

CONCLUSIÓN

El método de cría descrito para *H didymator* utilizando el noctuido *M. umbriger* nos permite obtener unos porcentajes de parasitismo que son suficientes para el estudio en laboratorio de numerosos aspectos todavía desconocidos de la biología del enemigo. No obstante, hay que seguir trabajando sobre el tema para aumentar la eficacia de la cría con vistas a su posible uso práctico.

AGRADECIMIENTOS

F. Bahena es becario del ICI y M. González de la Comunidad de Madrid. Los individuos del parasitoide *H didymator*, para poner en marcha la cría, nos fueron enviados desde el Laboratorio de Entomología de la Universidad Pública de Navarra. Posteriormente el Dr. L. M. Torres Vila nos envió desde Badajoz individuos recogidos en campo, gracias a los cuales pudo concluirse este trabajo.

ABSTRACT

BAHENA, F.; ADÁN, A.; GONZÁLEZ, M.; VIÑUELA, E. y DEL ESTAL, P., 1998: A laboratory rearing method for *Hyposoter didymator* (Thunberg), parasitoid of noctuids of agricultural importance. *Bol. San. Veg. Plagas*, 24(Adenda al n.º 4): 975-984.

Hyposoter didymator (Thunberg) is a parasitoid potentially interesting for being used in the biological control of noctuids of agricultural importance, because it has been frequently found in different Spanish regions parasitising larvae of *Spodoptera exigua* (Hübner), *S. littoralis* Boisduval and *Helicoverpa armigera* (Hübner). This work describes the laboratory rearing of this enemy using the substitution host *Mythimna umbriger* (Saalmüller). The average parasitism and adult emergence rates scored were very good (73.6% and 51.1% respectively) but an important bias in the sex ratio was detected after several generations.

Key words: *Hyposoter didymator*, *Mythimna umbriger*, laboratory rearing, sex ratio, parasitism, offspring.

REFERENCIAS

- CABALLERO, P.; VARGAS-OSUNA, E.; ALDEBIS, H. K. y SANTIAGO-ÁLVAREZ, C., 1990: Parásitos asociados a poblaciones naturales de *Spodoptera littoralis* Boisduval y *S. exigua* Hb. (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 16: 91-96.
- CABELLO, T., 1989: Natural enemies of noctuid pest (Lepidoptera: Noctuidae) on alfalfa, corn, cotton and soybeans crops in southern Spain. *J. Appl. Entomol.*, 108: 80-88.
- CLAUSEN, C. P., 1940: *Entomophagous insects*. Mac Graw-Hill, New York. 688 pp.
- FINNEY, G. L. y FISHER, T. W., 1964: Cultivo de insectos entomófagos y sus huéspedes. *Capt.* 11: 375-410. En: DeBach, P. (Ed.). *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. C.E.C.S.A. México.
- HARRINGTON, S. A.; HUTCHINSON, P.; DUTCH, M. E.; LAWRENCE, P. J. y MICHEL, P. J., 1993: An efficient method of mass rearing two introduced parasitoids of noctuids (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Aust. Ent. Soc.*, 32 (1): 79-80.
- IZQUIERDO, J. I.; SOLANS, P. y VITALE, J., 1994: Parasitoides y depredadores de *Heliothis armigera* (Hübner) en cultivos de tomate para consumo en fresco. *Bol. San. Veg. Plagas*, 20: 521-530.
- JERVIS, M. A. y COPLAND, M. J. W., 1996: The life cycle. Chap. 2: 63-161. En: Jervis, M. A. & N. Kidd (Ed.). *Insect natural enemies*. Practical approaches to their study and evaluation. Chapman and Hall. London. 491 pp.
- KUMAR, P.; SINGH, S. P.; JALALI, S. K. y BALLAL, C. R., 1988: Biology of an ichneumonid *Hyposoter didymator* on *Spodoptera litura*. *Ind. J. Agr. Sc.*, 58 (2): 149-151.
- MACKAUER, M., 1976: Genetic problems in the production of biological control agents. *Ann. Rev. Entomol.*, 21: 369-385.
- POITOUT, S. y BUES, R., 1974: Elevage de chenilles de vingt-huit especes de Lepidopteres Noctuidae et de deux especes d'Artiidae sur milieu artificiel simple. Particularités de l'elevage selon les especes. *Ann. Zool. Econ. Anim.*, 6 (3): 431-441.
- RAVENSBERG, W. J., 1992: Production and utilisation of natural enemies in western European glasshouse crops. Chap. 27: 465-487. In: Anderson, T. E. & N. C. Lepla (Ed.) *Advances in insect rearing for research & pest management*. Westview Press. Oxford.
- VAN DRIESCHE, R. G., 1983: Meaning of «percent parasitism» in studies of insect parasitoids. *Forum. Environ. Entomol.*, 12 (6): 1611-1622.
- VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOW, Jr. T. S.; ELKINTON, J. S.; GOULD, J. R. y FERRO, D. N., 1991: The meaning of percentage parasitism revisited: Solution to the problems of accurately estimating total losses from parasitism. *Environmental Entomology*, 20 (1): 1-7.

(Recepción: 20 enero 1998)
(Aceptación: 11 mayo 1998)

