

**CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA**  
**PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACION**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

27 FEB 1998

RECIBIDO  
Turrialba, Costa Rica

**IMPACTO DEL INSECTICIDA TERBUFOS SOBRE *Cotesia flavipes***  
**CAM. (HYM: BRACONIDAE), PARASITOIDE DE *Diatraea***  
***saccharalis* F. (LEP: PYRALIDAE)**

**POR**

**ERICK VARGAS VILLALOBOS**



Turrialba, Costa Rica  
1997

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA  
CATIE  
PROGRAMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Comemorativo  
USA - CATIE  
27 FEB 1998

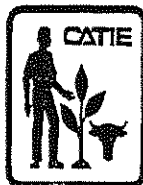
Turrialba, Costa Rica

Impacto del insecticida terbufos sobre *Cotesia flavipes*  
Cam. (Hym: Braconidae), parasitoide de *Diatraea*  
*saccharalis* F. (Lep: Pyralidae)

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico de Postgrado del Programa de Enseñanza en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza para optar al grado de

*Magister Scientiae*

✓  
Erick Vargas Villalobos

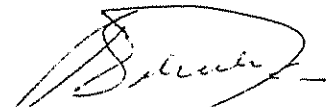


Turrialba, Costa Rica  
1997

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

*MAGISTER SCIENTIAE*

FIRMANTES:

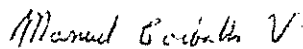


Bernal E. Valverde Ph.D  
Profesor consejero

Elizabeth Carazo Ph.D  
Miembro Comité Asesor

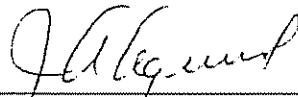


Luko Hilje Q Ph.D  
Miembro Comité Asesor

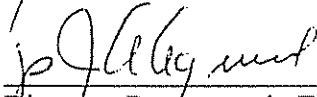


Manuel Carballo M. Sc  
Miembro Comité Asesor

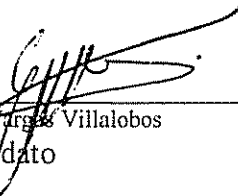
Israel Garita C. M. Sc  
Miembro Comité Asesor



Jefe, Area de Postgrado



Director, Programa de Enseñanza



Erick Vargas Villalobos  
Candidato

## **Dedicatoria**

**Vanessa, Alejandro, mis padres y hermano.**

## AGRADECIMIENTOS

Espero no olvidarme de nadie, pero quiero hacerle un reconocimiento de gratitud a las siguientes personas: Bernal Valverde, Israel Garita, Luko Hilje, Daniel Salazar, Elizabeth Carazo, Cesar Muñoz, Johnny Méndez, Manuel Carballo, Gustavo López, Marcos Chaves, Carlos Sáenz, Personal del Laboratorio de Control Biológico de DIECA: Lorena, Letty, Lidia, Hannia, Sonia, Mary y don Antonio.

A la gente del MIP: Guiselle, Lilly, Fernando, Manuel, Jesús, Chico, Merayo.....

Gracias.

Huele esta tierra fresca, hermano mío, maestro.  
Es poderosa y dulce entre las manos.  
Quiere escaparse, a veces, cual si estuviera viva  
Es tierra americana, de Costa Rica, tierra  
que bosteza de noche pidiendo más semillas,  
más arados, más brazos, más ternura.  
Jorge Debravo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
TABLA DE CONTENIDO .....	v
RESUMEN .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE CUADROS .....	xii
INTRODUCCION .....	1
OBJETIVOS .....	4
REVISION DE LITERATURA .....	5
<i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Pyralidae) .....	5
Ciclo de vida .....	5
Oviposición .....	6
Estado larval .....	6
Pupa .....	6
Daño .....	7
Manejo .....	7
<i>Cotesia flavipes</i> (Hymenoptera: Braconidae) .....	8
Terbufos .....	11
Impacto de los insecticidas sobre los enemigos naturales .....	14
MATERIALES Y METODOS .....	18
<b>Experimento 1.</b> Determinación de la concentración letal media (CL <sub>50</sub> ) de terbufos en larvas de <i>D. saccharalis</i> .....	18
<b>Experimento 2.</b> Efecto de dosis subletales de terbufos en <i>C. flavipes</i> , parasitoide de <i>D. saccharalis</i> en laboratorio .....	19
<b>Experimento 3.</b> Distribución de residuos de terbufos en la planta, plaga y su parasitoide .....	20
RESULTADOS Y DISCUSION .....	23
<b>Experimento 1.</b> Determinación de la concentración letal media (CL <sub>50</sub> ) de terbufos en larvas de <i>D. saccharalis</i> .....	23
<b>Experimento 2.</b> Efecto de dosis subletales de terbufos en <i>C. flavipes</i> , parasitoide de <i>D. saccharalis</i> en laboratorio .....	27
Efectos en el peso vivo del hospedero <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	27
Efectos en el tiempo a empupamiento del hospedero <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	30
Efectos en el tiempo de eclosión de las pupas del hospedero <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	30
Efectos en la proporción de sexos en los adultos del hospedero <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	31
Efectos en la mortalidad del hospedero <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	32
Efecto en el tiempo de desarrollo y mortalidad de larvas del parasitoide <i>C. flavipes</i> .....	33
Efecto en la cantidad y viabilidad de pupas del parasitoide <i>C. flavipes</i> .....	37

Efecto en el tiempo de eclosión de las pupas del parasitoide <i>C. flavipes</i> .....	38
Efecto en la proporción de sexos y el número de adultos del parasitoide <i>C. flavipes</i> .....	38
Efecto en el peso de los adultos del parasitoide <i>C. flavipes</i> .....	40
Efecto de la parasitación por <i>C. flavipes</i> en el peso del hospedante <i>D. saccharalis</i> .....	41
<b>Experimento 2.</b> Determinación de residuos de <sup>14</sup> C-terbufos en la planta, larva del hospedante y parasitoide .....	45
CONCLUSIONES .....	48
RECOMENDACIONES .....	50
REFERENCIAS .....	51
ANEXOS .....	62
ANEXO 1. Ingredientes utilizados en la preparación de la dieta para el desarrollo de larvas de <i>D. saccharalis</i> .....	62
ANEXO 2. Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>D. saccharalis</i> bajo diferentes dosis de terbufos .....	63
ANEXO 3. Resultados obtenidos en el experimento 1, determinación de terbufos para larvas de <i>D. saccharalis</i> .....	65
ANEXO 4. Análisis de comparación de resultados en el experimento 2 para <i>D. saccharalis</i> y <i>C. flavipes</i> .....	67
ANEXO 5. Promedios de peso vivo de <i>D. saccharalis</i> no parasitada .....	69
ANEXO 6. Resultados del análisis de correlación para la variable peso vivo de larvas de <i>D. saccharalis</i> no parasitadas .....	70
ANEXO 7. Efectos en el periodo larval de <i>D. saccharalis</i> no parasitada .....	70
ANEXO 8. Efectos en el tiempo de eclosión de las pupas del hospedero <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	70
ANEXO 9. Efectos en el número de adultos y proporción de sexos de <i>D. saccharalis</i> no parasitada .....	71
ANEXO 10. Efectos en la mortalidad de larvas de <i>D. saccharalis</i> no parasitado .....	71
ANEXO 11. Efectos del terbufos en el periodo larval y número de larvas muertas de <i>C. flavipes</i> .....	71

ANEXO 12. Efectos del terbufos en la cantidad y viabilidad de pupas de <i>C. flavipes</i> .....	72
ANEXO 13. Efectos del terbufos en el tiempo de eclosión de pupas de <i>C. flavipes</i> .....	72
ANEXO 14. Efectos del terbufos en el número de adultos y proporción de sexos de <i>C. flavipes</i> .....	72
ANEXO 15. Efectos del terbufos en el peso de adultos de <i>C. flavipes</i> .....	73
ANEXO 16. Efectos del terbufos en el peso vivo de larvas de <i>D. saccharalis</i> parasitada .....	73
ANEXO 17. Resultados del análisis de regresión de las variables evaluadas en los experimentos .....	74
ANEXO 18. Resultados del análisis de correlación para la variable peso vivo de larvas de <i>D. saccharalis</i> parasitadas .....	77
ANEXO 19. Resultados obtenidos en el análisis de <sup>14</sup> C-terbufos para diferentes tejidos .....	78



Vargas Villalobos, E. 1997. Impacto del insecticida terbufos sobre *Cotesia flavipes* (Hym. Braconidae), parasitoide de *Diatraea saccharalis* (Lep. Pyralidae). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. XX p.

Palabras clave: *D. saccharalis*, *C. flavipes*, terbufos, submetabolitos, dosis subletales, efectos secundarios, residuos.

### Resumen

Se determinó el efecto de dosis subletales de terbufos en la reducción del peso vivo de larvas de *D. saccharalis*. A partir de estas dosis se evaluó su efecto sobre el parasitoide *C. flavipes*; para lo cual se inoculó dieta artificial con 0, 1,32, 9,01, 18,77, 32,08, 53,17 y 108,03 ppm de terbufos y se colocaron larvas del hospedante previamente parasitadas. Hubo un aumento en la mortalidad de las larvas del parasitoide, un incremento en los periodos larval y pupal, y resultaron adultos de menor peso y cambios en la proporción de sexos. Las larvas del hospedante mostraron una mayor frecuencia de anormalidades, así como un aumento en sus periodos larval y pupal. Al utilizar  $^{14}\text{C}$ -terbufos para determinar la presencia de residuos del insecticida en los tejidos vegetales, del hospedante, solamente se detectaron trazas de radioactividad. A pesar de lo anterior, en las pruebas de cromatografía se detectan que estas trazas corresponden a los metabolitos: todos de alta toxicidad, de esta forma, el uso del terbufos en dosis subletales para la plaga afectan el comportamiento del enemigo natural, favoreciendo el desarrollo de la plaga.

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Peso vivo promedio de larvas de <i>D. saccharalis</i> alimentándose con dieta artificial contaminada por terbufos (ppm) .....	24
Figura 2. Peso vivo promedio de larvas de <i>D. saccharalis</i> al tercer día después de alimentación en dieta artificial suplementada con terbufos .....	24
Figura 3. Peso seco promedio de larvas de <i>D. saccharalis</i> al terminar la etapa de larva (para aquellos individuos que no lograron formar pupa) .....	25
Figura 4. Cantidad de excretas producidas por larvas de <i>D. saccharalis</i> alimentadas con dieta contaminada por terbufos .....	26
Figura 5. Peso vivo de larvas de <i>D. saccharalis</i> no parasitadas alimentadas con dieta artificial conteniendo terbufos en dosis subletales en el primer experimento (A) y en el segundo B .....	28
Figura 6. Tiempo de formación de pupas de <i>D. saccharalis</i> alimentadas en dieta artificial con dosis subletales de terbufos .....	30
Figura 7. Número de adultos de <i>D. saccharalis</i> (los datos son el promedio de dos experimentos) obtenidos a partir de dieta artificial con dosis subletales de terbufos .....	32
Figura 8. Mortalidad de larvas de <i>D. saccharalis</i> no parasitadas obtenidas en dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos .....	33
Figura 9. Tiempo de salida de las larvas de <i>C. flavipes</i> a partir de dieta contaminada con dosis subletales de terbufos .....	34
Figura 10. Mortalidad de larvas de <i>C. flavipes</i> emergidas del hospedante a partir de dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos .....	35
Figura 11. Número de pupas de <i>C. flavipes</i> obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada por dosis subletales de terbufos .....	37
Figura 12. Tiempo de eclosión de pupas de <i>C. flavipes</i> obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos .....	38
Figura 13. Proporción de hembras y machos adultos de <i>C. flavipes</i> obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada por dosis subletales de terbufos .....	39

Figura 14. Peso de adultos de <i>C. flavipes</i> obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada por dosis subletales de terbufos .....	41
Figura 15. Peso de larvas de <i>D. saccharalis</i> parasitadas en el primer experimento, A y segundo, B alimentadas con dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos .....	42

## LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Resultados del porcentajes de desintegraciones por minuto en 10 ml de solución .....	45
Cuadro 2. Compuestos detectados en el análisis cromatográfico .....	47

## INTRODUCCION

El equilibrio de un agroecosistema puede ser alterado con el uso de prácticas de combate extensivas, específicamente cuando el uso excesivo de plaguicidas rompe la dinámica entre los herbívoros y sus enemigos naturales. A pesar de esto, el combate de insectos plagas con insecticidas de alta toxicidad continúa siendo una de las prácticas más comunes dentro del manejo de cualquier cultivo. La mayoría de los productores realizan aplicaciones calendarizadas de estos productos, sin importar la presencia o no de la plaga y sin tomar en cuenta, en la mayoría de las veces, los problemas que generan en el equilibrio natural. Los insecticidas de amplio espectro y de alta toxicidad se usan con poca restricción, sin tomar en cuenta los daños ambientales y en la salud de los consumidores y de los mismos productores. Muchas veces se ignora la importancia de los insectos benéficos, principalmente de aquellos que actúan como controladores biológicos, parasitando las plagas y disminuyendo así los niveles poblacionales de éstas.

En los últimos años, se está empezando a cambiar el enfoque en la producción agrícola hacia una de mayor equilibrio con la naturaleza, procurando alejarse de las técnicas convencionales de control de plagas y optando el manejo integrado, dentro de un modelo de sostenibilidad. Como ha ocurrido en Nicaragua en el caso del maíz, en donde se han planteado nuevas alternativas de control biológico y microbial (Gladstone 1989).

El cultivo del maíz es una de las principales fuentes de alimento para muchas familias centroamericanas; ocupa el primer lugar en importancia para el continente americano y es el cereal más importante en el mundo. Setenta países, de los cuales 53 en vías de desarrollo, cultivan por lo menos 100 mil hectáreas. La producción mundial anual es de 500 millones de toneladas en 130 millones de hectáreas, ubicándose un 64% del área mundial de siembra en los países en desarrollo y sólo un 43% en los países desarrollados. Más de la mitad de la producción mundial es utilizada para la alimentación humana en Sur, Centro América, México y algunos países africanos, lo que demuestra su importancia como cultivo (Dowswell *et al.* 1996). En Costa Rica, en 1992, se produjo 97 kg de maíz

per capita, ubicándose en el noveno lugar de los países latinoamericanos, superando a países como Chile (82 kg) y Perú (58 kg) (Dowswell *et al.* 1996).

El maíz es atacado por varios insectos plagas, una de ellas conocida como el “gusano barrenador de la caña de azúcar” (*Diatraea saccharalis* F.). Se presenta en cualquier etapa del cultivo, y puede provocar pérdidas que varían entre el 40 y el 50% del rendimiento final. Por su ubicación en el interior del tallo de la planta es difícil su control con insecticidas convencionales, por lo que se depende de la presencia de controladores biológicos. Sin embargo, para el combate de otras plagas como *Helicoverpa zea* y *Spodoptera frugiperda* y *Phyllophaga* spp. si se hacen aplicaciones de insecticidas.

El parasitoide *Cotesia flavipes* Cam. es el principal controlador natural de *Diatraea saccharalis*, y puede reducir considerablemente las poblaciones de esta plaga. En el cultivo de la caña de azúcar, el control del “barrenador” se realiza por medio de este organismo, existiendo sitios especializados en la producción masiva y liberación del parasitoide, que evitan el uso intensivo de insecticidas (Villacorta *et al.* 1975, Omwega *et al.* 1995).

En maíz, los insecticidas se emplean principalmente para el combate del “gusano cogollero” (*S. frugiperda*) y “jobotos” (*Phyllophaga* spp.); es común el uso de productos organofosforados aplicados al suelo, entre ellos el terbufos, del que por ejemplo, solamente en 1992 se trataron 2.3 millones de hectáreas de maíz en Estados Unidos (Diehl *et al.* 1995). Estos insecticidas penetran en la planta y son ingeridos por las larvas y otros insectos, provocándoles así la muerte (Little *et al.* 1992). Aunque la mayoría de los parasitoides de las plagas hacia quien va dirigido el plaguicida se alimentan de su cuerpo, no se han conducido muchos trabajos de investigación sobre el efecto del insecticida sobre ellos (Andrews 1989), y prácticamente no se conoce su impacto en condiciones tropicales. Diferentes autores resaltan los efectos secundarios que producen estos insecticidas en los insectos benéficos (Croft 1990, Jacas *et al.* 1992).

De lo anterior se desprende la importancia de establecer la relación que existe en la cadena insecticida-planta-plaga-parasitoide, para determinar si hay un efecto negativo del plaguicida en el insecto benéfico que reduzca su población y afecte negativamente el control natural de *Diatraea*.

Pocas investigaciones se han conducido en condiciones del trópico. La mayoría de los reportes de efectos de plaguicidas sobre parasitoides se ubican en países de zonas templadas, no hay registros del uso de terbufos sobre *C flavipes*. El presente trabajo intenta determinar la presencia de efectos secundarios de este insecticida sobre uno de los principales controladores de plagas en Costa Rica.

## Objetivo general

Evaluar el efecto del insecticida terbufos sobre *Cotesia flavipes*, parasitoide de *Diatraea saccharalis*, en el laboratorio, y determinar el nivel de residuos del plaguicida en la planta, la larva y el parasitoide.

## Objetivos específicos

- Determinar la dosis letal media del terbufos en larvas de *D. saccharalis*.
- Determinar el efecto del terbufos sobre las larvas de *C. flavipes* parasitando a larvas de *D. saccharalis*
- Evaluar el efecto del terbufos aplicado al suelo sobre larvas parasitadas y no parasitadas de *D. saccharalis* en plantas de maíz, en el invernadero
- Cuantificar las concentraciones de terbufos presente en plantas de maíz, en larvas de *D. saccharalis* y en larvas o adultos de *C. flavipes*.

## Hipótesis

El terbufos puede provocar efectos secundarios al parasitoide *C. flavipes* en forma indirecta, al ingerir éste el insecticida presente en el cuerpo de la larva de *D. saccharalis*.



## Revisión de literatura

### *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera. Pyralidae)

Las larvas de los lepidópteros barrenadores, entre los que se ubica *D. saccharalis*, son consideradas entre las plagas de insectos más dañinas en el cultivo del maíz en Ecuador (Páliz y Mendoza 1985) México (Maredia *et al.* 1992) y África (Ngi-Song *et al.* 1995), y, entre otros países productores de maíz.

Puede atacar cualquier parte de la planta excepto las raíces fibrosas y la nervadura central de la hoja, aunque el tallo es el más afectado. La mayor cantidad de perforaciones se presentan en los primeros cuatro entrenudos y a la altura de la mazorca, siendo de mayor intensidad en los entrenudos superiores al punto de inserción de la mazorca. Los túneles ocasionados por las larvas reducen el vigor de la planta y el tamaño de las mazorcas; las plantas “barrenadas” están predispuestas al acame o a la muerte prematura del cogollo (Páliz y Mendoza 1985). También se reduce en forma considerable el flujo de nutrimentos (Gladstone 1989), disminuyéndose así el rendimiento esperado al momento de la cosecha.

El ataque de *D. saccharalis* se presenta desde los 8 a 15 días de haber brotado la planta, alcanzando hasta la cosecha. Es más grave en plantas jóvenes, debido a que puede ocasionar su muerte, en cuyo caso las pérdidas pueden llegar a ser más del 50% (Páliz y Mendoza 1985).

**Ciclo de vida.** El adulto es una palomilla nocturna; se reconoce porque tiene una hilera diagonal de puntos color pardo, más o menos marcados en las alas delanteras. La identificación positiva sólo puede hacerse examinando la genitalia (King y Saunders 1984). El adulto vive de 5 a 6 días (Miskimen 1973), las hembras son de mayor tamaño que los machos (CATIE 1990) teniendo en promedio una longitud de 15 a 20 mm (Páliz y Mendoza 1985).

Los adultos se aparean a partir del segundo día y la hembra deposita los huevos en forma individual o en masas en el haz, el envés y en las vainas foliares (Páliz y Mendoza 1985).

**Oviposición.** Los huevos tardan de 4 a 9 días en eclosionar. Son amarillos, puestos en paquetes alineados conteniendo cerca de 25 o más huevos (Schmutterer 1990), depositados en masas semejantes a escamas; cada masa está compuesta por 300 a 400 huevos (Rodríguez del Bosque 1978) colocados en filas yuxtapuestas en cualquiera de las dos superficies de las hojas. El huevo desarrolla una banda roja inmediatamente antes de la eclosión (King y Saunders 1984. CATIE 1990).

El número de huevos está directamente correlacionado con la superficie a que la palomilla tiene acceso; conforme las plantas ofrecen más área foliar, reciben más huevos. Los huevos son depositados preferencialmente en las hojas inferiores del maíz (Stewart y Walton 1964. Zarazua González 1980).

**Estado larval.** La larva es de apariencia blanca cremosa, con parches discretos oscuros o pálidos en cada segmento y un escudo protorácico pardo-rojizo (King y Saunders 1984), mide de 2,5 a 3,5 mm recién eclosionada y en su estado de desarrollo completo, de 30 a 35 mm. El estado larval tarda de 28 a 35 días (Páliz y Mendoza 1985); pasa por siete estadios (CATIE 1990) o, dependiendo de las condiciones climáticas, de cinco a seis estadios (Páliz y Mendoza 1985).

**Pupa.** La larva empupa dentro de la galería que ha estado construyendo; al final de la estación lluviosa las larvas suspenden su desarrollo e inician el proceso de formación de pupa (CATIE 1990). La pupa tiene protuberancias puntiagudas como cuernos en la cabeza (King y Saunders 1984). Poco antes de transformarse en pupa, la larva construye un orificio de salida para la futura palomilla dejándola tapada con residuos elaborados por ella (Páliz y Mendoza 1985); pueden transcurrir de ocho a diez días en esta etapa (Páliz y Mendoza 1985).

Los hábitos de esta plaga son bastante típicos. En cuanto se presenta la eclosión, las larvas migran hacia el cogollo o las vainas de las hojas, en donde esqueletizan parte de la hoja, dejando solamente la cutícula. Las larvas mayores perforan completamente la hoja, lo que se manifiesta por una línea transversal de perforaciones pequeñas. Posteriormente, las larvas penetran al tallo haciendo orificios en el entrenudo o en los nudos, en donde pasan la mayor parte del resto de sus estados (Páliz y Mendoza 1985).

**Daño.** Los problemas causados por esta plaga pasan desapercibidos para el agricultor en la mayoría de las situaciones, sobre todo porque no están conscientes de su presencia o no cuentan con procedimientos de combate eficaces (Andrews 1989). El control biológico y la importancia económica se ha documentado mejor en la caña de azúcar, por ser un cultivo más extensivo y estar en manos de industriales y productores con mayor capacidad económica; pero el daño de *Diatraea* se refleja en campesinos que dependen del maíz para su sustento diario y con pocas posibilidades de implementar formas sofisticadas de manejo.

**Manejo.** El control de las larvas barrenadoras se inició desde 1920 con productos organofosforados granulados o líquidos. Durante unos 40 años se han realizado hasta dos aplicaciones por ciclo de al menos 15 insecticidas diferentes (Arbuthnot 1958, Randolph *et al.* 1967), la mayoría de ellos ya fuera del mercado por su alta peligrosidad y daños al ser humano y al ambiente. Posteriormente, se utilizaron otros productos como clorpirifos, monocrotofos, permetrina, decametrina y metomil, aunque con pobres resultados (Páliz y Mendoza 1985).

El combate cultural incluye la destrucción de los rastrojos y residuos de la cosecha idealmente quemándolos; debe además rotarse el cultivo con plantas no hospedantes de la plaga como soya (Páliz y Mendoza 1985).

El control biológico ha sido el principal método de combate de esta plaga ante la ausencia de insecticidas que tengan la capacidad de llegar hasta ella, por su ubicación en el interior

del tallo (Páliz y Mendoza 1985). El género *Diatraea* posee un amplio número de especies de enemigos naturales, principalmente parasitoides de la familia Braconidae que se encuentran en un amplio complejo de especies, la mayoría de las cuales son nativas de varias partes de América Central y del Sur (Austin y Dangerfield 1989. Hanson y Gauld 1995).

El combate del gusano cogollero *S. frugiperda*, el cual ataca la planta de maíz en los mismos estados que el gusano barrenador (CATIE 1990), basado en el uso de insecticidas orgánicos sintéticos, debe incidir también sobre las poblaciones de *D. saccharalis* y sus enemigos naturales (Guillebeau *et al.* 1991). En trabajos realizados en Perú, se encontró que los productos aplicados para el cogollero, entre ellos organofosforados, biológicos y algunos carbamatos, resultaron eficaces en forma indirecta en la disminución de la población de *Diatraea* sp. (Sarmiento *et al.* 1970).

Se reportan buenos resultados también con el uso de productos naturales como extractos de *Azadirachta indica* (Neem) sobre *D. saccharalis* en maíz (Maredia *et al.* 1992).

#### ***Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae).**

*C. flavipes* pertenece a la familia Braconidae, subfamilia Microgastrinae. Se caracteriza por tener una longitud de 2 mm, cuerpo negro, patas amarillas a castaño pálidas, antenas situadas encima de una repisa entre los ojos compuestos; su principal hospedante es *Diatraea* sp. La familia Braconidae es la segunda más grande dentro del orden Hymenoptera. En Costa Rica existen más de 2000 especies de representantes de esta familia y se conocen al menos 28 subfamilias; la mayor cantidad de braconides son parasitoides primarios de otros insectos fitófagos, en su mayoría representantes de los ordenes Coleoptera, Lepidoptera y Diptera (Hanson y Gauld 1995).

La mayoría de estos parasitoides, entre ellos *C. flavipes*, son koinobiontes, endoparasitoides y gregarios, que además tiene la característica de poder copular en más

de una oportunidad, en ocasiones hasta ocho veces. La oviposición se realiza en unos 3 a 6 segundos durante la penetración del ovipositor; posteriormente las larvas emergen del hospedante y empupan en sus alrededores formando una masa de pupas (Hanson y Gauld 1995).

Se encuentra distribuido en toda América con excepción de Canadá, Asia y Australia (Mohyuddin y Inayatullah 1981. Leerdam *et al.* 1985. De la Cruz *et al.* 1993. Cave 1995), aunque otros autores confirman su presencia en las regiones australianas e indo-oriental (Mohyuddin 1971 y Austin y Dangerfield 1989) y algunos países africanos (Walker 1994).

Fue introducido en América inicialmente en Florida contra *D. saccharalis* (Gifford y Mann 1967) posteriormente liberada en otros países del continente, es así como este endoparasitoide gregario se ha dispersado desde los Estados Unidos hasta Brasil (Austin y Dangerfield 1989). Se importó por primera vez a Costa Rica en 1984, Honduras en 1985 y El Salvador en 1986 (Cave 1995a).

Este insecto tiene su origen en el sudeste de Asia donde ataca a barrenadores de los géneros *Chilo* y *Sesamia*; fue descrito en 1891 por Camerún bajo el nombre de *Cotesia flavipes*, desde ese momento ha tenido varios nombres, entre ellos *Apanteles flavipes* dado por Wilkinson en 1928 (Bordat *et al.* 1994). Aunque *Apanteles* es considerado por la mayoría de las autoridades como polifilético y en muchos trabajos se sigue utilizando este nombre para referirse al género (Austin y Dangerfield 1989).

Es ubicado dentro de un complejo junto con *C. sesamiae* y *C. chilonis*, siendo en ocasiones imposible de distinguir una especie de otra a no ser por la genitalia del macho. La cópula de *C. flavipes* incluye la búsqueda de la hembra por el macho utilizando principalmente estímulos captados por las antenas, que incluyen movimientos en forma de ondas, vibraciones y contactos, además de un continuo movimiento de las alas y una persecución de los machos por las hembras de por lo menos 3 horas sin alcanzar la cópula, además este Hymenoptero exhibe arrenotoquia (Kimani *et al.* 1995).

La hembra entra en el túnel del hospedero para parasitar la larva del tercer a sexto instar. Al terminar su desarrollo, cada larva hila un capullo blanco dentro del cual empupa. Algunas especies de *Diatraea* son capaces de encapsular la larva del parasitoide (Cave 1995a, Wiedenmann y Smith Jr 1995).

*Cotesia flavipes* presenta la característica de que puede ser criado fácilmente en laboratorios en forma masiva, lo cual es ideal para que pueda ser utilizado en técnicas de control biológico. Actualmente existen laboratorios de producción masiva en Brasil (Pereira *et al.* 1977) Costa Rica (Solís 1987, Hanson y Gauld 1995), y Venezuela (Cave 1995b), que utilizan diferentes técnicas de producción con diferentes dietas artificiales.

Hay una gran variedad de dietas que pueden utilizarse, aunque algunas muestran resultados diferentes (Pang y Long 1961, Hensley y Hammond 1968, Villacorta y Magro 1975, Brewer y Martin 1976, Ayquipa y Siriopú 1978, Mihm 1987, Davis 1987, Vendramím 1990) aunque no difieren mucho de la dieta originalmente propuesta por Adkinsson *et al.* en 1960 para la crianza de la larva del Gusano Rosado del Algodón (*Pectinophora gossypiella*).

Los programas de producción y liberación masiva han tenido un gran éxito manteniendo bajos los niveles de *D. saccharalis* en los sitios donde se ha realizado en Estados Unidos (Gifford y Mann 1967), Brasil (Risco y Brandão 1976), la mayoría de los países insulares del Caribe (Baker *et al.*, 1992) y África (Omwega *et al.*, 1995).

El control biológico es de suma importancia en el combate de las plagas de "gusanos barrenadores". Estos causan severas pérdidas en los cultivos que atacan. Generalmente los insecticidas comerciales no ofrecen un control satisfactorio, por lo que se requiere del uso de este enemigo natural (Alba 1990). *C. flavipes* cumple con las características necesarias para este tipo de insectos plaga (Wiedenmann y Smith 1993).

A pesar de que la mayoría de la investigación de control biológico en *D. saccharalis* con *C. flavipes* han sido en el cultivo de la caña de azúcar, se ha encontrado que las densidades de esta plaga en maíz son bajas cuando el parasitoide se ha establecido y cuando se ha liberado en este cultivo los resultados de control de barrenadores son eficientes (Wiedenmann y Smith 1993), de hecho en México es el parasitoide más importante de *D. saccharalis* en maíz (Rodríguez del Bosque y Smith 1989).

### **Terbufos.**

El uso de insecticidas aplicados al suelo es un medio eficaz de controlar muchos de los insectos habitantes de ese sustrato. En el caso del maíz, los insecticidas organofosforados y carbamatos se aplican normalmente al momento de la siembra o cuando el cultivo está en crecimiento; estos productos presentan una alta persistencia en el suelo, estando disponibles hasta 60 días después de la aplicación (Little *et al.* 1992).

En 1994 Costa Rica consumió un total de 2 221 144 kg de insecticidas (productos formulados y material técnico), con un costo de \$10 910 371. De esta cantidad, un 70% (1 554 800 kg) fueron insecticidas de uso en el suelo, y de estos un 27% (419 796 kg) corresponden al terbufos (Cámara de Insumos Agropecuarios, revisados por el Dr. Bernal Valverde y Stefan Agne, comunicación personal)

La prohibición del nematicida aldicarb (Temik) en el cultivo del banano, provocó un aumento en la utilización del terbufos como su sustituto. Este producto se formula en el país como granulado en vehículos inertes (piedra pómez o Biodac) para emplearse principalmente en banano, maíz y papa. En el maíz se utiliza principalmente contra “vaquitas” (*Diabrotica* spp, Chrysomelidae) y “gallina ciega” (*Phyllophaga* spp, Scarabaeidae)

El terbufos es biológicamente activo en el suelo y es eficaz contra diferentes especies de insectos (Felsot *et al.* 1989, Drinkwater *et al.* 1990, Mack *et al.* 1991, Ritcey *et al.* 1991

Sutter *et al.* 1991. Oloumi-Sadeghi *et al.* 1992), es de transporte limitado, y su acción es por contacto y estomacal. El terbufos es estable en un intervalo de pH 5-7, su DL<sub>50</sub> oral (ratas) es de 1,6 mg/kg, y se clasifica como un producto extremadamente tóxico (Castillo *et al.* 1995).

El insecticida es oxidado en el suelo a terbufos sulfoxido y terbufos sulfona. El insecticida original es poco móvil en el suelo, pero el sulfoxido y la sulfona se mueven más fácilmente, siendo incluso más tóxicos en algunas casos. El terbufos tiene una vida media de 15 a 22 días (Szeto *et al.* 1986), el sulfoxido alcanza un máximo de concentración después de dos semanas de incubación y la sulfona no aparece sino hasta una semana después de iniciada la incubación (Sellers *et al.* 1976). Estos subproductos son persistentes y bastante estables (Castillo *et al.* 1995).

El terbufos es adsorbido rápidamente en el suelo, en forma proporcional a los contenidos de materia orgánica (Diehl *et al.* 1995); su actividad biológica está definida por el tipo de suelo, la humedad y la temperatura (a mayores temperaturas mayor toxicidad) (Chapman *et al.* 1980 y 1982). Además, la eficacia del terbufos depende de sus propiedades, de la biología del insecto y de las características operacionales, es decir, las prácticas del agricultor durante la aplicación, como son la calibración del equipo y la forma de incorporar el producto al suelo (Felsot *et al.* 1989). El uso de terbufos también provoca la pérdida de selectividad del herbicida nicosulfuron al maíz cuando este se aplica posteriormente (Rahman *et al.* 1993, Morton *et al.* 1994).

Aunque la absorción del plaguicida por la planta también depende de las condiciones del suelo, contenido de materia orgánica y tamaño de las partículas (Getzin *et al.* 1959) y de la temperatura (Chapman *et al.* 1980), los suelos con una alta capacidad de intercambio catiónico y una alta concentración de materia orgánica adsorben más insecticida que los suelos con una baja capacidad de intercambio y bajos contenidos de materia orgánica.



Varios autores coinciden en que el reparto de los insecticidas entre la materia orgánica del suelo y la solución del suelo afecta la disponibilidad del insecticida para el insecto. Esta hipótesis sugiere que la cutícula del insecto, al igual que la materia orgánica del suelo, es un excelente adsorbente que compite con el agua durante la absorción (Felsot *et al.* 1989). Existe poca o ninguna evidencia de cómo penetra en la planta y cómo se transporta hasta la larva o insecto, en aquellos casos de organismos no habitantes del suelo.

A pesar de ser un producto no sistémico, se ha demostrado que el terbufos y sus metabolitos excepto el terbufos oxón, penetran en la planta (Szeto *et al.* 1986). En brócoli y coliflor, se detectaron hasta 8,25 ppm de residuos en plantas recolectadas 22 días después de aplicado el producto; el total de residuos de terbufos en el suelo fue diferente al encontrado en los tejidos vegetales. En la planta, el 90% de los residuos que correspondieron a terbufos sulfóxido, terbufos sulfona y terbufos oxón sulfóxido, lo que sugiere que el terbufos y sus metabolitos se transportaron desde el suelo hacia la planta y luego son oxidados dentro de la planta a terbufos oxón sulfona (Szeto *et al.* 1986).

La concentración total de residuos fue mayor en plantas jóvenes y disminuyó unos 22 días después de la aplicación comparado con la de las plantas maduras, en las que solamente se recuperaron trazas menores de 0,01 ppm. En el maíz, se encontraron residuos de 0,43 ppm 40 días después del tratamiento con 4,48 kg/ha del producto formulado al 15% (Felsot *et al.* 1989).

En granos de maíz dulce cosechados al momento de la madurez no se detectaron residuos, a pesar de que en el suelo se presentaba una concentración entre 10-14 ppm. Esto indica que el terbufos o sus sulfonas o sulfóxidos son tomados por la planta en crecimiento a partir del suelo tratado. En los tejidos vegetales se detectaron todos los metabolitos tóxicos, aunque se degradan rápidamente (Felsot *et al.* 1989).

En ocasiones, la poca solubilidad de este producto (45 ppm) produce resultados pobres en el combate de algunas plagas, como es el caso de experimentos con *Elasmopalpus*

*lignosellus* (Pyralidae), en donde las parcelas tratadas no fueron diferentes de la parcela testigo, esto fue atribuido a su escasa solubilidad y a la poca disponibilidad de agua durante el experimento (Sutter *et al.* 1991), esto es confirmado posteriormente por Felsot *et al.* 1989; quienes afirman que los compuestos más tóxicos son generalmente los menos solubles en agua, además de que el terbufos se adhiere fuertemente a las partículas del suelo a pesar de condiciones extremas de lixiviación (Felsot *et al.* 1990).

La determinación de la eficacia de un insecticida aplicado al suelo *in situ* es difícil por la migración de las poblaciones de plagas, la depredación y algunos efectos patológicos que afectan las poblaciones, además de los efectos ambientales en la degradación de los plaguicidas (Mack, *et al.* 1991).

En el cultivo del maíz, el terbufos se utiliza no solo como un nematocida sino también se aprovecha su acción sistémica contra otros organismos como *Blissus leucopterus* (Lygaeidae). Este producto se aplica incorporado al suelo durante la "aporca" del cultivo (Peters 1983).

### **Impacto de los insecticidas sobre los enemigos naturales**

La mayoría de los insectos plagas tienen enemigos naturales que mantienen sus densidades poblacionales en niveles manejables por el agricultor (Ruberson *et al.*, 1994). Todos los parasitoides son insectos, por lo cual es predecible que la utilización de los insecticidas contra las plagas afectan en forma directa a estos organismos (Ripper, 1956, Hilje *et al.* 1987). La mayoría de los parasitoides son más susceptibles a estos productos que la misma plaga, demostrándose que los organofosforados, por ejemplo, tienen una alta toxicidad en estos organismos (Croft *et al.* 1975. Haynes 1988).

Los insectos plaga son por lo tanto menos susceptibles pues han permanecido por mucho más tiempo en contacto con estos productos y también enfrentados a la presencia de sustancias secundarias de defensa producidas por las plantas, de esta forma han

desarrollado mecanismos de defensa y resistencia ante estas sustancias (Gordon 1961 citado por Croft 1975, Duffey 1980).

El daño que recibe el parasitoide puede ser directo o indirecto, siendo la mortalidad el resultado principal cuando el contacto es en forma directa o por residuos que entran en el cuerpo de los organismos adultos, o las larvas de los ectoparasitoides que reciben el producto durante la aplicación. La mortalidad en forma indirecta o los efectos secundarios se presentan cuando el parasitoide recibe el plaguicida a través del hospedante, o cuando el hospedante muere por efecto del insecticida; esto se presenta más fácilmente por cuanto la larva parasitada es mucho más sensible que una larva sana (Croft 1977).

Debido a la estrecha relación que existe entre las poblaciones de los insectos plagas y sus parasitoides, una variación en cualquiera de los dos repercute en la otra; estas variaciones se pueden presentar por el abuso de los plaguicidas (Hilje *et al.* 1987). Existen numerosos casos en donde el uso de los insecticidas provocan daños en las poblaciones naturales de los parasitoides de la plaga que se intenta combatir (Williamson 1995), específicamente contra especies susceptibles a organofosforados y carbamatos, como algunos himenópteros, especialmente Braconidae (Bartlett 1963, Wilkinson *et al.* 1979, Weires *et al.* 1982, Powell *et al.* 1986, Rosenheim *et al.* 1988, Viñuela *et al.* 1992, Borgemeister *et al.* 1993, Gerling y Sinai 1994, Purcell *et al.* 1994, Cabezuelo *et al.* 1995).

El combate de *S. frugiperda* por medio de metomil y tiodicarbo, ha resultado eficaz; en el caso del primero provocó una mortalidad de 50-60% en larvas de *S. frugiperda* y de 95% para tiodicarbo y sus residuos provocaron una mortalidad del 50% en larvas de quinto estadio en el día 14 después de la aplicación (Marenco *et al.* 1991).

En experimentos en maní (Mack 1992), se determinó que el terbufos 15 G en dosis de 2,2 kg i.a./ha provocó variaciones en las poblaciones de las plagas secundarias. Se concluyó que la utilización de los insecticidas granulados al suelo podrían resultar en un serio

problema al reducir las poblaciones de artrópodos terrestres, aunque el uso de estos plaguicidas provoca aumentos considerables en la productividad del cultivo.

Resultados similares se presentan al evaluar el efecto del terbufos (15 G, 1,12 kg i.a/ha) para el combate de *Agrotis ipsilon* (Noctuidae) y el efecto en dos depredadores de esta plaga, donde el insecticida demostró una baja toxicidad hacia la plaga y los enemigos naturales, a pesar de su alta presión de vapor (35 mPa), siendo la más alta de los insecticidas estudiados, lo que le permite alcanzar de una forma más eficiente sus objetivos (Reed *et al.* 1992).

El efecto del aldicarb, un producto de utilización semejante al terbufos, fue evaluado con el parasitoide *Campoletis perdistinctus* (Ichneumonidae). La mortalidad obtenida fue mayor al aplicarle el insecticida en forma directa que a través de plantas de algodón que recibieron aplicaciones al suelo de dicho producto. Se concluyó que el aldicarb era inocuo para el adulto de este parasitoide cuando se utilizaba en el campo (Croft *et al.* 1975)

Aunque las principales referencias de toxicidad en los parasitoides se enfoca en mediciones de la mortalidad, se conoce que los efectos secundarios de los insecticidas pueden afectar la fisiología y el comportamiento tanto de los organismos benéficos como de los herbívoros, y en muy pocos casos se han cuantificado, analizado e interpretados estos efectos secundarios (Croft 1990). Algunos casos reportados en la literatura se refieren a pérdida de la capacidad parasítica, longevidad y supervivencia de *Opius concolor* (Braconidae) al estar en contacto con dosis subletales de varios organofosforados (Jacas *et al.* 1992). También se reporta disminución en longevidad, tasa diaria de producción de prole, tamaño y proporción de sexos en *Aphytis melinus* (Aphelinidae) expuesto a dosis subletales de clorpirifos, malatión y dimetoato (Rosenheim *et al.*, 1988). En el caso de *Aphidius rhopaloshi* (Aphidiidae) se reportan variaciones en el comportamiento en la búsqueda de los hospedantes luego de exponerse a dosis de dos organofosforados, un piretroide y un carbamato (Borgemeister *et al.*, 1993).

También, se ha logrado establecer que las sustancias que componen las partes vegetales de las que se alimenta la larva alcanzan a la larva del parasitoide dentro de su cuerpo, incluso sustancias producidas naturalmente por la planta como son los aleloquímicos, llegan hasta el parasitoide, afectándolo en forma negativa, como sucede con *Cotesia congregata* (Braconidae) parasitoide de *Manduca sexta*, plaga del tabaco (Barbosa *et al.*, 1991)

## Materiales y Métodos

### Experimento 1. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de terbufos en larvas de *D. saccharalis*.

Este experimento se realizó en el laboratorio de investigaciones de la Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), localizado en Santa Gertrudis Sur de Grecia, Alajuela, Costa Rica

Se colocaron larvas de *D. saccharalis* de 14 días de edad en cajas de petri de plástico, en forma individual. En cada caja se depositó un trozo de aproximadamente  $1 \text{ cm}^2$  de dieta (Anexo 1) impregnada con terbufos a razón de 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 y 128 ppm. El insecticida se incorporó en la dieta diluyéndolo previamente en alcohol al 2%. Para cada tratamiento se prepararon 200 ml de dieta, la cual fue mezclada con una batidora eléctrica por 1 minuto para de homogeneizar la distribución del producto. La mezcla se dispensó individualmente en bandejas plásticas para que se solidificara, antes de dividirla en trozos de  $1 \text{ cm}^2$ .

Antes de ser colocadas en las cajas de petri con dieta, las larvas se pesaron en una balanza analítica y a partir de ese momento se pesaron diariamente hasta la aparición de la primera pupa. En cada experimento se usaron 50 larvas por tratamiento. Además, hubo 15 larvas más por tratamiento, de las cuales se sacrificaron tres por día, se pesaron y liofilizaron, para estimar el efecto del terbufos en el peso seco.

Se utilizó un diseño completamente al azar, donde cada larva representó una unidad experimental; cada plato se identificó en forma individual y se mantuvo tapado, para evitar fugas y contaminaciones de la dieta. Para evaluar el efecto del terbufos sobre el hospedante se determinó la mortalidad en forma diaria de cada una de las larvas de *D. saccharalis* utilizadas. El análisis de los datos se realiza a través de ecuaciones de regresión

**Experimento 2. Efecto de dosis subletales de terbufos en *C. flavipes*, parasitoide de *D. saccharalis* en laboratorio.**

También se realizó con el apoyo del Laboratorio de Control Biológico de DIECA.

Se utilizaron 50 larvas de *D. saccharalis* por tratamiento y previamente parasitadas por *C. flavipes*. Las larvas se colocaron individualmente en dieta artificial impregnada con el insecticida, de manera similar al experimento anterior para evaluar el efecto del terbufos en el parasitoide. El efecto del insecticida en el hospedante se verificó en un experimento paralelo con un número idéntico de larvas no parasitadas en iguales condiciones a las parasitadas.

Con base en la reducción del peso vivo de *D. saccharalis* obtenida en el primer experimento, se seleccionaron las siguientes seis dosis subletales de terbufos: 0, 1,3, 9,0, 18,8, 32,1, 53,2 y 108,0 ppm, las cuales se dispensaron individualmente en la dieta artificial, del mismo modo que en el experimento anterior.

Antes de la parasitación, las larvas se pesaron en una balanza analítica. Diariamente se registró el peso en forma individual hasta la emergencia de las larvas del parasitoide, en el caso de las que estaban parasitadas, y la formación del primer adulto, en las no parasitadas. El diseño experimental fue completamente al azar; cada larva representó una unidad experimental, con 50 repeticiones por tratamiento. El experimento completo se repitió dos veces, realizando el análisis estadístico a través de ecuaciones de regresión y correlaciones. Las variables que se evaluaron fueron: el tiempo de salida de las larvas de *C. flavipes*, su mortalidad, la cantidad de pupas formadas y las no eclosionadas (para distinguirlas se colocaron a trasluz para determinar si estaban vacías o no), la cantidad y el tiempo de salida de las avispas, su sexo (diferenciando los machos de las hembras por la longitud de las antenas) y el peso vivo. En aquellos casos en que la larva de *D.*

*saccharalis* parasitada alcanzó el estado de crisálida se consideró como fallida la parasitación y se omitió el análisis.

Las variables utilizadas para estudiar al hospedante no parasitado fueron: peso vivo diario, mortalidad, tiempo a formación de crisálida, tiempo de eclosión y la proporción de sexos.

### **Experimento 3. Distribución de residuos de terbufos en la planta, plaga y su parasitoide.**

Todos los experimentos en que se utilizó  $^{14}\text{C}$ -terbufos se realizaron en invernaderos de la Universidad de Costa Rica autorizados para la manipulación de sustancias radiactivas y en los laboratorios del Centro de Investigación en Contaminación Ambiental (CICA). Para la siembra de las semillas de maíz se utilizó suelo no agrícola proveniente de laderas de la zona de Capellades de Cartago.

Se utilizaron macetas plásticas con capacidad para un 1 kg de suelo, en las que se colocaron 750 g de suelo. Una vez llenas las macetas, se incorporó el terbufos (Counter 10 G) en las dosis requeridas y sobre este 1 ml de  $^{14}\text{C}$  terbufos 6 MBq en 200  $\mu\text{l}$  de acetona y hexano. La siembra se realizó hasta que los solventes se evaporaron.

Se sembró una semilla de maíz (var. Pioneer) por maceta a una profundidad de 2,5 cm y cuando las plantas alcanzaron un estado de desarrollo de 3 a 4 hojas (22 días) se les colocó una larva de *D. saccharalis* previamente parasitada de 14 días de edad, la planta se cubrió con una botella plástica (2 l) transparente perforada, con el objetivo de evitar que escapara la larva. Transcurridas 24 h, se extrajeron las larvas, las plantas y raíces en forma completa y se trasladaron al laboratorio.

El diseño experimental fue completamente al azar con cinco repeticiones. Se utilizaron cuatro tratamientos: 0, 6, 9 y 12 ppm de Counter 10 G® (American Cyanamid) por



maceta. Adicionalmente, se colocaron cinco larvas extras por tratamiento en macetas individuales las cuales se trasladaron a cajas de petri con dieta artificial después de alimentarse por 24 h, para obtener adultos de *C. flavipes*. Tanto las partes vegetales como las larvas del hospedante se almacenaron en refrigeración a  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  para evitar su descomposición mientras eran analizadas.

La extracción del  $^{14}\text{C}$ -terbufos de las muestras se inició eliminando la presencia de suelo de la muestra. Una vez limpia y secada con una toalla, las muestra se pesaron en una balanza analítica. Seguidamente la muestra fue molida en una licuadora (en el caso de la larva del hospedante, esta primero fue procesada en un triturador de tejidos). La extracción inicial de la muestra se hizo en una licuadora utilizando como disolventes una mezcla de 50 ml de  $\text{CH}_3\text{COH}_3^1$  (acetona) y 50 ml de  $\text{CH}_3\text{OH}$  (metanol).

Una vez molidas se filtraron a través de un papel filtro (Whatman # 90) y se recogió el filtrado en un balón de 500 ml. En la licuadora se realizó una segunda extracción con 20 ml de  $\text{CH}_3\text{COH}_3$  y 20 ml de  $\text{CH}_3\text{OH}$ , de nuevo se filtró y, al remanente en la licuadora se le realizó una tercera extracción con 20 ml de  $\text{CH}_3\text{COH}_3$ , 20 ml de  $\text{CH}_3\text{OH}$  y 20 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (diclorometano). Los tres extractos se combinaron y se evaporaron en un evaporador rotativo hasta obtener una muestra de 3 ml.

La solución de 3 ml se colocó en un embudo de separación en donde se adicionaron 50 ml de agua destilada en la que se habían disuelto 2 g de sulfato de sodio anhidro y posteriormente se agregaron 3 porciones de 50 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La solución fue agitada vigorosamente y se extrajo la fase inferior filtrando a través de un embudo con aproximadamente 30 g de sulfato de sodio anhidro, recogiendo y cuantificando esta solución en un balón de 500 ml.

De la fracción que permaneció en el embudo de separación se tomó una alícuota de 1 ml en un frasco para centelleo a la cual se le adicionó 7 ml de solución de centelleo para fase

---

<sup>1</sup> Todos los solventes utilizados son grado plaguicida

acuosa (etilenglicol + dioxano + PPO) y se analizó en el contador de centelleo líquido. La solución que se recogió en el balón se concentró nuevamente en el evaporador rotatorio hasta un volumen de 10 ml el que se recogió en un balón de 10 ml y cuando fue necesario se aforó con diclorometano.

Esta nueva fracción se trasvasó a un frasco de centelleo y se extrajo una nueva alícuota de 1 ml que se colocó en otro frasco similar y se le agregaron 7 ml de solución de centelleo (PPO + POPOP + tolueno) para cuantificar la radioactividad en el contador de centelleo líquido.

En el caso de las muestras de la parte aérea de la planta, la presencia de la clorofila interfirió con la lectura en el contador, por lo que fue necesario limpiar los extractos filtrándolos a través de una columna de 1 cm de carbón activado y realizando tres lavados con diclorometano.

Del extracto obtenido para cada muestra (sin incluir la fase acuosa) tomó otra alícuota de 1 ml y por medio de un capilar se colocó en una cromatoplaquea de sílica gel 60F<sub>254</sub> para cromatografía en capa fina de 20 x 20 cm y un espesor de 0,25 mm (Merck). Inmediatamente después de poner la solución, se colocó en un tanque de revelado con 25 ml de acetona, 65 ml de acetato de etilo y 110 ml de hexano, permaneciendo aproximadamente 1 h hasta alcanzar el nivel estándar (15 cm). Posteriormente se midió el R<sub>f</sub> para identificar el metabolito presente en la solución. Las placas se expusieron a luz ultravioleta (254 nm) comparándose los R<sub>f</sub> s de los componentes del extracto con los del estándar analítico. Los radiogramas se realizaron exponiendo durante 22 días una película X-Omat Kodak Xar5 a las placas y revelando por procedimientos estándar.

Los resultados obtenidos se analizan a través de una prueba de análisis de varianza.

## Resultados y Discusión

### Experimento 1. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de terbufos en larvas de *D. saccharalis*.

Para determinar la  $CL_{50}$  se evaluó principalmente la mortalidad de las larvas ocasionada por el insecticida consumido en dosis crecientes. En los experimentos preliminares no se lograron las dosis subletales (Anexo 2) necesarias para la siguiente fase debido a problemas como disuasión por la dieta o poca solubilidad del producto. Por esta razón el experimento se repitió en varias ocasiones.

El análisis probit de la mortalidad de las larvas de *D. saccharalis* no permitió el cálculo preciso de la  $CL_{50}$ , por lo que se utilizaron otras variables para establecer una tendencia que permitiera estimar el efecto de las dosis subletales. En los bioanálisis definitivos hubo mortalidad debida al insecticida en las dos dosis más altas (64 y 128 ppm); las muertes ocurrieron a partir del segundo día después de la ingestión de dieta contaminada (Anexo 3).

El peso vivo de las larvas permitió estimar mejor el efecto del insecticida (Fig. 1). Conforme se incrementó la dosis de terbufos en la dieta, disminuyó el peso de las larvas. En el tratamiento sin insecticida, la larva incrementó su peso en un 198% antes de alcanzar la etapa de pupa, el cual fue mayor que el alcanzado por las larvas que se alimentaron con dieta contaminada.

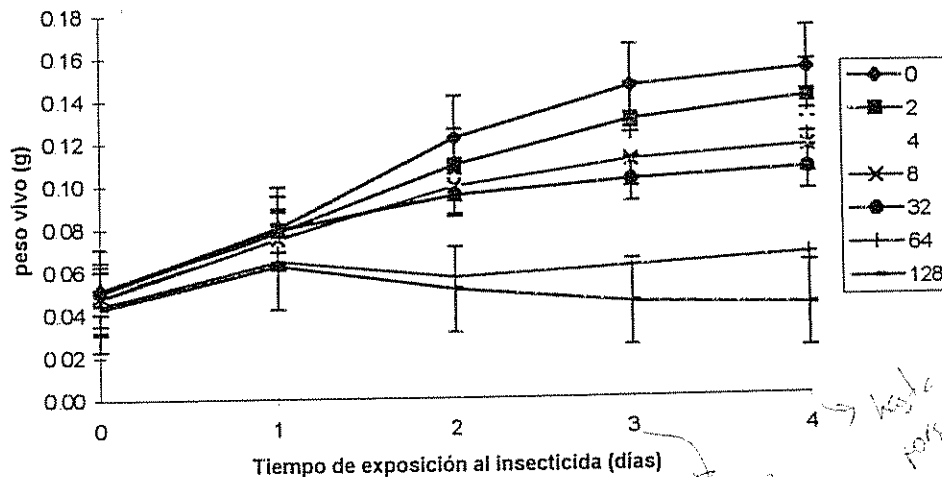


Figura 1. Peso vivo promedio de larvas de *D. saccharalis* alimentándose con dieta contaminada por terbufos (ppm)

Las primeras muertes, atribuibles al insecticida, se presentaron al cuarto día de alimentación con dieta contaminada. Por lo tanto, se realizó un análisis de regresión para determinar la respuesta a las dosis de terbufos con base en la reducción del crecimiento al tercer día (Fig. 2)

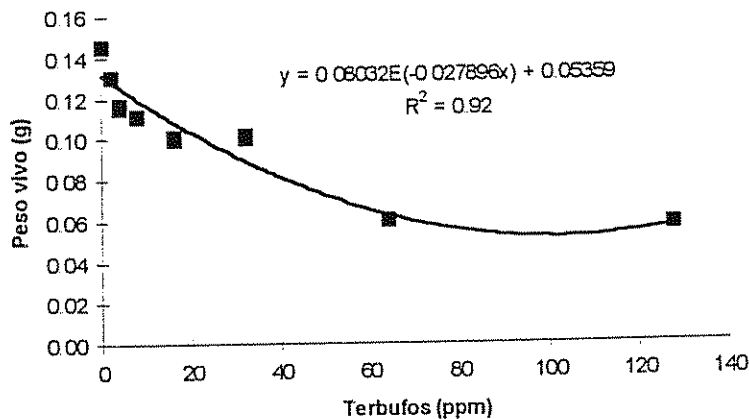


Figura 2. Peso vivo promedio de larvas de *D. saccharalis* al tercer día después de alimentación en dieta artificial tratada con terbufos.

Con base en la ecuación de regresión exponencial de caída simple (Fig. 2) se calcularon los valores de inhibición relativa, en ppm: 1,32 ( $I_{10}$ ), 9,01 ( $I_{20}$ ), 18,77 ( $I_{30}$ ), 32,08 ( $I_{40}$ ), 53,17 ( $I_{50}$ ) y 108,03 ( $I_{60}$ ).

El peso seco de las larvas, determinado al final del período larval, varió con la dosis de terbufos en forma análoga al peso vivo (Fig 3); es decir, conforme aumentó la dosis del insecticida disminuyó el peso seco de las larvas hasta un 66%, con la mayor dosis utilizada.

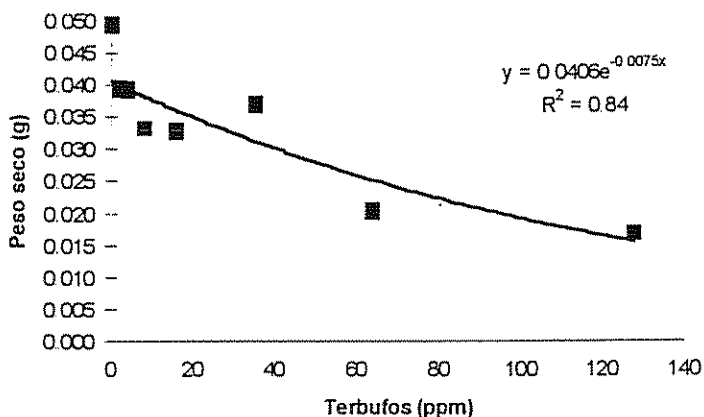


Figura 3. Peso seco promedio de larvas de *D. saccharalis* al terminar la etapa de larva (para aquellos individuos que no se convirtieron en pupa).

Las larvas disminuyeron de peso y consumieron menos dieta conforme aumentó la dosis de terbufos. Es posible que algunas larvas evitaran la alimentación por algún rechazo a los vapores del terbufos que se desprendían de ella, el olor debido al insecticida era evidente, o porque el grado de intoxicación subletal les impidió alimentarse en forma normal. De hecho, los procesos fisiológicos de las larvas, como la excreción, resultaron afectados (Fig 4). Al aumentar el contenido de terbufos en las dietas, las larvas disminuyen hasta en un 86% la cantidad de excretas al compararse con las larvas sanas (Anexo 3).

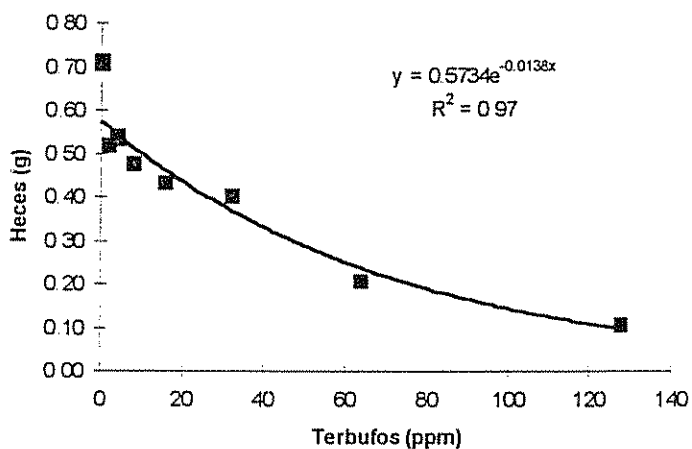


Figura 4. Cantidad de excretas producidas por larvas de *D. saccharalis* alimentadas con dieta tratada por terbufos.

Lo anterior es de particular importancia, pues las hembras adultas de *C. flavipes*, requieren de la presencia de las excretas (kairomonas) de *D. saccharalis* para localizarlo como hospedante (Leerdam *et al.* 1985). Lo anterior significa que un mal uso del terbufos, como el mal cálculo de la dosificación, podría alterar la relación hospedante - parasitoide al impedir una fácil localización de la larva plaga por parte del parasitoide

## **Experimento 2. Efectos de dosis subletales de terbufos en *C. flavipes*, parasitoide de *D. saccharalis* en laboratorio.**

Se presentan y discuten los resultados combinados de los dos experimentos, excepto para las variables que de acuerdo con un análisis de parcelas divididas difirieron en la respuesta al terbufos en las dos repeticiones.

### **Peso vivo de *D. saccharalis* no parasitadas:**

En estos experimentos se utilizaron dosis subletales, las cuales no provocaron la muerte de las larvas del hospedante; si ellas murieran, el efecto inmediato en las larvas del endoparasitoide sería también la muerte. El peso vivo de las larvas fue afectado por el insecticida de manera similar en ambos experimentos, a pesar de que el análisis estadístico los presenta como diferentes (Anexo 4). Esta diferencia probablemente se debe a variaciones mínimas en las condiciones en que se manejó el material biológico utilizado. Las larvas del primer experimento extendieron su etapa larval en un día.

El peso inicial de las larvas antes de colocarlas en la dieta contaminada fue idéntico en ambos experimentos. En las mediciones subsiguientes (entre 2 - 6 días) los pesos de las larvas difirieron entre experimentos; posteriormente se igualaron.

Algunos factores externos como la temperatura de incubación de las larvas desde el momento de la eclosión de los huevos hasta el día 14, pudieron alterar el ciclo de vida de *D. saccharalis*, retrasándolo o acelerándolo. En estos experimentos se procuró mantener en el sitio donde se incubaron las larvas entre 28 y 29 °C por medio de una resistencia encendida durante el día. Aunque se intentó mantener constante la temperatura todo el tiempo en ocasiones, dependiendo de la temperatura ambiental, se registraron variaciones en la temperatura de la habitación que no pudieron controlarse.

La larva de un endoparasitoide requiere de un hospedante sano, que mantenga un consumo de alimento normal y un comportamiento que no interfiera en su desarrollo y crecimiento. La presencia de dosis subletales de terbufos en la dieta artificial, que podría asemejar la presente en el campo en los tejidos de una planta tratada sobre la cual se alimenta *D. saccharalis*, provocó una disminución progresiva en el peso vivo del insecto hospedante conforme aumentó la dosis. Este efecto fue más notorio en el primer experimento que en el segundo (Fig. 5, Anexo 5).

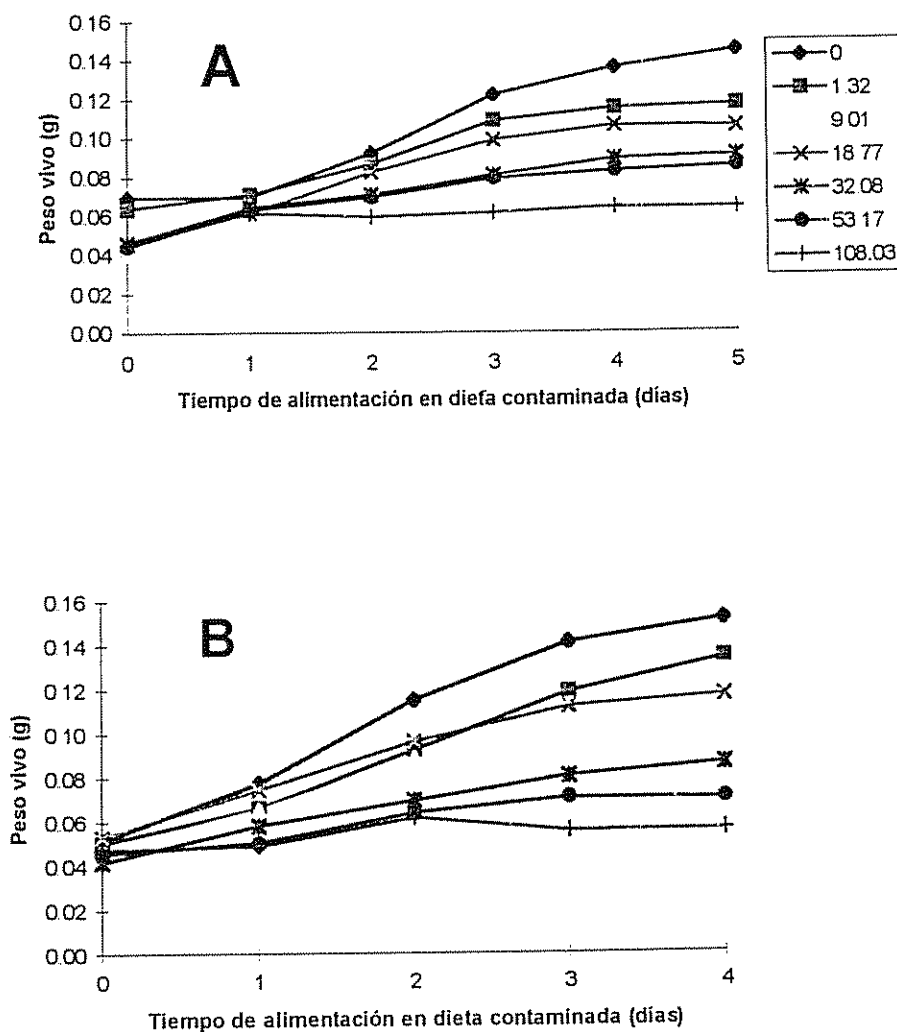


Figura 5. Peso vivo de larvas de *D. saccharalis* no parasitadas, alimentadas con dieta artificial tratadas con terbufos (ppm) en dosis subletales en el primer (A), y en el segundo (B) experimento.



Las larvas que se alimentaron de dieta no contaminada aumentaron en su peso vivo de un 108% en el primer experimento y de un 194% en el segundo, un día antes de iniciar la etapa de formación de pupa (tomando en cuenta que en el segundo experimento la etapa larval finalizó un día antes).

En ambos experimentos, hubo una correlación negativa entre el peso vivo de la larva del hospedante y la dosis de terbufos incluida en la dieta, en todas las evaluaciones diarias (Anexo 5).

Las larvas expuestas al terbufos se mostraban irritables y padecían convulsiones posiblemente, quizás debido al efecto de este insecticida sobre el sistema nervioso, en virtud de la inhibición de la enzima acetil colinesterasa (Lagunes y Villanueva, 1994). En ocasiones, la larva permaneció fuera de la dieta siendo lo normal que la consuma y permanezca dentro de ella hasta el final de la etapa de larva, como lo hicieron la mayoría de los individuos del tratamiento sin terbufos.

Al igual que en el experimento anterior, las larvas intoxicadas posiblemente sufrieron una disminución en su apetito o sufrieron algún grado de disuación hacia la dieta contaminada. El desarrollo y crecimiento de las larvas del parasitoide podría ser afectado cuando se alimenta de un hospedante enfermo.

Aunque el terbufos no es un insecticida que se utilice con frecuencia en la caña de azúcar, es el producto que mejores resultados ofrece como controlador de plagas del suelo y que además no produce disminuciones en el contenido de azúcar en la caña (Vargas y Barquero, 1987). Sin embargo, el terbufos es utilizado por muchos pequeños y medianos productores para controlar plagas al momento de la siembra y en los primeros días de varios cultivos hortícolas.

### Tiempo a empupamiento de *D. saccharalis* no parasitadas.

En ausencia de terbufos las larvas del primer experimento tardaron un día más (7,2 días) en alcanzar la etapa de pupa que las del segundo experimento (6,1 días). En ambos experimentos, conforme aumentó la dosis del terbufos prolongó el tiempo necesario para que la larva alcanzara la siguiente fase (Fig. 6), si este fuera el caso en el cultivo, tendría consecuencias negativas, pues las larvas continuarían con su alimentación por un período mayor con el consiguiente daño para las plantas.

Con base en la mayor dosis de terbufos empleada (108 ppm), la demora en la formación de pupas fue proporcionalmente mayor en el segundo experimento, en el que se amplió el período con respecto al testigo que en el primero, se incrementó en un 60% con respecto al testigo (Anexo 7). Existió una correlación directa entre la dosis del insecticida y el tiempo en alcanzar la fase de pupa ( $r = 0,42$ ,  $p \leq 0,0001$ ).

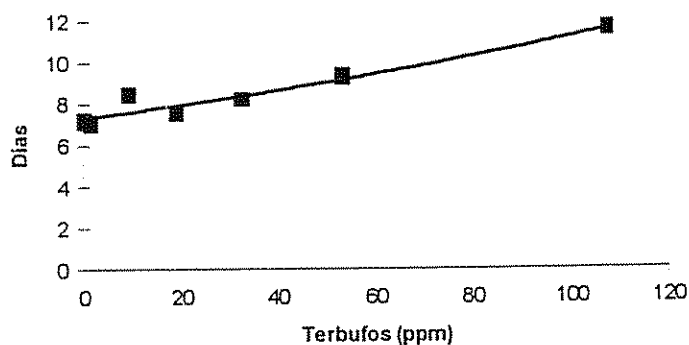


Figura 6. Tiempo de formación de pupas de *D. saccharalis* alimentadas en dieta artificial con dosis subletales de terbufos.

### Tiempo de eclosión de las pupas de *D. saccharalis* no parasitadas.

El tiempo transcurrido desde la formación de la pupa hasta la emergencia del adulto también fue afectado por el terbufos. Las larvas que no consumieron dieta contaminada y alcanzaron en forma normal su estado de pupa, emergieron en un período promedio de 7,6

días. Conforme aumentó la dosis de terbufos se prolongó la etapa de pupa ( $r = 0,16$ ,  $p \leq 0,0004$ ) hasta en un 9% (Anexo 8), no hubo diferencias entre experimentos y tampoco se observó una tendencia clara.

En el tratamiento con la mayor dosis de terbufos (108,0 ppm) solamente se formaron siete pupas, una de las cuales se momificó. Evidentemente, el terbufos impidió la continuación del ciclo de *D. saccharalis*; la mayoría de las larvas permanecieron en ese estado y murieron antes de empupar. El 66% y 58% de las larvas que se alimentaron con dieta contaminada no lograron empupar, en el primer y segundo experimento respectivamente. En algunas larvas también se observó una malformación que podría describirse como un estado intermedio entre larva y pupa. Estas larvas no empuparon normalmente, muriendo pocos días después. La frecuencia de estas malformaciones aumentó conforme se incrementó la dosis de terbufos en la dieta artificial, siendo en promedio de 13 individuos en el experimento 1 y 25 en el segundo. Las larvas no expuestas al terbufos o las que se alimentaron en dietas contaminadas con las dosis más bajas del insecticida (1,3 y 9,0 ppm) no exhibieron la anormalidad descrita. La presencia de esta malformación fue de un 10% en el primer experimento y de un 14% en el segundo.

#### **Proporción de sexos en *D. saccharalis* no parasitadas.**

La proporción de sexos en el tratamiento sin terbufos fue de 2,7:1; (hembra:macho). Con el aumento de las dosis del insecticida se observó un aumento en el número de machos con la subsecuente disminución en el número de las hembras, alcanzando valores de 2,7:1 y 3,5:1 para el experimento 1 y 2 respectivamente, el terbufos incidió en la determinación sexual del adulto del hospedante (Anexo 8)

En el segundo experimento, en el tratamiento sin el insecticida la proporción fue de 3,7:1. La alteración en la proporción de sexos fue similar al incrementarse la dosis del terbufos. Además, al incrementarse la dosis del insecticida disminuyó la cantidad de adultos que se

recuperaron, incluso en la mayor dosis (108.03 ppm) solamente cinco individuos en cada repetición se obtuvieron (Fig. 7).

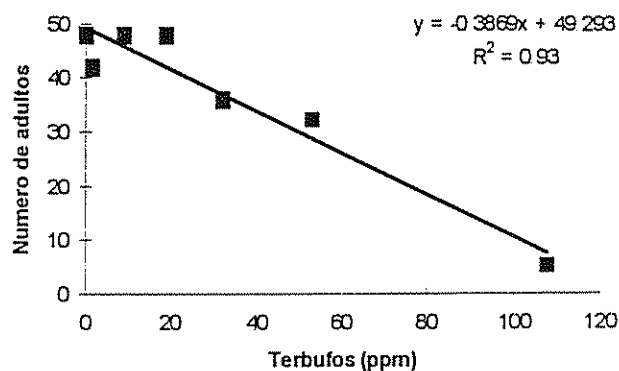


Figura 7 Número de adultos de *D. saccharalis* obtenidos a partir de dieta artificial con dosis subletales de terbufos. (Los datos corresponden al promedio de dos experimentos)

La proporción de sexos es un componente importante para caracterizar una población (Romoser y Stoffolano 1994) cualquier alteración en la proporción de los sexos podría producir una respuesta negativa en la población de un organismo. Pero en el caso de una plaga, los resultados son favorables para disminuir la capacidad reproductiva de esta especie.

#### Mortalidad de *D. saccharalis* no parasitadas.

El objetivo de estos experimentos fue valorar el efecto de dosis subletales de terbufos sobre *D. saccharalis* y *C. flavipes*. Por lo tanto, los contenidos de terbufos en la dieta se escogieron de modo que la mortalidad del hospedante fuera mínima. La mortalidad de *D. saccharalis* aumentó con la dosis de insecticida; el máximo alcanzado con la dosis mayor fue de 10% y 16% en el primer y segundo experimento, respectivamente (Fig. 8, Anexo 10).

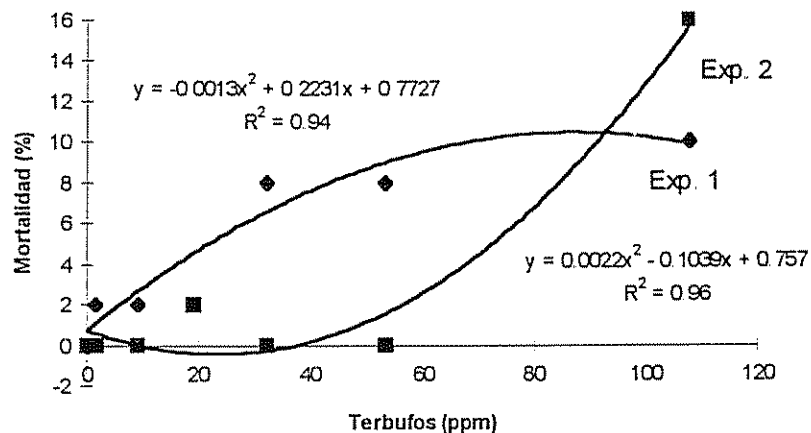


Figura 8. Mortalidad de larvas de *D. saccharalis* no parasitadas obtenidas en dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos.

#### Tiempo de desarrollo y mortalidad de larvas de *C. flavipes*.

Una vez alcanzado el desarrollo adecuado, las larvas del endoparásitoide empezaron a emerger del cuerpo del hospedante. Las larvas emergieron en forma simultánea y unos minutos después se agregaron y empezaron a tejer los capullos en donde continuaron con su etapa de pupa. El terbufos afectó levemente el tiempo que necesitaron las larvas para desarrollarse en su hospedante. Las larvas de *C. flavipes* que se desarrollaron en larvas de *D. saccharalis* no tratadas con insecticida completaron su estado larval en 10,1 días desde la oviposición hasta la emergencia de las larvas (Anexo 11).

En presencia del terbufos el retraso no fue tan severo; alcanzó en promedio 10,4 días en la dosis más alta del insecticida (Fig. 9). Este retraso pudo deberse a cambios en la disponibilidad y calidad de alimento para el endoparásitoide, necesitando más tiempo para desarrollarse. El insecticida influye en una manera directa en el aumento del período larval del parásitoide ( $r = 0,15$ ;  $p \leq 0,003$ ). El terbufos es absorbido indirectamente en la cadena alimenticia a través de la dieta al hospedante y del hospedante al endoparásitoide (Croft, 1990).

De acuerdo a Moriarty (1969), los efectos subletales pueden ser producidos de tres formas diferentes: a) como un efecto directo del insecticida en el sistema nervioso; b) como efectos indirectos causados por un desorden químico del sistema hormonal que trae como consecuencia cambios en las secreciones endocrinas y c) por efectos directos en sitios no nerviosos, por ejemplo en la síntesis de proteínas.

Los daños a un endoparasitoide a través de su hospedante pueden ser perjudiciales en un programa de control biológico. Un hospedante afectado por condiciones climáticas o colonizado por patógenos puede provocar la muerte de las larvas internas. *C. flavipes* es un excelente controlador de *D. saccharalis*; contribuyendo con un 43% al parasitismo total en una plantación de caña de azúcar (Santos de la Cruz *et al.* 1993)

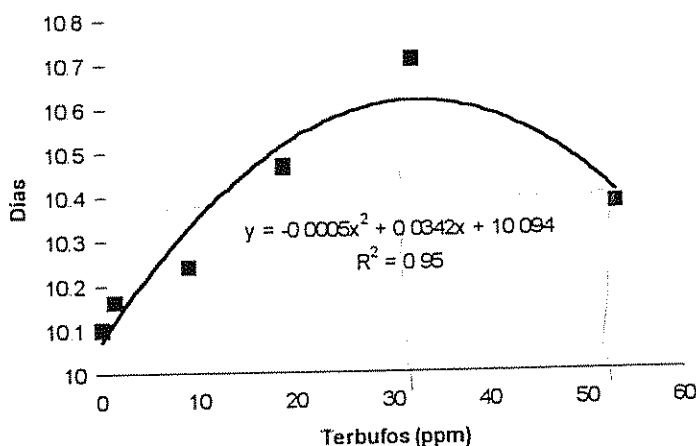


Figura 9. Tiempo de emergencia de las larvas de *C. flavipes*. A partir de dieta contaminada con dosis subletales de terbufos.

La mortalidad de las larvas de *C. flavipes* aumentó conforme se incrementó la dosis del insecticida en la dieta del hospedante (Fig. 10). No fue posible establecer el número total de larvas que crecieron dentro del hospedante, pues bajo las condiciones experimentales no se logró determinar cuántas larvas murieron dentro del cuerpo del hospedante o cuántas no lograron emerger; tampoco se dispone del número de huevos colocados por la

hembra del parasitoide o su fecundidad. Por ejemplo, como sucede con la eclosión de huevos de *Bracon mellitor* (Braconidae) la cual se ve disminuida en presencia de carbaril (Grosch y Hoffman 1973).

Tampoco es posible conocer el porcentaje de encapsulamiento, el cual según algunos autores es del 10% en poblaciones de *D. saccharalis* (Wiedenmann y Smith 1995). Aunque el encapsulamiento puede ser notado como un área oscura cerca del dorso posterior para el caso de *C. flavipes* (Wiedenmann y Smith 1993), en el transcurso de ambos experimentos no se encontró ninguna larva con estas características. La forma en que se realizó la parasitación y el manejo que se dio a las larvas disminuyó las probabilidades de este fenómeno y favoreció el éxito de la parasitación.

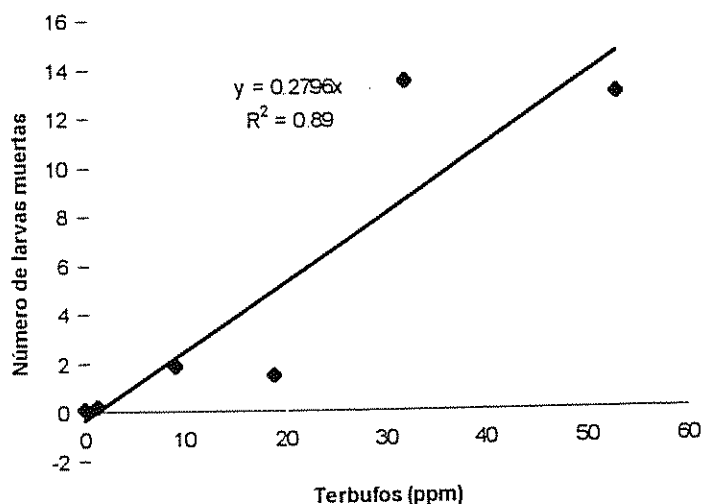


Figura 10. Mortalidad de larvas de *C. flavipes* emergidas del hospedante a partir de dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos.

En promedio, solo murieron 0,15 larvas en el tratamiento sin terbufos. La mortalidad aumentó con la dosis de insecticida, hasta alcanzar un total de 13,5 larvas de *C. flavipes* muertas. El efecto del terbufos sobre la mortalidad de larvas del parasitoide fue igual en los dos experimentos realizados. No se logró obtener una sola larva del tratamiento de 108 ppm de terbufos.

Se presentó una relación lineal entre la dosis de terbufos y el número de larvas que alcanzaron a emerger pero que murieron sin formar su capullo ( $r = 0,64$ ;  $p \leq 0,0001$ ). Las larvas del hospedante, como se indicó anteriormente, manifestaron una reducción en su peso vivo conforme se incrementó la dosis del terbufos, lo que sugiere que la disponibilidad de alimento estuvo limitada para estas larvas. También el terbufos o sus metabolitos producidos en el hospedante podrían tener un efecto directo sobre el parasitoide, ocasionándole la muerte.

Otros autores determinaron el efecto negativo de un insecticida organofosforado sobre parasitoides, en trabajos con *Cotesia congregata* (Braconidae), Bentz y Barboza (1990), corroboraron que el parasitismo se reduce en el quinto estadio de *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) como resultado del consumo de nicotina (0,1%) del hospedante. Los parasitoides también fueron más susceptibles a los insecticidas que los hospedantes plagas en trabajos con dieta artificial contaminada con malatión (Purceel *et al.* 1994). En *Apanteles marginiventris* (Braconidae) también se reporta alta mortalidad causada por los organofosforados sulprofos y profenos en dosis mínimas (Wilkinson *et al.* 1979).

El terbufos puede alcanzar a las larvas de *C. flavipes* a través de la cadena alimentaria. Algunas larvas de endoparasitoides absorben nutrimentos en forma directa a través de la cutícula, y presentan una membrana de absorción que puede localizarse en la vesícula anal. En algunos endoparasitoides koinobiontes, como es el caso de *C. flavipes*, la absorción de nutrimentos se inicia en la etapa de huevo a través de una membrana especializada denominada trofanmion. Antes de la eclosión del huevo, esta membrana se divide en pequeños trozos llamados teratocitos. Estos normalmente absorben nutrimentos del hospedante y en algunos casos la larva del parasitoide se alimenta directamente de estos, lo que evita un daño temprano a los órganos del hospedante. Lo más importante en este caso es que la alimentación a través de teratocitos puede ser una vía por la cual el parasitoide evita consumir toxinas secuestradas o fabricadas por el hospedante y presentes en la hemolinfa o en el cuerpo graso (Hanson y Gauld 1995).



### Cantidad y viabilidad de pupas de *C. flavipes*.

Una vez que emergieron las larvas del hospedante, empezaron a congregarse e iniciaron el tejido de sus capullos, los cuales se adhirieron entre sí formando una masa, en la que es posible distinguir una pupa de otra.

En las larvas del hospedante que no se alimentaron con dieta contaminada, se obtuvieron 51,1 pupas de *C. flavipes* (Anexo 12). En presencia de terbufos en la dieta de *D. saccharalis*, el número de capullos del parasitoide disminuyó severamente ( $r = -0.69$ ;  $p \leq 0,0001$ ); en la dosis más alta utilizada (108,0 ppm de terbufos) no se obtuvo ninguna pupa del parasitoide (Fig. 11).

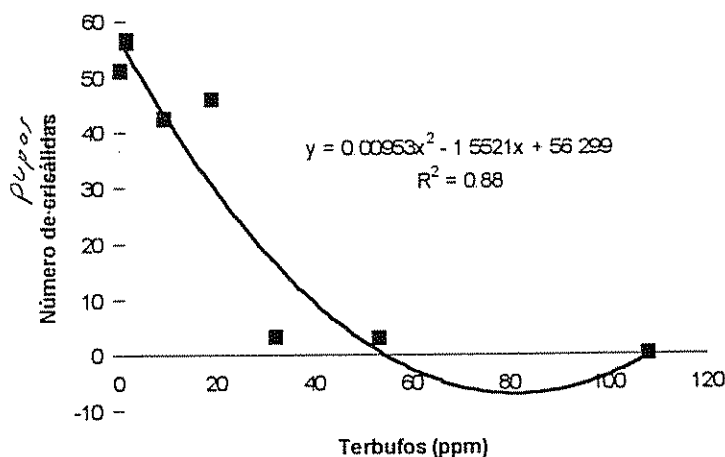


Figura 11. Número de pupas de *C. flavipes* obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada por dosis subletales de terbufos.

Los efectos secundarios se manifestaron también en las pupas que no lograron desarrollarse y que murieron sin convertirse en adulto. En este caso, las diferencias entre los tratamientos con terbufos y el testigo son también bastante amplias. En promedio, solo 0,11 pupas del parasitoide no alcanzaron a completar su etapa en el tratamiento sin de terbufos; los demás tratamientos que involucraron al terbufos en la dieta del hospedante provocaron la muerte de la larva de *C. flavipes* dentro del capullo, impidiéndole alcanzar

el estado adulto ( $r = -0,10$ ;  $p \leq 0,011$ ). Los resultados entre experimentos fueron similares y no se logró obtener una ecuación de regresión que explicara con sentido biológico el comportamiento de la variable.

### Tiempo de eclosión de las pupas de *C. flavipes*

Así como se presentó un aumento en el periodo larval de *C. flavipes* parasitando *D. saccharalis* tratada con terbufos, las pupas también tardaron más tiempo en eclosionar. Las pupas tardaron hasta 7,4 días en promedio en eclosionar cuando provinieron de larvas criadas a partir de *D. saccharalis* alimentándose de dieta contaminada. Por el contrario, en ausencia de terbufos, las pupas de *C. flavipes* eclosionaron en promedio en 6,7 días. Los resultados en los dos experimentos fueron similares entre sí (Anexo 13), pero no se logró establecer una relación que explique claramente esta tendencia (Fig 12)

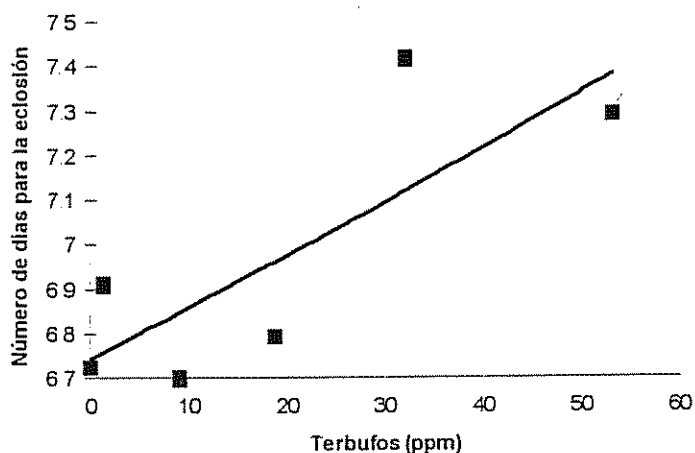


Figura 12. Tiempo de eclosión de pupas de *C. flavipes* obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos

### Proporción de sexos y número de adultos de *C. flavipes*.

La proporción de machos y hembras en el tratamiento sin terbufos fue de 1,7:1, es decir, casi dos hembras por cada macho, con lo cual el parasitoide se reproduce. En presencia del terbufos en la dieta artificial a través del cuerpo del hospedante estas proporciones se alteraron (Anexo 14). De esta manera, en la primera dosis de 1,3 ppm de terbufos, la

1:1,7

7

proporción fue de 2,2:1, 9,0 1,8:1 y en 18,8 la proporción fue de 1,1:1. Hasta este momento se mantuvo la tendencia de un mayor número de hembras que machos aunque en continua reducción (Fig. 13). Pero, al aumentar la dosis a 32,1 el resultado fue de 1:1,3 y en 53,2 ppm de terbufos 1:1,9, en el tratamiento de 108,0 ppm no se obtuvo ningún adulto.

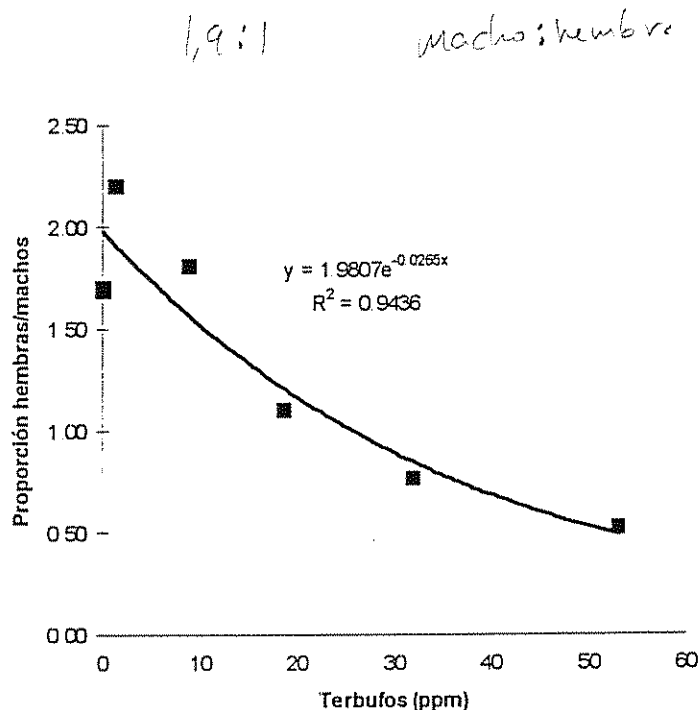


Figura 13. Proporción de hembras y machos adultos de *C. flavipes* obtenidas de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada por dosis subletales de terbufos.

Se presenta un efecto del terbufos en la cantidad de machos y hembras de *C. flavipes*. Al aumentar la dosis disminuyó la cantidad de adultos, presentándose una mayor cantidad de machos en las dosis más altas del insecticida. Es importante mencionar que no hay diferencia entre los resultados en el número de hembras para cada repetición del experimento, la relación es inversa entre dosis y número de hembras ( $r = -0,50$ ;  $p \leq 0,0001$ ); en el caso del número de machos, la relación entre dosis y la cantidad de machos fue inversa para cada repetición ( $r = -0,36$ ;  $p \leq 0,0001$ ). En trabajos realizados con la proporción de sexos de *Bracon mellitor* (Braconidae) esta fue afectada por la presencia de azinfos metilo y clordimenform aumentando, a diferencia del terbufos, el número de

hembras aumentó con la dosis (O'Brien *et al.* 1995), lo que demuestra tanto los daños como la variación en la respuesta de un organismo benéfico a un insecticida.

La aplicación de un plaguicida a una especie benéfica natural puede afectar en forma diferente a los machos y a las hembras, esta debido a la relación entre el sexo y la fisiología, la fenología y el comportamiento (Croft 1990). En el caso de *C. flavipes*, el macho tiene la capacidad de copular con más de una hembra, esta capacidad es favorecida por la mayor cantidad de hembras, la presencia de un agente externo negativo; el terbufos en este caso, provoca una desproporción en los sexos que posiblemente afecte los niveles poblacionales del endoparásitoide.

#### **Peso de los adultos de *C. flavipes*.**

El peso de los adultos 24 h después de la emergencia, fue una variable importante. En teoría, un individuo físicamente sano, con un peso normal, tiene la capacidad de poder buscar y ubicar su hospedante, de reproducirse y parasitar la plaga. El peso de los machos fue diferente entre ambas repeticiones, no así el de las hembras (Anexo 15).

En general, en ausencia del terbufos, las hembras de *C. flavipes* pesaron más que los machos (Fig. 14). Las dosis menores de terbufos (hasta 18,77 ppm) en la dieta del hospedante no afectaron el peso de los machos del parasitoide, al incrementarse la concentración del insecticida disminuye el peso de las hembras y se incrementa el peso de los machos. A partir de 18,77 ppm de terbufos en la dieta del hospedante el peso de los machos de *C. flavipes* se redujo en forma severa (68% y 96% con las dosis de 32,08 ppm y 53,17 ppm, respectivamente en el primer experimento). En el segundo experimento el peso de los machos disminuyó gradualmente a partir de la dosis de 9,01 ppm de terbufos, pero estos individuos no alcanzaron pesos tan bajos en las últimas dosis como en el primer estudio.

Las hembras de *C. flavipes* fueron más sensibles al efecto del terbufos que los machos; el terbufos en todas las dosis usadas redujo el peso de las avispas entre el 51% y el 71%, ( $r =$

-0,07,  $p \leq 0,275$ ). Esta relación es importante pues las hembras de *C. flavipes* son las que buscan al hospedante y ejercen el control sobre éste.

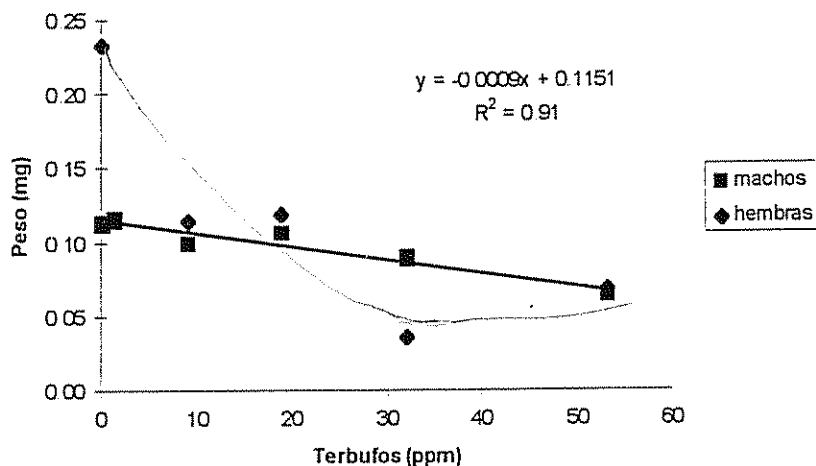


Figura 14 Peso de adultos de *C. flavipes* obtenidos de hospedantes alimentados con dieta artificial contaminada por dosis subletales de terbufos.

#### Parasitación por *C. flavipes* y peso de *D. saccharalis*.

La presencia de un parasitoide puede modificar la respuesta de su hospedante a un insecticida por contacto directo o efecto residual. Se conoce que algunos parasitoides atacan órganos del hospedante individualmente (cuerpo graso, por ejemplo) y eventualmente matan al hospedante en forma específica. La especificidad de esta acción, el estado del insecto en el instante que se realiza el consumo y el subsecuente vigor del hospedante puede influir la susceptibilidad del hospedante y obviamente afectar al parasitoide (Croft 1990).

Las larvas de *D. saccharalis* parasitadas aumentaron más su peso comparadas con larvas no parasitadas. Este peso extra quizás se debió al crecimiento de las larvas del parasitoide desarrollándose dentro del cuerpo del hospedante. Las larvas del hospedante del tratamiento sin terbufos incrementaron su peso al doble (195% en el primer experimento y un 273% en el segundo), mientras que las larvas parasitadas experimentaron ganancias en

peso de un 308% y 375% para el primer y segundo experimento respectivamente (Fig. 15).

El terbufos incide también en los pesos de las larvas parasitadas. Si comparamos los pesos al final de la etapa de larva para cada una de las dosis, se observa que los pesos tienden a disminuir conforme se incrementa la concentración del insecticida. Esta disminución en el peso llegó hasta el 51% en ambos experimentos (Anexo 16).

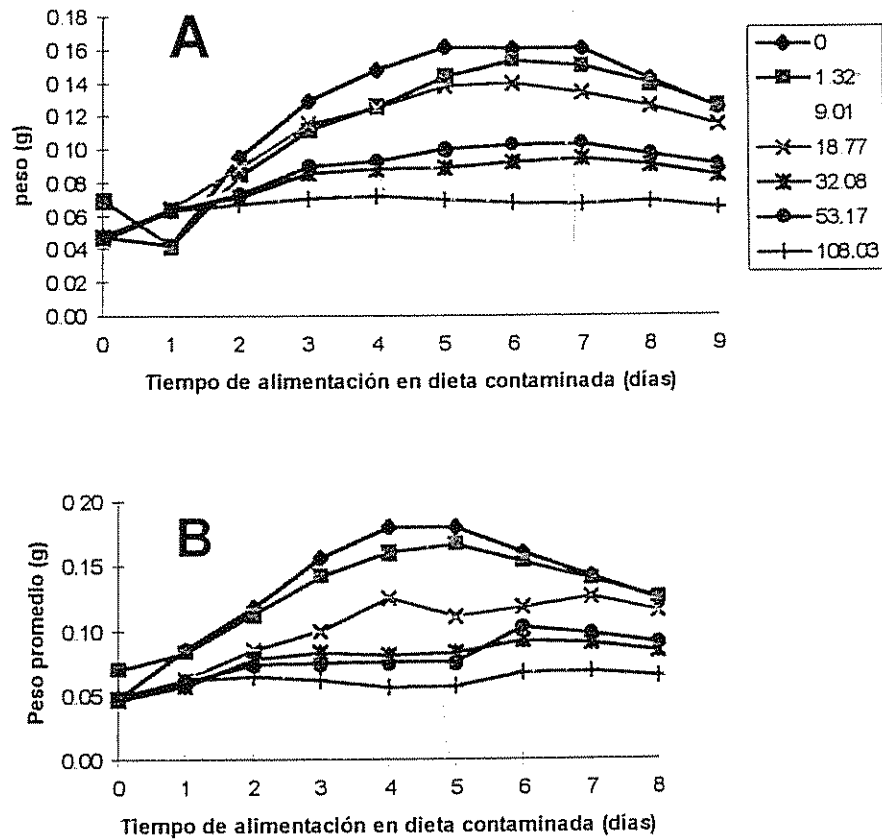


Figura 15. Peso de larvas de *D. saccharalis* parasitadas en el primer A y segundo, B experimento, alimentadas con dieta artificial contaminada con dosis subletales de terbufos.

La disminución en el peso de las larvas del hospedante provocada por el terbufos resultó en el desarrollo de larvas del parasitoide más débiles y con menores posibilidades de

sobrevivir al emerger del cuerpo de su hospedante. Prácticamente no hubo diferencia en el peso de las larvas evaluadas en el primer y último día de ambos experimentos. Las larvas de cada tratamiento tuvieron el mismo incremento en peso, lo cual fue constante para cada una de las dosis evaluadas, así, las larvas del tratamiento sin terbufos aumentaron 0,07 g, y 0,02 g las larvas de la dosis más alta (108,03 ppm de terbufos).

En ambos experimentos hubo una correlación negativa entre el peso vivo de la larva del hospedante y la dosis de terbufos incorporado en la dieta, en todas las evaluaciones diarias (Anexo 17).

Aunque se utilizaron dosis subletales, la interacción hospedante-parásitoide influye en la toxicidad del insecticida. Esta toxicidad está mediada por la fisiología del hospedante al enemigo natural o determinado por su habilidad de penetrar la estructura externa del hospedante. En el caso de endoparasitoides, cuando el hospedante sobrevive, el efecto del insecticida depende de la capacidad fisiológica del hospedante de detoxificarlo en uno u otro compuesto o metabolito más o menos tóxico (Croft y Brown 1975).

Las variaciones entre repeticiones de experimentos se deben posiblemente a cambios de condiciones en ambos trabajos. Por ejemplo Croft (1990) menciona que se conoce que diferentes temperaturas, condiciones de luz, densidades de presas (altas o bajas), tipos de jaulas utilizadas y calidad de alimentación, pueden causar una actividad diferencial entre ciertos enemigos naturales, por lo que es razonable asumir que tal respuesta afecta directamente la cantidad de tóxico tomado por un depredador o un parasitoide.

Aunque algunos autores no consideran las variables desarrolladas anteriormente como efectos secundarios, con la excepción de la proporción de sexos (Croft 1990), no puede dudarse del efecto nocivo del terbufos en el desarrollo normal de *C. flavipes*.

No significa lo anterior que deba desecharse el uso del terbufos para evitar sus efectos en enemigos naturales. Algunas soluciones son seleccionar el momento adecuado de

aplicación de un insecticida, usarlos a baja dosis o usar insecticidas sistémicos selectivos y seguros para los parasitoides (Weires *et al.* 1982) aunque esta solución esta orientada a proteger principalmente a las formas adultas de ectoparasitoides sin involucrar a los endoparasitoides.

El uso de insecticidas organofosforados se ha relacionado con disminuciones en la eficacia de los enemigos naturales, por ejemplo en el caso de *Microplitis croceipes* (Hymenoptera Braconidae) se presenta un alto grado de parasitismo (más del 90%) cuando se utilizaron menores cantidades de insecticida, siendo los organofosforados los que mayores efectos tóxicos presentaban comparados con los piretroides (Powell *et al.* 1986).

Cuando se evalúa el efecto de un insecticida sobre los enemigos naturales, se mide la ausencia o presencia de un efecto, no siendo suficiente medir solamente la mortalidad directa causada por el contacto o a través de la cadena alimenticia, sinó, los efectos negativos y secundarios en estos procesos de reproducción (Croft 1977), de ahí que los programas de manejo integrado de plagas deben tomar en cuenta como debe combinarse un programa de manejo de plagas con el uso de controladores biológicos y plaguicidas. El terbufos utilizado en dosis subletales ha demostrado afectar negativamente al controlador biológico de *D. saccharalis*. Partiendo de una utilización de este insecticida para el combate de otras plagas y conociendo su capacidad sistémica, se está incorporando a la dieta natural de una plaga e ingresando al endoparasitoide en su cadena alimenticia con los efectos negativos discutidos anteriormente.



### Experimento 3. Determinación de residuos de $^{14}\text{C}$ -terbufos en la planta, larva del hospedante y parasitoide.

Se presentan y discuten los resultados obtenidos en la cuantificación de la presencia del  $^{14}\text{C}$ -terbufos en tejidos analizados en el laboratorio. No hubo diferencias significativas entre los residuos radioactivos evaluados en las diferentes muestras (Cuadro 1). Siendo el porcentaje de recuperación obtenido en el laboratorio de un 84.5%.

Cuadro 1. Resultados del porcentaje de desintegraciones por minuto en 10 ml de solución en la planta y en *D. saccharalis*.

Terbufos (ppm)	Raíz	Parte aérea	<i>D. saccharalis</i>
0	0.09a		0.21a
6	0.49a	0.53a	0.08a
9	0.34a	0.13a	0.07a
12	0.27a	0.21a	0.13a

Valores seguidos con la misma letra no se consideran estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba Tukey al 1%.  
C.V: 113%

Los porcentajes de material radioactivo que fueron detectados en el contador de centelleo líquido (LSC) son despreciables. No hay razones claras para explicar la ausencia o la baja presencia del plaguicida. Las plantas estuvieron en contacto con el producto comercial marcado (Counter 10 G) desde el momento en que fue plantada la semilla de maíz hasta el momento en que se recolectó la muestra, un total de 22 días. En el anexo 19 se muestran en forma completa todos los resultados obtenidos.

Si analizamos los resultados solamente de las dpm/10 ml, se observa que hay trazas de material radioactivo. Es posible que si las larvas hubiesen estado más tiempo en contacto con la planta, se hubiera detectado un mayor porcentaje de material radioactivo.

El tiempo que las larvas estuvieron en las plantas, manifestaron un comportamiento diferente al reportado en la literatura. De acuerdo a esta, la larva de *D. saccharalis* al eclosionar empieza a alimentarse del material foliar a su alcance hasta alcanzar un estado

de crecimiento a partir del cual inicia su etapa interna en el tallo de la planta (Peairs y Saunders 1980a). Las larvas de 14 días de edad, fueron inoculadas en la planta cuando esta alcanzó un estado de desarrollo de 3 a 4 hojas, pero al contrario de lo esperado, las larvas solamente consumieron una pequeña parte de la hoja e inmediatamente se trasladaron al suelo de la maceta en donde perforaron la planta desde la base del tallo. La mayoría de las larvas fueron extraídas de esta parte.

La raíz fue la parte de la muestra vegetal que más cantidades de material radioactivo presentó. La cercanía con el sitio de ubicación de dicho material podría ser la razón para explicar esta situación. Cuando se analizó la parte aérea de la planta, se observó una disminución en las cantidades de  $^{14}\text{C}$ -terbufos detectado, estos mismos resultados se presentaron en la larva (Cuadro 1), en donde los valores de radioactividad también mínimos.

Se desprende de los resultados observados que hay una escasa movilidad del plaguicida dentro del tejido vegetal. También podría ser que el tiempo de contacto de la planta con el insecticida marcado no fue suficiente. Tampoco es posible explicar con certeza la razón por la cual hay una disminución en el conteo de partículas radioactivas conforme se aumenta la dosis de terbufos colocado en la maceta, cuando lo esperado lo contrario.

En el caso de la larva, las cantidades de  $^{14}\text{C}$ -terbufos son ínfimas, esto podría deberse a por la escasa o lenta movilidad del plaguicida en el tejido vegetal o porque el tiempo que la larva permaneció en la planta fuese muy escaso (24 h). También podría haber sucedido que en el momento en que se realizó la inoculación de las plantas y cosecha del material, las cantidades de terbufos en la planta ya se hubieran degradado o asimilado por esta en forma de otros derivados.

Aunque ciertos autores (Szeto *et al.* 1986) mencionan la buena movilidad de los submetabolitos dentro de la planta. En experimentos con maíz, se reporta residuos de 0,43

ppm 40 días después de aplicado el producto. Esta cantidad es inofensiva para *C flavipes* si se compara con las dosis subletales analizadas en el experimento 2.

Bajo las condiciones del experimento, el terbufos mostró poca acción sistémica, no se lograron recuperar cantidades que fueran capaces de alterar el desarrollo de una larva hospedante o del parasitoide. Sin embargo, a partir de los análisis de cromatografía, se detectaron los submetabolitos del insecticida (Cuadro 2), los cuales presentan altos niveles de toxicidad, entre ellos el terbufos oxon sulfona, terbufos sulfona, y sulfoxido, además del mismo terbufos.

Cuadro 2. Compuestos detectados en el análisis cromatográfico.

Muestra*	Rf's <sup>1</sup>	Rf's	Rf's	Rf's	Rf's
Raíz 1		0,22	0,32	0,78	
Raíz 2	0,10	0,24	0,34	0,77	
Raíz 3	0,08	0,22		0,79	
Planta 1		0,26			0,86
Planta 2				0,73	0,86
Planta 3				0,77	0,89
Larva 1				0,76	0,89
Larva 2					0,86
Larva 3				0,76	0,86

\*El número se refiere al tratamiento(1: 6 ppm terbufos, 2: 9 ppm y 3: 12 ppm).

<sup>1</sup>Rf's para los compuestos del terbufos son: terbufos 0,89, terbufos sulfoxido 0,45, terbufos sulfona 0,69, terbufos oxon 0,62, terbufos sulfoxido 0,16 y terbufos oxon sulfona 0,33 (Carazo *et al* 1996).

A pesar de que el terbufos fue detectado en cantidades muy pequeñas en los tejidos estudiados, si se traslocó dentro de la planta, inclusive alcanzando hasta las larvas que se alimentaron de ella. Aunque las cantidades recuperadas en este experimento fueron muy bajas, en otras circunstancias podrían ser tales que afecten negativamente a un endoparasitoide

## CONCLUSIONES

- El insecticida terbufos produce una disminución en el peso de las larvas no parasitadas de *D. saccharalis* cuando estas se alimentan de dieta contaminada por este producto. Este mismo efecto se observa en el peso seco de dichas larvas.
  
- El período larval de *D. saccharalis* se prolonga y se disminuye la producción de excretas, además se altera la proporción de sexos se cuando se alimenta con dieta contaminada, igualmente el período de pupa se extiende más de lo normal, impidiéndose la formación de pupas con dosis altas del terbufos. Hay un aumento en la presencia de malformaciones en las larvas de *D. saccharalis* no parasitadas durante el cambio de larva a pupa.
  
- El período larval y de pupa del parasitoide *C. flavipes* se extiende cuando su hospedero ha consumido terbufos en su dieta, junto al hecho de que se aumenta la mortalidad de las larvas de *C. flavipes* cuando estas emergen de su hospedero.
  
- La cantidad de pupas de *C. flavipes* no viables aumenta y se presentan alteraciones en la proporción de sexos del parasitoide, igualmente, la cantidad de adultos que se producen por hospedero disminuye.
  
- Los adultos de *C. flavipes* presentan un menor peso cuando provienen de hospederos con contacto con el terbufos, siendo las hembras más afectadas que los machos.

## RECOMENDACIONES

- Utilizar el insecticida terbufos con precaución debido a que podría interferir con *C. flavipes* en un programa de control biológico de *D. saccharalis*.
- Estudiar el efecto de dosis subletales de terbufos en la fertilidad y fecundidad de *C. flavipes* o de otros parasitoides de importancia biológica y comercial.
- Determinar el período óptimo de alimentación de las larvas de *D. saccharalis* en las plantas de maíz en el invernadero. Para realizar estudios más concluyentes con <sup>14</sup>C-terbufos.
- Estudiar el efecto del terbufos y de otros insecticidas sistémicos aplicados al suelo en parasitoides, tanto a nivel de laboratorio como de invernadero.
- Realizar estudios a nivel de campo para analizar el efecto del terbufos sobre *C. flavipes*.
- Realizar estudios que involucren el efecto del terbufos y otros insecticidas sobre los controladores biológicos en otros cultivos, en los cuales los organismos benéficos tengan un control importante de las plagas.

## Referencias

- ADKISSON, P. L.; VANDERZANT, E. S.; BULLETIN, D. L.; ALLISON, W. E. 1960. A wheat germ medium for rearing the pink bollworm. *Journal Economic Entomology* 53(5):759-762.
- ALBA, M. C. 1990. Use of natural enemies to control sugarcane pests in the Philippines. *In: Proceedings of the International Seminar "The use of parasitoids and predators to control agricultural pests"*. FFTC Book Series N° 40. p 124-134.
- ANDREWS, K. L. 1989. Programas del MIP en desarrollo o implementados: maíz y sorgo. *In: Manejo Integrado de Plagas Insectiles en la Agricultura. Estado Actual y Futuro* Ed. K. L. Andrews y J. R. Quezada. Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. p 547-566.
- ARBUTHNOT, K. D. 1958. Endrin and Ryania for control of Sugarcane Borer in Corn. *Journal Economic Entomology* 51(4):562-563.
- AUSTIN, A. D.; DANGERFIELD, P. C. 1989. The taxonomy of new world microgastrine braconids (Hymenoptera) parasite on *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin Entomological Research* 79(1):131-144.
- AYQUIPA, G. E.; SIRIOPU, J. D. 1978. Crianza masiva de *Diatraea saccharalis* Fabr. en dieta artificial, para propagación de su parasito *Parathresia claripalpis* Wulp. *Revista Peruana de Entomología* 21(1):55-56.
- BAKER, P. S.; KHAN, A.; MOHYUDDIN, A. I.; WAAGE, J. K. 1992. Overview of biological control of lepidoptera in the Caribbean. *Florida Entomologist* 75(4):477-483.
- BARBOSA, P.; GROSS, P.; KEMPER, J. 1991. Influence of plant allelochemicals on the tobacco hornworm and its parasitoid, *Cotesia congregata*. *Ecology* 72(5):1567-1575.
- BARTLETT, B. R. 1963. The contact toxicity of some pesticide archidues to hymenopterous parasites and coccinellid predators. *Journal Economic Entomology* 56(5):694-698.
- BENTZ, J. A.; BARBOSA, P. 1990. Effects of dietary nicotine (0,1%) and parasitism by *Cotesia congregata* on the growth and food consumption and utilization of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Entomology Experimental et Applicata*. 57:1-8

- BORDAT, D.; GOUDEGNON, A.E.; BOUIX, G. 1994. Relationships between *Apanteles Flavipes* (Hym: Braconidae) and *Nosema bordati* (Microspora, Nosematidae) parasites of *Chilo partellus* (Lep: Pyralidae). *Entomophaga* 39(1):21-32
- BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H.G.; DINTER, A.; HÖLLER, C. 1993. Effects of insecticides on life history parameters of the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* (Hym.: Aphidiidae). *Entomophaga* 38(2):245-255
- BREWER, F.D.; MARTIN, D.F. 1976. Substitutes for agar in wheat germ diet used to rear the Corn Earworm and the Sugarcane Borer. *Annals Entomological Society America* 69(2):255-256
- CABEZUELO, O.; FERNANDEZ DE CORDOBA, J.; 1995. Efecto de algunos plaguicidas utilizados contra las orugas de la encina, sobre otros artrópodos. *Ecología (España)* 9:441-445.
- CARAZO, E.; VALVERDE, B.E.; RODRIGUEZ, O.M.; BARQUERO, M. 1996. Persistence of terbufos and its metabolites in soil and maize. *In: Environmental behavior of crop protection chemicals Proceedings of an International Symposium on the Use of Nuclear and Related Techniques for Studying Environmental Behavior of crop protection Chemicals. Jointly organized by the International Atomic Energy Agency and the Food and Agriculture Organization of the United States and Held. Vienna, 1-5 July 1996.* 215- 222.
- CASTILLO, L.; CHAVERRI, F.; RUEPERT, C.; WESSELING, C. 1995. *Manual de Plaguicidas. Guía para América Central.* Heredia, Costa Rica. Editorial Universidad Nacional. 680 p.
- CATIE. 1990. *Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de maíz.* CATIE. Turrialba (CR). Serie Técnica. Informe Técnico, N° 151. 138 p.
- CAVE, R.D. 1995a. *Manual para el reconocimiento de parasitoides de plagas agrícolas en América Central.* Zamorano Academic Press 202 p.
- CAVE, R.D. 1995b. *Manual para la enseñanza del control biológico en América Latina.* Zamorano Academic Press. 187 p.
- CHAPMAN, R.A.; HARRIS, C.R. 1980. Insecticidal activity and persistence of terbufos, terbufos sulfoxide and terbufos sulfone in soil. *Journal Economic Entomology* 73(4):536-534.

- CHAPMAN, R A ; TU, C M ; HARRIS, C R ; DUBOIS, D 1982. Biochemical and chemical transformations of terbufos, terbufos sulfoxide, and terbufos sulfone in natural and sterile, mineral and organic soil. *Journal Economic Entomology* 75(6):955-960.
- CROFT, B A ; BROWN, W.A. 1975. Responses of arthropod natural enemies to insecticides. *Annual Review Entomology* 20:285-335.
- CROFT, B A 1977. Susceptibility surveillance to pesticides among arthropod natural enemies: modes of uptake and basic response. *Plant Disease Protection* 84(3):140-157.
- CROFT, B A 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. New York, Wiley. 723 p
- DAVIS, F M 1989. Rearing the southwestern corn borer and fall armyworm at Mississippi State. Toward Insect Resistant Maize for the Third World. *In: International Symposium on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maize Insects (Mexico, D.F. 1987). Toward insect resistant maize for the third world. Proceedings. Mexico, D.F. CIMMYT P 5-21.*
- DAVIS, F M ; WILLIAMS, P 1994. Evaluation of reproductive stage maize for Resistance to the Southwestern Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) using visual rating scores of leaf sheath and husk damage. *Journal Economic Entomology* 78(4):1105-1112
- DE LA CRUZ, S ; POLLACK, M ; QUISPE, A 1993. Parasitismo de *Apanteles flavipes* sobre larvas de *Diatraea saccharalis* en campos de Casa Grande. *Revista Peruana de Entomología* 34:95-97.
- DIEHL, K E ; TAYLOR, S L ; SIMPSON, D.M ; STOLLER, E.W 1995. Effect of soil organic matter on the interaction between nicosulfuron and terbufos in corn (*Zea mays*). *Weed Science* 43(2):306-311.
- DOWSWELL, C R ; PALIWAL, R L ; CANTRELL, R P 1996. Maize in the Third World. Boulder, Col.; Westview Press 268 p.
- DRINKWATER, T W ; GILIOME, J H ; PRINGLE, K.L 1990. Efficacy of soil-applied and seed dressing insecticides for the control of False Wireworms, *Somaticus* species (Coleoptera: Tenebrionidae), in maize. *Crop Protection* 9(2):128-130.
- DUFFEY, S S 1980. Sequestration of plant natural products by insects. *Annual Review Entomology* 25:447-477.



- ELLIOTT, W.M.; WAY, M.J. 1968. The action of some systemic aphicides on the eggs of *Anthocoris neumorum* (l.) and *A. confusus* reut. Annual Applied Biology. 62:215-226.
- FELSOT, A.S.; LEW, A. 1989. Factors affecting bioactivity of soil insecticides: relationships among uptake, desorption, and toxicity of carbofuran and terbufos. Journal Economic Entomology 82(2):389-395.
- FELSOT, A.S.; MITCHELL, J.K.; KENIMER, A.L. 1990. Assessment of management practices for reducing pesticide runoff from sloping cropland in Illinois. Environmental Quality 19:539-545.
- FLOYD, E.H.; CLOWER, D.F.; MASON, L.F. 1960. Effect of Sugarcane Borer infestation on the yield and grade of corn. Journal Economic Entomology 53(5):935-937.
- GERLING, D.; SINAI, P. 1994. Buprofezin effects on two parasitoid species of Whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). Journal Economic Entomology 87(4):842-846.
- GETZIN, L.W.; CHAPMAN, R.K. 1959. Effect of soils upon the uptake of systemic insecticides by plants. Journal Economic Entomology 52(6):1160-1165.
- GIFFORD, J.R.; MANN, G.A. 1967. Biology, rearing, and a trial release of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to control the sugarcane borer. Journal Economic Entomology 60(1):44-47.
- GLADSTONE, S. 1989. Perspectivas de uso del control microbial de plagas del maiz en Nicaragua. In Seminario Nacional de Manejo Integrado de Plagas del Maiz (Managua, 1989). Memorias, Managua, Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias p 16-32.
- GROSCH, D.S.; HOFFMAN, A. 1973. The vulnerability of specific cells in the oogenetic sequence of *Bracon hebetor* to some degradation products of carbamate pesticides. Environmental Entomology 2:1029-1032.
- GUILLEBEAU, L.P.; ALL, J.N. 1991. Use of pyrethroids, methomyl, and chlorpyrifos to control fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in whorl stage field corn, sweet corn and sorghum. Florida Entomologist 74(2):261-270.
- HANSON, P.E.; GAULD, I.D. (eds) 1995. The Hymenoptera of Costa Rica. London. The Natural History Museum. 893 p.
- HAYNES, K.F. 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. Annual Review Entomology 33:149-168.

- HENSLEY, S.D.; HAMMOND Jr, A.M. 1968. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *Journal Economic Entomology* 61(6):1742-1743.
- HILJE, Q. L.; CASTILLO M, L.E.; THRUPP, L.A.; WESSELING, H. I. 1992. El uso de los plaguicidas en Costa Rica. San José, C.R., EUNED. 149 p.
- HRUSKA, A. J. 1989. El programa uso seguro y racional de plaguicidas: vía para poner en práctica resultados de investigación de manejo integrado de plagas. *In* Seminario Nacional de Manejo Integrado de Plagas del Maíz (Managua, 1989). Memorias, Managua, Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. p 33-36
- JONES, T. H.; BRADLEY, W.G. 1924. Certain wild grasses in relation to injury to corn by the "borer" (*Diatraea saccharalis* Fab.) in Louisiana. *Journal Economic Entomology* 17:393-395.
- KIMANI, S.W.; OVERHOLT, W.A. 1995. Biosystematics of the *Cotesia flavipes* complex (Hymenoptera: Braconidae): interspecific hybridization, sex pheromone and mating behavior studies. *Bulletin Entomological Research* 85:379-386.
- KING, A.B.S.; SAUNDERS, J.L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central., Londres, ODA P 46-48.
- LASTRA, B. L.A.; GOMEZ, L. L. A. 1987. Evaluación del efecto de diferentes dietas artificiales sobre la biología del *Diatraea* y sus parásitos. *In* Congreso Memoria. Cali, Col. T.1, p 257-269.
- LEERDAM, M.B.; SMITH Jr. J.W.; FUCHS, T.W. 1985. Frass-mediated, host-finding behavior of *Cotesia flavipes*, a braconid parasite of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals Entomology Society America* 78(5):647-650.
- LITTLE, R.J.; DEVINE, J.M.; TENNE, P.J.; WALGENBACH, F.D.; BELCHER, D.W. 1992. Performance of terbufos on Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in the corn belt. *Journal Economic Entomology* 85(4):1413-1424.
- MACK, T.P., FUNDERBURK, J.E., MILLER, M.G. 1991. Efficacy of selected granular insecticides in soil in "Florunner" peanut fields to larvae of Lesser Cornstalk Borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal Economic Entomology* 84(6):1899-1904.
- MACK, T.P. 1992. Effects of five granular insecticides on the abundance of selected arthropod pest and predators in peanut fields. *Journal Economic Entomology* 85(6):2459-2466.

- MAREDA, K.M.; MIHM, J.A. 1991. Sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) damage to maize at four plant growth stages. *Environmental Entomology* 20(4):1019-1023.
- MAREDA, K.M.; SEGURA, O.L.; MIHM, J.A. 1992. Effects of neem, *Azadirachta indica*, on six species of maize insect pests. *Tropical Pest Management* 38(2):190-195.
- MARENCO, R.J.; FOSTER, R.E.; SANCHEZ, C.A. 1991. Residual activity of methomyl and thiodicarb against fall armyworm in sweet corn in Southern Florida. *Florida Entomologist* 74(1):69-74.
- MIHM, J.A. 1987. Insect rearing methods. Toward Insect Resistant Maize for the Third World. *In International Symposium on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maize Insects (Mexico, D.F. 1987). Toward insect resistant maize for the third world Proceedings Mexico, D.F. CIMMYT. P 5-21*
- MISKIMEN, G.W. 1973. High-temperature effects on sugarcane borers. 1. Survivorship and emergence time. *Environmental Entomology* 2(6):981-985.
- MOHYUDDIN, A.I. 1971. Comparative biology and ecology of *Apanteles flavipes* (Cam.) and *A. sesamiae* Cam. as parasites of graminaceous borers. *Bulletin Entomological Research* 61:33-39.
- MOHYUDDIN, A.I.; INAYATULLAH, C. 1981. Host selection and strain occurrence in *Apanteles flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) and its bearing on biological control, of graminaceous stem-borers (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin Entomological Research* 71:575-581.
- MORIARTY, F. 1969. The sublethal effects of synthetic insecticides on insects. *Biological Reviews* 44:321-357.
- MORTON, C.A.; GORDON HARVEY, J.L.; WEDBERG, J.J.; LANDIS, D.A.; LUESCHEN, W.E. 1994. Influence of Corn Rootworm insecticides on the response of field corn (*Zea mays*) to nicosulfuron. *Weed Technology* 8(2):289-295.
- NGI-SONG, A.J.; OVERHOLT, W.A.; AYERTEY, J.N. 1995. Suitability of African graminaceous stem borers for development of *Cotesia flavipes* and *C. sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology* 24(4):978-984.
- O'BRIEN, P.J.; ELZEN, G.W.; VINSON, S.B. 1985. Toxicity of azinphosmethyl and chlordimeform to parasitoid *Bracon mellitor* (Hymenoptera: Braconidae): lethal and reproductive effects. *Environmental Entomology* 14:891-894.

- OLOUMI-SADEGHI, H.; LEVINE, E.; STEFFEY, K.L.; GRAY, M.E. 1992. Black cutworm damage and recovery of corn plants: influence of pyrethroid and organophosphate soil insecticide treatments. *Crop Protection* 11(4):323-326.
- OMWEGA, C.O.; KIMANI, S.W.; OVERHOLT, W.A.; OGOL, C.K.P.O. 1995. Evidence of the establishment of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in continental Africa. *Bulletin Entomological Research* 85:525-530.
- OVERHOLT, W.A.; SMITH, J. W. Jr. 1990a. Comparative evaluation of three exotic insect parasites (Hymenoptera: Braconidae) against the southwestern corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in corn. *Environmental Entomology* 19(4):1155-1162.
- PALIZ S, V. N.; MENDOZA M, J. R. 1985. Plagas del maíz (*Zea mays*) en el litoral ecuatoriano, sus características y control. 5ta de. Quito, Ecuador, Ministerio de Agricultura y Ganadería. p 19-24.
- PAN, Y.; LONG, W.H. 1961. Diets for the rearing the sugarcane borer. *Journal Economic Entomology* 54(2):257-261.
- PEAIRS, F. B.; SAUNDERS, J.L. 1979. Single-larva infestations with *Diatraea saccharalis* (F) in two tropical maize populations in Mexico. *Turrialba (C.R)* 29(4):243-246.
- PEAIRS, F. B.; SAUNDERS, J.L. 1980a. *Diatraea lineolata* y *D. saccharalis*: una revisión en relación con el maíz. *Agronomía Costarricense* 4(1):123-135.
- PEAIRS, F. B.; SAUNDERS, J.L. 1980b. External versus internal damage estimates of stalk boring by *Diatraea saccharalis* (F) in two tropical maize populations in Mexico. *Turrialba (C.R)* 30(3):352-354.
- PEAIRS, F. B.; SAUNDERS, J.L. 1981. Plant damage and yield response to *Diatraea saccharalis* and *Spodoptera frugiperda* in selection cycles of two tropical maize populations in Mexico. *Turrialba (C.R)* 55- 65.
- PEREIRA, C.E.F.; LIMA, R.O.R.; VILAS BOAS, A.M. 1977. Introdução e adaptação de *Apanteles flavipes* Cam. (Hym, Braconidea), parasito da *Diatraea* spp nos estados de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. *Brasil Açucareiro* 89(5):49-56.
- PLANALSUCAR. 1979. A guide to the main sugarcane pest in Brazil. 28 p.
- POWELL, J.E.; KING, E.G.; JANY, C.S. 1986. Toxicity of insecticides to adult *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal Economic Entomology* 79(5):1343-1346.

- PETERS, L.L. 1983. Chinch Bug (Heteroptera: Lygaeidae) control with insecticides on wheat, field corn, and grain sorghum, 1981. *Journal Economic Entomology* 76(1):178-181.
- PURCELL, M.F.; STARK, J.D.; MESSING, R.H. 1994. Insecticide effect on three tephritid fruit flies and associated braconid parasitoids in Hawaii. *Journal Economic Entomology* 86(6):1455-1462.
- QUEZADA, J.R. 1978. Poblaciones remanentes de barrenadores en cañas de maíz. Trabajo presentado en el 1º Congreso de Ingenieros Agrónomos, 1978, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador 22 p.
- RAHMAN, A.; JAMES, T.K. 1993. Enhanced activity of nicosulfuron in combination with soil-applied insecticides in corn (*Zea mays*). *Weed Technology* 7(4):824-829.
- RANDOLPH, N.M.; TEETES, G.L.; JETER, B. E. Jr. 1967. Insecticides sprays and granules for control of the sugarcane borer on grain sorghum. *Journal Economic Entomology* 60(3):762-765.
- REAGAN, T. E.; HENSLEY, S.D.; GRAVES, J.B. 1973. Status of insecticide resistance in sugarcane borer populations in Louisiana. *Journal Economic Entomology* 66:576-580.
- REED, J.P.; HALL, F.R.; KRUEGER, H. 1992. Contact and volatile toxicity of insecticides to Black Cutworm Larvae (Lepidoptera: Noctuidae) and Carabid Beetles (Coleoptera: Carabidae) in soil. *Journal Economic Entomology* 85(1):256-261.
- REYES, R.; GUERRERO, O.; LOPEZ, M.; CARRANZA, N.; AYALA, J.; ZELAYA, R.; SOTO, J.L. 1989. Estimación de pérdidas en rendimiento de grano causadas por gusanos barrenadores del tallo *Diatraea lineolata* Walker y termitas *Heterotermes convexinotatus* Snyder en el sistema de cultivo maíz-sorgo. *Manejo Integrado de Plagas (CR)* 14:18-30.
- RIPPER, W.E. 1956. Effect of pesticides on balance of arthropod populations. *Annual Review Entomology* 1:403-438.
- RISCO, S.H.; BRANDÃO, JOURNAL M. 1976. Primeiras avaliações da propagação do parasito de *Diatraea* spp., *Apanteles flavipes* C., nos laboratórios de alagoas. *Brasil Açucareiro* 87(5):25-29.
- RITCEY, G.; McEWEN, F.L.; BRAUN, H.E.; FRANK, R. 1991. Persistence and biological activity of archidues of granular insecticides in organic soil and onions with furrow treatment for control of the onion maggot (Diptera: Anthomyiidae). *Journal Economic Entomology* 84(4):1339-1343.

- RODRIGUEZ DEL BOSQUE, L. A. 1978. Evaluación del daño del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith), gusano elotero *Heliothis zea* (Bodie) y gusano barrenador *Diatraea saccharalis* (Fabricius) en maíz, Marín, N.L. Tesis Ing. Agr. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, 67 p.
- RODRIGUEZ DEL BOSQUE, L. A.; SMITH Jr. J.W.; BROWNING, H.W. 1988. Damage by Stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) to corn in northeastern Mexico. *Journal Economic Entomology* 81(6):1775-1780.
- RODRIGUEZ DEL BOSQUE, L. A.; SMITH, J.W. Jr. 1989. Parasitization of *Diatraea lineolata* pupae and diapausing larvae by several exotic parasites. *Florida Entomologist* 72(4):703-705
- RODRIGUEZ DEL BOSQUE, L. A.; SMITH Jr. J.W.; BROWNING, H.W. 1990. Seasonality of Cornstalk Borers (Lepidoptera: Pyralidae) in Northeastern Mexico. *Environmental Entomology* 19(2):345-356.
- ROSENHEIM, J. A.; HOY, M. A. 1988. Sublethal effects of pesticides on the parasitoid *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal Economic Entomology* 81(2):476-483.
- RUBERSON, J.R.; HERZOG, G.A.; LAMBERT, W.R.; LEWIS, W.J. 1994. Management of the beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: role of natural enemies. *Florida Entomologist* 77(4):440-453
- SARMIENTO, J.; CISNEROS, F.; MILLONES, J.; LA ROSA, J. 1970. Ensayos de campo para el control químico de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) y su efecto sobre *Diatraea saccharalis* F. en maíz. *Revista Peruana Entomología* 13(1):64-69
- SELLERS, L.G.; OWENS, J.C.; TOLLEFSON, J.J.; DAHM, P.A. 1976. Residues of terbufos (Counter®) in Iowa corn and soil. *Journal Economic Entomology* 69(2):133-135.
- SOLIS SOTO, A.I. 1987. Avances logrados en el proceso de producción del parasitoide *Apanteles flavipes* en el periodo 1984-1987 en Costa Rica. *In* Memorias I Congreso Dieca, 19-20 Noviembre 1987, San José, Costa Rica, p 145-152.
- STEWART, K. W.; WALTON, R.R. 1964. Oviposition and establishment of the southwestern corn borer on corn. *Journal Economic Entomology* 75(5):628-631.

- SUTTER, G.R., BRANSON, T.F., FISCHER, J.R., ELLIOT, N.C. 1991. Effect of insecticides on survival, development, fecundity, and sex ratio in controlled infestations of western corn rootworm (Coleoptera:Chrysomelidae). *Journal Economic Entomology* 84(6):1905-1912.
- SZETO, S.Y.; BROWN, M.JOURNAL. 1982. Gas-liquid chromatographic methods for the determination of disulfoton, phorate, oxydemeton-methyl, and their toxic metabolites in Asparagus tissue and soil. *Agricultural Food Chemical* 30(6):1082-1086.
- SZETO, S.Y.; BROWN, M.J.; MacKENZIE, J.R.; VERNON, R.S. 1986. Degradation of terbufos in soil and its translocation into cole crops. *Agricultural Food Chemical* 34(5):876-879.
- THOME, C.R.; SMITH, M.E.; MIHM, J.A. 1992. Leaf feeding resistance to multiple insect species in a maize diallel. *Crop Science* 32:1460-1463
- VARGAS M. N.; BARQUERO M, E.; 1987. Prueba comparativa de 10 productos nematicidas en caña de azúcar Cutris, San Carlos. *In Congreso Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar, 19-20 Noviembre 1987 San José, Costa Rica.* P 134-143.
- VENDRAMIM, J.D. 1990. Utilização de dietas artificiais á base de macerados de colmos de cana-de-açúcar para avaliação da resistência varietal á *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera, Pyralidae). *Annual Society Entomology Brasil* 21(1):157-167.
- VIANA, P.A.; WAQUIL, J.M.; CRUZ, I. 1996. Efeito de tratamento de sementes e inseticida granulado de solo sobre a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, atacando as folhas de milho. *In Congreso Nacional de Milho e Sorgo. 7-12 Joulho 1996 Londrina, Paraná, Brasil* p. 320.
- VILLACORTA, A.; MAGRO, J.A. 1975. Criação maciça de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) em laboratório. *Annual Society Entomology Bras* 4(1):38-42.
- VIÑUELA, E.; JACAS, J.; ADAN, A.; BUDIA, F.; DEL ESTAL, P.; MARCO, V. 1992. Efectos secundarios de algunos plaguicidas utilizados en el olivar español sobre adultos de *Opius concolor* Szepi. (Hym. Braconidae), parasitoide de la mosca de la aceituna, *Bactrocera oleae* (Gmel.) (Dip. Tephritidae). *Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas* 18: 315-321.
- WALKER, A.K. 1994. Species of microgatrinae (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing lepidopterous cereal stem borers in Africa. *Bulletin Entomological Research* 84:421-434.

- WEIRES, R.W.; LEEPER, J.R.; REISSIG, W.H.; LIENK, S.E. 1982. Toxicity of several insecticides to the spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasite, *Apanteles ornigis*. *Journal Economic Entomology* 75(4):680-684.
- WIEDENMANN, R. N.; SMITH Jr. J.W. 1995. Parasitization of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia chilonis* and *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology* 24(4):950-961.
- WIEDENMANN, R. N.; SMITH Jr. J.W. 1993. Functional response of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at low densities of the host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology* 22(4):849-858.
- WILKINSON, J.D.; BIEVER, K.D.; IGNOFFO, C.M. 1979. Synthetic pyrethroid and organophosphate insecticides and the predators *Geocoris punctipes*, *Hippodamia convergens* and *Podisus maculiventris*. *Journal Economic Entomology* 15(4):473-475.
- WILLIAMSON, S. 1995. ¿Qué peligro conllevan los plaguicidas para los enemigos naturales?. *IPM Working for Development*. 6:5.
- YOUNG, J.R. 1979. Fall armyworm: control with insecticides. *Florida Entomologist* 62(2):130-133.
- ZARAZUA GONZALEZ, M. I. 1980. Prueba comparativa de cinco insecticidas y una mezcla en el control de algunas plagas de maíz, *Zea mays* L. en Gral. escobedo, N.L. Tesis Ing. Agr. Monterrey, México, Universidad Autónoma de Nuevo León, 52 p.



## ANEXOS

ANEXO 1. Ingredientes utilizados en la preparación de la dieta para el desarrollo de larvas de *D. saccharalis* (Dieta de Mihsfeldt modificada\*)

Ingrediente	Proporción
Maíz	280,0 g
Germen de trigo	70,0 g
Lavadura	75,0 g
Acido ascórbico	10,0 g
Acido acético	5,0 ml
Acido sórbico	1,0 g
Acido benzoico	2,5 g
Cloranfenicol	125 mg
Nipagin	2,5 - 5,0 g
Formaldehido	1,5 ml
Agar	22,0 - 29,0 g
Agua destilada	2000 ml

\*Información suministrada por el Ing. José Daniel Salazar (DIECA).

ANEXO 2. Porcentaje de mortalidad de larvas de *D. saccharalis* bajo diferentes dosis de terbufos

Experimento A<sup>1</sup>:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)
0	0
0,46	100
1,87	100
7,50	100
30,00	100

1 Los altos porcentajes de mortalidad fueron provocados por los gases del terbufos, no se realizó una dilución previa del insecticida.  
terbufos (ppm).

Experimento B<sup>1</sup>:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)
0	28
0,46	26
1,87	30
7,50	16
30,00	54

1 Los resultados fueron alterados por la presencia de residuos de terbufos en los platos utilizados en el experimento.

Experimento C:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)
0	0
0,46	0
1,87	0
7,50	8
30,00	0
alcohol 2%*	0

\* fue incluido para evaluar su efecto en las larvas de *D. saccharalis*.

Experimento D:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)*
0	0
1,15	2
4,67	0
18,75	0
75,00	2

\*mortalidad acumulada al cuarto día después de inoculada la dieta.

## Experimento E:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)*
0	0
100,00	100
150,00	70
250,00	100
300,00	100

\*mortalidad acumulada al quinto día después de inoculada la dieta.

## Experimento F:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)*
0	0
80,00	74
83,00	42
85,00	66
88,00	100
95,00	30

\*mortalidad acumulada al séptimo día.

## Experimento G:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%)	Peso seco (g)	dieta remanente (g)
0	0	0.0401	0,963
40,00	64	0.0122	1,379
50,00	28	0.0211	1,383
60,00	100	0.0067	1,398
70,00	66	0.0148	1,401
80,00	74	0.0120	1,512
90,00	24	0.0176	1,464

ANEXO 3. Resultados obtenidos en el experimento 1, determinación de  $CL_{50}$  de terbufos para larvas de *D. saccharalis*

Cuadro 3.1. Promedios de peso vivo de larvas de *D. saccharalis* alimentándose de dieta contaminada con terbufos.

Dosis (ppm)	Peso vivo (g)				
	0 días	1 día	2 día	3 día	4 día
0	0,0513	0,0801	0,1220	0,1454	0,1529
2	0,0475	0,0783	0,1092	0,1298	0,1394
4	0,0504	0,0757	0,1019	0,1161	0,1281
8	0,0475	0,0751	0,0991	0,1110	0,1164
16	0,0467	0,0736	0,0920	0,1006	0,1056
32	0,0503	0,0792	0,0950	0,1015	0,1058
64	0,0443	0,0643	0,0566	0,0597	0,0660
128	0,0426	0,0622	0,0509	0,0571	0,0421

Cuadro 3.2. Promedios de peso de excretas producidas por de larvas de *D. saccharalis* alimentándose de dieta contaminada con terbufos al quinto día.

dosis (ppm)	heces (g)
0	0,7117
2	0,5162
4	0,5391
8	0,4752
16	0,4316
32	0,4010
64	0,2064
128	0,1042

Cuadro 3 3. Promedios de peso seco de larvas de *D. saccharalis* alimentándose de dieta contaminada con terbufos al quinto día.

dosis (ppm)	peso seco (g)
0	0,0495
2	0,0397
4	0,0395
8	0,0332
16	0,0329
32	0,0371
64	0,0205
128	0,0169

Cuadro 3 4. Promedios de peso de dieta consumida diariamente por larvas de *D. saccharalis*

Dosis (ppm)	Peso (g)				
	0 días	1 día	2 día	3 día	4 día
0	1.7753	1.4097	1.1198	0.8233	0.5305
2	1.4479	1.2981	0.9045	0.6746	0.4365
4	1.4507	1.2641	0.9220	0.6842	0.4583
8	1.3378	1.1267	0.7765	0.5690	0.3812
16	1.3315	1.1123	0.7960	0.6106	0.3989
32	1.7126	1.5445	1.2307	1.0498	0.8911
64	1.9266	1.7406	1.5809	1.4877	1.3752
128	1.9580	1.7792	1.6327	1.5653	1.4591

ANEXO 4. Análisis de comparación de resultados en el experimento dos para *D. saccharalis* y *C. flavipes*.

Cuadro 4.1. Cuadrados medios de las variables consideradas en ambas repeticiones del experimento dos para *D. saccharalis* no parasitada.

F.deV	°l	Peso 1 <sup>a</sup>	Peso 2	Peso 3	Peso 4	Peso 5	Peso 6
Trat.	6	4.63E-03**	4.36E-03**	0.02219**	60.3E-03**	78.4E-03**	30.2E-03
Exp.	1	0.09E-03	0.55E-03	10.411**	7.21E-03**	4.72E-03**	...
Trat X Exp.	6	2.24E-03**	2.34E-03**	2.37E-03**	2.85E-03**	3.76E-03**	...
Error		0.10E-03	0.18E-03	0.26E-03	0.39E-03	0.56E-03	...
°l Error		338	336	332	328	323	0.00
C.V.		20.25	21.24	20.46	20.82	23.47	0.00

F. de V.: factor de variación.

°l: grados de libertad.

C.V.: coeficiente de variación

<sup>a</sup>Peso diario

Cuadro 4.2. Continuación... cuadrados medios de las variables consideradas en ambas repeticiones del experimento dos para *D. saccharalis* no parasitada.

F. de V.	°l	Pupa <sup>1</sup>	Adulto <sup>2</sup>	Sexo
Trat.	6	91.6468**	5.7658**	2.06802**
Exp.	1	82.6630**	97.5609**	2.48630**
Trat X exp	6	8.76522**	0.4762	0.2464
Error		2.767	0.6535	0.2384
°l Error		224	199	213
C.V.		21.97	10.38	31.91

<sup>1</sup> Días a formación de pupa.

<sup>2</sup> Días a eclosión de pupa

Cuadro 4.3. Cuadrados medios de las variables consideradas en ambas repeticiones del experimento dos para *D. saccharalis* parasitada.

F.deV	°l	Peso 1 <sup>1</sup>	Peso 2	Peso 3	Peso 4	Peso 5	Peso 6
Trat.	6	0.07E-03	0.12E-03	9.76E-03**	32.2E-03**	56.1E-03**	67.3E-03**
Exp.	1	4.54E-03	1.68E-03	1.37E-03	0.07E-03	0.29E-03	0.96E-03
Trat X Exp.	4	0.74E-03	5.04E-03**	2.16E-03**	3.97E-03**	6.12E-03**	3.95E-03**
Error		0.73E-03	0.24E-03	0.39E-03	0.54E-03	0.66E-03	0.63E-03
°l Error		112	111	111	109	108	104
C.V.		57.01	25.03	23.87	23.08	23.41	21.74

<sup>1</sup>Peso vivo de larvas diario.

Continuación...

F.deV	°l	Peso 7	Peso 8	Peso 9	Peso 10
Trat.	6	27.3E-03	59.4E-03**	36.7E-03**	22.9E-03**
Exp.	1	...	3.17E-03*	3.65E-03	1.86E-03
Trat X Exp.	6	...	3.64E-03**	2.66E-03	2.19E-03
Error		...	0.74E-03	0.63E-03	0.49E-03
°l Error		0.00	99	91	83
C.V.		0.00	24.02	23.20	22.51

Continuación...

F.deV	°l	<sup>1</sup> Larvas	<sup>2</sup> Muertas	Avispas
Trat.	5	1.69	1008.6**	3.1186**
Exp.	1	4.88	32.00	25.578
Trat X Exp.	3	2.72	8.83	1.1735
Error		0.99	12.04	0.4320
°l Error		60	60	53
C.V.		9.65	122.5	9.59

<sup>1</sup>Tiempo del periodo larval.<sup>2</sup>Número de larvas muertas.

continuación...

F.deV	°I	<sup>1</sup> Peso machos	<sup>2</sup> Peso hembras	Número de machos	Número de hembras	Total pupas	<sup>3</sup> Pupas fallidas
Trat.	6	0.33E-03**	0.0106**	0.0116**	72069.8**	0.00035**	84.279**
Exp.	1	1.26E-03	0.0021	58.500**	0.915	0.00139**	34.615
Trat X	4	5.62E-03**	0.00084	0.0000**	0.744	0.00018	13.357
Exp.							
Error		0.17E-03	0.00029	0.0000	0.764	0.000079	17.29
°I Error		111	110	112	112	112	112
C.V.		21.11	20.69	0.00	2.66	18.87	17.07

<sup>1</sup> <sup>2</sup>Peso promedio del total de adultos de acuerdo al sexo.<sup>3</sup>Pupas formadas no eclosionadasANEXO 5. Promedios de peso vivo de *D. saccharalis* no parasitadaCuadro 5.1. Promedios de peso vivo de *D. saccharalis* no parasitada alimentándose de dieta artificial contaminada con terbufos en la repetición 1.

dosis (ppm)	Peso vivo (g)						
	0	1,32	9.01	18,77	32,08	53,17	108,03
0 días	0,0693	0,0638	0,0403	0,0458	0,0462	0,0441	0,0455
1 día	0,0696	0,0709	0,0645	0,0614	0,0640	0,0629	0,0612
2 día	0,0920	0,0864	0,0745	0,0822	0,0705	0,0693	0,0592
3 día	0,1213	0,1087	0,0943	0,0988	0,0806	0,0789	0,0613
4 día	0,1357	0,1149	0,0991	0,1059	0,0887	0,0826	0,0640
5 día	0,1444	0,1165	0,1021	0,1052	0,0906	0,0847	0,0637

Cuadro 5.2. Promedios de peso vivo de *D. saccharalis* no parasitada alimentándose de dieta artificial contaminada con terbufos en la repetición 2.

dosis (ppm)	Peso vivo (g)						
	0	1,32	9.01	18,77	32,08	53,17	108,03
0 días	0,0515	0,0503	0,0472	0,0534	0,0420	0,0454	0,0472
1 día	0,0778	0,0662	0,0655	0,0744	0,0579	0,0503	0,0493
2 día	0,1149	0,0926	0,0883	0,0961	0,0696	0,0641	0,0620
3 día	0,1410	0,1187	0,1083	0,1122	0,0807	0,0709	0,0559
4 día	0,1515	0,1339	0,1071	0,1172	0,0862	0,0701	0,0562



ANEXO 6. Resultados del análisis de correlación para la variable peso vivo de larvas de *D. saccharalis* no parasitadas.

Peso vivo	r (exp. 1)	probabilidad	r (exp. 2)	probabilidad
día 1	-0,35	0,0001	-0,14	0,008
día 2	-0,17	0,0015	-0,49	0,0001
día 3	-0,49	0,0001	-0,57	0,0001
día 4	-0,63	0,0001	-0,73	0,0001
día 5	-0,62	0,0001	-0,70	0,0001
día 6	-0,56	0,0001		

ANEXO 7. Efectos en el periodo larval de *D. saccharalis* no parasitada.

Terbufos (ppm)	Días (Experimento 1)		Días (Experimentos 2)	
0	7,2	6,7	6,1	
1,32	7,1	6,9	6,6	
9,01	8,4	7,5	6,6	
18,77	7,5	7,4	7,2	
32,08	8,2	8,1	8,0	
53,17	9,3	9,4	9,4	
108,03	11,3	11,8	12,2	

ANEXO 8. Efectos en el tiempo de eclosión de las pupas del hospedero *D. saccharalis* no parasitado:

terbufos (ppm)	Días
0	7,59
1,32	7,47
9,01	7,91
18,77	7,72
32,08	8,31
53,17	8,04
108,03	7,71

ANEXO 9. Efectos en el número de adultos y proporción de sexos de *D. saccharalis* no parasitado:

terbufos (ppm)	Número de machos	Número de hembras	Proporción
0	12	37	1:3
1,32	20	30	1:1,5
9,01	25	23	1:1
18,77	20	27	1:1,3
32,08	24	12	2:1
53,17	24	8	3:1
108,03	5	5	1:1

ANEXO 10. Efectos en la mortalidad de larvas de *D. saccharalis* no parasitado:

terbufos (ppm)	Mortalidad (%) exp. 1		Mortalidad (%) exp. 2	
0	0	0	0	0
1,32	2	1	0	0
9,01	2	1	0	0
18,77	0	1	2	0
32,08	8	4	0	0
53,17	8	4	0	0
108,03	10	13	16	0

ANEXO 11. Efectos del terbufos en el periodo larval y número de larvas muertas de *C. flavipes*.

Terbufos (ppm)	Días	Larvas muertas (número)
0	10,10	0,15
1,32	10,16	0,25
9,01	10,24	1,86
18,77	10,47	1,48
32,08	10,71	13,52
53,17	10,38	12,93
108,03	.....	.....

ANEXO 12. Efectos del terbufos en la cantidad y viabilidad de pupas de *C. flavipes*.

Terbufos (ppm)	Número de pupas	<i>mls</i>	Pupas no eclosionadas
0	51,13	44,8	0,11
1,32	56,61	44,2	0,47
9,01	42,40	44,4	2,36
18,77	45,95	45,9	1,90
32,08	3,13	51,4	1,52
53,17	3,04	64,2	1,07
108,03	0,00	0,0	0,00

ANEXO 13. Efectos del terbufos en el tiempo de eclosión de pupas de *C. flavipes*.

terbufos (ppm)	Días
0	6,72
1,32	6,91
9,01	6,70
18,77	6,79
32,08	7,42
53,17	7,29
108,03	.....

ANEXO 14. Efectos del terbufos en el número de adultos y proporción de sexos de *C. flavipes*.

terbufos (ppm)	número machos	número hembras	proporción
0	17,67	29,35	1:1,7
1,32	16,48	36,78	1:2,2
9,01	13,47	23,76	1:1,8
18,77	22,26	25,05	1:1,1
32,08	1,12	0,86	1,3:1
53,17	1,77	0,93	1,9:1
108,03	0,00	0,00	0:0

ANEXO 15. Efectos del terbufos en el número de adultos y proporción de sexos de *C. flavipes*.

terbufos (ppm)	Peso (g)		
	machos experimento 1	machos experimento 2	hembras
0	1,39E-04	1,13E-04	2,33E-04
1,32	4,31E-04	1,16E-04	1,17E-04
9,01	2,02E-04	9,90E-05	1,14E-04
18,77	1,42E-04	1,06E-04	1,19E-04
32,08	4,50E-05	9,00E-05	3,52E-04
53,17	6,00E-06	6,30E-05	6,81E-05
108,03	.....	.....	.....

ANEXO 16. Efectos del terbufos en el peso vivo de larvas de *D. saccharalis* parasitada, repetición I.

Cuadro 16.1. Promedios de peso vivo de larvas de *D. saccharalis* parasitadas en la repetición I.

dosis (ppm)	Peso vivo (g)						
	0	1.32	9.01	18.77	32.08	53.17	108.03
0 días	0.0428	0.0421	0.0401	0.0469	0.0430	0.0430	0.0470
1 día	0.0419	0.0422	0.0626	0.0644	0.0636	0.0626	0.0626
2 día	0.0953	0.0839	0.0766	0.0890	0.0710	0.0727	0.0670
3 día	0.1293	0.1114	0.0959	0.1151	0.0858	0.0893	0.0700
4 día	0.1478	0.1257	0.1045	0.1253	0.0878	0.0927	0.0717
5 día	0.1611	0.1436	0.1145	0.1381	0.0888	0.1002	0.0691
6 día	0.1603	0.1531	0.1249	0.1397	0.0923	0.1022	0.0677
7 día	0.1534	0.1501	0.1185	0.1338	0.0944	0.1030	0.0672
8 día	0.1356	0.1399	0.1150	0.1262	0.0902	0.0971	0.0688
9 día	0.1180	0.1256	0.1047	0.1146	0.0836	0.0901	0.0644

Cuadro 16.2. Promedios de peso vivo de larvas de *D. saccharalis* parasitadas en la repetición 2

dosis (ppm)	Peso vivo (g)						
	0	1.32	9.01	18.77	32.08	53.17	108.03
0 días	0.0536	0.0589	0.0521	0.0480	0.0514	0.0478	0.0502
1 día	0.0854	0.0848	0.0540	0.0630	0.0578	0.0597	0.0614
2 día	0.1185	0.1159	0.0814	0.0854	0.0785	0.0731	0.0638
3 día	0.1565	0.1453	0.1030	0.1004	0.0838	0.0752	0.0616
4 día	0.1801	0.1663	0.1137	0.1109	0.0818	0.0759	0.0557
5 día	0.1801	0.1726	0.1168	0.1117	0.0835	0.0767	0.0573
7 día	0.1686	0.1599	0.1154	0.1072	0.0763	0.0683	0.0509
8 día	0.1493	0.1441	0.1075	0.1015	0.0710	0.0651	0.0523
9 día	0.1321	0.1228	0.0964	0.0901	0.0621	0.0514	0.0467

ANEXO 17 Resultados del análisis de regresión de las variables evaluadas en los experimentos.

Cuadro 17.1. Análisis de regresión para la variable duración de periodo larval de *D. saccharalis* no parasitada

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	1	27.868**
Error	5	0.0354
C Total	6	
C.V	2.36	
R <sup>2</sup>	0.99	
	Parámetros estimados	
Intercepto	6.1924**	
Dosis	0.0559**	

<sup>1</sup> días a formación de pupa

Cuadro 17.2. Análisis de regresión para la variable malformaciones de larvas de *D. saccharalis* no parasitada en la repetición uno.

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	2	12.954**
Error	4	0.2371
C Total	5	
C.V.	26.21	
R <sup>2</sup>	0.96	
Parámetros estimados		
Intercepto	-0.368	
Dosis	0.1095**	
Dosis <sup>2</sup>	-0.00055*	

Cuadro 17.3. Análisis de regresión para la variable periodo de pupa de *D. saccharalis* no parasitada

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	2	0.178
Error	4	0.0428
C Total	6	
C.V.	2.64	
R <sup>2</sup>	0.67	
Parámetros estimados		
Intercepto	7.564**	
Dosis	0.0223*	
Dosis <sup>2</sup>	-0.00019*	

Cuadro 17.4. Análisis de regresión para la variable duración de periodo larval de *C. flavipes*

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	2	0.117*
Error	3	0.0040
C Total	5	
C.V.	0.61	
R <sup>2</sup>	0.95	
Parámetros estimados		
Intercepto	10.094**	
Dosis	0.0341**	
Dosis <sup>2</sup>	-0.0005**	

Cuadro 17.5. Análisis de regresión para la variable número de larvas muertas de *C. flavipes*.

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	1	317.42**
Error	5	7.857
C Total	6	
C.V.	55.62	
R <sup>2</sup>	0.89	
	Parámetros estimados	
Dosis	0.272**	

Cuadro 17.6. Análisis de regresión para la variable duración número de pupas de *C. flavipes* formadas.

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	2	1697.25*
Error	4	117.93
C Total	6	
C.V.	37.8	
R <sup>2</sup>	0.88	
	Parámetros estimados	
Intercepto	56 299**	
Dosis	-1.552*	
Dosis <sup>2</sup>	0.0095* (sig 6%)	

Cuadro 17.7. Análisis de regresión para la variable número de adultos hembras de *C. flavipes*.

F. de V.	°l	días <sup>1</sup>
Modelo	2	650.12*
Error	4	38.919
C Total	6	
C.V.	37.58	
R <sup>2</sup>	0.89	
	Parámetros estimados	
Intercepto	33.927**	
Dosis	-1.005*	
Dosis <sup>2</sup>	0.0064*	

Cuadro 17.8 Análisis de regresión para la variable peso promedio de adultos machos de *C. flavipes* en la repetición uno.

F. de V.	° l	días <sup>1</sup>
Modelo	1	1.77E-09**
Error	4	4.25E-11
C Total	5	
C.V.	6.66	
R <sup>2</sup>	0.91	
	Parámetros estimados	
Intercepto	0.000115**	
Dosis	-910E-09**	

Cuadro 17.9. Análisis de regresión para la variable número de adultos machos de *C. flavipes* en la repetición dos.

F. de V.	° l	días <sup>1</sup>
Modelo	2	394.18**
Error	4	13.787
C Total	6	
C.V.	29.8	
R <sup>2</sup>	0.93	
	Parámetros estimados	
Intercepto	26.034**	
Dosis	-0.800**	
Dosis <sup>2</sup>	0.0052*	

ANEXO 18. Resultados del análisis de correlación para la variable peso vivo de larvas de *D. saccharalis* parasitadas.

Peso vivo	r (exp. 1)	probabilidad	r (exp. 2)	probabilidad
día 0	0.004	0,91		
día 1	0.32	0,0001	-0,26	0,0001
día 2	-0,38	0,0001	-0,54	0,0001
día 3	-0,56	0,0001	-0,67	0,0001
día 4	-0,60	0,0001	-0,71	0,0001
día 5	-0,64	0,0001	-0,72	0,0001
día 6	-0,69	0,0001	-0,69	0,0001
día 7	-0,64	0,0001	-0,64	0,0001
día 8	-0,61	0,0001	-0,61	0,0001

Los pesos en los días 0, 8, 9 y 10 no son diferentes estadísticamente entre sí, el análisis de correlación incluye los resultados de los experimentos 1 y 2 en conjunto.



ANEXO 19. Resultados obtenidos en el análisis de  $^{14}\text{C}$ -terbufos para diferentes tejidos.

muestra <sup>1</sup>	blanco	peso	CPM1	ESR	CPM1-B	Efic	dpm	dpm <sup>2</sup>	dpm/peso	% <sup>3</sup>	% <sup>4</sup>
L01	37	0.03	67	0.794	30	80	37.50	375.00	12500.00	7.36	0.22
L02	37	0.0318	56	0.473	19	73	26.03	260.27	8184.72	4.82	0.15
L03	37	0.0367	64	0.541	27	75	36.00	360.00	9609.26	5.77	0.21
L04	37	0.0355	67	0.508	30	75	40.00	400.00	11267.61	6.63	0.24
L12	37	0.025	47	0.596	10	74	13.51	135.14	5405.41	3.18	0.08
L13	43	0.017	50	0.800	7	84	8.33	83.33	4901.96	2.88	0.05
L14	43	0.031	54	0.637	7	77	9.09	90.91	2932.55	1.73	0.05
L15	43	0.058	60	0.720	17	80	21.25	212.50	3663.79	2.16	0.13
L21	37	0.054	40	0.649	3	76	3.95	39.47	730.99	0.43	0.02
L22	36	0.021	53	0.757	17	80	21.25	212.50	10119.05	5.96	0.13
L23	36	0.015	50	0.734	14	82	17.07	170.73	11382.11	6.70	0.10
L24	46	0.044	48	0.611	3	76	3.95	39.47	897.13	0.53	0.02
L25	36	0.05	44	0.767	8	82	9.76	97.56	1951.22	1.15	0.06
L31	37	0.038	67	0.617	30	75	40.00	400.00	10526.32	6.19	0.24
L32	36	0.029	60	0.713	24	80	30.00	300.00	10344.83	6.09	0.18
L33	36	0.039	55	0.767	19	77	24.68	246.75	6327.01	3.72	0.15
L34	36	0.028	48	0.603	12	75	16.00	160.00	5714.29	3.36	0.09
L35	36	0.027	43	0.607	7	76	9.21	92.11	3411.31	2.01	0.05
P11	45	1.386	90	0.737	45	80	56.25	562.50	405.84	0.24	0.33
P12	43	0.912	325	1.041	282	86	327.91	3279.07	3595.47	2.12	1.93
P13	42	0.539	45	0.570	3	75	4.00	40.00	74.21	0.04	0.02
P14	42	0.407	60	0.802	18	83	21.69	216.87	532.84	0.31	0.13
P15	42	0.372	75	0.759	33	83	39.76	397.59	1068.79	0.63	0.23
P21	38	1.096	46	0.491	8	70	11.43	114.29	104.28	0.06	0.07
P22	37	0.937	62	0.426	25	70	35.71	357.14	381.16	0.22	0.21
P23	36	0.504	53	1.168	17	87	19.54	195.40	387.70	0.23	0.11
P32	37		86	0.292	49	70	70.00	700.00			0.41
P33	36	0.48	47	1.052	13	86	15.12	151.16	314.92	0.19	0.09
P34	36	0.722	51	1.067	17	86	19.77	197.67	273.79	0.16	0.12
P35	42	0.686	67	0.555	25	74	33.78	337.84	492.47	0.29	0.20
R02	37	0.605	52	0.935	15	95	15.79	157.89	260.98	0.15	0.09
R11	42	1.177	118	0.705	76	80	95.00	950.00	807.14	0.48	0.56
R12	37	0.631	154	0.628	117	77	151.95	1519.48	2408.05	1.42	0.89
R13	36	0.612	44	0.441	8	70	11.43	114.29	186.74	0.11	0.07
R14	36	0.519	83	0.651	47	77	61.04	610.39	1176.09	0.69	0.36
R15	36	0.593	111	0.610	75	77	97.40	974.03	1642.54	0.97	0.57
R21	37	0.926	111	1.016	74	86	86.05	860.47	929.23	0.55	0.51
R22	37	0.588	96	0.757	59	80	73.75	737.50	1254.25	0.74	0.43
R23	46	0.39	85	0.735	39	80	48.75	487.50	1250.00	0.74	0.29
R24	36	0.663	53	0.725	17	80	21.25	212.50	320.51	0.19	0.13
R31	37	1.121	66	0.694	29	76	38.16	381.58	340.39	0.20	0.22
R32	37	1.242	100	0.763	63	80	78.75	787.50	634.06	0.37	0.46
R33	43	0.578	83	0.716	40	80	50.00	500.00	865.05	0.51	0.29
R34	36	0.894	71	0.672	35	77	45.45	454.55	508.44	0.30	0.27
R35	36	0.541	47	0.493	11	70	15.71	157.14	290.47	0.17	0.09

1 Simbología: L larva de hospedante, P parte aérea, R raíz (primer número se refiere a dosis de terbufos: 0, 6, 9 y 12 ppm) el segundo número se refiere a la repetición.

2 dpm desintegraciones por minuto en 10 ml de solución

3 Porcentaje de dpm por peso de muestra

4 Porcentaje de dpm por 10 ml de solución