



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN
RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE

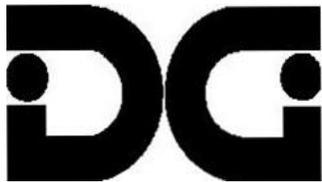
**IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR
DE ESPECIES NATIVAS DE *Trichogramma*
ASOCIADAS A PLAGAS DE LEPIDOPTERA EN
CHIMALTENANGO.**

Nombre del Coordinador del Proyecto:

Msc. Heisler Alexander Gómez Méndez

Auxiliar de Investigación I:

P. Agro. Marvin Pec Hernández



JULIO DE 2013

Instituciones participantes y co-financiantes:

Dirección General de Investigación. USAC

Facultad de Agronomía. USAC

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	3
3	JUSTIFICACIÓN	4
4	OBJETIVOS	6
4.1	General	6
4.2	Específicos.....	6
5	METODOLOGÍA	7
5.1	Identificar las especies de <i>Trichogramma</i> nativas asociadas a las plagas de Lepidóptera a través de morfología de genitalia	7
5.1.1	Colecta de Hospedero Alternativo para Colecta Pasiva	7
5.1.2	Cría de la palomilla de los cereales <i>S. cerealella</i> para obtención de huevos centinella.....	8
5.2	Colecta de adultos para obtener huevos centinella.....	9
5.2.1	Colecta activa de Huevos de <i>S. cerealella</i>	10
5.2.2	Elaboración de trampas con huevos centinelas.....	11
5.2.3	Colecta de <i>Trichogramma</i> utilizando <i>S. cerealella</i>	12
5.2.4	Acomodo, Deshidratación y Montaje de las Avispas.	15
5.2.5	Identificación y diagnóstico de especies.....	15
5.3	Identificar las especies de <i>Trichogramma</i> nativas asociadas a las plagas de Lepidóptera a través de técnicas moleculares.	15
5.4	Identificación de principales hospederos plaga de especies de <i>Trichogramma</i> . 16	
5.5	Establecimiento de un Protocolo de cría de especies de <i>Trichogramma</i>	16
6	RESULTADOS y DISCUSIÓN	16
6.1	Identificar las especies de <i>Trichogramma</i> nativas asociadas a las plagas de Lepidóptera a través de morfología de genitalia	16
6.2	Identificación de los principales hospederos de especies plaga de asociados <i>Trichogramma</i>	18
6.3	Establecimiento del Protocolo de cría de <i>Trichogramma</i>	19
7	CONCLUSIONES	21

8	RECOMENDACIONES.....	22
9	BIBLIOGRAFÍA.....	23
10	Lista de todos los integrantes del equipo de investigación	25
10.1	Contratados por la Contraparte.....	25
10.2	Contratados por la DIGI	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Recipiente con palomilla de los cereales	7
Figura 2	Aislamiento de <i>Sitotroga cerealella</i>	7
Figura 3	Cajas plásticas utilizadas para la producción de <i>S. cerealella</i>	8
Figura 4	Dieta preparada para <i>S. cerealella</i>	8
Figura 5	Cajas con adultos de <i>S. cerealella</i>	9
Figura 6	Adultos a los 45 días después de su siembra.....	9
Figura 7	Aspiradora utilizada para la captura ce <i>S. cerealella</i>	9
Figura 8	Colector de Adultos de <i>S. cerealella</i>	9
Figura 9	Cajas con palomillas de <i>S. cerealella</i>	10
Figura 10	Recipiente Utilizado para la recolección de huevos.	10
Figura 11	Colectas de <i>S. cerealella</i>	10
Figura 12	Varias cámaras de ovoposición de adultos de <i>S. cerealella</i>	10
Figura 13	Colecta de huevos de <i>S. cerealella</i>	11
Figura 14	Preparación de trampas con huevos de <i>Sitotroga cerealella</i>	11
Figura 15	Trampas con huevos de <i>Sitotroga cerealella</i>	11
Figura 16	Trampas con huevo de <i>Sitotroga cerealella</i> en plantación de tomate.	12
Figura 17	Colocación de trampas con huevos de <i>S. cerealella</i>	12
Figura 18	Equipo protector de trampas con huevo centinela.	13
Figura 19	Preparación de trampas con huevos de <i>Sitotroga cerealella</i> en malezas.	13
Figura 20	Muestro de Brocoli en Busca de Larvas de Palomilla Dorso de Diamante.	13
Figura 21	Muestro de Larvas de lepidóptera en Crucíferas	13
Figura 22	Muestreo de Maíz en Búsqueda del gusano Cogollero (<i>Spodoptera</i> . Sp)	13
Figura 23	Posibles daños de <i>Spodoptera</i> en los cultivos de maíz.	13
Figura 24	Trampas con huevo de <i>Sitotroga cerealella</i> en maíz.	14

Figura 25 Huevos de <i>S. cerealella</i> parasitados con <i>Trichogramma</i> colocados a 26 ± 2 oC ---	14
Figura 26 Trampas con huevos de <i>S. cerealella</i> parasitados colocados a 26 ± 2 oC -----	14
Figura 27 <i>T. atopovirila</i> -----	17
Figura 28 <i>T. pretiosum</i> -----	17

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1 Porcentajes de masas de huevos de Lepidóptera parasitadas, Acatenango, Chimaltenango, Agosto a Octubre de 2012"	17
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Parámetros Biológicos de <i>Trichogramma atopovirila</i> , criada en huevos de <i>S. cerealella</i> a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$	19
--	----

ÍNDICE DE MAPAS

Mapa 1 Departamento de Chimaltenango indicando los municipios donde se hizo colecta .	12
---	----

RESUMEN

Las plagas de lepidópteros son de gran importancia en varios cultivos como por ejemplo maíz, tomate, brócoli y repollo. Para su control se utilizan muchos insecticidas químicos. Han sido reportados varios enemigos naturales con potencial de control, dentro de ellos los parasitoides de huevos de la familia Trichogrammatidae, los cuales se constituyen en controladores biológicos eficientes de plagas Lepidoptera.

Se realizaron colectas activas y pasivas de agosto a octubre de 2012, para identificar avispa *Trichogrammas* asociados a plagas de Lepidoptera, en los municipios de Comalapa, Itzapa, Patzicía y Acatenango todos pertenecientes al departamento de Chimaltenango. Las avispa fueron identificadas a través de morfología en montajes microscópicos. Se identificaron dos especies de parasitoides de huevos de Lepidopteros, *Trichogramma atopovirila* Oatman & Platner, 1983, y *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, parasitando al hospedero *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz *Zea mays* en la localidad de Comalapa, Chimaltenango, Guatemala, con un porcentaje de parasitismo de 30 y 10% respectivamente. Se estableció una cría del hospedero alterno *Sitotroga cerealella* para evaluar parámetros biológicos a nivel de laboratorio de las especies identificadas. *T. atopovirila* tuvo un ciclo de desarrollo de 9.8 ± 0.5 días desde huevecillo a adulto sobre el hospedero mencionado y para *T. pretiosum* no fue posible establecer la cría.

1 INTRODUCCIÓN

Las plagas constituyen una limitante severa en la producción de cultivos anuales alimenticios en la América Tropical y en el resto del mundo (Saunders *et al.* 1998).

Según Peterson (1970), las larvas de Lepidóptera representan un porcentaje alto de plagas a nivel mundial en la producción de hortalizas. En Guatemala para su manejo se ha estado utilizando alternativas químicas con insecticidas de amplio espectro. Smith (2008), señala que la aplicación indiscriminada de plaguicidas está provocando contaminación de alimentos, intoxicaciones de campesinos y daños al ambiente principalmente en lugares de producción intensiva como es el caso de algunos municipios del departamento de Chimaltenango. El mismo autor indica que los costos asociados al uso de plaguicidas se suman en enfermos crónicos, muertos, altos costos de operación agrícola, contaminación de recursos naturales y alimentos. Guatemala es considerado como uno de los países con mayor diversidad (CONAP 2011). La diversidad incluye especies que juegan un papel importante en la biorregulación natural de plagas, como lo constituyen los parasitoides de muchos insectos dañinos. A pesar de estos grandes recursos biológicos con los que contamos se desconocen las especies de parasitoides en los ecosistemas agrícolas, su correcta identificación y los insectos plagas a los cuales están asociados. Uno de estos casos sería representado por el género *Trichogramma*, el cual puede ser un potencial para programas de control biológico de plagas. Se realizaron colectas activas y pasivas de agosto a octubre de 2012, para identificar avispas *Trichogrammas* asociados a plagas de Lepidoptera, en los municipios de Comalapa, Itzapa, Patzicía y Acatenango todos pertenecientes al departamento de Chimaltenango. Las avispas fueron identificadas a través de morfología en montajes microscópicos.

Se indentificaron dos especies de parasitoides de huevos de Lepidopteros, *Trichogramma atopovirila* Oatman & Platner, 1983, y *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 parasitando al hospedero *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz en la localidad de Comalapa, Chimaltenango, Guatemala, con un porcentaje de parasitismo de 30 y 10% respectivamente. Se estableció una cría del hospedero alterno *Sitotroga cerealella* para evaluar parámetros biológicos a nivel de laboratorio de las especies identificadas. *T. atopovirila* tuvo un ciclo de desarrollo de 9.8 ± 0.5 días desde huevecillo a adulto sobre el hospedero mencionado y para *T. pretiosum* no fue posible establecer la cría.

2 ANTECEDENTES

El manejo de Plagas se basa en estrategias y tácticas con el fin de que sean amigable con el ambiente y económicamente viable para el productor. Sin embargo se ha dado mucho uso a las alternativas químicas con insecticidas de amplio espectro. Smith (2008), señala que en zonas de producción intensiva de hortalizas en Guatemala, la aplicación indiscriminada de plaguicidas está provocando contaminación de alimentos, intoxicaciones de campesinos y daños al ambiente principalmente en áreas que producen tomate, repollo, brócoli y maíz, como es el caso de algunos municipios del departamento de Chimaltenango.

Guatemala es considerado como uno de los países con mayor diversidad (CONAP 2011). La diversidad incluye especies que juegan un papel importante en la biorregulación natural de plaga, como lo constituyen los parasitoides de muchos insectos plagas, sin embargo se desconoce la correcta identificación y los insectos plagas a los cuales están asociados, uno de estos casos está representado por la microavispa del género *Trichogramma* la cual según Parra *et al.* (2004), es un controlador biológico eficaz de Plagas.

3 JUSTIFICACIÓN

En Guatemala al identificar las especies y las plagas a las que está asociada puede constituirse en el primer paso de un programa de control biológico nacional, al tener un inventario de especies se pueden plantear futuras investigaciones con la finalidad de crear centros de reproducción de entomófagos, los cuales funcionan en países como Cuba, Brasil, etc. Estos centros se vuelven incluyentes debido a que involucran a los productores rurales, haciéndolos participativos en todo el proceso de reproducción y liberación en campo. Aunado a esto vamos reduciendo la dependencia del control químico, ya que según Smith (2008), la aplicación indiscriminadas de plaguicidas está provocando contaminación de alimentos, intoxicaciones de campesinos y daños al ambiente en Guatemala, siendo Chimaltenango unos de los departamentos que mayor aplicación de insecticidas presenta principalmente en la producción de Maíz, Tomate, Brócoli y Repollo, también señala que los costos asociados al uso de plaguicidas se suman en enfermos crónicos, muertos, altos costos de operación agrícola, contaminación de recursos naturales y alimentos. Así mismo Garzona (2003), señala que diversas organizaciones ambientalistas promueven la prohibición de doce plaguicidas, los cuales serían responsables de la mayoría de intoxicaciones de campesinos en Guatemala y el resto de Centroamérica, y de daños al ambiente

El género *Trichogramma* constituye un grupo de himenópteros parasitoides de huevos de insectos muy utilizado en programas de control biológico de plagas, mostrando una preferencia hacia huevos de Lepidópteros. El gran potencial de esta avispa parasítica es que ha desarrollado en el mundo controles en más de 32 millones de ha., siendo ya comprobada su efectividad frente a plagas de Lepidóptera, con lo que se pretende que posteriormente se realice un manejo de una de las principales plagas del principal cultivo del país utilizando los enemigos naturales de dicha plaga, a con lo que ecológicamente reducir la incidencia del daño en la producción que pueden provocar las larvas de lepidópteros, así causar un efecto positivo en la economía de los productores de maíz (Li 1994).

Con esta investigación se pretendió establecer el primer paso para un control biológico el cual se constituyó en la exploración de especies promisorias, su correcta identificación morfológica y confirmación molecular, ya que el mapeo genético juega también un importante papel en el control biológico, mejorando los programas de cría de las especies parasitoides, puesto que permite identificar genes que controlan rasgos implicados en la eficiencia del control (Stouthamer *et al.* 1999).

4 OBJETIVOS

4.1 General

Identificar morfológica y molecular de especies nativas de *Trichogramma* asociadas a plagas de Lepidoptera en el departamento de Chimaltenango.

4.2 Específicos

- △ Identificar las especies de *Trichogramma* nativas asociadas a las plagas de Lepidoptera a través de morfología de genitalia.
- △ Identificar las especies de *Trichogramma* nativas asociadas a las plagas de Lepidoptera a través de técnicas moleculares.
- △ Identificación de principales hospederos plaga de especies de *Trichogramma*.
- △ Establecimiento de un Protocolo de cría de especies de *Trichogramma*.

5 METODOLOGÍA

5.1 Identificar las especies de *Trichogramma* nativas asociadas a las plagas de Lepidóptera a través de morfología de genitalia

Las especies del genero *Trichogramma* fueron colectadas a través de colectas activas y pasivas en los municipios de Chimaltenango, colecta pasiva a través de trampas con huevos centinella de la palomilla de los cereales *S. cerealella* y colecta activa buscando huevos del orden Lepidóptera. Para el primer caso fue establecida una cría de palomilla de los cereales y para el segundo caso fueron visitas realizadas a los cultivos en estudio como se describe a continuación.

5.1.1 Colecta de Hospedero Alternativo para Colecta Pasiva

Fueron colocadas trampas para captura de palomillas, utilizándose recipientes plásticos y cajas petri, donde se colocaron granos de maíz, trigo, avena durante 45 días cerca de silos y algunas bodegas de almacenamiento de maíz y harinas. Cuando se observó presencia de larvas y adultos se procedió a identificar y aislar la especie *S. cerealella*.



Figura 1 Recipiente con palomilla de los cereales



Figura 2 Aislamiento de *Sitotroga cerealella*

5.1.2 Cría de la palomilla de los cereales *S. cerealella* para obtención de huevos centinella.

- a) Machos y hembras recién emergidas fueron colocados en cajas plásticas.
- b) Al siguiente día se procedió a coleccionar los huevecillos y se inició el proceso de cría.
- c) Fueron colocados en la siguiente dieta 1 Kg de harina integral, 3% de levadura de cerveza y 0.33 huevos de *S. cerealella*. dentro de un recipiente plástico de 25 cm de largo x 20 cm de ancho x 10 cm de altura, conteniendo el mismo en la parte superior una ventilación para intercambio de oxígeno con una abertura de 17cm x 15, cubierto con tela tipo marquiset (Ver figura 3).



Figura 3 Cajas plásticas utilizadas para la producción de *S. cerealella*



Figura 4 Dieta preparada para *S. cerealella*

- d) Se mezcló la harina integral juntamente con la levadura de cerveza y se procedió a homogenizarlo a través de movimientos continuos, luego la cámara de cría con la dieta se colocó dentro del microondas durante 2 minutos para que con el aumento de la temperatura se eliminara cualquier patógeno contaminante de la dieta; Cuando la temperatura disminuyó se colocó los huevos de *S. cerealella* sobre la dieta tratando de uniformizar la dispersión, fue sellada con cinta adhesiva para evitar la entrada de organismos parásitos (Figura 5).

- e) Después de 45 días se procedió a la revisión de las cajas para colectar adultos durante 10 días. Desde que aparecen los primeros adultos se deja pasar 2-3 días y se debe de iniciar la colecta de los mismos (Figura 6).



Figura 5 Cajas con adultos de *S. cerealella*



Figura 6 Adultos a los 45 días después de su siembra.

5.2 Colecta de adultos para obtener huevos centinella.

Para la obtención de los huevos de *S. cerealella* se colectó adultos por medio de una aspiradora de 2.5HP (Figura 7), adaptándole la parte estrecha de dos envases tipo pet, con una malla para impedir el paso de los insectos a la aspiradora (Figuras 7 y 8), y se procedió a colocarlos en recipientes hechos de PVC de 30cm de diámetro y 30cm de largo para la ovipostura, estos recipientes cilíndricos tenían en los extremos malla tipo organza para evitar el escape de los insectos y para el intercambio gaseoso (Figura 9 y 10).



Figura 7 Aspiradora utilizada para la captura de *S. cerealella*.



Figura 8 Colector de Adultos de *S. cerealella*



Figura 9 Cajas con palomillas de *S. cerealella*



Figura 10 Recipiente Utilizado para la recolección de huevos.



Figura 11 Colectas de *S. cerealella*.



Figura 12 Varias cámaras de ovoposición de adultos de *S. cerealella*.

Los tubos PVC tienen en sus extremos una malla o tul que no permite que los adultos escapen, además por los orificios que tiene permite que los huevos salgan y se acumulen en los platos recolectores que se colocan debajo.

5.2.1 Colecta activa de Huevos de *S. cerealella*.

Al segundo día de haber sido colocados los adultos de *S. cerealella* en los tubos PVC se colectaron los huevos de la siguiente manera.

- En los recipientes cilíndricos de PVC se pasa una brocha realizando movimientos lentos y continuos sobre la malla para que los huevos se deslicen al fondo donde hay un recipiente plástico con polietileno negro que sirve como unidad colectora (Figura 13).

- Posteriormente los huevos son separados de las escamas de la palomilla, tamizándolos a 50mesh.
- Luego se pesan la cantidad de huevos colectados en el día y anota en el registro correspondiente.



Figura 13 Colecta de huevos de *S. cerealella*

5.2.2 Elaboración de trampas con huevos centinelas.

En una cartulina con dimensiones de 15 cm X 10 cm se aplicó goma arábica mezclado con agua en una proporción de 20 a 80 respectivamente, por medio de un pincel teniendo cuidado de que no humedezca demasiado la cartulina, luego se esperó de 2 a 3 minutos para que la goma secase y se procedió a dispersarlos los huevecillos uniformemente tratando de que no quedaran uno sobre otro y dejando un margen de 3cm a los lados (Figura 14 y 15).



Figura 14 Preparación de trampas con huevos de *Sitotroga cerealella*

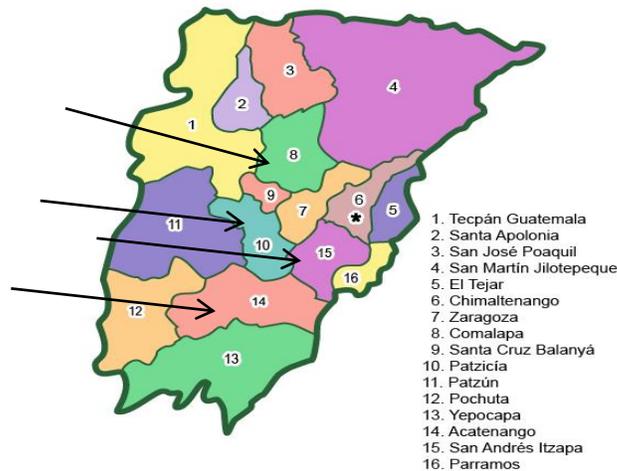


Figura 15 Trampas con huevos de *Sitotroga cerealella*

5.2.3 Colecta de *Trichogramma* utilizando *S. cerealella*

En cada uno de los municipios se determinó un número de colecta quedando de la siguiente manera Patzicía 3, Acatenango 3, San Andrés Itzapa, 2 Comalapa 2.

Por ejemplo en el municipio de Patzicía se realizaron 3 colectas en cada punto de muestreo se colocaron 12 trampas colocados al azar, dando un total de 36 trampas.



Mapa 1 Departamento de Chimaltenango indicando los municipios donde se hizo colecta

En cada colecta se colocaron trampas con huevos centinelas de *Sitotroga cerealella*. Con el objetivo de atraer especies de *Trichogramma* para que parasitaran durante 24 horas en maíz, brócoli, repollo y tomate, se colocaron dos en las periferias y dos en el centro (figuras 16, 17 y 18). Se colocó también un recipiente plástico para proteger las trampas de las lluvias (figura 18).



Figura 16 Trampas con huevo de *Sitotroga cerealella* en plantación de tomate.



Figura 17 Colocación de trampas con huevos de *S. cerealella*.



Figura 18 Equipo protector de trampas con huevo centinela.



Figura 19 Preparación de trampas con huevos de *Sitotroga cerealella* en malezas.

También se realizó colecta activa sobre el terreno de los agricultores visitados del municipio de Patzicia, buscando huevos del orden Lepidóptera en el envés de las hojas (figuras 20, 21, 22 y 23).



Figura 20 Muestro de Brocoli en Busca de Larvas de Palomilla Dorso de Diamante.



Figura 21 Muestro de Larvas de lepidóptera en Crucíferas



Figura 22 Muestreo de Maíz en Búsqueda del gusano Coqollero (*Spodoptera*. Sp)



Figura 23 Posibles daños de *Spodoptera* en los cultivos de maíz.



Figura 24 Trampas con huevo de *Sitotroga cerealella* en maíz.

Todo el material colectado fue llevado al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, fue colocado en recipientes plásticos para el caso de las cartulinas y en cajas Petri para el material vegetal con huevos de Lepidóptera (figura 25 y 26).



Figura 25 Huevos de *S. cerealella* parasitados con *Trichogramma* colocados a 26 ± 2 oC



Figura 26 Trampas con huevos de *S. cerealella* parasitados colocados a 26 ± 2 oC

Se estuvo observando y anotando los cambios de coloración en los huevecillos, así como la emergencia de parasitoides asociados.

5.2.4 Acomodo, Deshidratación y Montaje de las Avispas.

Las avispidas emergidas de la familia Trichogrammatidae fueron colocadas en alcohol y luego clarificadas en KOH al 10% durante tres horas, se enjuagaron en agua destilada y se acomodaron en portaobjetos, y deshidrataron, según la técnica de Ramirez (2000), la cual consiste en colocar cuatro avispidas en forma ventral sobre la mitad de un portaobjetos con un trocito de papel Kleenex saturado con alcohol al 10% con Tritón x-100® colocándose un cubreobjetos de 11.0 x 11.0 mm, posteriormente se deshidrataron con soluciones de alcohol al 20, 40, 60,80, 95 y 100%. Del alcohol al 100% los especímenes se pasaron a una pequeña Siracusa con esencia de aceite de clavo, dejándolos toda una noche, al día siguiente se realizó un pre-montaje de los especímenes, colocándolos adecuadamente en un portaobjetos sobre una pequeña gota de bálsamo de Canadá diluido (seis partes de bálsamo de Canadá más cuatro partes de esencia de aceite de clavo). Las preparaciones se transfirieron a un horno a 40 °C para secarlas durante la noche. Al día siguiente, a cada preparación se le colocó un cubreobjetos de 5.5 x 5.5 mm con otra pequeña gota de bálsamo de Canadá y se transfirieron en un horno 40 °C para secarlas durante cinco días y posteriormente realizar la identificación de especies.

5.2.5 Identificación y diagnóstico de especies

La identificación se realizó según las claves de Pinto (1998), Pinto *et al.* (1983 y 1986) en que se consideran las características del macho, principalmente de la cápsula genital, antenas y alas posteriores.

5.3 Identificar las especies de *Trichogramma* nativas asociadas a las plagas de Lepidóptera a través de técnicas moleculares.

Este objetivo no se pudo realizar porque el viaje que ya había sido aprobado a Estados Unidos al laboratorio de California, Riverside, con el profesor Richard Stouthamer, no se llevó a cabo por razones internas en la DIGI.

5.4 Identificación de principales hospederos plaga de especies de *Trichogramma*.

Se colectaron los huevos, se llevaron al laboratorio, se observó el formato bajo el estereoscopio y con la ayuda de las descripciones de Peterson (1964), se identificó la especie.

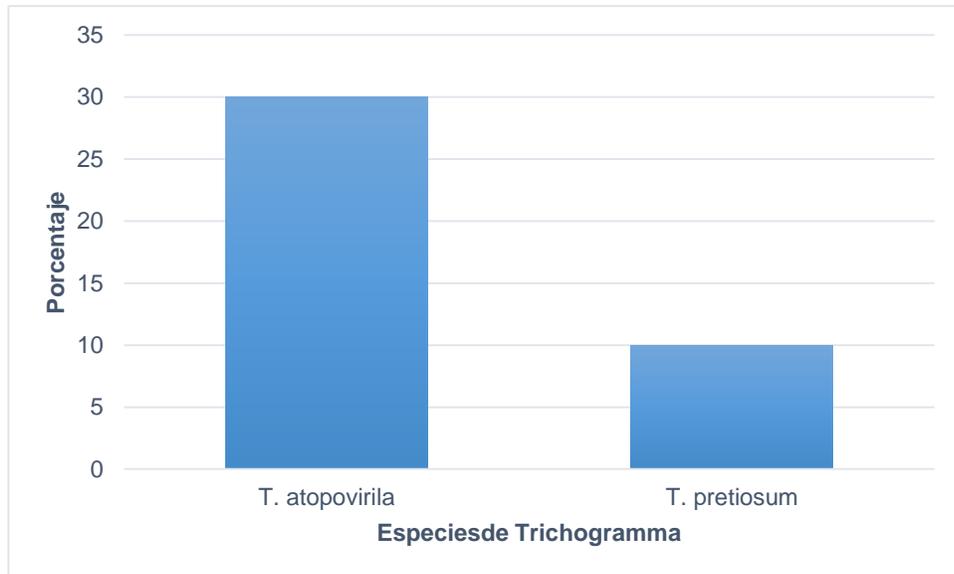
5.5 Establecimiento de un Protocolo de cría de especies de *Trichogramma*.

Las cartulinas obtenidas con huevos pegados de *S. cerealella* fueron colocados dentro de recipientes plásticos, y parasitoides adultos fueron liberados para parasitar sobre este hospedero alterno, expuesto durante un día. Al siguiente día eran retiradas las cartulinas y colocados nuevas para continuar con el parasitismo. Miel fue colocada en el interior del recipiente en forma de líneas finas para proveer de alimento al parasitoide. Una vez obtenida la nueva generación se identificaban o se usaban para iniciar de nuevo el protocolo mencionado anteriormente.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Identificar las especies de *Trichogramma* nativas asociadas a las plagas de Lepidóptera a través de morfología de genitalia

Fueron identificadas las especies de *Trichogramma atopovirila* Oatman y Platner, 1983, *T. pretiosum* Riley, 1879, registradas como parasitoides de huevos de Lepidópteros en la localidad de Acatenanago, en cultivo de maíz *Zea mays*. Se colectaron un total de 30 masas 12 presentaron un parasitismo del 100%, haciendo un total de parasitismo de las masas colectadas de 40% (Grafica 1).



Grafica 1 Porcentajes de masas de huevos de Lepidóptera parasitadas, Acatenango, Chimaltenango, Agosto a Octubre de 2012"

Ambas especies colectadas presentaron coloración amarilla de tórax y cabeza, ojos rojos con abdomen de color negro, y solo a través de montajes y claves se consiguió identificar la especie.



Figura 27 *T. atopovirila*



Figura 28 *T. pretiosum*

Morales *et al.* (2010), también registró las mismas especies de *Trichogramma* asociadas a *Sopodoptera frugiperda* en Venezuela, lo que nos indica que estas especies colectadas en Chimaltenango, en regiones productoras de maíz *Z. mays*, son propias de la región Neotropical, haciendo parte de la diversidad de enemigos naturales en Guatemala, la cual está empezando a ser explorada como parte de un

primer paso de programas de Control Biológico. Solo fueron colectadas dos especies probablemente debido a los factores climáticos, dentro de ellas lluvias y humedad, los cuales reducen el potencial biótico de los hospederos y por consiguiente también el de parasitoides. Morales *et al.* (2007), colectaron un mayor número de especies cuando realizaron muestreos en épocas de verano sin lluvia y en áreas donde no existe presión por aplicación de plaguicidas. En las áreas donde se muestreó existen aplicación de plaguicidas de amplio espectro, lo que pudo haber tenido un fuerte impacto en la baja biodiversidad colectada. Otro factor influyente pudo haber sido el manejo del sistema agrícola, ya que no existen franjas de vegetación con plantas atractivas (malezas), las cuales algunas veces funcionan como biodiversidad funcional al ofrecer hospederos alternativos, fuentes de polen y néctar para parasitoides, aumentando la diversidad y abundancia. (Ellis *et al.* 2005).

6.2 Identificación de los principales hospederos de especies plaga de asociados *Trichogramma*.

Fueron identificados un total de cuatro especies a través de la forma del huevecillo, palomilla dorso de diamante *Plutella xylostela* (Lepidoptera:Plutellidae), Gusano de las coles, *Pieris* sp (Lepidoptera:Pieridae), Gusano del fruto de tomate *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:Noctuidae) y gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera:Noctuidae).

De los cuatro hospederos potenciales, el único de donde emergieron las especies de *Trichogramma* fue de las masas de gusano cogollero *S. frugiperda* colectadas en el cultivo de maíz, *Z. mays*. Estos resultados demuestran el asocio que existe entre estas especie y la forma como han coevolucionado, a pesar de no haber colectado en las épocas idóneas sin lluvia, tuvimos presencia de estas dos especie de parasitoides. Este es un resultado promisor, primero porque estamos registrando la presencia de especies nativas, segundo, fueron encontradas asociadas en una de la principales plagas de maíz para la región de Chimaltenango y Guatemala entera, sabiendo que este cultivo se constituyen en el producto de consumo diaria y para su producción se

utilizan productos fitosanitarios de amplio espectro para combatir esta plaga (Smith, 2008). En el Brasil *Trichogramma atopovirila* has sido utilizada para controlar *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa Zea* en maíz (Parra & Zucchi, 2004), esto nos demuestra el gran potencial que tenemos de diversidad, el cual podemos aprovechar a través de crías y liberaciones masales para ir minimizado el uso de plaguicidas en el departamento de Chimaltenango y de esta manera ir impulsando programas de control biológico a nivel nacional.

6.3 Establecimiento del Protocolo de cría de *Trichogramma*

Las especies colectadas e identificadas fueron criadas, obteniéndose los siguientes parámetros: El hospedero alternativo *S.cereae/ella*, desde huevecillo hasta adulto de 40 días, a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Con una producción aproximada entre 10,000 a 12,000 adultos por cada 0.33 gramos de huevecillos colocados en las cajas de cría.

La média de producción de huevecillos por cada cajá de cria sufrió oscilaciones entre valores de 0,33 gramos hasta un máximo de 5 gramos. Los menores valores se registraban en épocas de reducción de la humedad relativa en la sala de producción con el propósito de disminuir ataques fuertes de ácaros en los gabinetes.

Tabla 1 Parámetros Biológicos de *Trichogramma atopovirila*, criada en huevos de *S. cerealella* a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Parámetros	Media
Periodo huevo-adulto (días)	9.8 ± 0.5
Viabilidad de huevos (%)	70
Longevidad Machos	3.2 ± 1.5
Longevidad de Hembras	4 ± 2.2

Según la tabla 1, podemos observar que nuestros parámetros de desarrollo biológico del parasitoides se encuentran en un rango promedio, cercano al obtenido por De Alencar (2000), el cual reporta un periodo de 9.42 ± 0.56 para la misma especie. El mismo autor reporta una viabilidad de huevos parasitados de 80%, mayor al que

obtuvimos, posiblemente a que es la primera cría que se establece y el parasitoide aún no se ha adaptado a cría bajo condiciones controladas. Respecto a longevidad se obtuvo valores bastante cercanos a los obtenidos por el mismo autor, el cual reporta para macho 3.08 ± 1.72 días y 5.53 ± 2.32 días para hembras. El parámetro biológico de incubación del parasitoide es muy importante para proyectar producciones masales de enemigos naturales con fines de liberaciones inundativas, y viendo que nuestros resultados son similares a la producción en otros laboratorios consideramos que tenemos potencial producir estas avispa y contribuir a un plan de control biológico de plagas

No fue posible establecer cría de *T. pretiosum*, posiblemente a que no se adaptó bien al hospedero alterno, o las condiciones ambientales en laboratorio no fueron idóneas para su desarrollo, ya que cada especie demanda especificidad para condiciones ambientales de cría.

7 CONCLUSIONES

- △ Fueron identificadas las especies de *Trichogramma atopovirila* Oatman & Platner, 1983, y *T. pretiosum* Riley, 1879, registradas como parasitoides de huevos de Lepidopteros en la localidad de Acatenanago, en cultivo de maíz *Zea mays*.

- △ Se identificó la especie *S. frugiperda* S. como hospedero asociado a *T. atopovirila* y *T. pretiosum* en el cultivo de maíz *Zea mays*, presentando un gran potencial para programas de control biológico.

- △ Se estableció un protocolo de cría de *T. atopovirila* sobre el hospedero alternativo *S. cerealella* con parámetros biológicos de desarrollo de huevo a adulto de 9.8 ± 0.5 días para el parasitoide y de 40 ± 4 días para el hospedero a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

8 RECOMENDACIONES

- △ Darle seguimiento al proyecto debido a que el parasitoide *T. atopovirila* presenta un potencial alto en el control biológico de gusano cogollero del maíz *S. frugiperda*.

- △ Realizar el siguiente paso el cual consiste en la evaluación del parasitismo a nivel de laboratorio, semi-campo y campo de las especies identificadas y producidas en laboratorio.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. De Alencar J., Pedrosa F., De Oliveira, J., Moreira, A.; 2000. **Biología de *Trichogramma pretiosum* Riley em ovos de *Sitotroga cerealella***. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.35, n.8, p.1669-1674.
2. CONAP, (20011). **Guatemala País Megadiverso**. Consultado 14 Ago 2012. Disponible en: <http://www.conap.gob.gt/biodiversidad/guatemala-pais-megadiverso>
3. Ellis, J. A., *et al.*, 2005. **Conservation biological control in urban landscapes: Manipulating parasitoids of bagworm (Lepidoptera: Psychidae) with flowering forbs**. Biological Control. 34, 99-107.
4. Garzona E. 2003. Prensa Libre – Edición electrónica-**Plaguicidas peligrosos**. Disponible en: <http://www.prensalibre.com/pl/2003/junio/15/58743.html> Acceso en: 20 de octubre de 2009
5. Li, L. 1994. **Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: A survey**, p.37-53. In E. Wajnberg & S.A. Hassan (eds.), Biological control with egg parasitoids. Wallingford, CAB International. 286p.
6. Morales, J., Vasquez, C., Nieves L., Perez, B., Arrieche. Valera N., Rios Y., Arrieche N., Querino, R.; 2007. **Especies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Parasitoides de Huevos de Lepidópteros en el Estado Lara, Venezuela**. Neotropical Entomology 36(4):542-546 (2007)
7. Morales, J., Vasquez, C., Valera, N., Arrieche, N., Arcaya E., y Querino, R. 2010. **Nuevos Registro y Distribución de Especies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el Estado Lara, Venezuela**. Bioagro 22 (2):159-16.
8. Parra, J.R. y R.A. Zucchi. 2004. ***Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research**. Neotropical Entomology. 33: 271-281.
9. Peterson, A. 1970. **Larvae of insects, an Introduction to Nearctic Species, Part I, Lepidoptera and Planta infesting Hymenoptera**. Edward Brothers Inc. Ann Arbor, Michigan USA 315pag.
10. Peterson, A. 1964. **Egg Types among Moths of the Noctuidae (Lepidoptera)**. *The Florida Entomologist*. Vol. 47,) pp. 71-91 Published by: Florida Entomological Society.
11. Pinto J. 1998. **Systematics of the North American Species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. Mem. Entomological Society. Wash 22. 287 p.

12. Pinto, J. D., Oatman J. & Platner, G. 1983. **The identity of two closely related and frequently encountered species of new world *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. Proc. Entomological Society. Wash. 85(3): 588-593.
13. Pinto J., Oatman E., Platner G. 1986. ***T. pretiosum* and new cryptic species occurring sympatrically in southwestern North America** (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Annals Entomological Society Am 79:1019-1028.
14. Ramírez, G. 2000. **Positioning *Trichogramma* spp (Hymenoptera: Trichogrammatidae) specimens on microscope slides**. pp. 55-56. In: Mem. XXIII Congr. Nal. Control Biológico 16-18 noviembre,
15. Saunders J., Coto D., King A.; (1998) **Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central**. 2da. Ed.; Turrialba, Costa Rica: CATIE Programa de Investigación, 305 pag.
16. Smith E. 2008. Prensa Libre - Edición electrónica - **Nacional Plaguicidas.mht**. Disponible en: www.prensalibre.com.gt Acceso en: 1 julio de 2008.
17. Stouthamer, R., Hu, J., Van Kan, F., Platner, G. R. & Pinto, J. D. 1999. **The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma***. *Biological Control* 43:421-440.
18. Triplehorn, C. & Johnson N. (2005). **Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects**. Thomson Brooks/Cole, USA, 864 pp., Seventh Edition.
19. Van J. (1995). **Basis of biological control of arthropod pests in protected crops**. In: **Integrated Pest and Disease Management in Protected Crops**. CIHEAM. Zaragoza, Spain. 21 p.

10 LISTA DE TODOS LOS INTEGRANTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

10.1 Contratados por la Contraparte.

Nombre	Categoría	Registro Personal	Pago	
			Sí	No
Heisler Gómez Méndez	Profesor Interino	20020712	X	
Marvin Pec Hernández	Auxiliar de Investigación I	20110199	X	

10.2 Contratados por la DIGI

Nombre	Firma
Heisler Gómez Méndez	
Marvin Pec Hernández	