



# COLEGIO DE POSTGRUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

***Copitarsia decolora* Guenée: SU PREFERENCIA POR  
BRÓCOLI, COL Y COLIFLOR, SU CARACTERIZACIÓN  
MOLECULAR Y DE TRES DE SUS HIMENÓPTEROS  
PARASITOIDES**

**CARLOS ACATITLA TREJO**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: *Copitarsia decolora* Guenée: **SU PREFERENCIA POR BRÓCOLI, COL Y COLIFLOR, SU CARACTERIZACION MOLECULAR Y DE TRES DE SUS HIMENÓPTEROS PARASITOIDES**, realizada por el alumno CARLOS ACATITLA TREJO, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**FITOSANIDAD**

**ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

**CONSEJO PARTICULAR**



CONSEJERO: DR. JUAN CIBRIÁN TOVAR



ASESOR: DRA. ANA LUISA ANAYA LANG

ASESOR: DR. NÉSTOR BAUTISTA MARTÍNEZ



ASESOR: DR. RODOLFO OSORIO OSORIO



ASESOR: DR. SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN

Montecillo, Texcoco, Estado de México, julio de 2010.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a Dios, quien me dio la vida y tiempo para culminar esta fase de mi formación académica.

A mi madre Soledad, a mis hermanas Silvia Angélica y María del Sol, a mi hermano Ricardo (QEPD), por el apoyo incondicional que siempre me han mostrado, espero que se sientan orgullosos de mi trayectoria académica.

A mi tío Diego, mi tía Claudia, mi tía Silvia y mis primos Manuel, Eliseo y Verónica por el apoyo que han mostrado desde mis inicios académicos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para poder realizar mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados, por brindarme la oportunidad de alcanzar un logro académico más en mi formación académica.

Al Dr. Juan Cibrián, por la paciencia, orientación y apoyo brindado durante el tiempo que duro esta etapa, gracias doctor y espero no se haya arrepentido de haberme aceptado como asesorado.

A la Dra. Ana Luisa, por haber aceptado ser parte de mi consejo particular, y agradezco de corazón el apoyo y disposición que siempre mostró hacia mi persona.

Al Dr. Néstor, por los consejos y el apoyo que recibí, aun cuando lo hago enojar de vez en cuando.

Al Dr. Samuel, por el apoyo en la realización de este trabajo, y por la confianza que tiene en mi persona.

Al Dr. Osorio, por el apoyo que me dio durante la realización de mis estudios de doctorado.

A la Dra. Obdulia, quien sin ser parte formal de mi Consejo Particular me brindó su apoyo y enseñanza en cuanto a la parte de Biología Molecular.

Al Dr. Héctor González, por su amistad y apoyo durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

Al Dr. José Antonio Mora, por su amistad y el apoyo brindado cuando los tiempos fueron difíciles, muchas gracias paisano.

Al M. C. Jorge Valdez por el apoyo que siempre me brindo en la toma de fotografías.

A los maestros del IFIT, quienes compartieron sus conocimientos y amistad, y de los cuales espero haber aprendido lo mejor.

A mis compañeros del laboratorio de Ecología Química: Dr. Cristóbal, M. C Julio, M. C Manolo, Dr. Roberto, Cindy, M. C. Juliana con quienes compartí mucho experiencias, y de los cuales espero haber tomado las cosa buenas para ser una mejor persona.

A mi madrastra Gloria, para quien no tengo palabras que describan lo agradecido que estoy de contar con su amistad.

A mis compañeros de generación Maricarmen, Rebeca, José Marín por la amistad que espero continúe en donde quiera que el destino nos lleve.

A mis compañeros y amigos del IFIT Érica, Angélica Verónica, José Marín, Jhony, Jorge, Misael, Fidel, Víctor, Nicolás, Fabián, Santos, Dr. Álvaro, Dr. Marco, Dr. Carlos (Tocayo) quienes compartí gratos momentos

A Claudia, por permitirme platicar con ella en mis momentos de aburrimiento; A Verónica Romero por todo el apoyo que me brindo durante mi estancia en el COLPOS aun cuando la hago desvariar hasta el enojo, a la Sra. Elvia por su amistad.

A mis amigos del Colegio Sandra, Eleodoro, Chávez, Haidel, Karla, Flor, Rosa, Lalo, y todos aquellos que omito, gracias por hacer que mi estancia en el Colegio de Postgraduados fuera agradable, aun con los desvelos y sin sabores que conlleva el estudio.

A los maestros y trabajadores de la Universidad Autónoma Chapingo, quienes me ofrecieron su amistad y apoyo académico cuando así lo he requerido.

A mis compañeros de Sanidad Vegetal M. C. Abel López, Vicente Rosas, Yanel, Janeth, Juan Flores, Ofman, Sra. Lucha, Rusbel, Luis, Eduardo, Liliana, y todos aquellos que hicieron que mi estancia en ese lugar de trabajo fuera agradable.

A mis compañeros del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, M. C. Hugo, Ing. Mellin, M. C. Carmen, M. C. Norma, Anabel, quienes apoyaron con sus comentarios la culminación de este escrito.

## ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	vii
LITERATURA CITADA .....	x
CAPÍTULO 1: PREFERENCIA DE <i>Copitarsia decolora</i> (Guenée) A TRES VARIEDADES DE <i>Brassica oleracea</i> L Y AL COLOR PARA OVIPOSICIÓN EN CONDICIONES DE CAMPO.....	1
RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	2
1.1 INTRODUCCIÓN.....	3
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	6
1.2.1. Preferencia de <i>C. decolora</i> a tres variedades de <i>B. oleracea</i> .....	6
1.2.2. Preferencia de color por hembras de <i>C. decolora</i> para realizar la ovoposición.....	7
1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	8
1.3.1. Preferencia de <i>C. decolora</i> a tres variedades de <i>B. oleracea</i> .....	8
1.3.2. Preferencia de color por hembras de <i>C. decolora</i> para realizar la ovoposición.....	14
1.4 CONCLUSIONES .....	15
1.5 LITERATURA CITADA .....	15
CAPÍTULO 2: IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE <i>Copitarsia decolora</i> Y TRES DE SUS PARASITOIDES HIMENÓPTEROS .....	19
RESUMEN .....	19
ABSTRACT.....	20
2.1 INTRODUCCIÓN.....	21
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
2.2.1 Manejo general del material biológico utilizado .....	23
2.2.2 Identificación taxonómica .....	24
2.2.3 Caracterización molecular .....	24
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
2.3.1 Identificación taxonómica. ....	27
2.3.2 Caracterización molecular .....	31
2.4 CONCLUSIONES .....	42
2.5 LITERATURA CITADA .....	43
Apéndice A.....	46
Apéndice B.....	47
CAPÍTULO 3: CICLO BIOLÓGICO DE TRES HIMENÓPTEROS PARASITOIDES DE <i>Copitarsia decolora</i> EN LA REGIÓN DE TEXCOCO .....	51
RESUMEN .....	51
ABSTRACT.....	52
3.1 INTRODUCCIÓN.....	53
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	54
3.2.1 Cría de <i>Copitarsia decolora</i> .....	55
3.2.2 Manejo y cría de parasitoides.....	55
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	57
3.3.1. Observaciones del ciclo biológico de <i>Hyposoter</i> sp.....	57
3.3.2 Observaciones del ciclo biológico de <i>Euplectrus platyhypenae</i> .....	60
3.3.3. Observaciones del ciclo biológico de <i>Netelia sayi</i> .....	62
3.4 CONCLUSIONES .....	64
3.5 LITERATURA CITADA .....	64
CONCLUSIONES GENERALES .....	67

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1.- Glucosinolatos presentes en tres variedades de <i>Brassica oleracea</i> .....	18
Cuadro 2.1.- Secuencias utilizadas para la reconstrucción del árbol filogenético de <i>Copitarsia decolora</i> .....	32
Cuadro 2.2.- Secuencias utilizadas para la obtención del árbol filogenético de <i>Hyposoter</i> sp.....	34
Cuadro 2.3.- Secuencias utilizadas para la obtención del árbol filogenético de <i>Euplectrus platyhyphenae</i> .....	37
Cuadro 2.4.- Secuencias utilizadas para la obtención del árbol filogenético de <i>Netelia sayi</i> .....	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1.1.- Preferencia de <i>C. decolora</i> a tres variedades de <i>B. oleracea</i> en otoño 2007.....	8
Fig. 1.2.- Preferencia de <i>C. decolora</i> a tres variedades de <i>B. oleracea</i> en invierno 2007.....	9
Fig. 1.3.- Preferencia de <i>C. decolora</i> a tres variedades de <i>B. oleracea</i> en verano 2008.....	10
Fig. 1.4.- Porcentaje de plantas afectadas por larvas de <i>C. decolora</i> en cada ciclo de cultivo.....	12
Fig. 1.5.- Porcentaje de huevos de <i>C. decolora</i> sobre pantallas de color en tres variedades de <i>Brassica oleracea</i> .	14
Fig. 2.1.- Macho de <i>Hyposoter</i> sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae).....	28
Fig. 2.2.- Hembra de <i>Hyposoter</i> sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae).....	29
Fig. 2.3.- Macho de <i>Euplectrus platyhyphenae</i> (Hymenoptera: Eulophidae).....	29
Fig. 2.4.- Hembra de <i>Euplectrus platyhyphenae</i> (Hymenoptera: Eulophidae).....	30
Fig. 2.5.- Macho de <i>Netelia sayi</i> (Hymenoptera: Ichneumonidae).....	30
Fig. 2.6.- Hembra de <i>Netelia sayi</i> (Hymenoptera: Ichneumonidae).....	31
Fig. 2.7.- Árbol filogenético de <i>Copitarsia decolora</i> con base en estadística bayesiana. usando el modelo de substitución inicial 4x4, general tiempo reversible con 30, 000 generaciones.....	33
Fig. 2.8.- Árbol filogenético de <i>Hyposoter</i> sp., con base en estadística bayesiana. usando el modelo de substitución inicial 4x4, general tiempo reversible con 30, 000 generaciones.....	36
Fig.2.9.- Árbol filogenético de <i>Euplectrus platyhyphenae</i> generado mediante el método de Máxima parsimonia, Bootstrap con 100 replicas.....	39
Fig. 2.10.- Árbol filogenético de <i>Netelia sayi</i> generado mediante el método de Máxima parsimonia, Bootstrap con 100 replicas.....	40
Fig. 3.1.- Ciclo Biológico de <i>Hyposoter</i> sp.....	59
Fig. 3.2.- Ciclo biológico de <i>Euplectrus platyhyphenae</i> .....	61
Fig. 3.3.- Ciclo biológico de <i>Netelia sayi</i> .....	63

## INTRODUCCIÓN GENERAL

*Brassica oleracea* L. es una planta originaria de Asia menor y de la región del Mediterráneo (Vavilov, 1992), y presenta al menos siete variedades: acephala, alboglagra, botrytis, capitata, gongylodes, gemmifera, italica y troncada (The Staff of the Liberty Hyde Baley Hortorum, 1976). En México las variedades de mayor importancia son brócoli (*B. oleracea* var. italica), col (*B. oleracea* var. capitata) y coliflor (*B. oleracea* var. botrytis). En el año de 1980, la superficie sembrada de estas tres variedades fue de 4, 681 hectáreas, de este total 12.17% correspondió a brócoli, 17.18% a col y 15.63% a coliflor (SIAP, 2010); mientras que para el 2007 la superficie cultivada con estas tres variedades se incrementó a 29, 358 hectáreas, correspondiendo el 68.75% a brócoli, 21.40% a col y 9.84% a coliflor (SIAP, 2010).

Las crucíferas como todas las plantas cultivadas presentan plagas insectiles las cuales pueden ser específicas o generalistas, éstas afectan la producción y calidad de la parte comercial de la planta; dentro de las plagas específicas que pueden afectar el cultivo de las crucíferas están: *Copitarsia decolora* (Guenée), *Plutella xylostella* L, *Pieris rapae* (L), *Brevicoryne brassicae* (L), *Murgantia histrionica* (Hahn), *Trichoplusia ni* (Hübner), *Pseudoplusia ni* (Hübner), *Peridroma saucia* (Hübner), *Epitrix* sp. (Fenny, 1977; Anaya & Romero, 1999; Bautista, 2006).

Las crucíferas se caracterizan por tener glucosinolatos, metabolitos secundarios, que son esterres de (Z)-cis-N-Hidroximinosulfatos, que poseen una cadena lateral R y un sulfuro ligado a un residuo de D-glucopiranososa (Rosa *et al.*, 1997). Estos compuestos median la interacción entre los herbívoros (y de algunos depredadores y parasitoides) y las crucíferas (Städler &

Reifenrath, 2009). Considerando estos compuestos, en el capítulo uno, se revisa la preferencia de *Copitarsia decolora* a brócoli (*B. oleracea* var. *italica*), a col (*B. oleracea* var. *capitata*) y coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*).

*Copitarsia decolora* es una de las principales plagas para las crucíferas en México, no tanto por los daños físicos que causan al producto, sino por ser una plaga de importancia cuarentenaria para los Estados Unidos de Norteamérica (Gould *et al.*, 2006), principal mercado de la producción de crucíferas (Secretaría de Economía, 2009), por lo cual pone restricciones no arancelarias para la introducción de hospederos de esta plaga (SENASICA, 2003; USDA, 2009). Una práctica que se realiza en los productos agrícolas que son hospederos de *C. decolora* es el muestreo de los embarques en punto de origen y punto de entrada a los Estados Unidos de Norteamérica, para minimizar los riesgos de la introducción de esta plaga a dicho país. Algunas veces larvas de otras especies de lepidópteros son confundidas con las larvas del gusano del corazón de la col, por la policromía y las formas triangulares que se encuentran en el dorso de las larvas de quinto y sexto ínstar de *C. decolora*, mientras que las características de identificación en adultos de este nóctuido son las escamas que forman la palabra “OK” en las alas anteriores, las características que se toman para una identificación rápida de *C. decolora* se observan en larvas y adultos de *Peridroma saucia* Hübner, especie que también afecta a las crucíferas. En el capítulo dos se hace una descripción de la metodología para la caracterización molecular de *Copitarsia decolora* y de tres de sus parasitoides encontrados en el área de Montecillo, México. La identificación taxonómica tradicional es la base para clasificar a los organismos (Coronado, 2009; Angulo & Olivares, 2010), la identificación de los parasitoides fue realizada por especialistas.

Con estos antecedentes, la identificación errónea de larvas detectadas en los cargamentos de vegetales con larvas de *C. decolora* provoca pérdidas económicas a los productores y exportadores. La identificación de esta especie debe realizarse por especialistas para minimizar que embarques de productos sean retornados por una identificación errónea. Una alternativa que minimizaría la confusión entre larvas de otras especies es el uso de la Biología Molecular (Armstrong & Ball, 2005; Miller, 2007; Stoeckle & Hebert, 2008).

Con la finalidad de reducir la presencia de *C. decolora* en cultivos hospederos de esta plaga, se utiliza el control químico, algunos ingredientes activos que se utilizan en México son: metamidofos (Bayer Crop Science, 2010a; FMC, 2010), endosulfan (Bravo, 2010), carbarilo (Bayer Crop Science, 2010b) y permetrina (BASF, 2010). El control legal por medio de la aplicación de la Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001, dicha Norma contempla el establecimiento o reordenamiento de fechas de siembra, cosecha y, en particular el manejo y eliminación de focos de infestación de *C. decolora* (DOF, 2002). El control biológico se puede dar usando organismos que controlan a otras plagas que afectan a las crucíferas, por ejemplo el uso de bacterias (*Bacillus thuringiensis* Berliner), virus (Baculovirus) (Fuxa *et al.*, 2002; Goulson & Cory, 1994), hongos (*Beauveria bassiana* (Vuill), *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff)), depredadores (*Chrysoperla carnea* (Stephens)) y parasitoides de huevos (*Trichogramma* spp.) (García *et al.*, 2005) pueden reducir de manera significativa a las poblaciones del gusano del corazón de la col sin ser esta la especie objetivo de control. En relación a parasitoides no hay muchos estudios sobre enemigos naturales específicos para *C. decolora*, por lo que en este trabajo se colectaron, identificaron y caracterizaron a tres parasitoides del gusano del corazón de la col en el área de Montecillo. En el capítulo tres se describe la biología de *Hyposoter* sp. (Hymenoptera:

Ichneumonidae), *Euplectrus plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) y *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae).

## LITERATURA CITADA

- Anaya, R. S. & J. Romero N. 1999.** Hortalizas: plagas y enfermedades. Ed. Trillas. 544p.
- Angulo, O. A & T. S. Olivares. 2010.** La polilla *Copitarsia decolora*: revisión del complejo de especies con base en la morfología genital masculina y de los huevos (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Biol. Trop. Vol. 58 (2): 769-776.
- Armstrong, K. F. & S. L. Ball. 2005.** DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. Phil. Trans. R. Soc. 360: 1813-1823.
- Basf. 2010.** Ficha técnica: Talcord®340. Diccionario de Especialidades Agroquímicas: Fertilizantes, agroquímicos y productos orgánicos. Thomson Health Care. p. 584-585.
- Bautista, M. N. 2006.** Insectos plaga. Una guía ilustrada para su identificación. Bayer CropScience. Colegio de Postgraduados.173p.
- Bayer Crop Science. 2010a.** Ficha técnica: Tamaron®600. Diccionario de Especialidades Agroquímicas: Fertilizantes, agroquímicos y productos orgánicos. Thomson Health Care. p. 659-660.
- Bayer Crop Science. 2010b.** Ficha técnica: Sevín®80%PH. Diccionario de Especialidades Agroquímicas: Fertilizantes, agroquímicos y productos orgánicos. Thomson Health Care. p. 653-654.

- Bravo, 2010.** Ficha técnica: Algodón@350 HC@FREE. Diccionario de Especialidades Agroquímicas: Fertilizantes, agroquímicos y productos orgánicos. Thomson Health Care. P: 1148-1149.
- Coronado, R. J. 2009.** Filogenia de avispas del genero *Netelia* (Hymenoptera: Ichneumonidae) con énfasis en las especies costarricenses. Rev. Biol. Trop. 57: 213-238.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2002.** Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001, Manejo y eliminación de focos de infestación de plagas. Diario Oficial de la Federación.
- Fenny, P. 1977.** Defensive ecology of the cruciferae. Ann. MO. Bot. Gard. 64 (2): 221-234.
- FMC. 2010.** Ficha técnica: Kaisen@600. Consultado en línea en enero de 2010: [www.fmcagroquimica.com.mx](http://www.fmcagroquimica.com.mx)
- Fuxa, J. R., A. R. Ritcher, A. O. Ameen & B. D. Hammock. 2002.** Vertical transmission of TnSNPV, TnCPV, AcMNPV, and possibly recombinant NPV in *Trichoplusia ni*. Journal of Invertebr. Phatol. 79: 44-50.
- García, G. F., A. González H. & M. P. España L. 2005.** Especies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) presentes en Centros Reproductores de México. Acta Zoológica Mexicana. 21 (3): 125-135.
- Gould, J. R., C. B. Caton & R. C. Vennette. 2006.** A pathway assessment of the risk of establishment in the contiguous United States by *Copitarsia decolora* (Guenée) on asparagus from Peru. USDA-APHIS. 41p.
- Goulson, D. & J. S. Cory. 1994.** Sublethal effects of Baculovirus in the cabbage moth, *Mamestra brassicae*. Biological Control. 5: 361-367.
- Miller, S. E. 2007.** DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. PNAS. 104 (12): 4775-4776.
- Rosa, E. A. S., R. K. Heaney, G. R. Fenwick & C. A. M. Portas. 1997.** Glucosinolates in crop plants. Hort. Rev.19: 99-215.

**Secretaría de Economía. 2009.** Consultado en línea el 3 de septiembre de 2009:  
[www.economia-snci.gob.mx](http://www.economia-snci.gob.mx)

**SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2003.**  
Circular 146. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.  
Dirección General de Sanidad Vegetal. Dirección de Regulación Fitosanitaria.  
Subdirección de Regulación Nacional. México.

**SIAP (Servicio de Información Agrícola y Pesquera). 2010.** Consultado en línea en enero  
de 2010: [www.siap.sagarpa.gob.mx](http://www.siap.sagarpa.gob.mx)

**Städler, E. & K. Reifenrath. 2009.** Glucosinolates on the leaf surface perceived by insect  
herbivores: review of ambiguous results and new investigations. *Phytochem. Rev.* 8:207–  
225.

**Stoeckle, M. Y. & P.D.N. Hebert. 2008.** Barcode of life. *Scientific American*. October: 82-  
88.

**The Staff of the Liberty Hyde Bailey Hortorum. 1976.** Hortus third: A concise dictionary of  
plants cultivated in the United States and Canada. Part I Abelia-Epiphyllum.  
MacMillan Publishing Co., Inc. Third Printing. p. 178-179.

**USDA (United States Department of Agriculture). 2009.** Fresh fruits and vegetables.  
Import manual. United States Department of Agriculture, USA.

**Vavilov, N. I. 1992.** Origin and geography of cultivated plants. Cambridge University Press.  
498p.

**CAPÍTULO 1: PREFERENCIA DE *Copitarsia decolora* (Guenée) A TRES  
VARIETADES DE *Brassica oleracea* L Y AL COLOR PARA OVIPOSICIÓN EN  
CONDICIONES DE CAMPO**

**RESUMEN**

El gusano del corazón de la col (*Copitarsia decolora*) es una plaga de crucíferas comerciales, considerada como cuarentenaria para los Estados Unidos de Norteamérica, principal mercado y consumidor de las crucíferas que se producen en México. Las plantas de la Familia Brassicaceae tienen como característica común producir glucosinolatos como defensa contra la herbivoría. En este trabajo se exploró si hay preferencia de *C. decolora* por alguna de las tres variedades de *Brassica oleracea* (brócoli, col y coliflor) y al color de superficies para realizar la oviposición en condiciones de campo. Para la preferencia de las variedades en campo se utilizó el modelo experimental completamente al azar; los tratamientos fueron brócoli, col y coliflor. Se consideró como variable respuesta la presencia o ausencia de larvas de la plaga en cada una de las plantas, para ello se realizó un censo a los 45 días después del trasplante de las variedades en los ciclos de otoño 2007, invierno 2007 y verano 2008. El análisis de los datos se llevó a cabo mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para la preferencia al color para oviposición en el ciclo de verano de 2008 se utilizaron pantallas de tela de organza de 1m<sup>2</sup> de color blanco, negro, rojo y verde, con cuatro repeticiones. La cantidad de huevos de *C. decolora* encontrados en las pantallas fue tomada por 22 días consecutivos, y se evaluaron mediante el análisis de varianza y la prueba de Tukey.

Los resultados indican que la variedad capitata (col) fue la que presentó más plantas atacadas por larvas de *C. decolora*, quizás en respuesta a la presencia del menor número y concentración de glucosinolatos en esta variedad. Se discute como usar esta información para disminuir el ataque del gusano del corazón de la col en cultivos comerciales de brócoli y coliflor.

En las pantallas de color negro se tuvo la mayor atracción para la oviposición de las hembras de *C. decolora* ( $P < 0.05$ ) seguido por el rojo y verde, siendo el menos preferido el color blanco.

**Palabras claves:** gusano del corazón de la col, glucosinolatos, brócoli, col, coliflor, longitud de onda.

**CHAPTER 1: PREFERENCE *Copitarsia decolora* (Guenée) A THREE VARIETIES OF  
*Brassica oleracea* L. AND SURFACE COLOR IN FIELD CONDITIONS**

**ABSTRACT**

The cutworm cabbage (*Copitarsia decolora*) is a pest of cruciferous plants, it is considered as a quarantine pest for the United States, the main consumer market for cruciferous cultivars produced in Mexico. The Brassicaceae family plants have the common feature produce glucosinolates as a defense against herbivory. In this paper we explored whether there is a preference of *C. decolora* by any of the three varieties of *Brassica oleracea* (italica, capitata and botrytis) and surface color for oviposition in field conditions. For the preference of varieties we used the completely randomized design, treatments were broccoli, cabbage and cauliflower. Response variable was defined as the presence or absence of larvae of the pest in each of the plants. A census was conducted 45 days after transplantation of the varieties and data analysis was carried out by nonparametric Kruskal-Wallis test. For color preference we used color fine mesh surfaces 1m<sup>2</sup>, the used colors used white, black, red and green. It had four repetitions for each color, the data were the *C. decolora* eggs found in the fabrics by 22 consecutive days. The data were analyzed using a variance test and Tukey test.

The results indicate that the variety capitata (cabbage) was the one most affected plant by cutworm larvae, Maybe in response to this variety that is the one with the lowest number and concentration of glucosinolates. In the winter cycle the number of larvae increased in the three varieties, population increase was related to the concentration of glucosinolates. Broccoli, to present the greatest variety and concentration of glucosinolates was attacked with less frequency. We discuss how to use this information to reduce cutworm attack to cabbage, broccoli and cauliflower crops.

The black color was the one who had the greatest attraction for oviposition of females of *C. decolora* ( $P < 0.05$ ), followed by red and green being the least preferred white.

**Keywords:** cutworm cabbage, glucosinolates, broccoli, cabbage, cauliflower, wavelength.

## 1.1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de crucíferas en México es importante por las fuentes de empleo que se generan durante su proceso de producción, y por las divisas que se obtienen por la exportación de brócoli y coliflor. En 2008, la superficie dedicada a las crucíferas en México fue de 32, 180.89 ha (SIAP, 2009).

En México se reporta a *Copitarsia decolora* (Guenée), *Plutella xylostella* L, *Pieris rapae* (L), *Brevicoryne brassicae* (L), *Murgantia histrionica* (Hahn), *Trichoplusia ni* (Hübner), *Pseudoplusia ni* (Hübner), *Peridroma saucia* (Hübner), *Epitrix* sp. como especies de insectos que afectan a plantas de la familia Brassicaceae (Fenny, 1977; Anaya & Romero, 1999; Bautista, 2006).

El gusano del corazón de la col (*Copitarsia decolora*) se distribuye desde México hasta Sudamérica (Angulo & Olivares, 2003); larvas de esta palomilla se han encontrado en 19 familias botánicas, incluyendo a 50 cultivos de importancia económica. Algunos de los cultivos que son afectados por esta plaga son: alfalfa (*Medicago sativa* L.), betabel (*Beta vulgaris* L.), brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), col (*B. oleracea* L. var. *capitata*), coliflor (*B. oleracea* L. var. *botrytis*), chícharo (*Pisum sativum* L.), chile (*Capsicum annuum* L.), calabaza (*Cucurbita pepo* L.), epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), espinaca (*Spinacia oleracea* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), huazontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff), cilantro (*Coriandrum sativum* L.), esparrago (*Asparagus officinalis* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), romerito (*Suaeda torreyana* S. Watson), verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), flores de corte, frutales y ornamentales (Angulo & Olivares, 2003; Bautista, 2006).

El gusano del corazón de la col es una plaga cuarentenaria para los EE.UU. (Gould *et al.*, 2006; Venette & Gould, 2006), principal mercado y consumidor de las crucíferas que se producen en México (Secretaría de Economía, 2009). De las plantas cultivadas afectadas por *C. decolora* en México destacan el brócoli, col y coliflor por las divisas que se obtienen por la importación de estas hortalizas. Los Estados Unidos de Norteamérica imponen barreras fitosanitarias a estas hortalizas, por lo que las exportaciones de estas crucíferas deben cumplir con ciertos requisitos fitosanitarios. Entre ellos, destacan el muestreo en el punto de ingreso, y el Certificado Fitosanitario Internacional debe de llevar la leyenda “This shipment has been inspected and found free of *Copitarsia* larvae and adults” (SENASICA, 2003; USDA, 2009).

Los compuestos comunes que caracterizan a estas variedades son los glucosinolatos, estos son ésteres de (Z)-cis-N-Hidroximinosulfatos, que poseen una cadena lateral R y un sulfuro ligado a un residuo de D-glucopiranososa (Rosa *et al.*, 1997). Estas sustancias están presentes en 11 familias de plantas, incluyendo las crucíferas (Levin, 1976; Rosa *et al.*, 1996; Velasco *et al.*, 2007). Los glucosinolatos pueden tener una acción repelente o atrayente hacia los insectos fitófagos (Prokopy & Owens, 1983; Murlis *et al.*, 1992; Renwick & Chew, 1994); otro elemento que puede servir para que los insectos plaga seleccionen a su hospedero es el color, tal como lo demuestran estudios realizados en trips (González *et al.*, 1999), y dípteros (Suárez *et al.*, 2007; Volpe *et al.*, 1967).

Rosa *et al.* (1997), realizaron una recopilación de los estudios realizados a los glucosinolatos de crucíferas en el cual se señala la variación y diferencia de los glucosinolatos presentes de varias crucíferas cultivadas, y entre ellas se encuentran brócoli, col y coliflor, variedades comerciales de importancia económica en México, siendo brócoli y coliflor en las que se han reportado la mayor variedad y concentración de glucosinolatos (Cuadro 1.1).

**Cuadro 1.1.-** Glucosinolatos presentes en tres variedades de *Brassica oleracea*, modificado de Rosa *et al.*, (1997).

GLUCOSINOLATO	Variedades		
	Brócoli	Col	Coliflor
2-Propenil	S	P	P
3-Metilsulfinilpropil	P	P	P
Indol glucosinolato	-	P	-
Indol-3-ilmetil	P	P	P
4-metilsulfinilbutil	P	S	P
1-Metoxindol-3-ilmetil	P	S	P
2-Hidroxibut-3-enil	S	S	S
2-Hidroxipent-4-enil	S	-	S
2-Fenetil	S	-	-
But-3-enil	S	S	S
3-Metiltiopropil	-	-	S
4-Metilsulfonilbutil	-	S	-
4-Metiltiobutil	S	-	S
4-Hidroxindol-3-ilmetil	S	-	S
4-Metoxindol-3-ilmetil	S	-	S
TOTAL	12	9	12

P= Glucosinolato principal, S= Glucosinolato en baja cantidad, -=No reportado en esa variedad.

En pruebas preliminares se observó que las hembras *C. decolora*, no discriminan entre el sitio de oviposición, ya que las hembras ovipositaron en plantas arvenses, y objetos cercanos a la planta hospedera, un comportamiento similar se reporta para las hembras de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Scott & All, 1984)

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la preferencia de *C. decolora* a tres variedades de *Brassica oleracea* y su relación con los glucosinolatos presentes en dichas variedades; así como la preferencia hacia algún color para que las hembras de *C. decolora* realicen la oviposición.

## **1.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

En el *Campus* Montecillo del Colegio de Postgraduados, durante los ciclos de otoño 2007, invierno 2007 y verano 2008 se plantaron tres variedades de *Brassica oleracea* L.: brócoli (*B. oleracea* var. *italica* cv. Heritas), col (*B. oleracea* var. *capitata* cv. Royal) y coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis* cv. Incline) en una superficie de 2,000 m<sup>2</sup>. La distancia entre plantas fue de 30 cm, y distancia entre surcos de 80 cm. Se realizaron todas las prácticas de manejo para lograr un óptimo desarrollo de las plantas, a excepción de la aplicación de agroquímicos, para no interferir con la dinámica poblacional de los insectos asociados a las crucíferas.

### **1.2.1. Preferencia de *C. decolora* a tres variedades de *B. oleracea*.**

Los tratamientos evaluados fueron las plantas de brócoli, col y coliflor. La variable respuesta fue presencia o ausencia de larvas de *C. decolora* en estas plantas de crucíferas ocurrida de manera natural, al término de los primeros 45 días después de realizar el trasplante. La ubicación de las variedades en la parcela fue aleatorizada en cada ciclo de

cultivo. En el ciclo de verano 2007 se censaron 1, 122 plantas de cada variedad; en invierno de 2007 se observaron 1, 989 plantas de brócoli, 2, 120 plantas de col y 1, 928 plantas de coliflor, y en otoño 2008 se revisaron 1, 697 plantas de brócoli, 1, 726 plantas de col y 1, 751 plantas de coliflor. El porcentaje de plantas infestadas por genotipo se comparó mediante la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis, y de Wilcoxon para determinar la variedad de mayor preferencia por *C. decolora*, se utilizó el método de Bonferroni para ajustar el error tipo I para comparar medianas, mediante el paquete estadístico SAS 9.1 (S. A. S., 2004).

Para correlacionar los datos porcentajes de infestación con la cantidad y concentración de glucosinolatos de las variedades de *Brassica oleracea* utilizadas en el presente trabajo, se usó como referencia la revisión realizada por Rosa *et al.* (1997).

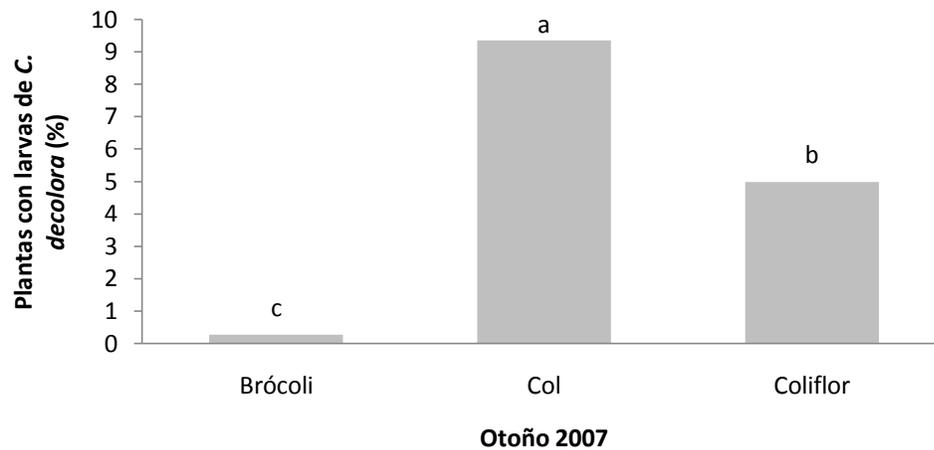
### **1.2.2. Preferencia de color por hembras de *C. decolora* para realizar la oviposición.**

Para este ensayo se colocaron pantallas de tela de organza (malla de 40 x 30 hilos/cm<sup>2</sup>) de un metro cuadrado de superficie, se utilizaron los colores blanco, negro, rojo y verde. Se utilizó el modelo experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones por color; éstos fueron distribuidos al azar entre el terreno sembrado con los tres cultivares. Se revisaron las pantallas durante 22 días consecutivos, contabilizando los huevos de *C. decolora*. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza, y la separación de medias con la prueba de Tukey ( $P=0.05$ ) mediante el software estadístico SAS 9.1 (S. A. S., 2004).

## 1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

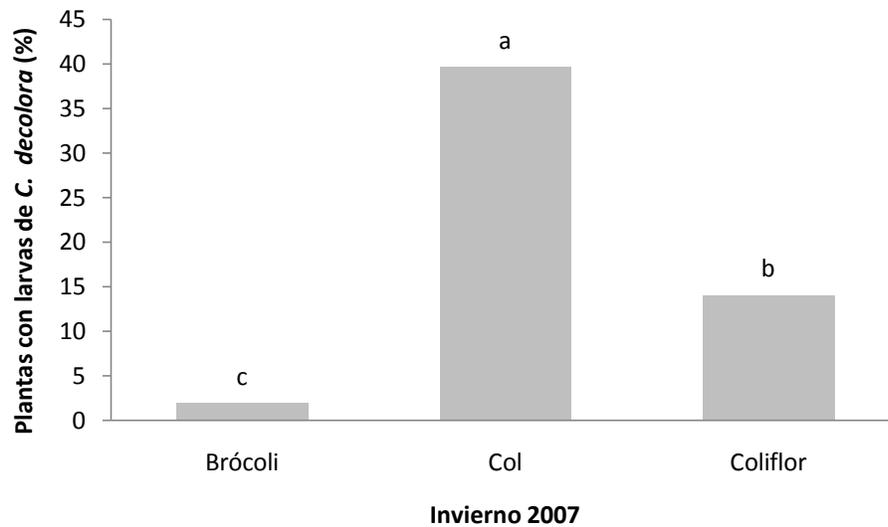
### 1.3.1. Preferencia de *C. decolora* a tres variedades de *B. oleracea*.

En el ciclo de otoño de 2007, se observó que en las plantas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) únicamente tres (0.26%) de ellas tenían larvas del gusano del corazón de la col. En col (*B. oleracea* var. *capitata*) se encontraron larvas del gusano corazón en 105 plantas (9.36%), mientras que en coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*) se detectaron larvas de *C. decolora* en 56 plantas (4.99%). Las cantidades de larvas presentes en cada una de las variedades fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0.0001$ ). Al aplicar la prueba de Wilcoxon se obtuvo la agrupación que se observa en la Fig. 1.1.



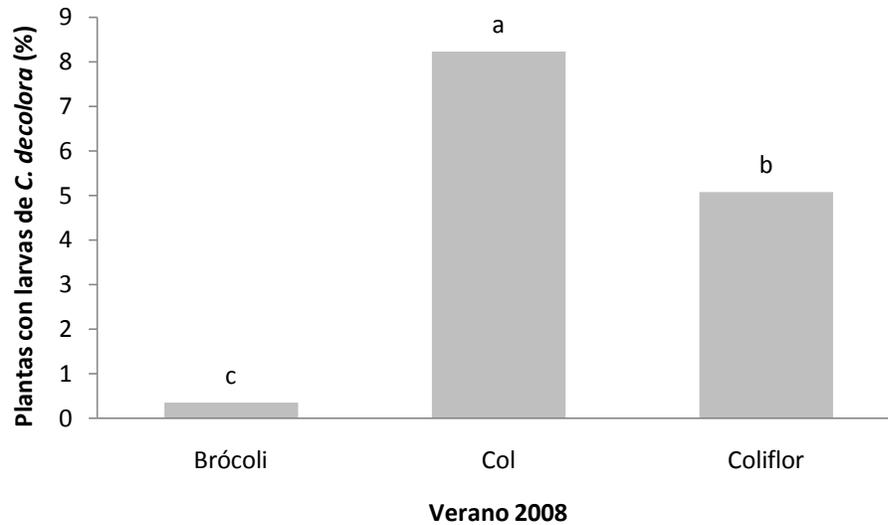
**Fig.1.1.-** Preferencia de *C. decolora* a tres variedades de *B. oleracea* en otoño 2007. Variedades con letras distintas muestran diferencias estadísticas,  $P=0.05$ , ajustada a Bonferroni.

En invierno de 2007, del total de plantas de brócoli, 38 (1.91%) presentaron larvas de *C. decolora*; en 840 (39.62%) plantas de col se encontraron larvas del gusano corazón de la col; y en 270 (14.00%) plantas de coliflor se encontraron gusanos de esta plaga. Las cantidades de larvas presentes en cada una de las variedades fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0.0001$ ). Con la prueba de Wilcoxon, se obtuvo la agrupación que se observa en la Fig. 1.2.



**Fig. 1.2.-** Preferencia de *C. decolora* a tres variedades de *B. oleracea* en invierno 2007. Variedades con letras distintas muestran diferencias estadísticas,  $P= 0.05$ , ajustada a Bonferroni.

En verano de 2008, se encontraron únicamente 6 (0.35%) plantas de brócoli con larvas de *C. decolora*; mientras que en col, fueron 142 (8.23%) plantas con larvas del gusano del corazón de la col; y por último, en coliflor se encontraron 89 (5.08%) plantas con presencia de larvas de dicha plaga. Las cantidades de larvas presentes en cada una de las variedades fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0.0001$ ). Al aplicar la prueba de Wilcoxon se obtuvo la agrupación que se observa en la Fig. 1.3.



**Fig. 1.3.-** Preferencia de *C. decolora* a tres variedades de *B. oleracea* en verano 2008. Variedades con letras distintas muestran diferencias estadísticas,  $P=0.05$ , ajustada a Bonferroni.

En los tres ciclos (otoño e invierno 2007 y verano 2008) en que se realizaron los censos para determinar la preferencia de *C. decolora* a las variedades de *Brassica oleracea*, se encontró que la tendencia fue la misma; la col presentó el mayor porcentaje de plantas afectadas por larvas del gusano del corazón de la col, seguida por la coliflor, en tanto que brócoli fue la que tuvo el menor número de larvas de esta plaga.

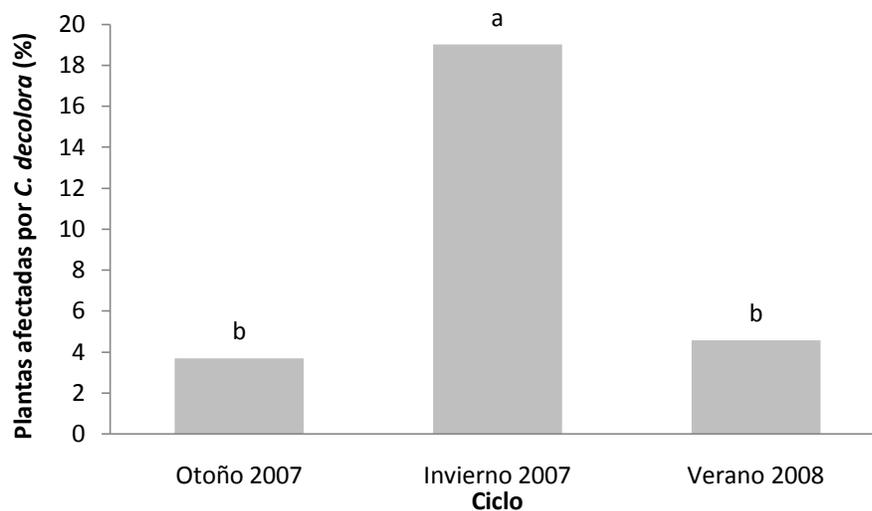
Con los valores acumulados de las plantas afectadas por larvas del gusano del corazón de la col en los tres ciclos, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con la finalidad de conocer la preferencia de *C. decolora* a las tres variedades utilizadas, el resultado indicó que sí existió diferencia estadística en la preferencia hacia los cultivares usados en el presente trabajo ( $P < 0.0001$ ), siendo la col la variedad que presentó el mayor porcentaje (70.17%) de plantas con presencia de larvas de *C. decolora*, le siguió coliflor con 26.8% y el brócoli únicamente tuvo el 3.03% .

Suárez *et al.* (2006), mencionan que en la región de Acatzingo, Puebla, la variedad de crucífera que presenta la mayor incidencia de larvas de *C. decolora* es la col, seguida de la coliflor, los resultados de dicho trabajo son similares a los obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, Suárez *et al.* (2006) y Tovar *et al.* (2007), no aluden la presencia de larvas de *C. decolora* en brócoli, dicho resultado contrasta con lo obtenido en esta investigación, ya que se encontró a larvas del gusano del corazón de la col en plantas de brócoli, aunque la cantidad de plantas de brócoli afectadas fueron bajas en todos los censos que se realizaron durante este estudio. Considerando los hábitos polífagos de *C. decolora*, es razonable la explicación de que prefiera a la col por presentar la menor cantidad y concentración de glucosinolatos, ya que no requiere de un gasto extra de energía para neutralizar los glucosinolatos (Rosa *et al.*, 1996; Rosa *et al.*, 1997; Romero & Villanueva, 2000; Charron & Sams, 2002; Velasco *et al.*, 2007).

La cantidad de plantas afectadas por larvas de *C. decolora* se vio afectada por el ciclo de siembra, ya que en el censo de otoño 2007 de 3, 366 plantas (considerando el total de plantas brócoli, col y coliflor) el 3.68% (124 plantas) tuvo presencia de larvas del gusano del corazón de la col; mientras que en invierno 2007 de 6, 037 plantas, el 19.01% (1, 148 plantas) fue afectado por larvas de esta palomilla y en verano 2008 de 5, 174, solo el 4.58% (237 plantas) presentó larvas de *C. decolora* estos resultados; el incremento en la cantidad de plantas afectadas quizá se deba a que las crucíferas presentan una baja en sus defensas químicas durante el invierno (Levin, 1976; Rosa *et al.*, 1996; Velasco *et al.*, 2007; Gols *et al.*, 2008; Gols & Harvey, 2009). Los resultados aquí obtenidos concuerdan con los de Suárez *et al.* (2006), quien reportó una mayor incidencia de esta plaga en los meses de noviembre y diciembre en los cultivos de col y coliflor en la región de Acatzingo, Puebla y Texcoco, Estado de México.

Es posible que la concentración de glucosinolatos disminuya en las tres variedades en invierno de manera proporcional a la concentración presente en los ciclos de verano y otoño, sin embargo la preferencia relativa del gusano del corazón de la col se mantuvo invariable respecto a las tres variedades usadas en este trabajo siendo col la variedad más afectada por esta plaga.

Al aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis se encontró diferencia estadística entre los ciclos de cultivo ( $P < 0.0001$ ). Al realizar la prueba Wilcoxon, se encontró que durante el invierno la cantidad de plantas afectadas por larvas de *C. decolora* fue superior que las afectadas en los ciclos de otoño y verano (Fig. 1.4), por lo que al parecer las temperaturas de invierno favorecen al gusano del corazón de la col, como se discute más adelante.



**Fig. 1.4.-** Porcentaje de plantas afectadas por larvas de *C. decolora* en cada ciclo de cultivo. Ciclos con letras distintas muestran diferencias estadísticas,  $P=0.05$  ajustada a Bonferroni.

Rosa *et al.* (1996), Rosa *et al.* (1997), Anaya (2003), y Velasco *et al.* (2007), mencionan que la diversidad y concentración de glucosinolatos dependen de diversos factores como la

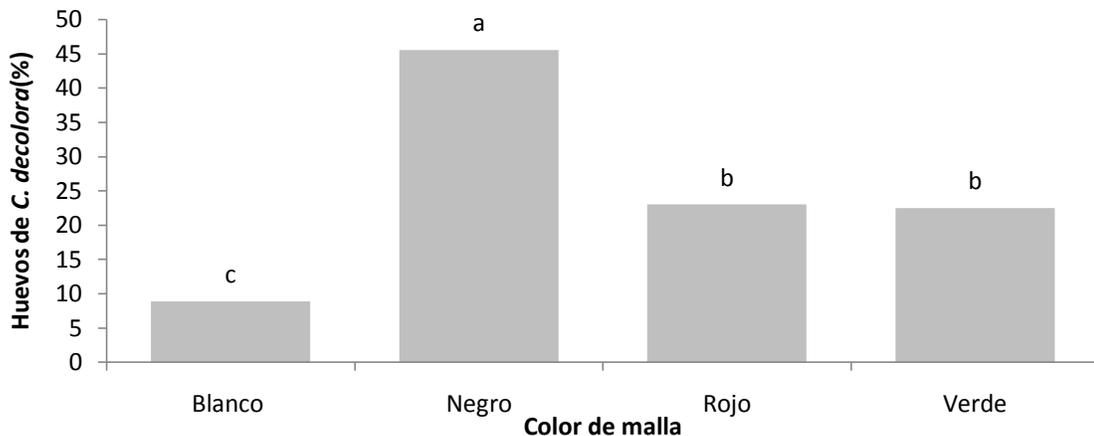
edad, temperatura, estrés hídrico, tipo de suelo, así como a la genética misma de las plantas, estos factores pueden explicar la preferencia mostrada por el gusano del corazón de la col a las variedades utilizadas en el presente trabajo.

La cantidad de plantas afectadas en campo por larvas del gusano del corazón de la col dan indicio de la preferencia a las variedades utilizadas, la cual se relaciona en gran medida al factor genético de las variedades, pues se ha encontrado que el número y concentración de los glucosinolatos entre las diversas variedades de crucíferas (Carlson *et al.*, 1987; Mithen *et al.*, 1987; VanEtten *et al.*, 1976), e incluso entre cultivares de una misma variedad de crucífera existe variación de los glucosinolatos presentes en ellas (Fenwick & Heaney, 1983; Rosa & Rodrigues, 2001; VanEtten *et al.*, 1980).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, indican que brócoli no es la crucífera preferida por *C. decolora*; sin embargo en los estados de Guanajuato y Puebla, donde existen grandes superficies dedicadas al cultivo de brócoli (13, 337 y 1, 350 ha respectivamente (SIAP, 2009), este insecto ha sido detectado en embarques comerciales de brócoli. Por lo anterior, una alternativa de manejo para minimizar la presencia del insecto en las plantaciones de brócoli y coliflor, puede ser el uso de col como cultivo trampa para disminuir la población y disminuir la presencia de larvas en las inflorescencias de las variedades que tienen como mercado final a los EE.UU.

### 1.3.2. Preferencia de color por hembras de *C. decolora* para realizar la oviposición.

*C. decolora* pertenece a la Familia Noctuidae, grupo taxonómico que se caracteriza por su mayor actividad nocturna, por lo que pudiera pensarse que señales físicas como el color son de poca relevancia para la selección de su hospedero. La prueba referente a la preferencia de colores para la oviposición de las hembras de *C. decolora* en campo, mostró que las hembras del gusano corazón de la col prefieren el color negro para realizar su oviposición, de un total de 191 huevos colectados, 87 fueron colectados de las pantallas de color negro, 44 de las pantallas rojas, 43 de las pantallas verdes y 17 de las pantallas blancas (Fig.1.5). Este resultado es similar al obtenido por Ashfaq *et al.* (2005), quien empleando luces de diferentes colores para atraer insectos de hábitos nocturnos encontró que el mayor porcentaje de atracción lo obtuvo al utilizar luz negra. Sin embargo, difiere con la preferencia del color por otros nóctuidos *Trichoplusia ni* Hübner, *Heliothis zea* (Boodie) quienes presentan una atracción hacia los sustratos de color amarillo para realizar la oviposición, tal como lo mencionan Shorey (1964) y Renwick & Chew (1994).



**Fig. 1.5-** Porcentaje de huevos de *C. decolora* sobre pantallas de color en tres variedades de *Brassica oleracea*. Letras iguales no presentan diferencia estadística. Prueba de Tukey P=0.05.

## 1.4 CONCLUSIONES

Independientemente de la fecha de cultivo las plantas de col (*Brassica oleracea* var. capitata) presentaron el mayor número de larvas de *Copitarsia decolora*, mientras que coliflor (*B. oleracea* var botrytis) tuvo una preferencia media, y la brócoli (*B. oleracea* var. italica) presentó el menor número de plantas atacadas.

Se considera que la preferencia de *C. decolora* está en función del número y concentración de glucosinolatos. De acuerdo con reportes previos, la col presenta el menor número y concentración de glucosinolatos, lo que coincide en este estudio como el cultivo que tuvo mayor número de plantas afectadas por esta plaga. La época de siembra del cultivo afectó la población del gusano del corazón de la col, debido a que conoce que en invierno la concentración de los glucosinolatos es menor, lo que permite una mayor colonización de esta plaga.

En condiciones de campo las hembras de *C. decolora* tuvieron una marcada preferencia por ovipositar en las pantallas de color negro. El empleo de pantallas de color negro en los cultivos con crucíferas puede servir como complemento para el monitoreo de la presencia de esta plaga, en un esquema de manejo integrado del gusano del corazón de la col.

## 1.5 LITERATURA CITADA

**Anaya, L. A. L. 2003.** Ecología Química. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 349p.

- Anaya, R. S. & J. Romero N. 1999.** Hortalizas: plagas y enfermedades. Primera Edición. Ed. Trillas. 544p.
- Angulo, O. A. & T. S. Olivares. 2003.** Taxonomía y sistemática de *Copitarsia incommoda* (Walker). In: Memorias del Simposio Nacional Sobre *Copitarsia incommoda*. Ixtapa-Zihuatanejo, Gro., México. p. 5-13.
- Ashfaq, M., R. A. Khan, M. A. Khan, F. Rasheed & S. Hafeez. 2005.** Insect orientation to various color lights in the agricultural biomes of Faisalabad. Pak. Entomol. Vol. 27, No. 1: 49-52.
- Bautista, M. N. 2006.** Insectos Plaga: Una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados, México. BayerCropscience, Montecillo, Estado de México. 113p.
- Carlson, D. G., M. E. Daxenbichler & C. H. VanEtten. 1987.** Glucosinolates in crucifer vegetables: Broccoli, brussels sprouts, cauliflower, collards, kale, mustard greens and kohlrabi. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112 (1): 173-178.
- Charron, C. S. & C. E. Sams. 2002.** Impact of glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* (Italica group)) on growth of *Pseudomonas marginalis*, a causal agent of bacterial soft rot. Plant. Dis. 86 (6): 629-632.
- Fenny, P. 1977.** Defensive ecology of the cruciferae. Ann. MO. Bot. Gard. 64 (2): 221-234.
- Fenwick, G. R. & R. K. Heaney. 1983.** Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feedings stuffs. Food. Chem. 11: 249-271.
- Gols, R. & J. A. Harvey. 2009.** Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behavior of parasitoids. Phytochem. Rev. 8:187–206.
- Gols, R., T. Bukovinszky, N. M. Van D., M. Dicke, J. M. Bullock & J. A. Harvey. 2008.** Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild *Brassica* populations. J. Chem. Ecol. 34:132–143.
- González, H. H., A. Méndez R., A. R. Valle de la Paz & M. González R. 1999.** Selección de trampas de color y fluctuación poblacional de trips del aguacate en Michoacán México. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 5: 287-290.
- Gould, J. R., C. B. Caton & R. C. Vennette. 2006.** A pathway assessment of the risk of establishment in the contiguous United States by *Copitarsia decolora* (Guenée) on asparagus from Peru. USDA-APHIS. 41p.

- Levin, D. A. 1976.** The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 7: 121-159.
- Mithen, R. F., B. G. Lewis, R. K. Heaney & G. R. Fenwick. 1987.** Glucosinolates of wild and cultivated *Brassica* species. *Phytochemistry.* 26 (7): 1969-1963.
- Murlis, J., J. S. Elkinton & R. T. Cardé. 1992.** Odor plumes and how insects use them. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 505-532.
- Prokopy, R. J. & E. D. Owens. 1983.** Visual detection of plants by herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 28: 337-364.
- Renwick, J. A. A. & F. S. Chew. 1994.** Oviposition behavior in Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 377-400.
- Romero, R. F. & C. Villanueva V. 2000.** Resistencia Vegetal a Insectos y Ácaros: los conceptos y las bases. Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México. 324p.
- Rosa, E. A. S. & A. S. Rodrigues. 2001.** Total and individual glucosinolate content in 11 Broccoli cultivars grown in early and late season. *HortScience.* 36 (1): 56-59.
- Rosa, E. A. S., R. K. Heaney, C. A. M. Portas & G. R. Fenwick. 1996.** Changes in glucosinolate concentrations in *Brassica* Crops (*B. oleracea* and *B. napus*) throughout growing seasons. *J. Sci. Food. Agric.* 71: 237-244.
- Rosa, E. A. S., R. K. Heaney, G. R. Fenwick & C. A. M. Portas. 1997.** Glucosinolates in crop plants. *Hort. Rev.* 19: 99-215.
- SAS (S.A.S. Institute Inc). 2004.** SAS/STAT<sup>®</sup> 9.1. User's guide. Cary, N.C., USA.
- Scott, T. M & J. N. All. 1984.** The use of oviposition on artificial substrates as a survey tool for the fall armyworm. *Fla. Entomol.* 67 (3): 349-357.
- Secretaría de Economía. 2009.** Consultado en línea el 3 de septiembre de 2009: [www.economia-snci.gob.mx](http://www.economia-snci.gob.mx)
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2003.** Circular 146. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Dirección General de Sanidad Vegetal. Dirección de Regulación Fitosanitaria. Subdirección de Regulación Nacional. México.
- Shorey, H. H. 1964.** The biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). III. Response to the oviposition substrate. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 57: 165- 170.

- SIAP (Servicio de Información Agrícola y Pesquera). 2009.** Consultado en línea: [www.siap.sagarpa.gob.mx](http://www.siap.sagarpa.gob.mx)
- Suárez, L., A. Molina, F. Murúa, J. C. Acosta, B. Moyano & J. Escobar. 2007.** Evaluación de colores para la oviposición de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) en Argentina. Rev. Peru. Biol. 14 (2): 291-293.
- Suárez, V. A. D., N. Bautista M., J. Valdez C., A. Angulo O., R. Alatorre R., J. Vera G., A. Equihua M. & V. M. Pinto. 2006.** Fluctuación poblacional de *Copitarsia decolora* (Guenée) y su asociación con crucíferas comerciales. Agrociencia 40: 501-509.
- Tovar, H. H., N. Bautista M., J. Vera G., A. D. Suárez V., & S. Ramírez A. 2007.** Fluctuación poblacional y parasitismo de larvas de *Copitarsia decolora* Guenée, *Plutella xylostella* L. y *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera) en *Brassica oleracea* L. Acta Zoológica Mexicana. 23 (2): 183-196.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2009.** Fresh fruits and vegetables. Import manual. United States Department of Agriculture, USA.
- VanEtten, C. H., M. E. Daxenbichler & H. L. Tookey. 1980.** Glucosinolates: potential toxicants in cabbage cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105 (5): 710-714.
- VanEtten, C. H., M. E. Daxenbichler, P. H. Williams & W. F. Kwolek. 1976.** Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables. Analysis of the edible part from twenty-two varieties of cabbage. J. Agric. Food. Chem. 24 (3): 452-455.
- Velasco, P., M., E. Cartea, C. González, M. Vilar & A. Ordás. 2007.** Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea* acephala group). J. Agric. Food. Chem. 55: 955-962.
- Venette, R. C. & J. R. Gould. 2006.** A pest risk assessment for *Copitarsia* spp., insect associated with importation of commodities into the United States. Euphytica. 148: 165-183.
- Volpe, P., M. Carfagna & M. Di Lorenzo. 1967.** Extraretinal pigmentation and color discrimination. I. Choice of color of substrate during oviposition in *Drosophila melanogaster*. J. Exp. Biol. 47: 297-305.

## **CAPÍTULO 2: IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA Y CARACTERIZACIÓN**

### **MOLECULAR DE *Copitarsia decolora* Y TRES DE SUS PARASITOIDES**

#### **HIMENÓPTEROS**

##### **RESUMEN**

La identificación de organismos se ha llevado a cabo principalmente mediante la comparación de caracteres morfológicos (tamaño, color, forma, estructuras específicas, etc.), esta técnica de comparación ha resultado útil, pero algunas veces es insuficiente para lograr una buena clasificación de los organismos, por lo que en la actualidad una herramienta que resulta de gran ayuda es la biología molecular. El objetivo de este trabajo fue la identificación morfológica de tres himenópteros parasitoides que atacan a larvas de *Copitarsia decolora*, así como la caracterización molecular de la plaga y tres himenópteros parasitoides de esta plaga. Para la identificación morfológica se utilizaron claves taxonómicas binomiales, así como la consulta con especialistas para la confirmación de los géneros y la determinación a especie de los parasitoides. Para la caracterización molecular se utilizaron los reactivos de extracción genómica de Quiagen®, se mandó a secuenciar a la empresa Macrogen, y las secuencias obtenidas se procesaron con el programa MEGA 4.0, SeqMan II v4.03 y Mr. Bayes v3.1.2. Se identificó mediante los caracteres morfológicos el género *Hyposoter* (Hymenoptera: Ichneumonidae), y las especies *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) y *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Se logró la amplificación parcial del Citocromo Oxidasa I de *C. decolora* y de los tres parasitoides; se elaboraron los árboles filogenéticos comparando las secuencias obtenidas con secuencias depositadas en el banco de genes.

**Palabras claves:** DNA, Genbank, *Hyposoter*, *Euplectrus platyhypenae*, *Netelia sayi*, parasitoides.

**CHAPTER 2: TAXONOMIC IDENTIFICATION AND MOLECULAR  
CHARACTERIZATION OF *Copitarsia decolora* AND THREE OF HIS  
HYMENOPTERA PARASITIDS**

**ABSTRACT**

Identification of insects has been carried out mainly by comparing the morphological characters (size, color, shape, specific structures, etc.). This approach has proved useful for comparison, but sometimes it is insufficient to achieve a good classification organism. Today one tool that is available and helpful is molecular biology. The aim of this study was the morphological identification of three hymenopterans parasitoids that attack larvae *Copitarsia decolora*, and molecular characterization of the pest and three of its hymenopterans parasitoids. For morphological identification binomial taxonomic keys were used, as well as consultation with specialists for confirmation of the genera and species determination of parasitoids. For the molecular characterization were used extraction reagents from Quiagen Genomic®, the sequence was made by Macrogen and the sequences obtained were processed with the program MEGA 4.0, SeqMan II v4.03 and Mr. Bayes v3.1.2. We were successful to identify by morphological characters to *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Amplification was achieved partial Cytochrome Oxidase I of *C. decolora* and the three parasitoids and phylogenetic trees were constructed by comparing the obtained sequences with sequences deposited in the genbank.

**Keywords:** DNA, Genbank, *Hyposoter*, *Euplectrus platyhypenae*, *Netelia sayi*, parasitoids.

## 2.1 INTRODUCCIÓN

El gusano del corazón de la col, *Copitarsia decolora*, es una plaga polífaga, cuyas poblaciones se controlan básicamente mediante métodos como el químico, cultural, y legal (Díaz *et al.*, 2003). El control biológico de esta plaga ha sido poco estudiado en México, y en los pocos estudios que se han hecho no se ha llegado a la identificación de las especies de los organismos que actúan en la regulación poblacional de esta plaga.

A pesar de que existen ciencias como la Taxonomía y la Sistemática, cuya finalidad es la de clasificar a los organismos (Alexander *et al.*, 1992; Prescott *et al.*, 1999), en muchos de los casos es casi imposible realizar la diferenciación y clasificación de organismos mediante las herramientas clásicas comparación de especímenes con especímenes depositados en museos y colecciones entomológicas, o la aplicación de claves taxonómicas, en las cuales la identificación de los ejemplares se basa en la observación de caracteres morfológicos externos (Angulo & Olivares, 2005; Triplehorn & Johnson, 2005) e internos (genitalia) (Angulo & Olivares, 2003).

En la actualidad una herramienta moderna que sirve de apoyo en la identificación de organismos cuando el estudio y análisis de los caracteres morfológicos resultan insuficientes para delimitar a nivel de especie, subespecie, linajes o biotipos es la biología molecular (identificación en base al DNA) (Lanteri *et al.*, 2002), este método nos ayuda a complementar la caracterización e identificación de los organismos mediante la obtención y utilización de las secuencias genéticas (Miller, 2007; Hajibabaei *et al.*, 2007), ya que conociendo éstas, se hace más sencilla la identificación de organismos, inclusive se pueden determinar los cambios en el

tiempo ocurridos en una población; esto último es casi imposible realizarse con la identificación clásica (uso de claves, comparación de ejemplares) ya que estos cambios pueden pasar inadvertidos si sólo se analizan los caracteres morfológicos (Armstrong & Ball, 2007; Haro *et al.*, 2005).

Al combinar el método clásico de identificación de los organismos y los métodos modernos, se tiene una mayor certidumbre de la identificación y ubicación correcta de los organismos con los que se realicen trabajos. En el caso de los insectos la correcta identificación de los insectos plaga y de los organismos que interactúan para regular de manera natural a las poblaciones de dichas plagas tiene un papel crucial, debido a que existen especies de insectos plaga que pueden afectar a un mismo cultivo, y cuyos caracteres morfológicos usados para su identificación sean muy similares (Triplehorn & Johnson, 2005), y la identificación incorrecta del insecto plaga, parasitoides y depredadores traerá problemas en el control de la plaga y, por ende, se provocarán pérdidas en la producción y comercialización, que se pueden solucionar mediante la identificación correcta de los organismos.

Por lo anterior, el fin del presente trabajo fue identificar con base en claves taxonómicas, a tres himenópteros parasitoides que regulan de manera natural a las poblaciones de *C. decolora* en la región de Texcoco, Estado de México, así mismo realizar la caracterización molecularmente del gusano del corazón de la col y de tres parasitoides himenópteros que interactúan con esta plaga.

## 2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.2.1 Manejo del material biológico utilizado

Se realizaron colectas de larvas de *Copitarsia decolora* de diferentes estados de desarrollo en cultivos de crucíferas a partir de agosto de 2006 a agosto de 2008 en lotes experimentales y comerciales ubicados en las cercanías de la Universidad Autónoma Chapingo y el Colegio de Postgraduados en Texcoco, Estado de México.

Las larvas colectadas fueron colocadas en recipientes de plástico de 25 mL de manera individual para evitar el canibalismo, y se les proporcionó dieta artificial (Cibrián & Sugimoto, 1992). Cuando las larvas pasaron al estado de pupa, se realizó el sexado de las mismas. Después de la emergencia de los adultos, se colocaron de 3 a 5 hembras e igual número de machos en un vaso plástico con capacidad de 540 mL; la boca de los vasos fue cubierta con papel secante, los adultos se alimentaron con una solución de agua y miel (10:1) proporcionada en un algodón. Las parejas se cambiaron a un vaso nuevo cada 24 horas durante siete días.

Por otra parte, las larvas colectadas en campo, que resultaron parasitadas se separaron, y se alimentaron para lograr la obtención del parasitoide adulto. Los adultos de los parasitoides obtenidos se colocaron en jaulas plásticas con capacidad de 10 L, fueron alimentados con una solución azucarada de agua y miel (10:1).

### **2.2.2 Identificación taxonómica**

Los himenópteros parasitoides fueron identificados a nivel de familia usando las claves dicotómicas para himenópteros de Triplehorn & Johnson (2005). Para el caso de ichneumonidos se utilizaron las claves de Townes (1969a, 1969b), mientras que para la identificación a género del parasitoide perteneciente a la familia Eulophidae se emplearon las claves de Schauff *et al.* (1997). Asimismo, se enviaron especímenes a taxónomos especialistas (Dr. Alejandro González Hernández especialista en Eulophidae, Dr. Samuel Ramírez Alarcón especialista en Ichneumonidae (género *Netelia*), PhDr. David Wahl especialista en Ichneumonidae, Dra. Juana María Coronado Blanco especialista en Ichneumonidae, Dr. Enrique Ruíz Cancino especialista en Ichneumonidae) para confirmar el género y, en su caso, determinar la especie. Ejemplares de referencia de los parasitoides fueron depositados en la colección de insectos del Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo.

### **2.2.3 Caracterización molecular**

La caracterización molecular de *C. decolora* y los himenópteros parasitoides se realizó después de haber hecho la identificación taxonómica clásica. La extracción de DNA se hizo de forma individual, utilizando material fresco de cada especie, 5 larvas de *C. decolora*, 5 adultos para *Hyposoter* sp.; 4 larvas y 1 pupa para *E. platyhypenae*; para *N. sayi* se utilizaron 3 adultos. Para la extracción del DNA genómico se utilizó el paquete de extracción de DNA de Quiagen®, y se purificó el producto de PCR con el kit de purificación de Quiagen® DNA total de tejidos animales. Enseguida se realizó una electroforesis para confirmar la presencia de DNA genómico; se utilizó un gel de agarosa a 8%, preparado con Buffer TBE al 0.5%, y etidium al 1%. En cada pozo del gel, se depositaron 5µL de cada una de las extracciones y se

les adicionó 2µL del buffer de carga, y en otro pozo se depositaron 5 µL del ADN escalera (Promega®). Las muestras en la cámara de electroforesis Minicell®Primo™ se mantuvieron por espacio de 30 minutos a 80 volts. La confirmación de presencia de DNA total, se documentó en un fotodocumentador Gene Wizard de Syngene Bio Imaginable.

Para la amplificación parcial del gen Citocromo Oxidasa I (COI) de cada una de las especies se utilizaron diferente iniciadores: para *C. decolora* se emplearon los iniciadores universales C1-J-1718 (F) (GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC) con sentido y C1-N-2329 (R) (ACTGTAA-ATATATGATGAGCTCA) el contrasentido (Simon *et al.*, 1994) que amplifican aproximadamente 611 pares de bases (pb), y se complemento con el par de iniciadores específicos CPCO-2050 (F) (GAGCTGTAGGAATACAGCAATT) y CPCO-2640 (R) (CCTCCTAAAATAGCAAATACTG-CTCC) (Simmon & Pogue, 2004) que pueden amplificar hasta 590 pb. Para la amplificación del DNA de *Hyposoter* sp., se utilizaron los iniciadores universales C1-J-1718 (F) y C1-N-2329 (R); para la amplificación del COI de *E. platyhypenae* se usaron los iniciadores universales C1-J-1718 C1-J-1718 (F) y TL2-N3014 (R) (TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA), que amplifican 1296 pb Para lograr la amplificación parcial del DNA mitocondrial de *N. sayi*, se usaron los iniciadores C1-J-2183 (CAACATTTATTTTGATTTTTTGG) (F) y TL2-N3014 (R) (TCCAATGCACTAATCTGC-CATATTA) (R), con este par de iniciadores se puede lograr una amplificación de 831 pb.

La mezcla de amplificación para *C. decolora*, se realizó en 25 µL, ésta contuvo: 5 µL de Buffer 5X; 3 µL dNTPs; 1 µL de cada iniciador; 3.5µL cloruro de magnesio 50 mM; 0.25 µL de Taq polimerasa; 1 µL de DNA y 10.25 µL de agua. Para el caso de *Hyposoter* sp., las concentraciones fueron similares excepto en DNA y agua, en este caso se utilizaron 2 µL de

DNA y 9.25  $\mu\text{L}$  de agua. Para *E. platyhypenae* y *N. sayi*, se utilizaron 3.75  $\mu\text{L}$  de cloruro de magnesio, 5  $\mu\text{L}$  de DNA y 6  $\mu\text{L}$  de agua.

Las condiciones de amplificación de la PCR se ajustaron para cada una de las especies, para *C. decolora* fueron 104° C en la tapa del termociclador; 94° C durante 2 minutos en el proceso de inicialización; seguido de 30 ciclos a 94° C durante un minuto para desnaturalizar el DNA; 45° C por 45 segundos para alinear el DNA, y 72° C durante un minuto para lograr la extensión de cadena; después de esto 72° C durante ocho minutos para la elongación final; y 4° C para conservar el DNA. En el caso de *Hyposoter* sp. y *E. platyhypenae*, las condiciones fueron similares excepto en la temperatura de alineamiento la cual aumentó a 52° C para *Hyposoter* sp. y para *N. sayi*; mientras que para *E. platyhypenae* la temperatura fue de 45.5° C.

La confirmación de amplificación del gen COI se realizó con una electroforesis, en la que se utilizaron 5  $\mu\text{L}$  de la reacción más 2  $\mu\text{L}$  de buffer de carga (Promega), con las mismas condiciones empleadas para la confirmación del ADN genómico. Una vez que se confirmó la amplificación, el producto se limpió con el equipo y protocolo de purificación para PCR MinElute de Quiagen. El producto purificado se mandó a secuenciar a la compañía MacroGen, ubicada en Seúl, Corea.

Las secuencias de cada par de iniciadores fueron ensambladas en SeqMan II v4.03 (DNASar, Inc, 1997), se obtuvieron secuencias similares de la base de datos del Centro Nacional para Información Biotecnológica (NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) mediante un software de comparación (Blast), las secuencias seleccionadas se alinearon utilizando el programa Mega 4.0 (Tamura *et al.*, 2007). Se realizó la correspondiente lectura de

aminoácidos con el código genético para invertebrados utilizando el programa MEGA 4.0 (Tamura *et al.*, 2007); una vez que se comprobó la lectura de aminoácidos, se obtuvo la distancia genética con base en el número de bases diferentes; después se realizó la reconstrucción de la filogenia de las secuencias obtenidas utilizando el método de Neighbor Joining y con modelo de sustitución Tamura-Nei, Máxima Parsimonia con un tipo de búsqueda de árboles heurística y con estadística bayesiana con el modelo inicial 4x4 General Tiempo Reversible, este último utilizando el programa MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2007).

## **2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.3.1 Identificación taxonómica.**

Todas las larvas de lepidóptera colectadas en los cultivares de col, coliflor y brócoli se identificaron como pertenecientes a la especie *Copitarsia decolora* (Guenée) mediante los características morfológicas para larvas proporcionadas por Angulo & Weigert (1975) y Suárez *et al.* (2006). En esta misma zona de estudio, se colectaron tres especies de himenópteros parasitoides. Utilizando las claves dicotómicas de Triplehorn & Johnson (2005) se logró identificar a la familia de dichos parasitoides, dos de las tres especies correspondieron a la familia Ichneumonidae y la restante a la familia Eulophidae.

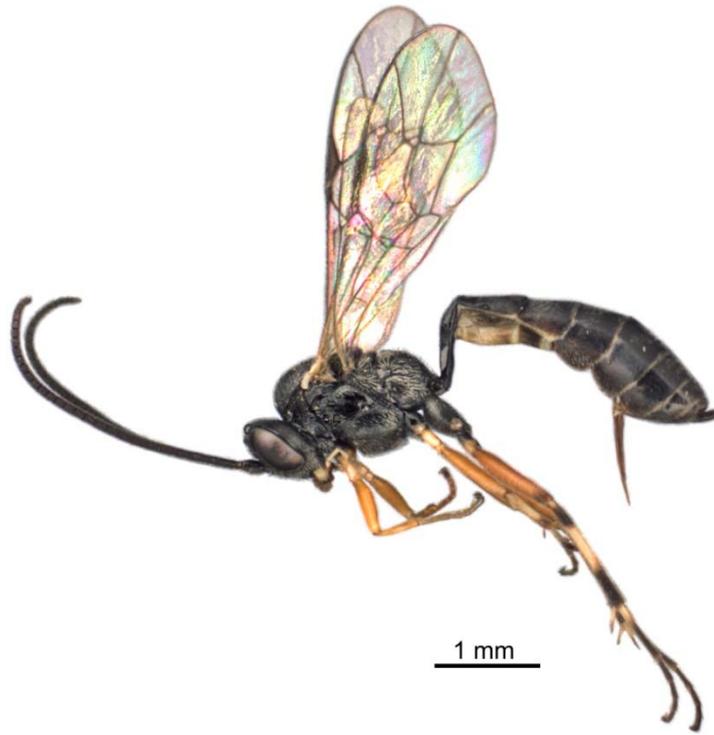
Por medio de las claves para Ichneumonidae de Townes (1969a) y Townes (1969b), se logró identificar al género de *Hyposoter* Foerster (Figura 2.1), y al género *Netelia*. La

determinación de la especie del género *Hyposoter* no fue posible debido a que no hay claves taxonómicas ni especialistas que pudieran apoyar en la identificación de la misma. La especie del género *Netelia*, se logró mediante la ayuda del Dr. Samuel Alarcón Ramírez, quien la determinó como *Netelia sayi* Cushman (Fig. 2.2).

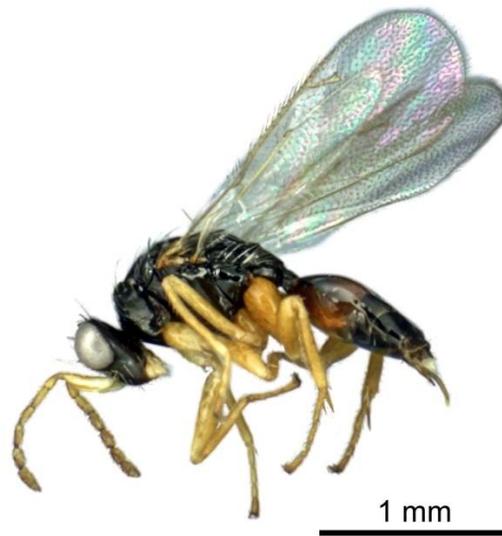
Con la clave de Schauff *et al.* (1997) se determinó que uno de los géneros que afectan a las larvas de *C. decolora* es *Euplectrus*. Para la determinación de la especie se enviaron especímenes al Dr. Alejandro González Hernández de la Universidad Autónoma de Nuevo León, especialista en la familia Eulophidae en México, quien identificó a los ejemplares como *Euplectrus platyhypenae* Howard (Fig. 2.3).



**Fig. 2.1.-** Macho de *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae)



**Fig. 2.2.-** Hembra de *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae)



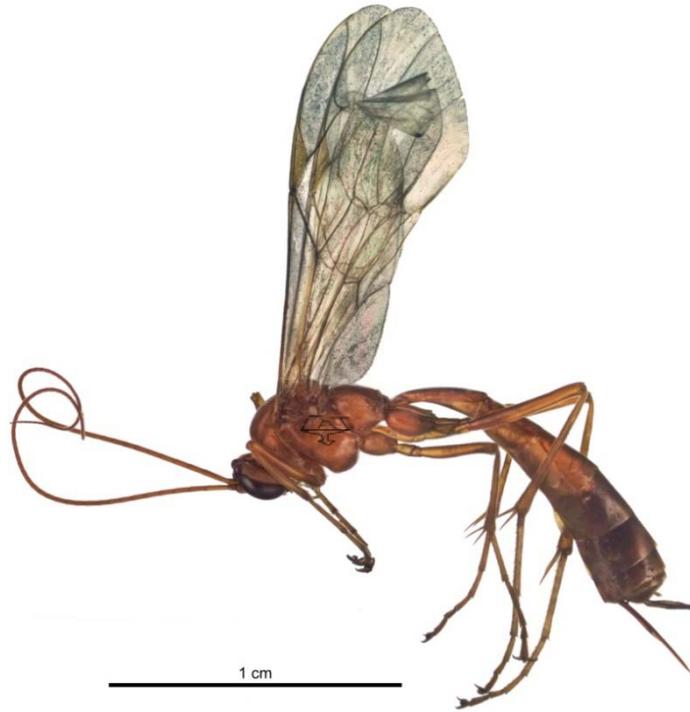
**Fig. 2.3.-** Macho de *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae)



**Fig. 2.4.-** Hembra de *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae).



**Fig. 2.5.-** Macho de *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae)



**Fig. 2.6.-** Hembra de *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae)

### **2.3.2 Caracterización molecular**

Para *C. decolora* se obtuvieron de 611 a 900 pares de bases (Cuadro 2.1). La búsqueda de secuencias genéticas similares se realizó utilizando la secuencia EU821465 en la base de datos de NCBI, de donde se obtuvo a secuencias similares con otras especies de nóctuidos que no correspondieron al género *Copitarsia*, a pesar de la existencia de secuencias de esta especie en la base de datos NCBI. Esto fue debido a que el fragmento analizado por Simmons & Scheffer (2004) corresponde a un fragmento más pequeño (543pb) que el que se utilizó en esta investigación (611pb) y corresponde a una región contigua, con 294pb de compartidas, por

otro lado otras secuencias de esta especie con un mayor número de bases (1200) no están completas y presentan fragmentos internos sin definición de bases, por lo que la similitud entre la secuencia obtenida y las depositadas por otros autores en el NCBI para el género *Copitarsia* es nula.

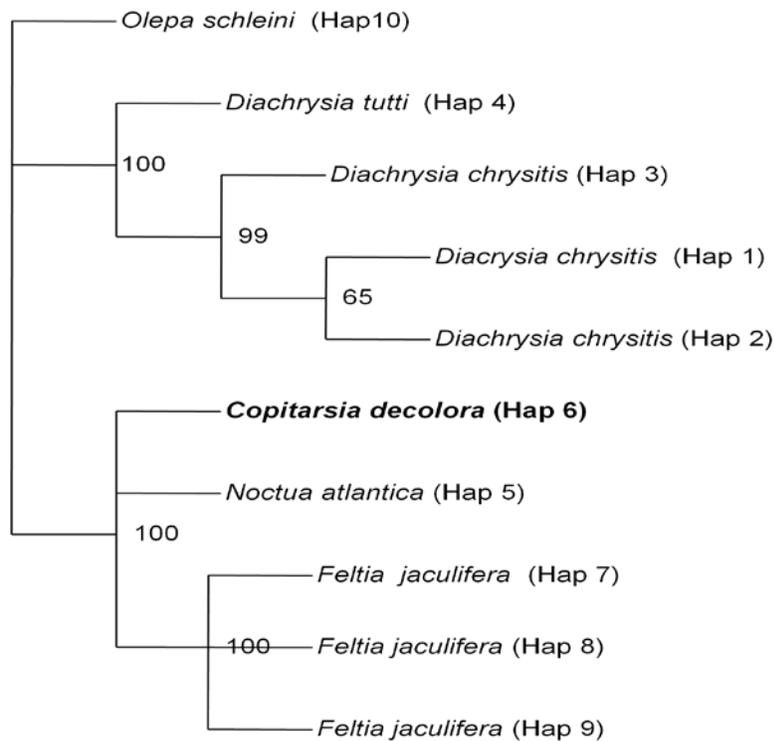
Sin embargo, se encontraron secuencias de otros nóctuidos, cuya similitud con la secuencia de *C. decolora* fue del 90 al 91%; éstas, se utilizaron para ubicar la especie taxonómicamente con base a el segmento analizado para la reconstrucción del árbol filogenético de este organismo se seleccionó a *Olepa schleini* Witt, Müller, Kravchenko, Miller, Hausmann & Speidel. (Lepidoptera: Arctiidae) como grupo de comparación (Cuadro 2.1).

**Cuadro 2.1.-** Secuencias utilizadas para la reconstrucción del árbol filogenético de *Copitarsia decolora*, obtenidas del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (15/03/08).

<b>Especie</b>	<b>No. de acceso</b>	<b>pb</b>	<b>Haplotipo</b>	<b>Identidad Máxima</b>
<i>Copitarsia decolora</i>	EU821465	900	<b>6</b>	<b>100%</b>
<i>Copitarsia decolora</i>	EU876681	654	<b>6</b>	<b>100%</b>
<i>Copitarsia decolora</i>	EU876673	656	<b>6</b>	<b>100%</b>
<i>Copitarsia decolora</i>	EU876674	611	<b>6</b>	<b>100%</b>
<i>Copitarsia decolora</i>	EU876675	652	<b>6</b>	<b>100%</b>
<i>Diachrysia chrysitis</i>	AJ420366	1530	<b>1</b>	91%
<i>Diachrysia chrysitis</i>	AJ420361	1530	<b>2</b>	91%
<i>Diachrysia chrysitis</i>	AJ420358	1458	<b>3</b>	91%
<i>Diachrysia tutti</i>	AJ420369	1530	<b>4</b>	91%
<i>Noctua atlántica</i>	AY600452	1579	<b>5</b>	92%
<i>Feltia jaculífera</i>	DQ792592	2301	<b>7</b>	92%
<i>Feltia jaculífera</i>	U60990	2301	<b>8</b>	92%
<i>Feltia jaculífera</i>	DQ792591	2301	<b>9</b>	92%
<i>Olepa schleini</i>	AM050276	1530	<b>10</b>	Grupo de comparación

**Nota:** Las secuencias de *Copitarsia decolora* fueron las obtenidas en el presente trabajo.

Con los datos que se muestran en el Cuadro 2.1, se puede señalar la región que se analizó en este trabajo, COI 1718-2640, es una región que no se ha estudiado mucho en este género, sin embargo es posible asociarla con especies relacionadas, mediante herramientas de reconstrucción de filogenia, basado en caracteres compartidos de secuencias de DNA. Para ello, se utilizaron las secuencias genéticas del cuadro 2.1, y se elaboró el árbol filogenético (Fig.2.7), utilizando estadística bayesiana por la alta similitud detectada entre las secuencias a comparar.



**Fig. 2.7.-** Árbol filogenético de *Copitarsia decolora* con base en estadística bayesiana. usando el modelo de sustitución inicial 4x4, general tiempo reversible con 30, 000 generaciones.

La reconstrucción de la filogenia de esta especie con base en la secuencia de nucleótidos que se obtuvo en esta investigación y a las secuencias de la familia Noctuidae relacionadas que se obtuvieron del banco de genes, se agrupó a estos individuos a nivel de subfamilia, por

un lado la subfamilia Plusiinae y por otro las subfamilias Noctuinae y Cuculiinae, dentro de este último se coloca a *C. decolora*, ligada genéticamente a *Noctua atlantica* y *Feltia jaculífera*, que corresponde a la ubicación taxonómica de esta especie con base en caracteres morfológicos, por lo que se puede señalar que este fragmento permite discriminar hasta nivel de subfamilia y en la medida en que se tengan secuencias de esta misma región de otras especies relacionadas se podrá corroborar su eficiencia en la discriminación de géneros y especies.

En el caso de los especímenes de *Hyposoter*, se amplificó parcialmente al COI para cuatro de los cinco ejemplares usados para este fin, la longitud de las secuencias obtenidas fueron 614±2 pb, las secuencias de estos ejemplares no presentaron variación entre ellas, por lo que se considero que no hay variación en dicha especie en el fragmento analizado. La búsqueda de secuencias similares en el banco de genes del NCBI se realizó con la secuencia de mayor longitud (EU876679), encontrándose secuencias cuyo porcentaje de similitud fue del 86 al 91% (Cuadro 2.2), estos valores nos indica que al igual que en caso de *Copitarsia decolora*, no hay mucha información relacionada con esta especie en el banco de genes.

**Cuadro 2.2.-** Secuencias utilizadas para la obtención del árbol filogenético de *Hyposoter* sp., obtenidas del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (15/03/08).

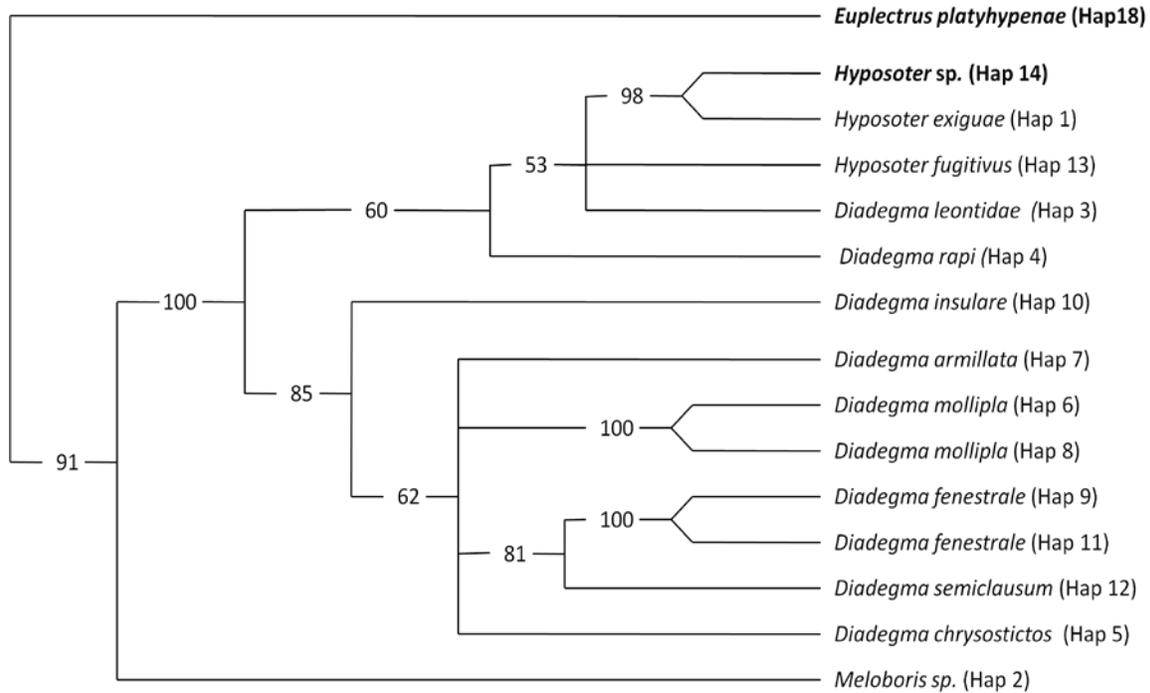
<b>Especie</b>	<b>No. de acceso</b>	<b>Pb</b>	<b>Haplotipo</b>	<b>Identidad Máxima</b>
<i>Hyposoter</i> sp.	EU876678	612	14	100%
<i>Hyposoter</i> sp.	EU876680	615	14	100%
<i>Hyposoter</i> sp.	EU876682	615	14	100%
<i>Hyposoter</i> sp.	EU876679	616	14	100%
<i>Hyposoter exiguae</i>	DQ538855	420	1	91%
<i>Meloboris</i> sp.	AJ888024	653	2	86%
<i>Diadegma leontiniae</i>	AJ888018	832	3	91%

**Continuación Cuadro 2.2**

<b>Especie</b>	<b>No. de acceso</b>	<b>Pb</b>	<b>Haplotipo</b>	<b>Identidad Máxima</b>
<i>Diadegma rapi</i>	AJ888019	498	4	87%
<i>Diadegma chrysostictos</i>	AJ888022	966	5	91%
<i>Diadegma mollipla</i>	AJ888005	588	6	91%
<i>Diadegma armillata</i>	AJ888014	630	7	90%
<i>Diadegma mollipla</i>	AJ888007	530	8	91%
<i>Diadegma fenestratale</i>	AB379579	610	9	90%
<i>Diadegma insulare</i>	AJ888015	651	10	89%
<i>Diadegma fenestratale</i>	AJ888012	652	11	91%
<i>Diadegma semiclausum</i>	AB379582	610	12	91%
<i>Hyposoter fugitivus</i>	DQ538858	420	13	89%
<i>Euplectrus platyhypenae</i>	EU876676	1187	18	Grupo de comparación

Nota: Las secuencias de *Hyposoter* sp. fueron las obtenidas en el presente trabajo.

Para la ubicación taxonómica de esta especie por medio de relaciones filogenéticas basadas en la secuencia de DNA de gen COI de la mitocondria, se obtuvieron secuencias del banco de genes con base en los valores de similitud entre las secuencias y la de *Hyposoter* sp. Dentro del grupo de los Campopleginae, Para la reconstrucción de la filogenia se uso estadística bayessiana para la elaboración del árbol filogenético, se uso como grupo de comparación a *Euplectrus platyhypenae* (Fig. 2.8).



**Fig. 2.8.-** Árbol filogenético de *Hyposoter* sp., con base en estadística bayesiana. usando el modelo de sustitución inicial 4x4, general tiempo reversible con 30, 000 generaciones.

La reconstrucción de la filogenia de *Hyposoter* sp., agrupa en primer término a las tres secuencias del género *Hyposoter* y después al género *Diadegma*. La relación del género *Hyposoter* tiene diferentes niveles de probabilidad de que sean correctos, con *H. exiguae* (Viereck), es de 98%, mientras que el grupo formado por *Hyposoter* sp. y *H. exiguae* se relaciona con *Hyposoter fugitivus* (Say) con un 53% de probabilidad, este valor nos indica que el número de mutaciones entre las tres secuencias es mayor que la que tiene entre las dos primeras, y por lo tanto la confiabilidad de este grupo se reduce en este clado. El análisis independiente de las secuencias de estas tres especies señala que en las 420pb analizadas 35 son variables entre *Hyposoter* sp. e *H. exiguae*, y los cambios que se presentan no representan cambios en la composición de amino ácidos, pero si en uso preferencial de codones, en tanto

que entre *Hyposoter* sp. e *H. fugitivus* el número de cambios es de 43, y si hay cambios en la composición de amino ácidos, por lo que se puede señalar que este grupo es muy diverso y para poder tener una mayor confiabilidad en la taxonomía de la especie se requiere de un mayor número de ejemplares de este grupo que presente puntos intermedios entre las secuencias depositadas en banco de genes.

Se amplificó parcialmente el gen COI mitocondrial de dos ejemplares de *E. platyhypenae*, las longitudes de las secuencias obtenidas fueron de 1178 y de 1187 pb. La búsqueda de secuencias genéticas similares en la base de datos del NCBI, se realizó con la secuencia EU876676. Se obtuvo similitud con las secuencias genéticas de organismos pertenecientes a las familias Eulophidae, Agaonidae, Torymidae, Eurytomidae y Mymaridae; sin embargo por el bajo porcentaje de similitud entre las secuencias genéticas obtenidas y la de *E. platyhypenae* se seleccionaron únicamente las secuencias pertenecientes a los organismos pertenecientes a la familia Eulophidae, ya que se consideró que entre estas secuencias y la de *E. platyhypenae* la similitud debe ser mayor, las secuencias consideradas para este objetivo se muestran en el Cuadro 2.3, se utilizó como grupo externo de comparación la secuencia obtenida para *Hyposoter* sp.

**Cuadro 2.3.-** Secuencias utilizadas para la obtención del árbol filogenético de *Euplectrus platyhypenae*, obtenidas del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (15/03/08).

<b>Especie</b>	<b>No. de acceso</b>	<b>Pb</b>	<b>Haplotipo</b>	<b>Identidad Máxima</b>
<i>Euplectrus platyhypenae</i>	EU876677	1178	1	100%
<i>Euplectrus platyhypenae</i>	EU876676	1187	1	100%
<i>Eulophus</i> sp.	DQ149197	740	2	85%
<i>Entedon</i> sp.	DQ149194	753	3	86%

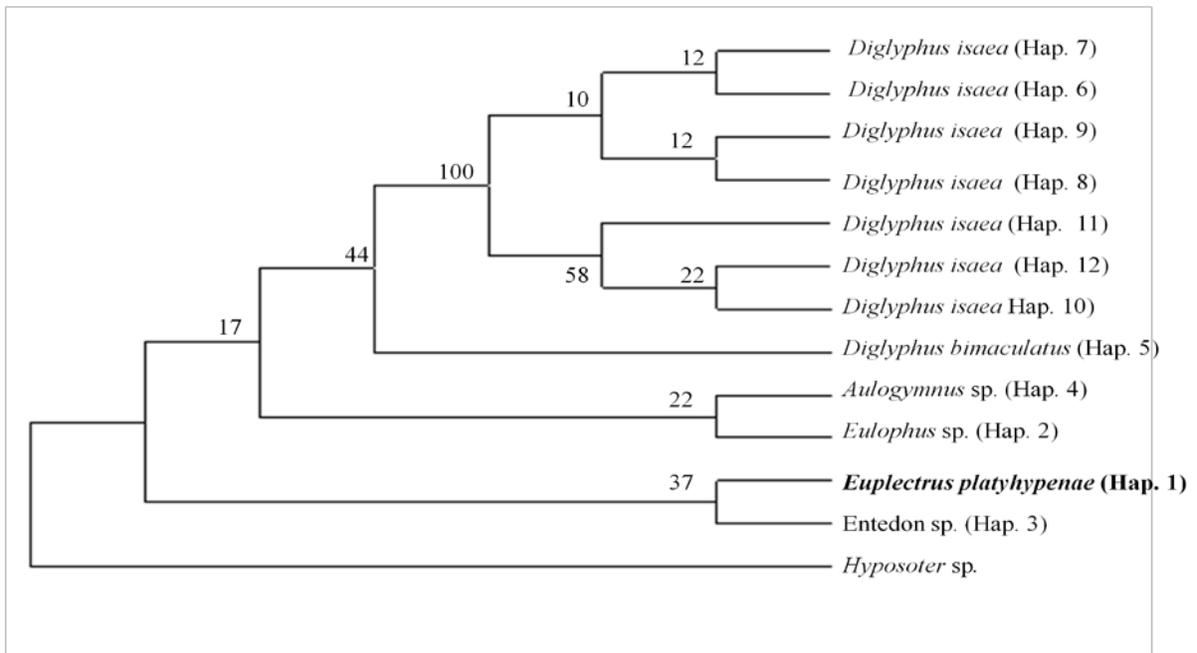
**Continuación Cuadro 2.3**

<b>Especie</b>	<b>No. de acceso</b>	<b>Pb</b>	<b>Haplotipo</b>	<b>Identidad Máxima</b>
<i>Aulogymnus sp</i>	DQ149154	750	4	84%
<i>Diglyphus bimaculatus</i>	DQ149161	757	5	85%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149185	761	6	84%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149174	759	7	84%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149172	758	8	84%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149176	761	9	84%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149170	761	10	84%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149187	761	11	84%
<i>Diglyphus isaea</i>	DQ149169	761	12	85%
<i>Hyposoter sp.</i>	EU876679	616	Grupo de comparación	

Nota: Las secuencias de *Euplectrus platyhypenae* fueron obtenidas en este trabajo.

A pesar de haber sido seleccionadas únicamente las secuencias genéticas pertenecientes a la Familia Eulophidae, los valores de la similitud entre la secuencia de *E. platyhypenae* y los organismos seleccionados son bajos (84-86%), aunado a esto el porcentaje de cubrimiento entre las secuencias genéticas fue del 61 al 62%, lo que nos indica que no hay mucha información relacionada con el gen COI mitocondrial de esta especie en el banco de genes.

Para realizar la reconstrucción filogenética de esta especie, basada en los caracteres compartidos de las secuencias de DNA, se utilizaron las secuencias genéticas del cuadro 2.3, y se elaboró el árbol filogenético correspondiente; mediante el método de Máxima Parsimonia (Fig. 2.9).



**Fig.2.9.-** Árbol filogenético de *Euplectrus platyhypenae* generado mediante el método de Máxima parsimonia, Bootstrap con 100 replicas.

Como se puede observar en el árbol filogenético de *E platyhypenae*, los valores obtenidos en cada clado son bajos, para mejorar los valores de confiabilidad obtenidos es necesario la caracterización molecular de mas especímenes del género *Euplectrus*, o en su defecto incrementar el número de secuencias de los Eulophidos que están reportados en la base de datos del NCBI, y que dichas secuencias sean de un tamaño similar.

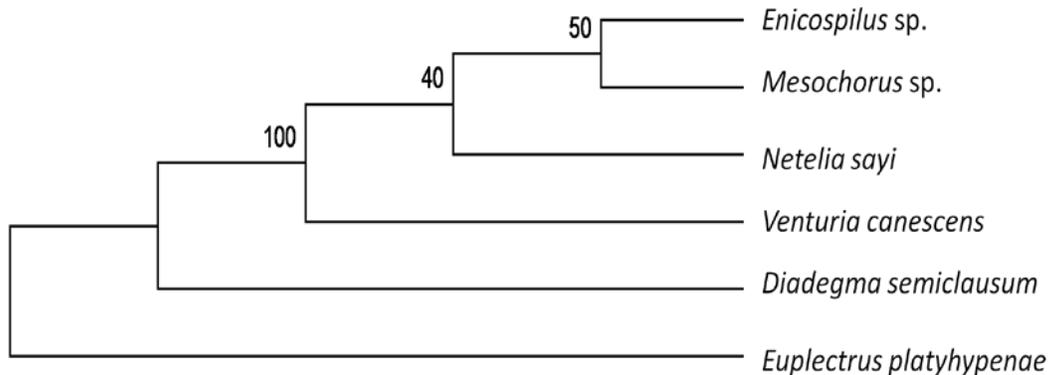
Se logró la amplificación parcial del COI mitocondrial de tres especímenes de *Netelia sayi*, el tamaño de los fragmentos de DNA obtenidos fueron de 825+2. La búsqueda de secuencias similares en la base de datos del NCBI se realizo utilizando una de las secuencias más grandes. Se encontraron únicamente cuatro secuencias genéticas de organismos pertenecientes a la familia Ichneumonidae (Cuadro 2.4).

**Cuadro 2.4.-** Secuencias utilizadas para la obtención del árbol filogenético de *Netelia sayi*, obtenidas del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (20/07/09).

<b>Especie</b>	<b>No. de acceso</b>	<b>Pb</b>	<b>Haplotipo</b>	<b>Identidad Máxima</b>
<i>Netelia sayi</i>		<b>827</b>	<b>1</b>	<b>100</b>
<i>Netelia sayi</i>		<b>825</b>	<b>1</b>	<b>100</b>
<i>Netelia sayi</i>		<b>827</b>	<b>1</b>	<b>100</b>
<i>Venturia canescens</i>	FJ478176	13367	2	86
<i>Enicospilus</i> sp.	FJ478177	15300	3	85
<i>Diadegma semiclausum</i>	EU871947	18728	4	85
<i>Mesochorus</i> sp.	AY579636	808	5	84
<i>Euplectrus platyhypenae</i>	EU876676	1187	Grupo de comparación	

Nota: Las secuencias de *Netelia sayi* fueron obtenidas en el presente trabajo.

Debido los porcentajes de similitud entre las secuencias obtenidas de la base de secuencias del NCBI, en la elaboración del árbol filogenético de *N. sayi*, en lugar de utilizar la estadística bayesiana, el árbol filogenético de *N. sayi* se generó utilizando el método de Máxima parsimonia, utilizando como grupo de comparación externo a *E. platyhypenae* (Fig. 2.10).



**Fig. 2.10.-** Árbol filogenético de *Netelia sayi* generado mediante el método de Máxima parsimonia, Bootstrap con 100 replicas.

En el porcentaje de cubrimiento de las secuencias de *N. sayi*, y las obtenidas de la base de datos del NCBI para el establecimiento de las relaciones filogenéticas con otros organismos pertenecientes a la Familia Ichneumonidae estuvo entre el 95 y 97; sin embargo los valores de similitud fueron bajos (84-86%), lo que se refleja en la pobre confiabilidad que se obtuvo para el clado que relaciona a *N. sayi* con *Mesochorus* sp y *Enicospilus* sp.

En este caso, la manera incrementar la confiabilidad entre los clados se puede dar mediante el incremento de secuencias genéticas de especies relacionadas a *N. sayi*, ya que la familia Ichneumonidae es una de las numerosa, y la obtención de secuencias del género *Netelia* es una de las formas más directas para poder aumentar los valores de confiabilidad en la reconstrucción de la filogenia mediante caracteres moleculares.

El uso práctico de la caracterización molecular de *C. decolora* y los parasitoides *Hyposoter* sp., *E. platyhypenae* y *N. sayi* mediante la amplificación del COI, es que una vez que estas secuencias estén disponibles en alguna base de datos de secuencias genéticas -tales como el NCBI-, podrán ser utilizadas para la identificación de especies mediante la comparación de secuencias o perfiles de DNA de una manera rápida y confiable (Miller, 2007) Esta práctica disminuiría la identificación errónea de especies morfológicamente indistinguibles (caso *Copitarsia decolora* y *C. corruda* (Pogue & Simmons, 2008)); y por otro lado, la comparación sería más robusta pues incluiría a todas las especies reportadas en la base de datos, lo cual representa una ventaja cuando se trata de organismos exóticos, que pueden afectar la producción agrícola, cosa que no está lejos de lo que se vive en la actualidad, pues debido al comercio globalizado la movilización de plagas entre los países se da de una manera rápida,

por lo que contar con este tipo de herramientas puede ayudar a una identificación rápida y certera para establecer las medidas de control pertinentes para lograr el control y erradicación de plagas cuarentenarias.

En México la biología molecular aplicada a la identificación de especies insectiles aun no es utilizada por las dependencias oficiales, el Centro Nacional de Referencia perteneciente a la Dirección General de Sanidad Vegetal basa la identificación de los insectos plaga en la identificación mediante el uso de claves taxonómicas y comparación de ejemplares, pero en cuestiones de patógenos si se usa la biología molecular como herramienta común en su identificación<sup>1</sup>, lo que permite evitar la introducción de patógenos que México considera como cuarentenarios.

## 2.4 CONCLUSIONES

Se identificó a nivel de género a *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae); a nivel de especie se identificó a *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) y *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae).

En el presente estudio, se logró amplificar parcialmente el gen Citocromo Oxidasa I (COI), tanto para *C. decolora* como para sus parasitoides: *Hyposoter* sp., *E. platyhypenae* y *N. sayi*.

El soporte filogenético de *C. decolora*, *Hyposoter* sp., *E. platyhypenae* y *N. sayi*, puede incrementarse de dos maneras: la primera es incrementando el número de bases en las

---

<sup>1</sup> Comunicación personal: Villegas, N. Jefe del Área de Análisis de Riesgo. Centro Nacional de Referencia. Dirección General de Sanidad Vegetal.

secuencias existentes en el NCBI de las otras especies con las cuales se realizó la comparación; y la segunda es incrementando el número de organismos relacionados.

## 2.5 LITERATURA CITADA

**Alexander, P., M. J. Bahret, J. Chaves, G. Courts & N. Skolky D'Alessio. 1992.** Biología. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey. 717p.

**Angulo, O. A. & Weigert G. 1975.** Estados inmaduros de lepidópteros nóctuidos de importancia económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae). Sociedad de Biología de Concepción. Publicación especial No.2. 153p.

**Angulo, O. A. & T. S. Olivares. 2003.** Actualización taxonómica de las especies de *Copitarsia* Hampson 1906, (Lepidoptera: Noctuidae: Cuculliinae). Gayana. 67 (1): 33-38.

**Angulo, O. A. & T. S. Olivares. 2005.** Two larval characters to separate *Copitarsia incommoda* (Walker) from *C. decolora* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). Gayana 69 (2): 409-410.

**Armstrong, K. F. & S. L. Ball. 2007.** DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. Mol. Phy. Evol. 44(1): 320-340.

**Cibrián, T. J. & A. Sugimoto. 1992.** Elaboración de una dieta artificial para la cría de *Copitarsia consueta* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). In: Memorias del XXVII Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología. p 416

**Díaz, G. O., C. Flores & A. N. Rojas. 2003.** Manejo integrado de *Copitarsia incommoda* (WALKER). In Memorias del Simposio Nacional sobre *Copitarsia incommoda*. Ixtapa- Zihuatanejo, Gro., México. p 57-65.

**DNASTAR, Inc. 1997.** SeqMan II v. 4.03. Madison, Wisconsin, USA.

**Hajibabaei, M., G. A. C. Singer, P. D. N. Hebert & D. A. Hickey. 2007.** DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TIG.* Vol. 23 No. 4: 167-172.

**Haro, A., N. Pagès & V. Sarto M. 2005.** Relaciones filogenéticas, según el gen citocromo oxidasa I (COI), entre la fauna Ibero-Marroquí de *Cataglyphis* grupo *albicans* (Hym. Formicidae). *Boln. Asoc. Esp. Ent.*, 29(1-2): 99-109.

**Huelsenbeck, J. P. & F. Ronquist. 2007.** Mr. Bayes. v.3.1.2 (Bayesian Analysis of Phylogeny).

**Lanteri, A. A., M. S. Loíacono & C. Margaría. 2002.** Aportes de la biología molecular a la conservación de los insectos. *PrIBES.* Vol. 2: 207-220.

**Miller, S. E. 2007.** DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *PNAS.* Vol. 104. No. 12: 4775-4776.

**Pogue, M. C. & R. B. Simmons. 2008.** A new pest species of *Copitarsia* (Lepidoptera: Noctuidae) from the Neotropical Region Feeding on Asparagus and Cut Flowers. *Ann. Ent. Soc. America* 101: 743-762.

**Prescott, L. M., J. P. Harley & D. A. Klein. 1999.** McGraw-Hill Interamericana de España. Aravaca, Madrid. 1116p.

**Schauff, M. E., J. LaSalle & L. D. Coote. 1997.** Eulophidae. p 327-381. *In* Annotated keys to the genera of nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). G. A. P. Gibson; J.T. Huber & J.B. Woolley (Eds). National Research Council of Canada. 794p.

**Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu & P. Flook. 1994.** Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87 (6): 651-700.

**Simmons, R. B. and M. C. Pogue. 2004.** Redescription of two often-confuse noctuid pests, *Copitarsia decolora* and *Copitarsia incommoda* (Lepidoptera: Noctuidae: Cucullinae). Ann. Entomol. Soc. Am.. 97 (6): 1159-1164.

**Suárez, V. A. D., N. Bautista M., J. Valdez C., A. Angulo O., R. Alatorre R., J. Vera G., A. Equihua M. y V. Manuel P. 2006.** Fluctuación poblacional de *Copitarsia decolora* (Gueéne) y su asociación con crucíferas comerciales. Agrociencia 40: 501-509.

**Tamura, K., J. Dudley, M. Nei & S. Kumar. 2007.** Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) v. 4. Center of Evolutionary Functional Genomics Biodesign Institute Arizona State University.

**Townes, H. K. 1969a.** The genera of Ichneumonidae. Mem. Amer. Ent. Ins. Vol. 11. 300p.

**Townes, H. K. 1969b.** The genera of Ichneumonidae. Mem. Amer. Entomol. Ins. Vol. 13. 307p.

**Triplehorn, C. A. & N. F. Johnson. 2005.** Borror and Delong's introduction to the study of insects. Thomson Brooks/Cole. Seven edition. 864p.

## Apéndice A

Características morfológicas de la familia Ichneumonidae y Eulophidae:

La familia Ichneumonidae agrupa a más de 3 300 especies en Norteamérica, las especies pertenecientes a esta familia se reconocen fácilmente por la venación, ya que en las alas anteriores no presentan celda costal, presentan dos venas medio-cubital transversales (venas recurrentes); las celdas 1M y 1R<sub>1</sub> (primera celda submarginal y primera discoidal respectivamente) son confluentes, mostrando la pérdida de las venas Radial + Media (base de la vena Cu) y la segunda celda submarginal (1Radial) está situada en el lado opuesto a la vena 2 medio-cubital, a menudo es muy pequeña, pudiendo faltar en alguna especies. Las antenas son de 16 o más segmentos, usualmente presentan una longitud de por lo menos la mitad de la longitud del cuerpo.

La familia Eulophidae presenta alrededor de 500 especies en Norteamérica, los eulophidos son himenópteros de tamaño diminuto (1 a 3 mm) La mayoría son de color negro, muchos con tono metálico. La venación de las alas es reducida, la mayoría de los eulophidos se reconocen por presentar la formula tarsal 4-4-4, axilas extendidas más allá de las tégulas, y por la presencia de una espuela apical recta y corta en las tibias anteriores.

## Apéndice B

Secuencias genéticas obtenidas:

### *Copitarsia decolora*, (EU821465), 900 bp. DNA lineal.

atatagcatttcctcgaataaataatataagttttgactttacccccctattaactttattaattcaagaagtattgtagaaaatggagcag  
gaactggatgaacagtgtacccccactttcatctaatttgctcatggtggaagatcagttgatcttgctatTTTTTTTtacatttagctggta  
ttcttctatTTTtaggagcaattaattttactacaattattaatatac gattaaatagcttatctttgatcaaacctttatttttagctgtag  
gaattacagcattttattattattatctttacctgtatttagctggtgctattactatactTTTaaacagatcgaattTaaatacatctTTTTgatcct  
gctggaggaggagatcctattttatatcaacattttttgattttcggacatccagaagtttatTTTTaccaggatttggataattct  
catattttcccaagaaagaggaaaaaagaaacctttggatgtttagggataattatgctatattagctattggattattaggattttgtt  
tgagcccatcacatTTTtacagtaggaatagatattgatactcgagcttattcacttcagcaactataattttgccgtaccaaccggatta  
aaatttttagatgatttagctactttcacgggtacacaaattaatttccccctctattttatgaagattaggattgtattttatttacagttggag  
ggtaacaggagtaattttatctaattcatcaattgatattactctcatgatacttattatgtagtagctattttcattatgTTTTatctataggagc  
agtatttgctattttaa

### *Copitarsia decolora*, (EU876681), 654 bp. DNA lineal.

caggggccaggatatagcatttcctcgaataaataatataagttttgactttacccccctattaactttattaattcaagaagtattgtaga  
aaatggagcaggaactggatgaacagtgtacccccactttcatctaatttgctcatggtggaagatcagttgatcttgctatTTTTTTTta  
catttagctggtatttcttctatTTTtaggagcaattaattttactacaattattaatatac gattaaatagcttatctttgatcaaacctttatt  
atTTtagctgtaggaattacagcattttattattattatctttacctgtatttagctggtgctattactatactTTTaaacagatcgaattTaaataca  
tctTTTTgatcctgctggaggaggagatcctattttatatcaacattttttgattttcggacatccagaagtttatTTTTaccaggat  
ttgtataatttctcatattttcccaagaaagaggaaaaaagaaacctttggatgtttagggataattatgctatattagctattggattatt  
aggatttattgTTTgagccatcacatTTTtacagtaggaatagatattgatactcgagcttatt

### *Copitarsia decolora*, (EU876673), 656 bp. DNA lineal.

aaacaggggccaggatatagcatttcctcgaataaataatataagttttgactttacccccctattaactttattaattcaagaagtattgt  
agaaaatggagcaggaactggatgaacagtgtacccccactttcatctaatttgctcatggtggaagatcagttgatcttgctatTTTTTTT  
ttacatttagctggtatttcttctatTTTtaggagcaattaattttactacaattattaatatac gattaaatagcttatctttgatcaaaccttt  
atTTtagctgtaggaattacagcattttattattattatctttacctgtatttagctggtgctattactatactTTTaaacagatcgaattTaaat  
acatctTTTTgatcctgctggaggaggagatcctattttatatcaacattttttgattttcggacatccagaagtttatTTTTaattttacca  
ggatttggataatttctcatattttcccaagaaagaggaaaaaagaaacctttggatgtttagggataattatgctatattagctattgg  
attattaggatttattgTTTgagccatcacatTTTtacagtaggaatagatattgatactcgagcttatt

### *Copitarsia decolora*, (EU876674), 611 bp. DNA lineal.

atatagcatttcctcgaataaataatataagttttgactttacccccctattaactttattaattcaagaagtattgtagaaaatggagcag  
gaactggatgaacagtgtacccccactttcatctaatttgctcatggtggaagatcagttgatcttgctatTTTTTTTtacatttagctggta  
ttcttctatTTTtaggagcaattaattttactacaattattaatatac gattaaatagcttatctttgatcaaacctttatttttagctgtag  
gaattacagcattttattattattatctttacctgtatttagctggtgctattactatactTTTaaacagatcgaattTaaatacatctTTTTgatcct  
gctggaggaggagatcctattttatatcaacattttttgattttcggacatccagaagtttatTTTTaattttaccaggatttggataattct

catattatttcccaagaaagaggaaaaaaagaaacctttggatgtttagggataatttatgctatattagctattggattattaggatttattggt  
tgagcccatcacatatttaca

***Copitarsia decolora*, (EU876675), 652 bp. DNA lineal.**

ggggccaggatatagcatttctcgaataaataataagttttgacttttaccctcattaactttattaatttcaagaagtattgtagaaa  
atggagcaggaactggatgaacagtgtacccccactttcatctaatttgctcatgggtggaagatcagttgatcttcttattttcttacct  
ttagctggatttcttcttatttaggagcaattaattttactacaattattaatatacattaaatagcttattctttgatcaatacctttatttatt  
tgagctgtaggaattacagcattttattattattatctttacctgtattagctgggtctattactatacttttaacagatcgaatttaatacatct  
tttttgatcctgctggaggaggagatcctattttatcaacatttattttgattttcggacatccagaagttatattttaccaggatttg  
gtataatttctcatattttcccaagaaagaggaaaaaaagaaacctttggatgtttagggataatttatgctatattagctattggattattag  
gatttattgtttgagcccatcacatatttacagtaggaatagatattgatactcagcttattt

***Hyposoter* sp. CAT-2008, (EU876678), 612 bp. DNA lineal.**

atatagcttttctcgtataaataataagattttgattgttaccctcttttattactattaatttttagatcaattacaatcaaggtgttgaa  
ctggatgaactgtttatcctccactatctttaaatttagtcatgagggtatctctcgcacttagctatttttactccatcttgcaggtatct  
tcaattataggagctattaattttattacaactatctttataaaaaattataaaaaatttagaacaattaactttattcatgatcaattaata  
ttacaacaattttactcttattagcagtagctgtactagctgggtctattacaatacttttaacagatcgaatttaatacatcatttttgacca  
ctggagggggagaccctattttatcaacatttattttgatttttggatcctgaagtttatattttaccaggatttggaaatttca  
catataatttttaagaaagaagaaaaaaagaaagatttggatcaattggaataatttatgcaataaataactattggatttttaggattattggtt  
gagctcatcatatatttacag

***Hyposoter* sp. CAT-2008, (EU876680), 615 bp. DNA lineal.**

atatagcttttctcgtataaataataagattttgattgttaccctcttttattactattaatttttagatcaattacaatcaaggtgttgaa  
ctggatgaactgtttatcctccactatctttaaatttagtcatgagggtatctctcgcacttagctatttttactccatcttgcaggtatct  
tcaattataggagctattaattttattacaactatctttataaaaaattataaaaaatttagaacaattaactttattcatgatcaattaata  
ttacaacaattttactcttattagcagtagctgtactagctgggtctattacaatacttttaacagatcgaatttaatacatcatttttgacca  
ctggagggggagaccctattttatcaacatttattttgatttttggatcctgaagtttatattttaccaggatttggaaatttca  
catataatttttaagaaagaagaaaaaaagaaagatttggatcaattggaataatttatgcaataaataactattggatttttaggattattggtt  
gagctcatcatatatttacagtaa

***Hyposoter* sp. CAT-2008, (EU876682), 615 bp. DNA lineal.**

atatagcttttctcgtataaataataagattttgattgttaccctcttttattactattaatttttagatcaattacaatcaaggtgttgaa  
ctggatgaactgtttatcctccactatctttaaatttagtcatgagggtatctctcgcacttagctatttttactccatcttgcaggtatct  
tcaattataggagctattaattttattacaactatctttataaaaaattataaaaaatttagaacaattaactttattcatgatcaattaata  
ttacaacaattttactcttattagcagtagctgtactagctgggtctattacaatacttttaacagatcgaatttaatacatcatttttgacca  
ctggagggggagaccctattttatcaacatttattttgatttttggatcctgaagtttatattttaccaggatttggaaatttca  
catataatttttaagaaagaagaaaaaaagaaagatttggatcaattggaataatttatgcaataaataactattggatttttaggattattggtt  
gagctcatcatatatttacagtaa

***Hyposoter* sp. CAT-2008, (EU876679), 616 bp. DNA lineal.**

atatagcttttctcgtataaataataagattttgattgttaccctcttttactattaattttagatcaattacaatcaaggtgttgaa  
ctggatgaactgtttatcctccactatctttaaatttagtcatgaggggtatctctgcgacttagctatftttcactccatcttgcaggtatct  
tcaattataggagctattaatftttattacaactatctttatataaaaaattataaaaaatttagaacaattaactttttacatgatcaattaata  
ttacaacaatfttactcttattagcagtagctgtactagctggtgctattacaatactfttaacagatcgaatftaaatacatcatttttgacca  
tctggagggggagacctatfttatcaacattftttgatttttggctcctgaagtttatftttaccaggatttggataatttca  
catataatfttfaatgaaagaagaaaaaagaagatttggatcaattggaataattttagcaataaactattggatttttaggatttattgtt  
gagctcatcatatatttacagtaaa

***Euplectrus platyhypenae*, (EU876677), 1178 bp. DNA lineal.**

aatattattgtatcaagaatattttgggactggctacaggacaggtgaacagttatcctcctctctcatcaaatttaggccattcaggc  
ccatctgtgactgtcaatftttctttacatattgccggtccttctcaattatagggcttattaatftttattacaacaatfttaaataaaaaatftt  
aaaattgagaatgtttctttttctgggcaatattattaacatcaatftttattattattatctctcctgtattagctggggcaactactatattat  
atttgatcgaatftaaatacttcaatftttgatccttctgggggggggatccaatfttatcaacattfttttatttttgggcaccagagg  
ttatatttttaattttacctggctttgggtgatttctcatataatftgtaatgaaagaataaaaaaggaggtatttggggtaataggaataatftt  
gcaataatftcaattggattattgggtttattgtatgagctccatattgtttacagtcgggatagatgttgatacacgggcataatfttacttca  
gcaacaataatattgctgttcccactggaatftaaatfttttagatggttggcttcaataatggggtaaaatftaaatfttctgtatctaatftgt  
ggttattaggattftttttatttacggttgggggactaacaggtattattcttcaatfttcaatftgatatttttacacgatacttattatgtt  
gttctcattttcattatgtattatctatgggggcagatttgaatftttgggagttttattattgatttctttgatttttgggttttcattaataat  
aatgattaaaagttcaatfttatataatgtttgtggggtaaaatfttaactfttttctcaacattfttttaggattaaaggggtataccctgctgat  
tctgactatcctgattcatatttattgtgaaatttagtttctcaatftgggtcaataatftcaataatftaggacaatgtatttttcttttaatttgaga  
gtccttagtatcacaacgggttagtaatftttttaaagggacaaataatftcaagggaatgattaatcatatccaccatcatatcat

***Euplectrus platyhypenae*, (EU876676), 1187 bp. DNA lineal.**

Aatattattgtatcaagaatattttgggactggctacaggacaggtgaacagttatcctcctctctcatcaaatttaggccattcaggc  
cccatctgtgactgtcaatftttctttacatattgccggtccttctcaattatagggcttattaatftttattacaacaatfttaaataaaaaatftt  
ttaaattgagaatgtttctttttctgggcaatattattaacatcaatftttattattattatctctcctgtattagctggggcaactactatattat  
tatttgatcgaatftaaatacttcaatftttgatccttctgggggggggatccaatfttatcaacattfttttatttttgggcaccagagg  
gtttatatttttaattttacctggctttgggtgatttctcatataatftgtaatgaaagaataaaaaaggaggtatttggggtaataggaataatftt  
atgcaataatftcaattggattattgggtttattgtatgagctccatattgtttacagtcgggatagatgttgatacacgggcataatfttacttca  
agcaacaataatattgctgttcccactggaatftaaatfttttagatggttggcttcaataatggggtaaaatftaaatfttctgtatctaatftg  
tggttattaggattfttttttatttacggttgggggactaacaggtattattcttcaatfttcaatftgatatttttacacgatacttattatgtt  
gttctcattttcattatgtattatctatgggggcagatttgaatftttgggagttttattattgatttctttgatttttgggttttcattaataat  
aatgattaaaagttcaatfttatataatgtttgtggggtaaaatfttaactfttttctcaacattfttttaggattaaaggggtataccctgctgat  
tctgactatcctgattcatatttattgtgaaatttagtttctcaatftgggtcaataatftcaataatftaggacaatgtatttttcttttaatttgaga  
gtccttagtatcacaacgggttagtaatftttttaaagggacaaataatftcaatggaatgattaatcatatccaccatcatatcattcattat

***Netelia sayi*, 827pb. DNA lineal.**

attctattctaccaggatttgaataatttctcatatactctataatgaaagaggaaaaaaagaaacttttgggtcaattggaataatttatgcta  
tattaactattggatttttaggatttattgtttgagcacatcatatattactattggtatagatattgatacacgagcatactttacatcagctact  
ataattattgctattccaacaggaattaaaatttttagatgattagcaacaatccatggaataaaaattaaatttaattattaatattgatcaat  
tggatttattttttattacaattggaggattaacaggagttatcttagctaattctcaattgatattattctccatgatacatattatgtagtagct  
cactttcattatgttctatctataggagctgtcttactattattagtggtattatcttctgataccctttattttctggatttctttaaataaaaaatg  
attaaaaattcaattttactcaatatttattggtgtaaattaaccttttcccccaacatttttaggattaagaggaataacctcgacgatactctg  
attaccagactcctttataactgaaatattttcatcatatggttcaataatttctttattttagaacaatttatctaattttttttatgagaatca  
ataatctgccaacgatacagaatattctctttttataaattcatcattagaatgacaacaataatacccccccttaactcatagatttattgaa  
attccaaatattttaaatttaattctaatatggcagatag

***Netelia sayi*, 825pb. DNA lineal.**

attctattctaccaggatttgaataatttctcatatactctataatgaaagaggaaaaaaagaaacttttgggtcaattggaataatttatgcta  
tattaactattggatttttaggatttattgtttgagcacatcatatattactattggtatagatattgatacacgagcatactttacatcagctact  
ataattattgctattccaacaggaattaaaatttttagatgattagcaacaatccatggaataaaaattaaatttaattattaatattgatcaat  
tggatttattttttattacaattggaggattaacaggagttatcttagctaattctcaattgatattattctccatgatacatattatgtagtagct  
cactttcattatgttctatctataggagctgtcttactattattagtggtattatcttctgataccctttattttctggatttctttaaataaaaaatg  
attaaaaattcaattttactcaatatttattggtgtaaattaaccttttcccccaacatttttaggattaagaggaataacctcgacgatactctg  
attaccagactcctttataactgaaatattttcatcatatggttcaataatttctttattttagaacaatttatctaattttttttatgagaatca  
ataatctgccaacgatacagaatattctctttttataaattcatcattagaatgacaacaataatacccccccttaactcatagatttattgaa  
attccaaatattttaaatttaattctaatatggcagat

***Netelia sayi*, 827pb. DNA lineal.**

attctattctaccaggatttgaataatttctcatatactctataatgaaagaggaaaaaaagaaacttttgggtcaattggaataatttatgcta  
tattaactattggatttttaggatttattgtttgagcacatcatatattactattggtatagatattgatacacgagcatactttacatcagctact  
ataattattgctattccaacaggaattaaaatttttagatgattagcaacaatccatggaataaaaattaaatttaattattaatattgatcaat  
tggatttattttttattacaattggaggattaacaggagttatcttagctaattctcaattgatattattctccatgatacatattatgtagtagct  
cactttcattatgttctatctataggagctgtcttactattattagtggtattatcttctgataccctttattttctggatttctttaaataaaaaatg  
attaaaaattcaattttactcaatatttattggtgtaaattaaccttttcccccaacatttttaggattaagaggaataacctcgacgatactctg  
attaccagactcctttataactgaaatattttcatcatatggttcaataatttctttattttagaacaatttatctaattttttttatgagaatca  
ataatctgccaacgatacagaatattctctttttataaattcatcattagaatgacaacaataatacccccccttaactcatagatttattgaa  
attccaaatattttaaatttaattctaatatggcagatag

## CAPÍTULO 3: CICLO BIOLÓGICO DE TRES HIMENÓPTEROS PARASITOIDES

### DE *Copitarsia decolora* EN LA REGIÓN DE TEXCOCO

#### RESUMEN

Conocer el ciclo biológico de los parasitoides es fundamental para poder establecer un control exitoso de la plaga sobre la cual se piensa liberar, pues se debe conocer el estado que prefiere parasitar así como el tiempo de desarrollo del parasitoide para poder programar el manejo de la plaga mediante el uso de organismos de control biológico. Con este trabajo se pretende conocer el ciclo de tres parasitoides de *C. decolora*, así como los instares larvales a los que prefiere cada parasitoide. Para ello se establecieron colonias de los tres parasitoides mediante la colecta de larvas de *C. decolora* parasitada. Los parasitoides adultos fueron colocados en jaulas plásticas con capacidad de 10 L, y se alimentaron con una dieta de miel y agua (10: 1). Larvas del gusano del corazón de la col se expusieron a los parasitoides para determinar el instar de parasitación. *Hyposter* sp. prefirió parasitar a larvas de primer y segundo instar, el ciclo de este parasitoide duró en promedio 18 días; *Euplectrus platyhypenae* prefirió ovipositar en larvas de tercero, cuarto y quinto instar su ciclo duró en promedio 18.63 días; mientras que *Netelia sayi* parasita a larvas de sexto instar con una duración promedio de 26.5 días en su ciclo.

**Palabras claves:** Ichneumonidae, Eulophidae, *Hyposoter*, *Euplectrus*, *Netelia*.

**CHAPTER 3: BIOLOGICAL CYCLE OF THREE HYMENOPTERA PARASITIDS  
OF *Copitarsia decolora* IN THE REGION OF TEXCOCO**

**ABSTRACT**

Knowing the life cycle of the parasitoids is crucial to establish a successful control of the pest that is thought to release, as you must know the state prefers to parasitize and the parasitoid development time to schedule pest management using biological control organisms. This work aims to determine the course of three parasitoids of *C. decolora*, and the larval instars to each parasitoid preferred. This was established colonies of the three parasitoids by the collection of larvae of *C. decolora* parasitized fades from cabbage crops. The adult parasitoids were placed in plastic cages with a capacity of 10 L, and fed a diet of honey and water (10: 1). The larvae of heartworm cabbage were exposed to the parasitoids, to determinate the ideal instar for the different parasitoids. *Hyposter* sp. preferred to parasitize larvae of first and second instar, the parasitoid cycle lasted on average 18 days; *Euplectrus platyhypenae* larvae preferred to oviposit in third, fourth and fifth instar cycle lasted on average 18.63 days, while *Netelia sayi* larvae parasitize sixth instar with an average duration of 26.5 days in your cycle.

**Key words:** Ichneumonidae, Eulophidae, *Hyposoter*, *Euplectrus*, *Netelia*.

### 3.1 INTRODUCCIÓN

La importancia de conocer el ciclo biológico de los insectos benéficos que se utilizan para controlar las poblaciones de los insectos plaga, radica en que los parasitoides presentan preferencia en algún estado de desarrollo de su huésped. Por ejemplo el género *Trichogramma* es especialista en parasitar los huevos de las especies de Lepidoptera, mientras que algunas especies de parasitoides prefieren atacar a su huésped en estado de larva, y otras en estado de pupas o adulto. Algunos ejemplos de control biológico en los cuales se utiliza la secuencia de parasitoides es el de la broca de café (*Hypothenemus hampei* (Ferrari)) la cual se controla en el sureste mexicano mediante el empleo de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, parasitoide de larvas, prepupas y pupas; y el parasitoide *Phymastichus coffea* LaSalle, el cual parasita adultos (Barrera & López, 2007). En el cultivo de caña de azúcar se conocen que la existencia de parasitoides que controlan a *Diatraea saccharalis* Fabricius en casi todos sus estados de desarrollo, algunos ejemplos son avispas del género *Trichogramma* para el estado de huevo, del género *Alabagrus* sp. para el estado de larva, del género *Xanthopimpla* sp. para pupas de *D. saccharalis* (Smith *et al.*, 1993).

En cultivos comerciales de crucíferas se han usado avispas del género *Trichogramma*, y *Diadegma insulare* (Cresson), las cuales parasitan a huevos y larvas, respectivamente, de la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella* (L)) (García *et al.*, 2005, Cortez & Cervantes, 2007).

Para el control exitoso de *Copitarsia decolora* mediante el uso de organismos que ayuden al control biológico de esta plaga, es necesario tener el conocimiento del ciclo biológico de la

plaga y de los organismos que se van a usar para poder sincronizar la etapa de mayor susceptibilidad de la plaga a el organismo benéfico que se va a usar (Van Driesche & Heinz, 2004), además de que se deben de considerar las condiciones ambientales para la liberación de los mismos (Osborne *et al.*, 2004).

Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estudiar el ciclo biológico de los tres parasitoides que afectan la fase larval de *C. decolora*, con la finalidad de proponer un control de esta plaga con estos parasitoides.

### **3.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

Los himenópteros parasitoides fueron obtenidos mediante crías establecidas en la cámara de cría de insectos del laboratorio de Ecología Química de Fitosanidad, del Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo. El pie de cría de los parasitoides se obtuvo de larvas de diferentes instares de *Copitarsia decolora* colectadas en cultivos de col, brócoli y coliflor del campo experimental del *Campus* del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.

### **3.2.1 Cría de *Copitarsia decolora***

Se realizaron colectas de larvas de *Copitarsia decolora* de diferentes instares de desarrollo en cultivos de crucíferas a partir de agosto de 2006 a agosto de 2008. Las colectas fueron realizadas en lotes experimentales y comerciales ubicados en las cercanías de la Universidad Autónoma Chapingo y el Colegio de Postgraduados en el Estado de México.

Las larvas colectadas fueron colocadas en recipientes de plástico de 25 mL de manera individual para evitar el canibalismo, y se les alimentó con dieta artificial (Cibrián & Sugimoto, 1992). Cuando las larvas pasaron al estado de pupa, se realizó el sexado de las mismas. Después de la emergencia de los adultos, se colocaron de 3 a 5 hembras e igual número de machos en un vaso plástico con capacidad de 540 mL; la boca de los vasos fue cubierta con papel secante, los adultos se alimentaron con una solución de agua y miel (10:1) proporcionada en un algodón. Las parejas se cambiaron a un vaso nuevo cada 24 horas durante siete días. Por otra parte, las larvas colectadas en campo, que resultaron parasitadas se separaron de las larvas sanas, y se alimentaron con la dieta de Cibrián & Sugimoto (1992) para lograr la obtención del parasitoide adulto.

### **3.2.2 Manejo y cría de parasitoides**

La cría de *Hyposoter* sp. se inició con ocho ejemplares, tres hembras y cinco machos, mientras que la de *E. platyhyphenae* se realizó con masas de pupas del parasitoides

provenientes de cinco larvas de *C. decolora*. Se esperó que los parasitoides emergieran y entonces se separaron y colocaron, según el tipo de parasitoide en contenedores hexagonales de plástico con capacidad de 10 L. Los parasitoides adultos se alimentaron con una solución de agua y miel (10:1) en algodón, y se introdujeron larvas de *C. decolora* a la jaula hexagonal para que fueran parasitadas, y así iniciar la cría y observación de los parasitoides.

Para determinar la biología del parasitoide del género *Hyposoter*, se colocaron larvas de primer ínstar sobre hojas de col, dentro de jaulas de 25 x 25 cm, en donde se colocaron los adultos de *Hyposoter*; las larvas fueron expuestas por 24 horas a hembras de *Hyposoter* sp., una vez transcurridas las 24 horas, las larvas se colocaron en vasos que contenían dieta artificial.

Para el establecimiento de los parasitoides del género *E. platyhypenae*, se utilizaron jaulas hexagonales con capacidad de diez litros, y se realizaron pruebas preliminares para determinar el ínstar al cual prefieren atacar, para esto se expusieron larvas de diferentes ínstaes en hojas de col dentro de las jaula que contenían a *E. platyhypenae*. A las 24 horas se cambiaron las larvas a recipientes con dieta artificial, y se observó la presencia o ausencia de los huevos del parasitoide. Las observaciones se realizaron en doce larvas parasitadas de *C. decolora*.

Para obtener los datos del ciclo biológico de *Netelia sayi* se observaron 22 larvas de último ínstar de *C. decolora*, éstas fueron expuestas a las hembras del parasitoide por espacio de 24 horas, colocándose después a cada una de las larvas expuestas a *N. sayi* en vasos plásticos con dieta artificial para el gusano del corazón de la col para que continuara con su ciclo.

En todos los casos se tomaron datos del ciclo biológico de los parasitoides, realizando observaciones diarias de cada parasitoide.

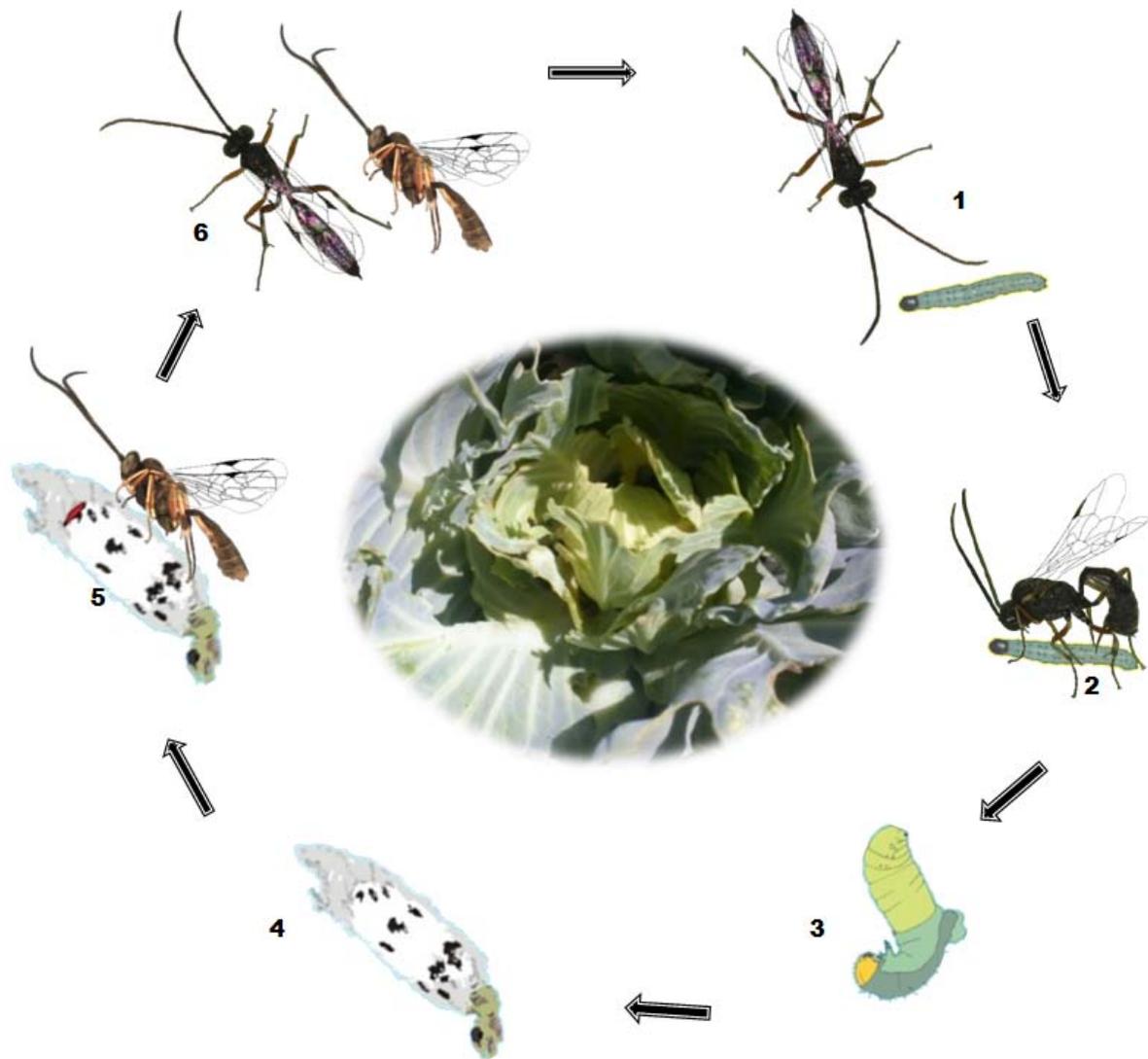
### 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.3.1. Observaciones del ciclo biológico de *Hyposoter* sp.

*Hyposoter* sp. es un endoparásitoide solitario de la familia Ichneumonidae; las hembras tienen la preferencia de parasitar larvas de primer y segundo instar, lo que coincide con lo observado por Campbell & Duffey (1979) en *H. exiguae*. La larva de *Hyposoter* sp. emerge del huevo a las 24 horas de haber sido ovipositado dentro del hospedero, la larva pasa por cuatro instares larvales (Abrego, 1994). Las larvas parasitadas de *C. decolora* siguieron un desarrollo normal, y su comportamiento no mostró cambios, en comparación con las larvas no parasitadas; sin embargo, cuando el hospedero parasitado alcanzó el tercer instar larval, a los nueve días después de la exposición al parasitoide se observó un retraso en su desarrollo y pérdida de movilidad. Thompson (1982), menciona síntomas similares en larvas de *Trichoplusia ni* (Hübner) parasitadas por *H. exiguae*. Se observó que la larva parasitada presenta una coloración pálida en el último tercio del cuerpo, en esta región es donde justamente se encuentra la larva del parasitoide. Esta última sale del hospedero rasgando la parte ventral del último tercio del cuerpo. La larva se liberó totalmente de la cutícula de *C. decolora* en un lapso de 21 min, durante este proceso la larva de *Hyposoter* sp. empieza a tejer el cocón en el cual se protege la pupa, la cual es del tipo exarata. El cocón de seda blanca, tiene como medidas promedio  $5.71 \pm 0.27$  mm de largo por  $2.25 \pm 0.18$  mm de ancho, estas medidas son similares al cocón tejido por *Hyposoter interjectus* (Wilson, 1933). El cocón de *Hyposoter* sp., es terminado en tres horas, este lapso de tiempo es similar al reportado por

Puttler (1961) para *H. exiguae*, en este tiempo la larva realiza 13 movimientos para elaborar el cocón. Transcurridas 3h después de iniciar a tejer el cocón, le aparecen manchas oscuras en cada extremo. El estado de pupa dura entre 7 y 9 días. El ciclo biológico de *Hyposoter* sp., duró en promedio  $18\pm 1$  días. Al emerger los adultos, inmediatamente realizan la cópula, el tiempo que dura esta actividad es de 15 min; las hembras de *Hyposoter* sp., tienen la capacidad de parasitar a las larvas sin necesidad de haberse apareado, esto también ha sido reportado para las especies *H. exiguae* y *Hyposoter dydimator* (Thunber) (Puttler, 1961; Kumar *et al.*, 1988).

Osorio *et al.* (1992) menciona el parasitismo por *Hyposoter* sp. hasta antes de que las plantas de col comiencen a formar la “cabeza” puede alcanzar hasta un 53%, pues cuando la planta está más desarrollada el porcentaje de parasitismo baja a un 4%.



**Fig. 3.1.- Ciclo Biológico de *Hyposoter* sp.1)** Hembra de *Hyposoter* sp., detectando a larva de primer instar de *C. decolora*. 2) Hembra de *Hyposoter* sp. parasitando a la larva de *C. decolora*. 3) Larva de *Hyposoter* sp. liberándose de la exuvia de la larva de *C. decolora*. 4) Pupa de *Hyposoter* sp. 5) Adulto de *Hyposoter* sp. emergiendo del cocón. 6) Pareja de *Hyposoter* sp.

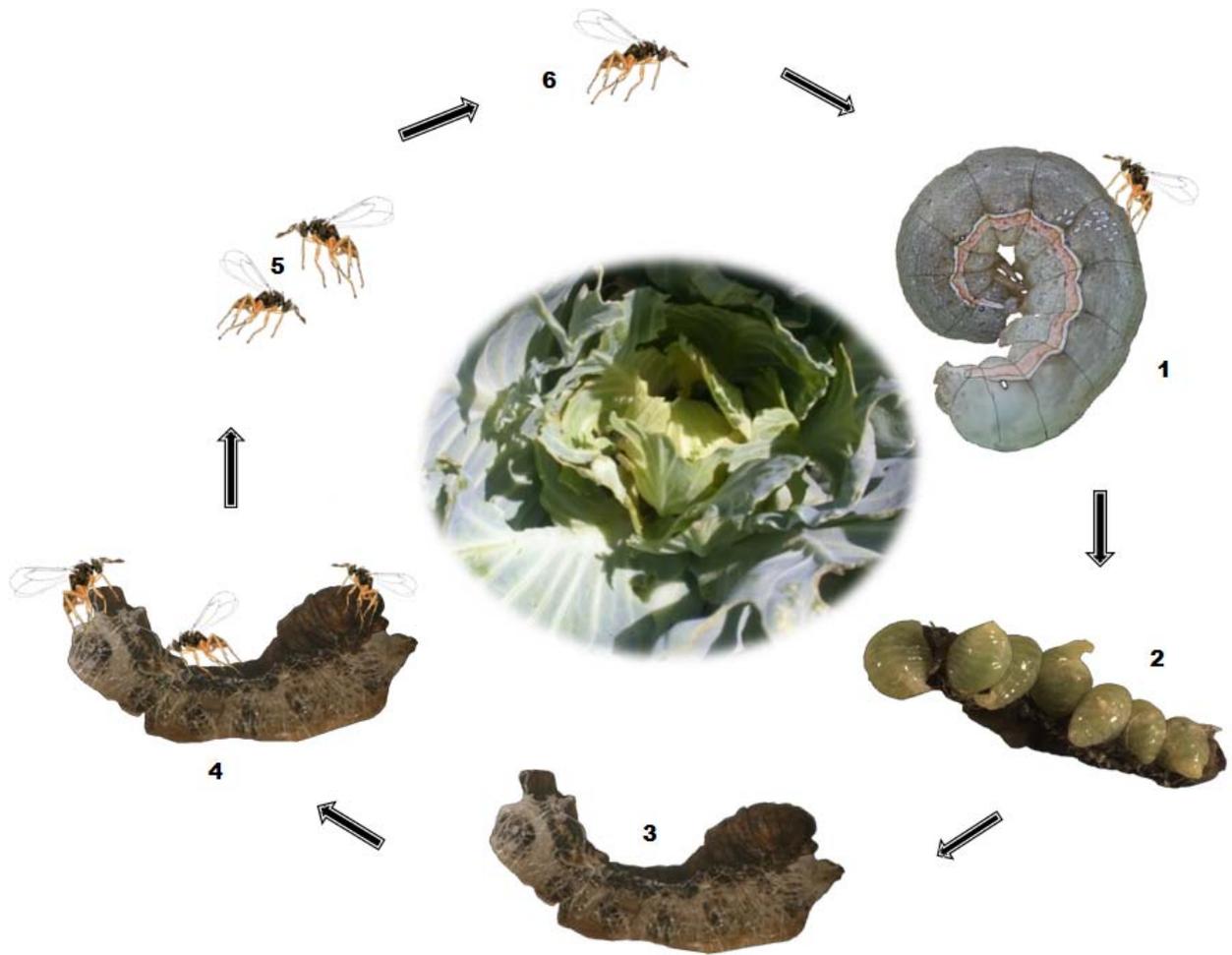
### 3.3.2 Observaciones del ciclo biológico de *Euplectrus platyhypenae*

*Euplectrus platyhypenae* es un ectoparasitoide gregario perteneciente a la familia Eulophidae; en el presente trabajo, se observó que las hembras de *E. platyhypenae* prefieren parasitar a larvas de tercero, quinto y sexto ínstar, similar a lo reportado por Yamamoto & Foerster (2003) para *Euplectrus ronnai* (Brethes). Se observó que las hembras de *E. platyhypenae* ovipositan grupos de huevos que son colocados en el dorso de su hospedero, como lo describen Wilson (1933); el huevo tarda en eclosionar de 2 a 4 días, similar a lo obtenido por Murua & Virla (2004).

Las larvas de *C. decolora* parasitadas por *E. platyhypenae* no mostraron cambio en el comportamiento alimenticio, sin embargo, las larvas parasitadas ya no realizaron la muda al siguiente ínstar larval. El estado larval de *E. platyhypenae*, duró de 8 a 12 días el cual lo pasa sobre el dorso del hospedero tal como lo señala Puttler *et al.* (1980).

Cuando las larvas de *E. platyhypenae*, se encontraron listas para pupar, realizaron un recorrido de la parte dorsal hacia la parte ventral de la larva de *C. decolora*, la cual para este momento presenta poca movilidad; las larvas del parasitoide una vez colocadas en la parte ventral de la larva, comienzan a producir una seda por los tubos de Malpighi (Noble, 1938, citado por DeBach, 1975) parecido a una telaraña cuya función es la de dar protección a las pupas. Las pupas son del tipo obtecta, de color negro, el estado de pupa de *E. platyhypenae* duró  $10.37 \pm 1.40$  días, este valor es similar a lo reportado por Murua & Virla (2004), quienes señalan que este estado dura  $8.77 \pm 2.84$  días. El cuerpo del hospedero, presentan una coloración negra, y la forma cilíndrica característica de las larvas se pierde, para tener una forma aplanada, la cual sirve para proteger a las pupas de *E. platyhypenae*. De una larva de *C.*

*decolora* se obtuvieron de dos a 30 adultos de *E. platyhypenae*. El ciclo de vida *E. platyhypenae*, fue de  $18.63 \pm 2.87$  días (Fig. 3.2).



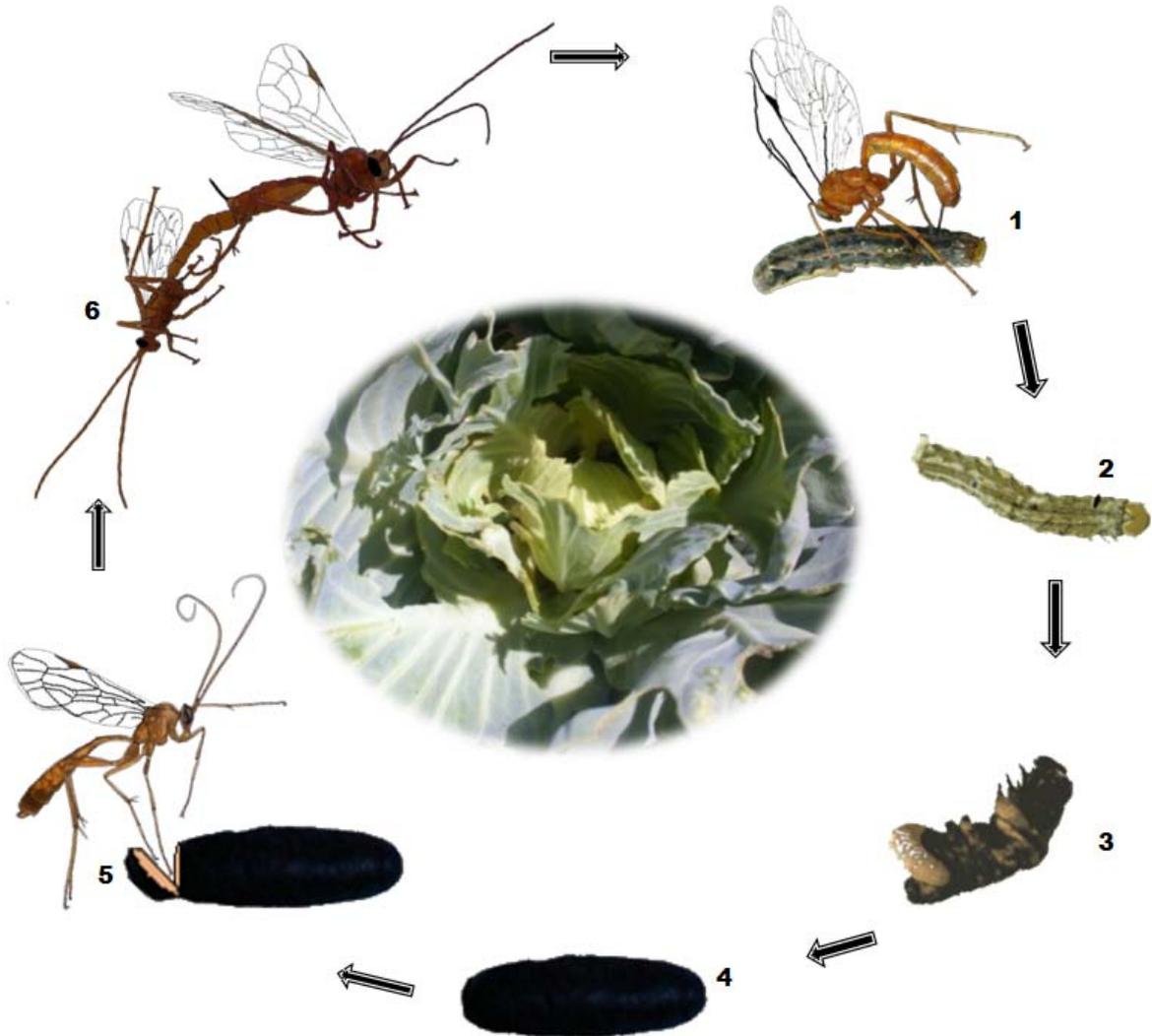
**Fig. 3.2.-** Ciclo biológico de *Euplectrus platyhypenae*. 1) Hembra de *E. platyhypenae* parasitando a larva de quinto ínstar de *C. decolora*. 2) Larvas de último ínstar de *E. platyhypenae*. 3) Pupas de *E. platyhypenae*. 4) Adultos de *E. platyhypenae* emergiendo de los cocones. 5) Pareja de *E. platyhypenae*. 6) Hembra de *E. platyhypenae* lista para buscar hospedero.

### 3.3.3. Observaciones del ciclo biológico de *Netelia sayi*

*Netelia sayi.*, es un ectoparasitoide solitario perteneciente a la familia Ichneumonidae; las hembras de este parasitoide prefieren ovipositar en las larvas de sexto ínstar, próximos a pupar, debido a que las larvas de este parasitoide se desarrollan y alimentan cuando las larvas de *C. decolora* forman la cámara pupal en el sustrato que se encuentren (Fig. 3.3-3), este comportamiento es reportado por Johns & Whitehouse (2004) para *N. producta* parasitando a larvas de *Helicoverpa* spp.

Cuando la hembra de *Netelia sayi* encuentra a la larva, la cual manipula con sus patas traseras hasta colocar el cuerpo del hospedero bajo el suyo en la posición idónea para ser parasitada y evitando así que la larva de *C. decolora* ataque a la hembra de *N. sayi* mientras esta realiza la oviposición. La avispa coloca el ovipositor sobre la cabeza de la larva, y realiza un piquete a la larva con el mismo (Fig. 3.3-1), la larva queda inmóvil por espacio de diez minutos, tiempo que la hembra aprovecha para ovipositar un huevo, además la hembra aprovecha para alimentarse con la hemolinfa de la larva por medio de una herida que le provoca con sus mandíbulas, este comportamiento es similar al observado en *N. producta* por Johns & Whitehouse (2004); transcurrido un lapso de tiempo la larva de *C. decolora* recupera la movilidad y continua alimentándose (Fig. 3.3-2).

La eclosión del huevo de *N. sayi* ocurre después de dos a cuatro días después de haber sido depositado en la larva huésped. La duración del estado de larva fluctuó de cinco a diez días, mientras que el estado de pupa tuvo una duración de  $18\pm 2$  días. El ciclo biológico de *N. sayi* duró en promedio  $28\pm 2$  días. Este es el primer reporte de este género como parasitoide de *C. decolora*.



**Fig. 3.3.- Ciclo biológico de *Netelia sayi*.** 1) Hembra de *N. sayi* parasitando a larva de *C. decolora* del sexto instar. 2) Larva de *C. decolora* parasitada por *N. sayi*. 3) Larva de *N. sayi* alimentándose de la larva de *C. decolora*. 4) Cocón de *N. sayi*. 5) Adulto de *N. sayi* emergiendo del cocón. 6) Pareja de *N. sayi* copulando.

Estos tres parasitoides se agregan a una lista de parasitoides que pueden ser usados en el control de *C. decolora*; por ejemplo, en Perú se reportan a especies de parasitoides pertenecientes a las familias Encyrtidae, Braconidae, Icneumonidae, Sphecidae, Trichogrammatidae y Tachinidae, siendo uno de los parasitoides que presentan mayor control *Meteorus chilensis* Porter (Hymenoptera: Braconidae), con cerca del 57 % de efectividad (Rasmussen *et al.*, 2003).

### 3.4 CONCLUSIONES

El ciclo biológico de *Hyposoter* sp. duró en promedio 18 días, y que las hembras de este parasitoide prefieren parasitar a larvas de *C. decolora* de primero y segundo instar.

El ciclo biológico de *Euplectrus platyhypenae* duró en promedio 18.63 días, las hembras prefieren ovipositar en larvas de *C. decolora* de tercero a quinto instar.

El ciclo biológico de *Netelia sayi* duró en promedio en promedio 26.5 días, las hembras de este parasitoide prefieren atacar y parasitar a larvas de *C. decolora* de sexto instar y en menor proporción a larvas de quinto instar.

### 3.5 LITERATURA CITADA

- Abrego G. L. 1994.** Ciclo de vida, curva de oviposición y comportamiento de *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae) sobre *Copitarsia consueta* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). Chapingo, Méx. Departamento Parasitología Agrícola. UACH. 79p.
- Barrera, J. F. & J. I. López A. 2007.** Control biológico de insectos plaga en el sureste de México, pp. 201-233. *In: Teoría y Aplicación del Control Biológico.* L. A. Rodríguez-del-Bosque y H. C. Arredondo- Bernal (eds.). Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303p.
- Campbell, C. B. & S. S. Duffey. 1979.** Effect of density and instar of *Heliothis zea* on parasitization by *Hyposoter exiguae*. *Environ. Entomol.* 8: 127-130.
- Cibrián, T. J. & A. Sugimoto. 1992.** Elaboración de una dieta artificial para la cría de *Copitarsia consueta* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). *In: Memorias del XXVII Congreso Nacional de Entomología.* Sociedad Mexicana de Entomología. p 416

- Cortez, M. E. & J. M. Cervantes. 2007.** Parasitismo natural de la palomilla dorso de diamante *Plutella xylostella* L. en canola (*Brassica napus* L.), en el norte de Sinaloa, México. *Agrociencia* 41: 347-354.
- DeBach, P. 1975.** Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Chapman and London. Cuarta impresión. 949p.
- García, G. F., A. González H. & M. P. España L. 2005.** Especies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) presentes en Centros Reproductores de México. *Acta Zoológica Mexicana*. 21(3): 125-135.
- Kumar, P., S.P. Singh, S. K. Jalali & C. R. Ballal. 1988.** Biology of an ichneumonid *Hyposoter didimator* on *Spodoptera litura*. *Indian J. Agricult. Sci.*. 58(2):149-151.
- Johns, C. V. & M. E. A Whitehouse. 2004.** Mass rearing of two larval parasitoids of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae): *Netelia producta* (Brullé) and *Heteropelma scaposum* (Morley) (Hymenoptera: Ichneumonidae) for field release. *Aust. J. Entomol.* 43: 83-87.
- Murua, G. & G. Virla. 2004.** Contribution to the biological knowledge of *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. *Folia Entomológica Mexicana*. 43 (2): 171-180.
- Osborne, L. S., K. Bolckmans, Z. Landa, & J. Peña. 2004.** Kinds of natural enemies. In *BioControl in Protected Culture*. Edit: Heinz, K.M., R. G. VanDriesche & M. P Parrella. Ball Publishing. 552p.
- Osorio, O. R., J. Cibrián T. & J. L. Leyva V. 1992.** Parasitismo de *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae) sobre *Copitarsia consueta* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). XV Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan. Cuatitlan Izcalli, Edo. de México, México. p 10-14.

- Puttler, B. 1961.** Biology of *Hyposoter exiguae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasite of lepidopterous larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 54: 25-30.
- Puttler, B. G., G. Gordh & S. H. Long. 1980.** Bionomics of *Euplectrus puttleri*, new species, an introduced parasite of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, from South America. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 73: 28-35.
- Rasmussen, C., A. Lagnaoui & P. Esbjerg. 2003.** Advances in the knowledge of quinoa pests. *Food Rev. Int.* 19 (1): 61-75.
- Smith, J. W., Jr., R. N. Wiedenmann & W. A. Overholt. 1993.** Parasites of lepidopteran stemborers of tropical gramineous plants. *ICIPE Science*, Nairobi, Kenya.
- Thompson, S. N. 1982.** Effects of parasitization by the insect parasite *Hyposoter exiguae* on the growth, development and physiology of its host *Trichoplusia ni*. *Parasitology* 84:491-510.
- Van Driesche, R. G. & K. M. Heinz. 2004.** Biological control as a component of IPM. *In* Biological control of arthropod pests in protected culture. K. M. Heinz, R.G. Van Driesche, and M.P. Parrella, (eds.). Ball Publishing. p. 25–36.
- Wilson, W. 1933.** The biology of parasites and predators of *Laphygma exigua* Huebner reared during the season of 1932. *The Florida Entomologist*. Vol. XVII. No1.
- Yamamoto, C. & L. A. Foerster. 2003.** Reproductive biology and longevity of *Euplectrus ronnai* (Brèthes) (Hymenoptera: Eulophidae). *Neot. Entomol.* 32(3):481-485.

## CONCLUSIONES GENERALES

Independientemente de la fecha de cultivo las plantas de col presentaron el mayor número de plantas con larvas de *Copitarsia decolora*, mientras que coliflor (*B. oleracea* var botrytis) tuvo una preferencia media, y la brócoli (*B. oleracea* var. italica) presentó el menor número de plantas atacadas.

Se consideró que la preferencia de *C. decolora* estuvo en función del número y concentración de glucosinolatos. De acuerdo con reportes previos, la col presenta el menor número y concentración de glucosinolatos, lo que coincide en este estudio como el cultivo que tuvo mayor número de plantas afectadas por esta plaga.

La época de siembra del cultivo afectó la población del gusano del corazón de la col, debido a que conoce que en invierno la concentración de los glucosinolatos es menor, lo que permite una mayor colonización de esta plaga.

En condiciones de campo las hembras de *C. decolora* tuvieron una marcada preferencia por ovipositar en las pantallas de color negro. El empleo de pantallas de color negro en los cultivos con crucíferas puede servir como complemento para el monitoreo de la presencia de esta plaga, en un esquema de manejo integrado del gusano del corazón de la col.

La información obtenida relacionada a la preferencia de variedades y color puede ser utilizada en plantaciones comerciales, una colocando a la col como cultivo trampa en cultivos de brócoli y coliflor que tengan como mercado final el de los EE. UU., y además el uso de pantallas de color negro se puede incorporar para monitorear la presencia de la plaga.

La identificación de organismos por taxónomos fue necesaria para determinar a los géneros y especies de parasitoides que regulan de manera natural a las poblaciones de *C. decolora*. Se identificó a nivel de género a *Hyposoter* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae); a nivel de especie se identificó a *Euplectrus platyhypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) y *Netelia sayi* (Hymenoptera: Ichneumonidae).

En el presente estudio, se logró amplificar parcialmente el gen Citocromo Oxidasa I (COI), tanto para *C. decolora* como para sus parasitoides: *Hyposoter* sp., *E. platyhypenae* y *N. sayi*.

La identificación mediante la secuencia genética es una herramienta de apoyo para identificar de los organismos, pero para que esta forma de identificación funcione de manera eficiente se requiere que un ejemplar sea identificado por los taxónomos y que se obtenga una secuencia genética, la cual pueda ser utilizada posteriormente para realizar una comparación de secuencias genéticas y establecer las relaciones filogenéticas correctas de los especímenes. El soporte filogenético de *C. decolora*, *Hyposoter* sp., *E. platyhypenae* y *N. sayi*, puede incrementarse de dos maneras: la primera es incrementando el número de bases en las secuencias existentes en el NCBI de las otras especies con las cuales se realizó la comparación; y la segunda es incrementando el número de organismos relacionados.

Conocer el ciclo biológico de los agentes de control biológico de las poblaciones de *Copitarsia decolora*: *Hyposoter* sp., *E. platyhypenae* y *N. sayi*, servirá como base para planear de manera eficiente un manejo de esta plaga en su estado larval de desarrollo, mediante el empleo de estos tres parasitoides, ya que *Hyposoter* sp. afecta los dos primeros instares larvales, *E. platyhypenae* ataca del tercer al quinto instar y *N. sayi* prefiere parasitar en larvas del sexto instar.