

Evaluación de las funciones ecosistémicas de los enemigos naturales mediadas por volátiles de plantas inducidos por la herbivoría en cultivos de café de la provincia del Sumapaz.

Autor:

Jorge Luis Castellanos Rojas

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

Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD
Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente – ECAPMA
Agronomía
Bogotá D.C. 2019

Evaluación de las funciones ecosistémicas de los enemigos naturales mediadas por volátiles de plantas inducidos por la herbivoría en cultivos de café de la provincia del Sumapaz

Autor:

Jorge Luis Castellanos Rojas

Asesor:

Jordano Salamanca Bastidas, Ing. Agr. Ph. D. Entomología Agrícola.

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

Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD
Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente – ECAPMA
Agronomía
Bogotá D.C. 2019

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del presidente del jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Bogotá, 2019.

Dedicatoria:

A mis padres por su incondicional apoyo y creer siempre en mi

AGRADECIMIENTOS

A los profesores involucrados durante todos los años académicos que con sus conocimientos y vocación por la educación permiten el traspaso de la información.

A mis padres y hermanos por ser parte de mí y quienes con sus consejos he podido mejorar en cada aspecto de la vida, animando la realización de este trabajo y apoyándome para seguir adelante.

A los productores de café de cada una de las fincas en Pasca Cundinamarca y Arbeláez quienes permitieron de manera desinteresada y colaborativa la ejecución de este proyecto.

Resumen

Los volátiles de plantas inducidos por la herbivoría comúnmente llamados HIPVs, han demostrado en varios estudios el papel que juegan dentro de las relaciones tritróficas en la mayoría de ecosistemas en el mundo; a su vez, ha sido demostrada la importancia de estas relaciones entre planta – herbívoro – enemigo natural en el equilibrio de los ecosistemas y el control de plagas. Principalmente volátiles como el salicilato de metilo y el benzaldehído han mostrado un importante papel en dichas interacciones con la atracción de enemigos naturales para el control de herbívoros plaga. El entendimiento entonces de estas relaciones puede ayudar en el manejo integrado de plagas y reducir el uso de agroquímicos que impactan en el medio ambiente. Por lo tanto, este trabajo tuvo como objetivo evaluar las funciones ecosistémicas de los enemigos naturales mediadas por volátiles de plantas inducidos por la herbivoría en cultivos de café de la provincia del Sumapaz. Específicamente se evaluó el impacto de la atracción por salicilato de metilo (MeSA), benzaldehído (Ben) y su combinación, sobre la predación de huevos centinela de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) en cultivos de café. La evaluación fue realizada en cuatro fincas en la región del Sumapaz, donde se estableció un diseño de bloques completamente al azar con cuatro tratamientos replicados 3 veces. Los tratamientos fueron: 1) MeSA, 2) Ben, 3) MeSA + Ben y 4) control. Se evidenció que los compuestos solos presentan un mayor impacto en la predación de huevos centinela que cuando se liberan combinados. Estos resultados muestran implicaciones en el control biológico conservativo, ya que se puede usar los HIPVs para tener un impacto en las poblaciones de herbívoros mediados por enemigos naturales.

Palabras clave: Salicilato de metilo, benzaldehído, atracción, predación, herbivoría, enemigos naturales.

Abstract

Herbivore-induced plant volatiles commonly called HIPVs, have shown in several studies the role they play within tritrophic interaction in most ecosystems in the world; in turn, the importance of these relationships between plant - herbivore - natural enemy in the balance of ecosystems and pest control has been demonstrated. Mainly volatile such as methyl salicylate and benzaldehyde have shown an important role in such interactions with the attraction of natural enemies to control pest herbivores. The understanding then of these relationships can help in integrated pest management and reduce the use of agrochemicals that impact the environment. Therefore, this work aimed to evaluate the ecosystem functions of volatile-mediated natural enemies of plants induced by herbivory in coffee crops in the province of Sumapaz. Specifically, the impact of the attraction by methyl salicylate (MeSA), benzaldehyde (Ben) and its combination on the predation and parasitism of sentinel eggs of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) in coffee crops was evaluated. The evaluation was carried out on four farms in the Sumapaz region, where a completely randomized block design was established with four treatments replicated 3 times. The treatments were: 1) MeSA, 2) Ben, 3) MeSA + Ben and 4) control. It was shown that the compounds alone have a greater impact on the predation of sentinel eggs than when they are released in combination. These results show implications for conservative biological control, since HIPVs can be used to have an impact on herbivore populations mediated by natural enemies.

Key words: Methyl salicylate, benzaldehyde, attraction, predation, herbivory, natural enemies.

Contenido

Abstract.....	vii
Listado de figuras	ix
Listado de tablas	ix
1 Introducción	1
2 Objetivos	3
3 Marco Teórico	4
3.1 Control químico e impactos	4
3.2 Alternativa para el control químico	4
3.3 Benzaldehído.....	7
3.4 Salicilato de metilo	8
3.5 Relaciones tritroficas	9
3.6 Predadores.....	10
3.7 Parasitoides	11
4 Metodología	11
4.1 Sitio de estudio.....	11
4.2 Evaluación de la predación	12
4.3 Análisis estadístico.....	15
5 Resultados	16
5.1 Predacion.....	16
6 Discusión.....	18
7 Conclusiones	21
8 Recomendaciones.....	22
9 Referencias Bibliográficas	23

Listado de figuras

Figura 1. Parasitoide volando hacia olores emitidos por una hoja de maíz dañada por una larva de Lepidoptera (Fotografía cortesía de Ted Turlings, reimpresión de Van Driesche, R. G. y T. S. Bellows, <i>Biological Control</i> , 1996. Kluwer, con permiso).....	5
Figura 2. el emisor planta emite volátiles inducidos por herbívoros, que se dispersan como penachos en el medio ambiente como resultado del movimiento del aire (Fuente: Aartsma <i>et al.</i> , 2017).....	6
Figura 3. Benzaldehído.....	7
Figura 4. Salicilato de metilo.	8
Figura 5. Fincas cafeteras Pasca Cundinamarca – Arbeláez	12
Figura 6. Diseño experimental dispuesto en cada finca del proyecto.	13
Figura 7. Conteo de masas de huevos centinela de <i>G. mellonella</i>	13
Figura 8. Tratamientos y masas de huevos centinela instalados en cultivos de café.	14
Figura 9. Conteo de huevos centinela luego de la colecta en campo.	14
Figura 10. Huevos succionados posterior a la colecta.....	15
Figura 11. Huevos predados luego de la colecta.	15
Figura 12. Promedio de predación para cada uno de los tratamientos de prueba. *Indica una diferencia marginal entre los tratamientos.	17
Figura 13. Resultados de la eficiencia de la predación para cada tratamiento. *Indica una diferencia marginal entre los tratamientos.	17

Listado de tablas

Tabla 1. Análisis de varianza two-way ANOVA sobre el efecto de la predación de huevos centinela por MeSA, Ben y su combinación.	16
---	----

1 Introducción

La actividad agrícola ha sido, a través de los tiempos, base fundamental en el desarrollo de la civilización, actualmente como resultado del crecimiento poblacional y el aumento en la productividad son considerables los efectos irreversibles ocasionados en el ambiente, principalmente en suelo, agua y biodiversidad” (Marco & Reyes 2003). En la mayoría de casos son generados por las aplicaciones indiscriminadas de productos de síntesis química para el control de plagas y enfermedades. Para frenar esta tendencia, sectores del ámbito social, científico y político reclaman a los profesionales del agro un cambio en el manejo principalmente de plagas, dirigido hacia estrategias más sostenibles. Una de estas prácticas es el control biológico por conservación, definido como “el uso de organismos para suprimir la densidad de población o el impacto de un organismo plaga específico, haciéndolo menos abundante de lo que sería si no se usaran dichos organismos (DeBach, 1964).

El control biológico por conservación es especialmente relevante para el control de plagas endémicas. En los países latinoamericanos existe una considerable cantidad de insectos plaga endémicos, debido a la gran diversidad biológica (Trujillo, 1992). De igual manera el control biológico conservativo se puede sustentar con diferentes técnicas, enfocadas a la ecología química. Donde se trata de entender el lenguaje que utilizan las plantas y los artrópodos para comunicarse y modificar su comportamiento en nuestro beneficio. Las plantas pueden emitir compuestos volátiles capaces de atraer y repeler a determinados artrópodos. Estos incluyen sustancias volátiles cuya emisión es inducida por el ataque de un herbívoro a la planta (Paredes, Campos & Cayuela, 2013).

Las plantas sintetizan y emiten una gran variedad de compuestos orgánicos volátiles, los cuales poseen funciones ecológicas importantes (Scala *et al.*, 2013) estos compuestos volátiles

inducidos por herbívoros o HIPVs, los cuales consisten en olores liberados por las plantas, como señales importantes para parasitoides y predadores para ubicar su hospedero o presa (Ponzio *et al.*, 2013; Schettino, 2017). De igual manera se demostraron que estos compuestos pueden ser utilizados en el control biológico por conservación tanto para incrementar el número de enemigos naturales atraídos hacia el campo de cultivo como para repelerlos del mismo se establece una relación entre los diferentes HIPVs capaces de atraer a distintos enemigos naturales y por tanto la posibilidad de mejorar el control biológico. Estos compuestos son: cis-3-hexen-1-ol, (*E*)-2-hexen-1-al, cis-3-acetato de hexenilo, salicilato de metilo, indol, antranilato de metilo, cis-jasmonato, geraniol, nonanal, octylaldehído, benzaldehído y farneseno (Khan *et al.* 2008).

Dentro de estos resaltamos el salicilato de metilo (MeSA) que es un volátil de plantas inducido por herbívoros que ha demostrado potencial para atraer enemigos naturales. (Rodriguez-Saona *et al.*, 2011) como por ejemplo a especies de *Chrysopa* (James, 2003). En el caso de *Arabidopsis thaliana* libera compuestos volátiles para defenderse contra insectos herbívoros, estos volátiles atraen a hembras parasitoides de *Cotesia rubecula* hacia plantas infestadas por el herbívoro *Pieris rapae*. La planta libera una mezcla de volátiles, ya sea por daño mecánico o por herbivorismo, como el salicilato de metilo, que es liberado en grandes cantidades (Van Poecke *et al.*, 2001). Por otra parte, se ha evidenciado que el benzaldehído es capaz de atraer enemigos naturales como *Orius tristicolor* y *Anagrus daanei* (Khan *et al.*, 2008).

Por lo tanto, este trabajo se planteó la siguiente hipótesis: los volátiles sintéticos de plantas inducidos por la herbivoría (HIPVs), específicamente salicilato de metilo (MeSA) y Benzaldehído (BEN) atraen enemigos naturales y esta atracción aumenta la predación de huevos centinela en cultivos de café.

2 Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar las funciones ecosistémicas de los enemigos naturales mediadas por volátiles de plantas inducidos por la herbivoría en cultivos de café de la provincia del Sumapaz.

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar el impacto de la atracción por metil salicilato, benzaldehído y su combinación, sobre la predación de huevos centinela de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) en cultivos de café.

3 Marco Teórico

3.1 Control químico e impactos

La aplicación de insecticidas incluso dentro de las pautas regulatorias prescritas puede tener consecuencias ambientales perjudiciales (Devine *et al.*, 2008), la pulverización intensiva de pesticidas contribuye al deterioro del medio ambiente, debido a que estas sustancias o compuestos presentan efectos secundarios y colaterales. Se estima que solo el 1% del pesticida aplicado alcanza el organismo objetivo, el 25% queda retenido en el follaje y el 74% restante llega a las diferentes matrices ambientales como: agua, suelo y aire (Brandy & Weil, 1996). Otra de las consecuencias del uso constante de insecticidas se presenta en la eliminación de enemigos naturales (Polack, 2008) los depredadores y parasitoides a menudo presentan mayor mortalidad que los herbívoros después de una aplicación de productos químicos (Morse *et al.*, 1987) y en la adaptación de las plagas, estos organismos son dinámicos, tienen ciclos reproductivos frecuentes, con una gran capacidad de adaptación, el uso de pesticidas constantemente, hacen que se exprese una habilidad genética en ciertos individuos que les permite sobrevivir a la aplicación continua de estos productos (Peñaranda, 2016).

3.2 Alternativa para el control químico

Las interacciones de depredación, herbivoría y parasitismo son mecanismos que regulan las poblaciones biológicas, por lo tanto las interacciones ecológicas regulan el funcionamiento y mantenimiento de los ecosistemas (Linares *et al.*, 2013) el uso de estas interacciones a nuestro favor como alternativas para el control químico pueden ser evaluadas por medio de los HIPVs (volátiles de plantas inducidos por la herbivoría) las investigaciones han demostrado que la

alimentación de los insectos herbívoros inducen volátiles de plantas que atraen a los enemigos naturales de los herbívoros durante la localización de su presa (Salamanca *et al.*, 2018) estos atrayentes son emitidos no solamente desde las partes infestadas de las plantas sino también de las no infestadas debido a una respuesta sistémica. (Potting *et al.*, 1995) a si mismo los parasitoides pueden usar olores para localizar hospederos a favor del viento al percibir el olor en el aire (Van & Hoddle, 2007) (Fig. 1).

El chinche depredador *Geocoris pallens* Stal (Hemiptera: Geocoridae), es atraído por los volátiles de *N. attenuata* bajo el ataque de artrópodos fitófagos (Baldwin 2001). Por otra parte, la planta de tabaco libera volátiles después del ataque del insecto, *Tupiocoris notatus* Distant (Hemiptera: Miridae) también resultará en una atracción similar a la del depredador generalista *G. pallens*, Aunque mostró preferencia por presas no móviles como los huevos y los primeros estadios de *M. sexta* (Kessler & Baldwin 2004).



Figura 1. Parasitoides volando hacia olores emitidos por una hoja de maíz dañada por una larva de Lepidoptera (Fotografía cortesía de Ted Turlings, reimpresa de Van Driesche, R. G. y T. S. Bellows, Biological Control, 1996. Kluwer, con permiso).

Muchas plantas responden a la alimentación de herbívoros, aumentando las emisiones de compuestos volátiles. Las emisiones son una mezcla de compuestos ya formados y de otros compuestos específicos de cada especie y en respuesta a herbívoros específicos (Halitschke *et al.*, 2001), (Fig. 2), las plantas son inducidas a sintetizar nuevos compuestos volátiles por la regurgitación de las larvas en el tejido dañado (Potting *et al.*, 1995). Se ha evidenciado que los volátiles de plantas inducidos por la herbivoría atraen predadores como a las especies de *Chrysopa* (James, 2003, 2006; Salamanca *et al.*, 2017; Coral *et al.*, 2012).

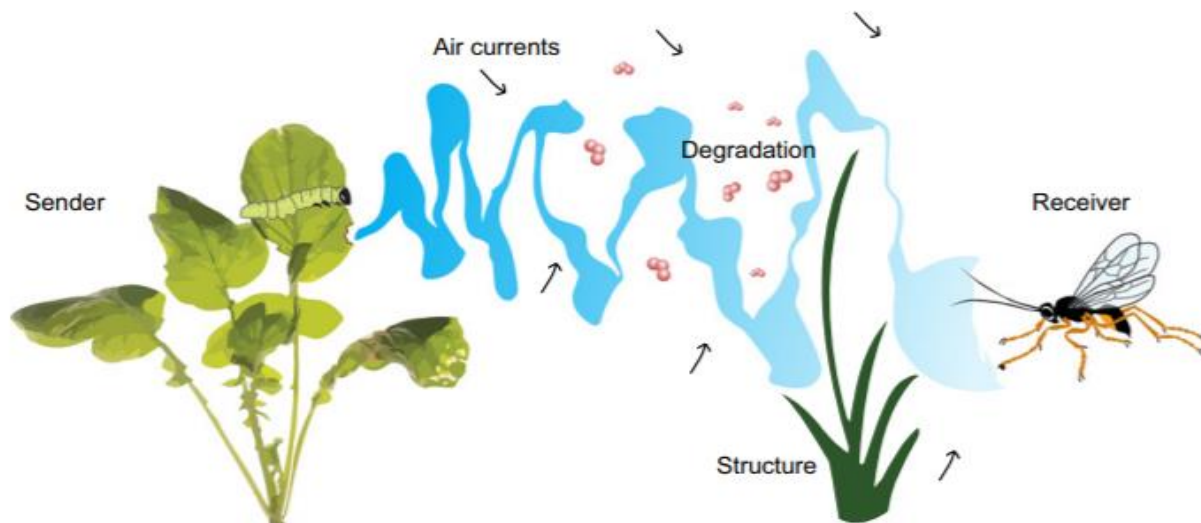


Figura 2. el emisor planta emite volátiles inducidos por herbívoros, que se dispersan como penachos en el medio ambiente como resultado del movimiento del aire (Fuente: Aartsma *et al.*, 2017).

Los volátiles de plantas como alternativa para el control químico es una tecnología usada como herramienta adicional en los programas de manejo integrado de plagas, ofrece un enfoque nuevo y ambientalmente racional para la protección de cultivos. Esta técnica implica el desarrollo de cebos que atraen organismos benéficos y la manipulación de procesos bioquímicos

que inducen y regulan las defensas de las plantas, factores clave en la mejora de los programas de control contra plagas económicamente importantes (Arab & Bento, 2006).

3.3 Benzaldehído

El benzaldehído es un compuesto orgánico cuya fórmula química es C_6H_5CHO . A temperatura ambiente es un líquido incoloro que puede tornarse amarillento con el almacenamiento, es el más simple de los aldehídos aromáticos del benceno. (Bolivar, sf) (Fig. 3).

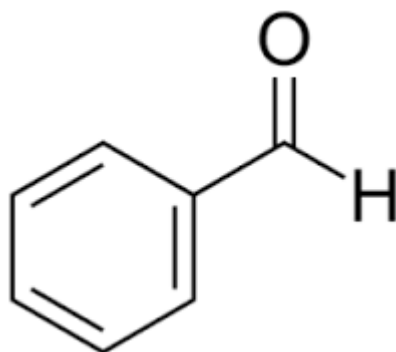


Figura 3. Benzaldehído

Estudios con plantas dañadas por insectos y artificialmente ha revelado un importante incremento en la emisión de benzaldehído (Peraba, 2007). Se ha evidenciado que el benzaldehído es capaz de atraer enemigos naturales como *Orius tristicolor*, *Anagrus daanei* (Khan *et al.*, 2008), dentro de los volátiles vegetales inducidos por herbivoría se ha identificado en condiciones de campo diferentes compuestos en los que se encuentra el benzaldehído y que ha dado como resultado capturas elevadas de agentes de control biológico (James, 2005).

La evaluación del Benzaldehído como volátil atrayente de enemigos naturales en campo es una alternativa que requiere ser evaluada para ser implementada en campo y reducir el uso de productos químicos.

3.4 Salicilato de metilo

El salicilato de metilo es una sustancia que se puede extraer de las plantas, actualmente se produce de manera sintética mediante la mezcla de ácido salicílico y metanol (Fig. 4) (Catalan, 2012).

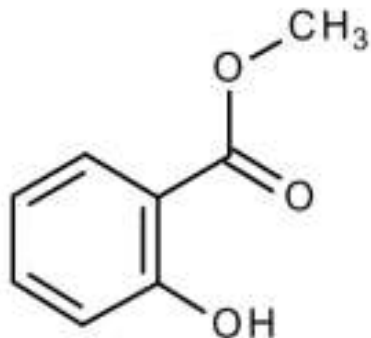


Figura 4. Salicilato de metilo.

La liberación de sustancias volátiles por las plantas reduce la herbivoría hasta en un 90% (Vivanco *et al.*, 2005) como reacción a la herbivoría se genera la liberación de volátiles como el salicilato de metilo (MeSA), que aumento el reclutamiento de los enemigos naturales de múltiples niveles tróficos, como Syrphidae, Braconidae, Empididae, Sarcophagidae, Agromyzidae, (Khan *et al.*, 2008) Chrysopidae, Anthocoridae, Coccinellidae (Salamanca, 2017; James, 2003).

El salicilato de metilo ha sido identificado como un volátil liberado por muchas especies de plantas como soja (*Glycine max*). (Calyecac *et al.*, 2007) tomate de cascara (*Physalis philadelphica*) (Michereff *et al.*, 2011), frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Salamanca, 2017). El entendimiento de cuáles compuestos de la planta atrae a los depredadores ha conducido a pruebas de campo usando los análogos sintéticos como el salicilato de metilo como atrayente de

depredadores y para incrementar su densidad en los cultivos (James, 2003; James & Price, 2004). En mango se ha observado un incremento poblacional de *Aulacaspos tubercularis* luego de la evaluación de atrayentes para retener y/o atraer depredadores de *A. tubercularis* y se observó mayor efecto de tratamientos en la variable huevos de *Ceraeochrysa* con el uso de 0.25 mL de salicilato de metilo (Hernández, 2012).

El uso de salicilato de metilo en diferentes sistemas productivos puede ser efectivo en la atracción de enemigos naturales para el control de plagas en cultivo, reduciendo el daño que generan los herbívoros y como alternativa al control químico que ocasiona un impacto negativo en los diferentes recursos naturales.

3.5 Relaciones tritróficas

Las interacciones tritróficas entre las plantas, sus herbívoros, y los enemigos naturales (depredadores y parasitoides) de estos herbívoros son parte fundamental dentro de un ecosistema, las plantas emiten una mezcla de compuestos orgánicos volátiles, los cuales ayudan a los enemigos naturales a ubicar a su presa u hospedero (Rodríguez- Saona, 2012) ya que la relación entre estos herbívoros y sus enemigos naturales está influenciada por la planta hospedante hace que la eficacia del control biológico dependa en buena parte de estas relaciones tritróficas (Martinez *et al.*, 2013).

La emisión de compuestos volátiles hace que se refuerce la atracción química de los enemigos naturales, incrementando el papel que desempeña esta asociación en el mecanismo de “defensa indirecta” de la planta, citado en más de 15 especies vegetales (fabácea, brasicáceas, cucurbitáceas, rosáceas, malváceas y poáceas) (Dicke *et al.*, 1990; Colazza *et al.*, 2003).

Al respecto diversos autores han señalado que las relaciones tritroficas han sido objeto de estudio en numerosas regiones del mundo, sirviendo de gran utilidad para la toma de decisiones

en el control (Tomanovic *et al.*, 2003; Aslan *et al.*, 2004; Andorno *et al.*, 2007). Es la base de la ecología química las relaciones e interacciones que se presentan entre planta – herbívoro – enemigo natural y que conllevan a un equilibrio natural del ecosistema.

3.6 Predadores

Dentro de las relaciones tritróficas los enemigos naturales pueden ser del tipo depredador estos insectos son más grandes que sus presas, tienen proporción sexual casi uniforme (50:50) y requieren más de una presa individual para completar el desarrollo, los depredadores son casi universales, afectando todas las plagas en todos los hábitats en algún grado, el uso de los depredadores para el control biológico en sistemas de cultivos, requiere del conocimiento de la taxonomía y biología del depredado, su especificidad y de las tasas de depredación (Van & Hoddle, 2007).

Los depredadores pueden responder a mezclas de olores que incluyen sustancias volátiles de plantas inducidas por herbívoros esto hace que se requiera entender cuáles compuestos de la planta atraen a los depredadores, si se encuentran estímulos adecuados en el hábitat, la búsqueda conduce al descubrimiento de la presa, evaluación y su uso, por lo tanto, el papel de las plantas en la atracción de los depredadores tiene implicaciones para el control biológico por conservación. (Van & Hoddle, 2007).

El uso de los principales depredadores para el control biológico está en diferentes ordenes como son Coleoptera, Diptera, Hemiptera y Neuroptera (Kondo *et al.*, 2018) la evaluación de los depredadores atraídos por los volátiles de plantas instalados en campo (salicilato de metilo, benzaldehído) puede proporcionar evidencias de la eficacia como control de plagas en cultivos, así como se observó en las evaluaciones realizadas con el depredador *Sphaerophoria rueppellii*

(Jimenez, 2013) la atracción de acaro depredador *Phytoseiulus persimilis* por la emisión de volátiles de frijol Lima (*Phaseolus lunatus*) (Bravo & Cibrian, 2018).

3.7 Parasitoides

Los parasitoides son organismos que hacen parte de los enemigos naturales de las plagas y son los más eficientes para este control, se encuentran naturalmente en todos los ecosistemas y contribuyen al equilibrio entre las plantas y sus plagas, las larvas que se desarrollan dentro del hospedero se llaman endoparasitoides y los que se desarrollan externamente son ectoparasitoides (Van & Hoddle, 2007).

Los enemigos de los herbívoros son capaces de detectar las diferencias entre la emisión constitutiva e inducida de las plantas y utilizan estas señales para guiarse hacia sus víctimas, las hembras de muchas especies de avispidas parasitoides son atraídas hacia los volátiles inducidos por la herbivoría y así encuentran donde depositar los huevecillos, los parasitoides pueden aprender a detectar a su hospedero a pesar de que este se alimente de distintas especies de plantas y por lo tanto induzca diferentes mezclas de volátiles (Bravo & Cibrian, 2018).

La mayoría de los parasitoides pertenecen a los órdenes Diptera o Hymenoptera, unos pocos son Coleoptera, Neuroptera o Lepidoptera, (Van & Hoddle 2007) por otra parte se ha evidenciado en cultivos de café que la avispidita *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) es un parasitoide que ataca a los adultos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* considerada la plaga más importante de este cultivo (Magaña, 2009).

4 Metodología

4.1 Sitio de estudio

Los procedimientos que a continuación se describen se ejecutaron en 4 fincas ubicadas en Pasca Cundinamarca y Arbeláez en cultivos de café, Finca el Paraíso (4°14'51.8"N

74°25'52.6"W), finca San José (4°15'52.6"N 74°23'12.1"W), finca Santa Inés (4°16'20.5"N 74°23'21.9"W) y finca el Pedregal (4°18'42.6"N 74°19'59.4"W) (Fig. 5), la temperatura promedio es de 17° C con una precipitación media de 1046 mm al año (Clima data.org).



Figura 5. Fincas cafeteras Pasca Cundinamarca – Arbeláez

4.2 Evaluación de la predación

Se estableció un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con 4 tratamientos (A, B, C, D) replicados 3 veces donde los tratamientos fueron: **Tratamiento A:** Salicilato de metilo (MeSA), **Tratamiento B:** Benzaldehído (BEN), **Tratamiento C:** MeSA + BEN y **Tratamiento D:** control (-MeSA – BEN). Los bloques se encontraban separados a una distancia de 100 m y los tratamientos separados entre sí con una distancia de 10 m (Fig. 6).

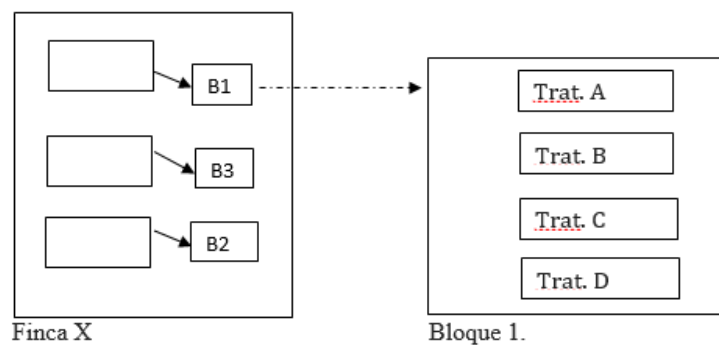


Figura 6. Diseño experimental dispuesto en cada finca del proyecto.

Posteriormente se realizó el conteo de las masas de huevos centinela de *G. mellonella* obtenidos de la cría de investigación ubicada en el laboratorio multipropósito de la UNAD, donde fueron adheridos a papel lija para facilitar la movilidad de los insectos que fueron atraídos (Figura 7). Se pegaron tres (3) masas de huevos por cada uno de los tratamientos (A, B, C, D), para un total de 36 masas por finca.



Figura 7. Conteo de masas de huevos centinela de *G. mellonella*.

Después del conteo de los huevos centinela, estos se llevaron a cada finca para su instalación en cada tratamiento (Fig. 8). Las masas fueron colectadas a las 48 horas y evaluadas en el laboratorio por medio del microscopio estereoscópico (Fig. 9) para conocer la predación en cada uno de los cuatro (4) tratamientos (Fig. 10 y 11).



Figura 8. Tratamientos y masas de huevos centinela instalados en cultivos de café.



Figura 9. Conteo de huevos centinela luego de la colecta en campo.



Figura 10. Huevos succionados posterior a la colecta.



Figura 11. Huevos predados luego de la colecta.

4.3 Análisis estadístico

Todos los datos serán analizados con R 3.3.1 (R Development Core Team 2016). Para conocer si los datos cumplieron con la normalidad y homocedasticidad fueron realizados los análisis de Shapiro–Wilk (Shapiro and Wilk, 1965) y Levene (“car” package in R) respectivamente. Para las medidas de predación fue realizado un análisis de varianza two-way ANOVA, para conocer el efecto de los tratamientos MeSA, Ben y su interacción sobre la predación de huevos centinela de *G. mellonella*.

5 Resultados

5.1 Predacion

Fueron recolectados 132 datos de las 4 fincas donde se pudo evidenciar un resultado marginal de 0.07 en la combinación de los compuestos BEN y MeSA en relación con los compuestos solos (Tabla 1).

Tabla 1. *Análisis de varianza two-way ANOVA sobre el efecto de la predación de huevos centinela por MeSA, Ben y su combinación.*

Resultados MANOVA			
Variable	<i>gl^a</i>	<i>F</i>	<i>P^b</i>
Bloque	2, 129	0.11	0.89
MeSA	1, 128	0.69	0.4
Ben	1, 127	0.43	0.5
MeSA × Ben	1, 126	3.16	0.07

Nota. ^aDenominador, error

^bNúmero en negrita indica diferencias significativas o resultado marginal.

Se encontró una tasa de predación significativa con el tratamiento MeSA y Ben solos que cuando combinados. Por otra parte, se encontró una mayor tasa de predacion con el tratamiento BEN aproximadamente 10 veces más respecto al control, sin embargo, este no presentó diferencias significativas (Figura 12 y 13).

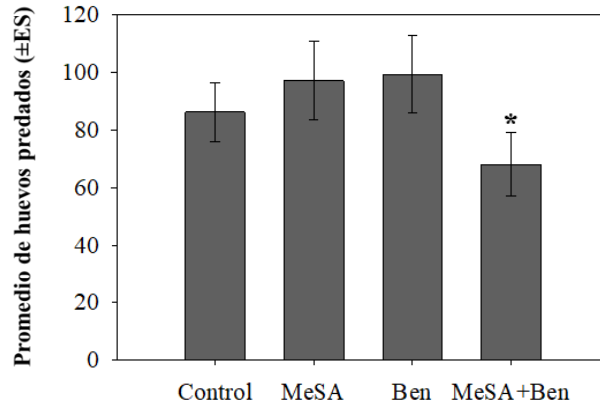


Figura 12. Promedio de predacion para cada uno de los tratamientos de prueba. *Indica una diferencia marginal entre los tratamientos.

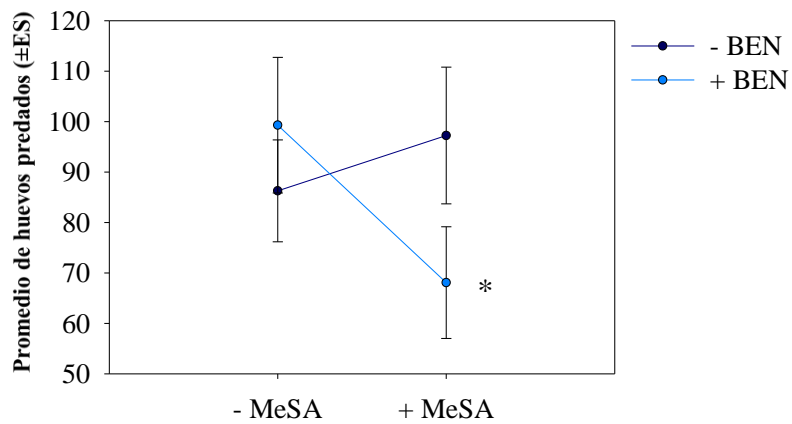


Figura 13. Resultados de la eficiencia de la predación para cada tratamiento. *Indica una diferencia marginal entre los tratamientos.

6 Discusión

Las evaluaciones realizadas en campo del nivel de predacion de huevos centinela de *G. mellonella*, permitieron observar que los compuestos volátiles BEN y el MeSA por sí solos hacen efectiva la predacion, mientras que en la combinación de los dos compuestos la enmascaran o neutralizan disminuyendo su acción.

De acuerdo a estudios anteriores se ha podido evidenciar que los volátiles de BEN y MeSA aumentan el nivel de atracción de predadores como *Chrysopa nigricornis* (James, 2003) estudios sobre el salicilato de metilo han evidenciado el incremento de predacion de ácaros, arañas y trips (Salamanca *et al.*, 2018) esto concuerda con los resultados obtenidos en campo sobre el nivel de atracción de los volátiles instalados en cada una de las fincas, donde se evidencio un nivel de predacion mayor para los tratamientos A y B frente al control, la atracción del BEN dió como resultado un nivel de predacion con similitudes al MeSA. como también fue relacionado por Khan *et al.* (2008) quien evidenció atracción de predadores como *Orius tristicolor*, *Anagrus daanei*.

Por su parte la mezcla de los volátiles no genero mayor atracción de predadores en campo abierto, a pesar de que estos dos compuestos son liberados por las plantas frente al daño por herbivoria como lo menciona Khan *et al.* (2008). Sin embargo, se pueden notar diferencias en el tipo de enemigos naturales que atraen cada uno de los volátiles estudiados (Khant *et al.*, 2008).

Otros estudios mostraron que el MeSA genero atracción de enemigos naturales de las familias Chysopidae, Ichneumonidae, Perilampidae, Chalcididae, Braconidae y Coccinellidae (Coral *et al.*, 2012) por otra parte el benzaldehído mostro atracción para *Anagrus daanei*, de la familia de himenópteros (Khant *et al.*, 2008) también se pudo demostrar la atracción distintiva y significativa a Crisopas de la especie *Chrysoperla plorabunda* en huertos de manzana estudiados

en Washington en relación a las especies atraídas por el salicilato de metilo *Chrysopa nigricornis* y *Chrysopa oculata*. (Vicent *et al.*, 2011), por lo tanto, esto podría demostrar la preferencia de algunos predadores por volátiles específicos y cuyo resultado afectaría la atracción para el tratamiento que estaba compuesto por MeSA + BEN. Siendo más intensa la liberación de los compuestos volátiles por los tratamientos aislados. De igual manera Biddinger *et al.* (2009) usando plantas de frijol en macetas infestadas con *T. urticae* para la atracción de *S. punctillum* indico que no todas las especies de Stethorini son igualmente atraídos por los mismos volátiles.

Se pueden encontrar varios trabajos con el volátil MeSA en donde se evidencia la eficacia en la atracción de enemigos naturales como *C. septempunctata* en soja infestada por áfidos. (Salamanca *et al.*, 2017), *Chrysopa nigricornis* (James, 2003), *Toxomerus marginatus* en arándanos usando emisiones de MeSA por medio de PredaLure (Rodriguez-Saona, *et al.*, 2011), por otra parte y a pesar de que algunos predadores específicos como *Harmonia axyridis* no tuvieron como resultado una atracción significativa (Hernandez-Fuentes *et al.*, 2012) los resultados obtenidos en campo demostraron que el MeSA pudo inducir a la predación de los huevos centinela en una mayor proporción en relación al control a pesar de que no son diferencias significativas, la misma relación se pudo observar frente al nivel de atracción con el BEN quien fue el más efectivo en las pruebas de campo a pesar de no tener diferencias significativas con MeSA y el control, la variación en los resultados presentados pueden estar influenciados por el tipo de enemigos naturales que se encuentran en las zonas estudiadas y presentaron mayor estímulo al tratamiento BEN.

No se presentan muchos estudios sobre el BEN que corroboren mayor atracción de enemigos naturales frente a otros compuestos volátiles, incluyendo el MeSA, no obstante, en los últimos años, la propiedad del benzaldehído se ha demostrado en algunos Coccinélidos (*C.*

septempunctata, *S. gilvifrons* y *S. punctum picipes*) con pruebas de olfatometro y en campo (Han y Chen, 2002; James, 2003b; Sachin *et al.*, 2008) de acuerdo a los resultados obtenidos donde se evidencio al BEN como el principal atrayente de predadores es necesario profundizar en la investigación de las especies más atraídas en campo por parte de este volátil, ya que puede resultar en mejores niveles de captación de enemigos naturales en determinados cultivos y por lo tanto un control mas efectivo de los fitófagos.

La diferencia marginal de 0.07 entre los tratamientos MeSA, BEN y control frente al tratamiento MeSA + BEN no pudo ser validada con otras fuentes ya que no se reconocieron trabajos anteriores donde se involucren estos dos volátiles de manera directa y requiere ser evaluado en diferentes condiciones tanto de laboratorio como en campo para medir su eficacia en la atracción de enemigos naturales.

7 Conclusiones

En conclusión, tanto MeSA como BEN mostraron ser atractivos para predadores evaluados en campo de cultivos de café en Pasca Cundinamarca y Arbeláez, la predación presentada para ambos tratamientos fue más efectiva que el tratamiento control sin embargo la diferencia no fue significativa, contrario a lo observado en el tratamiento de la mezcla de MeSA + BEN, con una diferencia marginal, lo que se pudo presentar a causa del estímulo de los volátiles en relación a la preferencia de cada uno de los predadores que se encuentran de manera natural en las fincas cafeteras evaluadas.

8 Recomendaciones

Se recomienda evaluar los tipos de predadores que se encuentran en estos ecosistemas para diferenciar la familia y en lo posible especie, de enemigos naturales y que tipo de volátil presenta mayor atracción para cada individuo, con el fin de evaluar el nivel de eficacia, la ausencia de pruebas con la mezcla de MeSA + BEN puede incentivar la atracción de diferentes familias de predadores y parasitoides en otros sistemas de cultivo.

9 Referencias Bibliográficas

- Aartsma Y, Bianchi F, Der W, Poelman E, Dicke M, 2017, Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales, 216: 1054-1063
- Arab A, Bento J, (2006), Plant volatiles: new perspectives for research in Brazil, ISSN 1678-8052
- Aslan, M. M.; Uygun N.; Stary, P. 2004. A survey of aphid parasitoids in Kahramanmaras, Turkey (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; and Hymenoptera: Aphelinidae). *Revista Phytoparasitica* 32 (3): 255-263.
- Baldwin, IT 2001. Un análisis motivado ecológicamente de las interacciones planta-herbívoro en el tabaco nativo. *Plant Physiol.* 127: 1449-1458.
- Biddinger D, Weber D, Hull L, (2009), Coccinellidae as predators of mites: Stethorini in biological control, pages 268 - 283
- Brandy, N., & Weil, R. (1996). *The nature and properties of soils*. New Jersey: Prentice- Hall inc.
- Bravo A, Cibrián J, (2018), comunicación volátil de las plantas, saber mas revista de divulgacion. ISSN 2007-7041
- Calyecac, C. H. G.; Cibrián, T. J.; Soto, H. M. y García, V. R. 2007. Aislamiento e identificación de volátiles de *Physalis philadelphica* Lam. *Agrociencia*. 41(3):337-346.
- Catalán J., On the fluorescence of methyl salicylate: the significance of its imhb, physical chemistry chemical physics, 2012 Jul 7;14(25):8903-9.
- Colazza, S.; Fucarino, A.; Peri, E.; Salerno, G.; Conti, E.; Bin, F. 2003. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. *Journal of Experimental Biology* 207: 47-53."
- Coral F, Bacca T, Dias L, (2012), Efecto atractivo de los volatiles de un terpenoide a insectos asociados a *Coffea arabica* L. (Rubiaceae), 16(2): 78 - 86

- Debach P. (1964). Biological control of insect pests and weeds. Chapman and hall, Londres, Reino Unido.
- Devine G, Eza D, Ogusuku E, Furlong M 2008, uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas, Peru med exp salud publica 25(1): 74-100
- Dicke, M.; Beek, T. A.; Posthumus, M. A. ; Ben Dom, N.; Bokhoven, V. H. ; Groot, A. E.. 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. Involvement of host plant in its production. Journal of Chemical Ecology 16: 381-396"
- Halitschke, R., U. Schittko, G. Pohnert, W. Boland y IT Baldwin. 2001. Interacciones moleculares entre el herbívoro especialista *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) y su huésped natural *Nicotiana attenuata* . III. Los conjugados de ácidos grasos y aminoácidos en las secreciones orales de herbívoros son necesarios y suficientes para las respuestas de plantas específicas de herbívoros. Plant Physiol. 125: 711-717.
- Han, B. & Z. Chen, 2002. Behavioral and electrophysiological responses of natural enemies to synomones from tea shoots and kairomones from tea aphids, *Toxoptera aurantii*. Journal of Chemical Ecology, 28: 2203-2219.
- Hernandez-Fuentes L, Urias-Lopez M, Lopez Arroyo J, Lopez Arriaga J, (2012), Uso de atrayentes y suplementos alimenticios para el incremento de depredadores de escama blanca del mango, *Aulacaspis tubercularis* Newstead (Hemiptera: Diaspididae), ISSN 0065-1737
- James DG. 2005 Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. J. Chem. Ecol. 31:481-495.
- James, D. & Price, T. 2004.- Field-testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. J. Chem. Ecol. 30: 1613–1628."
- James, D. G. 2006. Methyl salicylate is a field attractant for the goldeneyed lacewing, *Chrysopa oculata*. Biocontrol Science and Technology 16: 107-110.

- James, D. G., 2003a. Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: Methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 1601-1609.
- James, D. G., 2003b. Synthetic herbivore-induced plant volatiles as field attractants for beneficial insects. *Environmental Entomology*, 32: 977-982
- Jimenez R, (2013), *Biología, interacciones y uso del depredador Sphaerophotia rueppellii* (Diptera: Syrphidae) en el control integrado de plagas de áfidos en cultivos de invernadero. Universidad de Alicante.
- Kessler, A. y IT Baldwin. 2002b. Respuestas de las plantas a la herbivoría de insectos: el análisis molecular emergente. *Annu Rev. Plant Biol.* 53: 299-328.
- Khan, Z.R., James, D.G., Midega, C.A.O., Pickett, J. A. 2008. Chemical ecology and conservation biological control. *Biological Control* 45:210-224.
- Kondo, Takumasa; Rincón, Diego F.; Pérez Álvarez, Ricardo; Vásquez Ordóñez, Aymer Andrés; González F., Guillermo (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, 2018-10)
- Magaña M, Castillo A, Rojas J, (2009), Estímulos usados en el reconocimiento del hospedero por *Phymastichus coffea*, un parasitoide de la broca del café, ISSN 2521-9766
- Marco Brown, Olymar, L & Reyes Gil, Rosa E. (2003). Tecnologías limpias aplicadas a la agricultura. INCI [online].vol.28, n.5, pp. 252-259. ISSN 0378-1844.
- Martinez M, Ceballos M, Suris M, Duarte L, Baños H, (2013), Áfidos y sus parasitoides en sistemas urbanos de producción de hortalizas en Cuba
- Michereff, M. F. F.; Laumann, R. A.; Borges, M.; Michereff, F. M.; Diniz, I. R.; Neto, A. L. F. and Moraes, M. C. B. 2011. Volatiles mediating a plant-herbivore-natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. *J. Chem. Ecol.* 37(3):273-285.
- Morales L, Cocolletzi E, Ramos M (2013), Las interacciones ecologicas y su importancia para el hombre, Inecol el instituto de ecologia, recuperado de:

<https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2013-06-05-10-34-10/17-ciencia-hoy/689-las-interacciones-ecologicas-y-su-importancia-para-el-hombre>

- Morse JG, Bellows TS, Gaston LK. 1987. Residual toxicity of acaricides to three beneficial species on California citrus. *Journal of Experimental Entomology* 80: 953-960.
- Paredes N, Campos M, Cayuela L. (2013). El control biológico de plagas de artrópodos por conservación: técnicas y estado del arte. *Ecosistemas revista científica de ecología y medio ambiente (España)*, ISSN 1697-2473
- Peñaranda M, (2016), Resistencia de insectos a insecticidas, Metroflor, recuperado de: <http://www.metroflorcolombia.com/resistencia-de-insectos-a-insecticidas/>
- Peraba A, (2007), Semioquímicos del gusano cabezudo, *Capnodis tenebionis* L. (Coleoptera Buprestidae) (España)
- Polack L, (2008). Interacciones tritróficas involucradas en el control de plagas de cultivos hortícolas. Repositorio institucional de la UNLP.
- Ponzio, C.; Gols, R.; Pieterse, C. M. J. and Dicke, M. 2013. Ecological and phytohormonal aspects of plant volatile emission in response to single and dual infestations with herbivores and phytopathogens. *Functional Ecol.* 27(3):587-598
- Potting, R. P. J., L. E. M. Vet, and M. Dicke. 1995. Host microhabitat location by stem-borer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 21: 525-539.
- Rodríguez-Saona, (2012), La ecología química de interacciones tri-tróficas, 315 -342
- Rodríguez-Saona, C., Kaplan, I., Braasch, J., Chinnasamy, D., & Williams, L. (2011). Field responses of predaceous arthropods to methyl salicylate: A meta-analysis and case study in cranberries. *Biological Control.* 59(2), 294-303.
- Sachin, J. P., A. Babu, K. Perumalsamy, N. Muraleedharan & R. Selvasundaram, 2008. Red spider mite, *Oligonychus coffeae* (Nietner) induced plant volatiles from tea leaves, an invitation to its predators. *Journal of Plantation Crops*, 36 (3): 425-429.

- Salamanca J, Souza B and Rodriguez-Saona. (2018) Cascading effects of combining synthetic herbivore-induced plant volatiles with companion plants to manipulate natural enemies in an agro-ecosystem
- Salamanca, J., Souza, B., Lundgren, J.G. & Rodríguez-Saona, C. (2017) From laboratory to field: electro-antennographic and behavioral responsiveness of two insect predators to methyl salicylate. *Chemoecology*. 27, 51–63.
- Scala, A.; Allmann, S.; Mirabella, R.; Haring, M. A. and Schuurink, R. C. 2013. Green Leaf Volatiles: A Plant's Multifunctional Weapon against Herbivores and Pathogens. *Inter. J. Mol. Sci.* 14(9):17781-17811.
- Schettino, M.; Grasso, D. A.; Weldegergis, B. T.; Castracani, C.; Mori, A.; Dicke, M.; Van Lenteren, J. C. and Van Loon, J. J. A. 2017. Response of a predatory ant to volatiles emitted by aphid and caterpillar-infested cucumber and potato plants. *J. Chem. Ecol.* 43(10):1007-1022.
- Tomanovic, Z.; Kavallieratos, N. G.; Stary, P.; Athanassiou, C. G.; Zikic, V.; Petrovic-Obradovic, O.; Sarlis, G. P. 2003. *Aphidius* Nees aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) in Serbia and Montenegro: tritrophic associations and key. *Acta Entomológica Serbica* 8 (1/2): 15-39"
- Trujillo, J. (1992). Control biológico por conservación: enfoque relegado. Perspectivas de su desarrollo en Latinoamérica. *Memorias del IV Congreso Internacional de Manejo de Plagas Ceiba (Honduras)*, 33(1A), 17-26.475"
- Van Poecke, R., Posthumus, M. & Dicke, M. 2001. Herbivore-induced volatile production by *Arabidopsis thaliana* leads to attraction of the parasitoid *Cotesia rubecula*: chemical, behavioral, and gene-expression análisis. *Journal of chemical ecology*, 27(10):1911-1928.
- Vincent P. Jones a, Shawn A. Steffan a, Nik G. Wiman a, David R. Horton b, Eugene Miliczky b, Qing-He Zhang c, Callie C. Baker, (2011), Evaluation of herbivore-induced plant volatiles for monitoring green lacewings in Washington apple orchards, page 98 - 105