

# NOTA CIENTÍFICA

## EVALUACIÓN DE CINCO ESPECIES DE *Trichogramma* COMO POSIBLES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Cydia pomonella* (L.) (LEPIDOPTERA:TORTRICIDAE)<sup>1</sup>

### Evaluation of five species of *Trichogramma* as biological control agents for *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera:Tortricidae)

Cristián Torres P.<sup>2</sup> y Marcos Gerding P.<sup>3</sup>

#### ABSTRACT

A research was carried out to evaluate the potential effectiveness of different species of *Trichogramma* as biological control agents of *Cydia pomonella* (L.). Five species of *Trichogramma* were evaluated: *T. cacoeciae*, *T. dendrolimi* (strain D9), *T. platneri* and the native species *Trichogramma* sp. "Cato" and *T. nerudai*. They were evaluated by a preference test for eggs of *C. pomonella* and *Anagasta kuehniella*, and obligated parasitism on eggs of *C. pomonella*. Data were recorded after the fifth day of exposure of the *Trichogramma* to their host. *T. nerudai* and *T. cacoeciae* parasitized more eggs of *C. pomonella*, 65.34% and 52.66% respectively, than the other species. *T. cacoeciae* and *Trichogramma* sp. "Cato" showed a preference for *C. pomonella* eggs as compared to the other *Trichogramma*. *T. nerudai* did not reveal a preference for any host. *T. dendrolimi* and *T. platneri* displayed a preference for *A. kuehniella* eggs.

**Key words:** Codling moth, biological control, apple.

#### INTRODUCCIÓN

*Cydia pomonella* Linnaeus (Lepidoptera:Tortricidae) conocida comúnmente como "polilla de la manzana", es en la actualidad la principal plaga que afecta a manzanos (*Malus domestica* x *pumila*) en Chile; también ataca perales (*Pirus communis*), membrillos (*Cidonia oblonga*), nogales (*Juglans regians*) y ocasionalmente algunos frutales de carozos (González, 1980; Aguilera, 1992; Artigas, 1994). Generalmente se le controla con insecticidas químicos; por otra parte se está investigando en Chile y otros

países el uso de enemigos naturales como parte del Manejo Integrado de Plagas (MIP).

El uso de parasitoides de huevos del género *Trichogramma* Westwood es una herramienta que puede ser utilizada para el control de la plaga (Hassan *et al.*, 1988; Hassan, 1989; Knight *et al.*, 1997).

El insecto adulto de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera:Trichogrammatidae) mide de 0,2 a 1,5 mm de largo (Pinto y Stouthamer, 1994), presentan un marcado dimorfismo sexual en las antenas. Se puede producir masivamente en condiciones de laboratorio, para ser liberados en forma inundativa en el campo, es decir con un gran número de individuos y con una periodicidad muy corta entre cada liberación (no más de 8 a

<sup>1</sup>Recepción de originales: 04 de mayo de 1999.

<sup>2</sup>Villa Betania N° 511, Chillán, Chile.

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Casilla 426, Chillán, Chile. E-mail: mgerding@quilamapu.inia.cl.

10 días) (Parra, 1997; Amaya, 1998). Cada hembra de *Trichogramma* ovipone durante su vida entre 20 a 30 huevos en promedio, esto es, cuando no se les alimenta (Amaya, 1998); bajo alimentación llegan a oviponer un promedio de 70 a 120 huevos, colocados en uno o más por huésped, dependiendo del tamaño del hospedero (Parra, 1997).

Diferencias en la fecundidad pueden estar relacionadas con la especie de *Trichogramma*, la temperatura a la cual se desarrollan y depositan los huevos, la humedad relativa del aire, la presencia de los alimentos y huevos del hospedero (Vinson, 1997; Amaya, 1998).

El objetivo de esta investigación fue determinar en laboratorio la eficiencia de 5 especies de *Trichogramma* como potencial agente para el biocontrol de *C. pomonella*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Crianza de *Cydia pomonella*

Se colectaron larvas de *Cydia pomonella* mediante el uso de trampas de cartón corrugado, colocados en troncos de árboles de manzano, en huertos semi abandonados. El material larvario procedente de la colecta en terreno se extrajo cuidadosamente de las trampas, se lavó tópicamente con una solución de hipoclorito de sodio al 1%. Luego las larvas se colocaron en rollos de cartón corrugado para que puparan. Las pupas se retiraron, fueron separadas por sexo y colocadas en frascos de plástico para facilitar la emergencia de los adultos. Se colocaron 25 parejas por tubo de ovipostura, revestido internamente con papel encerado, tapado en un extremo con tul, y en el otro extremo con algodón y papel absorbente. Se dejaron en sala de crianza a temperatura  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , humedad relativa  $60\% \pm 5\%$  y fotoperíodo 16:8 (Luz:Oscuridad). El papel encerado se retiró diariamente y los huevos adheridos a él se utilizaron en las evaluaciones con *Trichogramma*.

Las larvas neonatas se colocaron en frascos de plástico y fueron alimentadas con dieta artificial (Singh, 1977); completado su desarrollo, pupaban en el mismo frasco, eran retiradas, separadas por sexo y colocadas en frascos de mayor dimensión para facilitar la emergencia de los adultos.

### Crianza de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera:Pyralidae)

Para producir parasitoides en laboratorio a escala masiva, se utilizó el hospedero alternativo *A. kuehniella*, el cual ovipone una gran cantidad de huevos, 100 a 300 huevos por hembra (Parra, 1997); los huevos se pueden remover con un pincel, lo que facilita la recolección y producción masiva en laboratorio.

La producción masiva de polillas se realizó en los laboratorios de entomología del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, en el Centro Regional de Investigaciones Quilamapu, ubicado en la ciudad de Chillán. En una cámara de crianza con condiciones ambientales controladas, temperatura 24-26 °C, humedad relativa de 60 a 70% y fotoperíodo 16:8 (Luz:Oscuridad). El 25% de los huevos obtenidos en la ovipostura fueron usados para repetir el ciclo y la cantidad restante fue empleada como huésped alternativo en evaluaciones y crianza de *Trichogramma*.

### Elección de *Trichogramma* spp. a ser evaluados

Se trabajó con 5 especies de *Trichogramma* que corresponden a 3 especies introducidas: a) *T. cacoeciae* Marchal, utilizado en Bulgaria (Karadjov, 1993), Alemania (Hassan, 1992; 1994) e Irán (Shojai, 1993); b) *T. dendrolimi* strain D-9 Matsumura, usado en Alemania (Hassan, 1992; 1994); c) *T. platneri* Nagarkatti, usado en EE.UU. (Mills, 1993) con antecedentes en el control de *C. Pomonella*, y 2 especies nativas: d) *Trichogramma* sp. "Cato", colectado en un huerto de manzanos en la provincia de Ñuble (VIII Región) parasitando huevos de *C. pomonella*, y e) *T. nerudai* Pintureau & Gerding (Pintureau *et al.*, 1999), especie nativa que fue

colectada en la zona de Angol (IX Región) sobre huevos de *Rhyacionia buoliana* Denis & Schiffermüller.

### Estudio de preferencia

Se utilizó un mínimo de 50 huevos de *C. pomonella* junto con 50 huevos de *A. kuehniella*, ambos de hasta 24 h de edad. En cada tratamiento se depositó una hembra copulada de *Trichogramma*, a excepción de *Trichogramma sp.* "Cato", en que se depositó una hembra sin cópula, ya que posee reproducción telotóquica, sellando el tubo con género obscuro semipermeable y depositados en cámara de crianza bajo condiciones de temperatura 24-26°C, humedad relativa de 60 a 70% y fotoperíodo 16:8 (Luz:Oscuridad). Al cabo de 5 días se contabilizaron los huevos parasitados bajo lupa estereoscópica, registrando el número de huevos parasitados para cada hospedero, los que se distinguen porque presentan un color oscuro que difiere de los no parasitados.

El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial de 5x2 (5 especies de *Trichogramma* x 2 huéspedes alternativos (*C. pomonella* y *A. kuehniella*)), con 6 repeticiones.

### Capacidad parasítica sobre *C. pomonella*

En tubos de ensayos con 50 huevos de *C. pomonella* de 24 h de edad, se depositó una hembra copulada de cada especie de *Trichogramma*, se selló cada tubo con género semipermeable, y se colocaron en cámara de crianza a temperatura de 24-26 °C, humedad relativa de 60 a 70% y fotoperíodo 16:8 (Luz :Oscuridad). Al cabo de 5 días se contabilizó bajo lupa estereoscópica registrando la cantidad de huevos parasitados.

El diseño experimental utilizado fue completo al azar con 5 tratamientos, que corresponden a cada una de las especies de *Trichogramma* y 6 repeticiones.

### Análisis estadístico

De acuerdo con el diseño estadístico, los datos de los ensayos se sometieron a análisis de varianza (ANDEVA) y las diferencias entre medias fueron sometidas a pruebas de comparación de rango múltiple de Duncan, utilizando el programa computacional IRRISTAT (Gómez y Gómez, 1984).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Preferencia de *T. cacoeciae*, *T. dendrolimi*, *T. platneri*, *Trichogramma sp.* "Cato" y *T. nerudai* por huevos de *C. pomonella* y *A. kuehniella*

Los resultados de la prueba de preferencia indican que hubo diferencias significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre los parasitoides (Cuadro 1). Los parasitoides *T. cacoeciae* y *Trichogramma sp.* "Cato" tuvieron una significativa preferencia por huevos de *C. pomonella*, en tanto que *T. nerudai* no tuvo preferencia significativa entre ambos hospederos. Por otra parte, *T. dendrolimi* y *T. platneri* presentaron una mayor preferencia por huevos de *A. kuehniella*.

La elevada preferencia de la especie nativa *Trichogramma sp.* "Cato" por *C. pomonella*, puede deberse al reducido número de generaciones que se ha mantenido sobre el hospedero alternativo, sin embargo en las especies introducidas antes de ser evaluadas ya se habían obtenido varias generaciones sobre huevos de *A. kuehniella*, lo que concuerda con lo señalado por Hassan (1994) quien hace referencia a la importancia del número de generaciones obtenidas sobre un huésped determinado y su posterior preferencia.

*T. cacoeciae* a pesar de ser criado en huevos de *A. kuehniella*, no presentó preferencia por éste, lo cual no concuerda con lo señalado por Hassan (1994) y Amaya (1998), lo que indica que al

**Cuadro 1. Preferencia de parasitación de *Trichogramma* spp. por huevos de *C. pomonella* y *A. kuehniella*****Table 1. Parasitization preference of *Trichogramma* spp. for *C. pomonella* and *A. kuehniella* eggs**

Tratamiento	n	Porcentaje %		
		<i>A. kuehniella</i>	<i>C. pomonella</i>	Diferencia
<i>T. cacoeciae</i>	25	13,88 b	86,11 a	**
<i>Trichogramma</i> sp. "Cato"	13	13,98 b	86,01 a	**
<i>T. nerudai</i>	39	48,61 ab	51,38 ab	n.s.
<i>T. dendrolimi</i> (strain D-9)	30	79,18 a	20,81 b	**
<i>T. platneri</i>	16	80,50 a	19,49 b	**

\*Letras iguales en columna no presentan diferencias significativas ( $P > 0,05$ ). Test de Duncan.

\*\*Diferencia al nivel 1%.

n: número total de huevos parasitados

n.s.: no significativo.

mantener los parasitoides por más de un año sobre el mismo hospedero, adquiere una preferencia por estos huevos.

#### Capacidad parasítica de *T. cacoeciae*, *T. dendrolimi* (strain D-9), *T. platneri*, *Trichogramma* sp. "Cato" y *T. nerudai* en huevos de *Cydia pomonella*

En la Figura 1 se observa la parasitación de cada especie de *Trichogramma* sobre huevos de *C. pomonella* después de 5 días de exposición, en condiciones de laboratorio. El análisis demostró diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) de parasitación entre las especies utilizadas. La cantidad de huevos parasitados para el caso de *T. nerudai* (32,67) y *T. cacoeciae* (26,33) coinciden con lo señalado por Amaya (1998), quien indica que la hembra de *Trichogramma* generalmente oviposita de 20 a 30 huevos durante su vida.

A los 5 días de observación, *T. nerudai* (nativo) parasitó 65,34% de huevos, siendo superior en parasitismo a *T. dendrolimi*, *T. platneri* y *Tricho-*

*gramma* sp. "Cato". *T. cacoeciae* con 52,66% de huevos parasitados no fue diferente significativamente a *T. nerudai*. La parasitación de *T. cacoeciae* concuerda con los datos publicados por Hassan *et al.* (1988) y Li (1994) que lo indican como un efectivo controlador de *C. pomonella*. Además, el parasitismo alcanzado por *T. cacoeciae* no fue significativamente diferente al logrado por *T. dendrolimi* (con 24,17 huevos parasitados (48,34%)) (Figura 1).

*Trichogramma* sp. "Cato" fue la especie que realizó la más baja parasitación en laboratorio, promedio 6,5 huevos/hembra (13%), lo que puede deberse al cambio de las condiciones ambientales, ya que este *Trichogramma* fue encontrado en terreno a fines del verano de 1998, y evaluado bajo condiciones diferentes a las de su hábitat natural. Esto podría concordar con lo reportado por Vinson (1997) y Amaya (1998), quienes señalan que un parasitoide inicialmente busca cierto ambiente, independiente de la presencia de su hospedero.

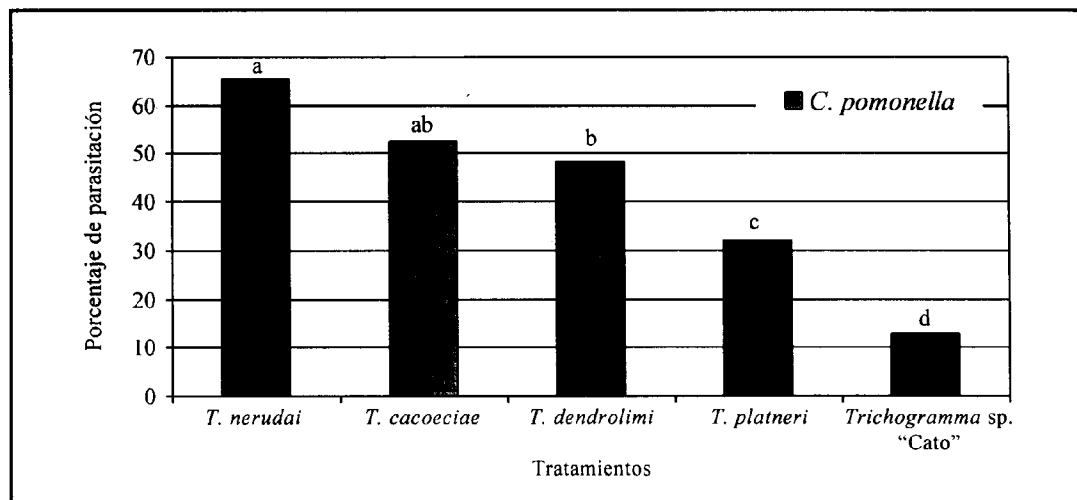


Figura 1. Parasitismo promedio (n = 50) por hembra de varias especies de *Trichogramma* sobre huevos de *C. pomonella*. \*Letras iguales no presentan diferencias significativas ( $P > 0,05$ ). Test de Duncan.

Figure 1. Parasitization mean (n = 50) per female of various *Trichogramma* species on *C. pomonella*.

## CONCLUSIONES

1. *Trichogramma cacoeciae* y *Trichogramma sp. "Cato"* presentaron una marcada preferencia por huevos de *C. pomonella*.
2. *Trichogramma nerudai* y *T. cacoeciae* presentaron la mayor fecundidad, ya sea en huevos de *C. pomonella* o *A. kuehniella*. *T. den-*

*drolimi* y *T. platneri* parasitaron mayor número sobre huevos de *A. kuehniella* que en huevos de *C. pomonella*.

3. *T. cacoeciae* y *Trichogramma sp. "Cato"* presentaron buenas condiciones para ser usados como agentes de control biológico de *C. pomonella*.

## RESUMEN

Se evaluó la eficiencia potencial de parasitación de diferentes especies de *Trichogramma* como posible agente de control biológico para *Cydia pomonella* (L.). Cinco especies de *Trichogramma* fueron evaluadas: *T. cacoeciae*; *T. dendrolimi* (strain D-9), *T. platneri* y las especies nativas *Trichogramma sp. "Cato"* y *T. nerudai*. Se evaluó a) prueba de preferencia por huevos de *Cydia pomonella* y *Anagasta kuehniella* y b) parasitismo obligado en huevos de *C. pomonella*. Los datos fueron registrados después de 5 días de expuesto el *Trichogramma* al hospedero. *T.*

*nerudai* y *T. cacoeciae* parasitaron una mayor cantidad de huevos de *C. pomonella*, con 65,34% y 52,66% de huevos por hembra, respectivamente. *T. cacoeciae* y *Trichogramma sp. "Cato"* mostraron una significativa preferencia por huevos de *C. pomonella*. *T. nerudai* no mostró preferencia por algún hospedero. *T. dendrolimi* y *T. platneri* mostraron preferencia por huevos de *A. kuehniella*.

**Palabras clave:** Polilla de la manzana, control biológico, manzana.

## LITERATURA CITADA

- AGUILERA, A. 1992. Plagas del Manzano en la IX Región de la Araucanía. Primer Seminario Manejo Agronómico del Manzano. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Carillanca. Temuco, Chile. p. 69-99.
- AMAYA, M. 1998. *Trichogramma* spp. Producción, Uso y Manejo en Colombia. Guadalajara de Buga, Colombia. Impresos Técnicos Litográficos. 176 p.
- ARTIGAS, J. 1994. Entomología Económica. Insectos de Interés Agrícola, Forestal, Médico y Veterinario. Concepción, Chile. Universidad de Concepción. Vol. 2. p. 761-766.
- GOMEZ, K. AND GOMEZ, A. 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research. 2<sup>nd</sup> ed. New York, USA. Awiley-Interscience. 680 p.
- GONZÁLEZ, R. H. 1980. La Polilla de la Manzana y de la Pera. Revista Frutícola (Chile) 1 (3): 15-20.
- HASSAN, S. A.; KOHLER, E. AND ROST, W. M. 1988. Mass Production and Utilization of *Trichogramma*: 10. Control of the Codling Moth *Cydia pomonella* and the Summer Fruit Tortrix Moth *Adoxophyes Orana* (Lep.: Tortricidae). Entomophaga 33 (4): 413-420.
- HASSAN, S.A. 1989. Selection of the Suitable *Trichogramma* Strains to Control the Codling Moth *Cydia pomonella* and the Two Summer Fruit Tortrix Moths *Adoxophyes Orana* Pandemis Heparana (Lep.: Tortricidae). Entomophaga 34 (1): 19-27.
- HASSAN, S. A. 1992. *Trichogramma* News. Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry, Braunschweig, Alemania. Vol. 6: 46.
- HASSAN, S. A. 1994. Strategies to Select *Trichogramma* Species for Use in Biological Control. In: Wajnberg E. and Hassan, S.A. (Eds.). Biological Control with Eggs Parasitoids. Center for Agriculture and Biosciences International. Wallingford, Great Britain. p. 55-71.
- KARADJOV, A. 1993. *Trichogramma* News. Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry. Braunschweig, Germany. Vol. 7: 50.
- KNIGHT, A.; BLOEM, S.; JUDD, G.; COSSENTINE, J.; BLOEM, K. A. AND CALKINS, C. 1997. Development of Multiples Tactics for Areawide Management of Codling Moth. Entomology Society of America. Annual Meeting. Disponible en: <http://www.sheridan.com/entsoc/abs/IFC2/E3200.html>. Conectado en Diciembre de 1997.
- LI, YING LI. 1994. Worldwide Use of *Trichogramma* for Biological Control on Different Crops: A survey. In: Wajnberg, E. and Hassan, S.A. (Eds.). Biological Control with Eggs Parasitoids. Center for Agriculture and Biosciences International. Wallingford, Great Britain. p. 37-54.
- MILLS, N. J. 1993. The potential of *Trichogramma platneri* in the integrated management of codling moth in California. *Trichogramma* News Vol. 7: 50 (Abstract).
- PARRA, J. R. P. 1997. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: Parra, J. R. P. y Zucchi, R. A. (Eds.). *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ). Sao Paulo, Brasil. p. 121-150.

- PINTO, J. D. AND STOUTHAMER, R. 1994. Systematics of the Trichogrammatidae with Emphasis on Trichogramma. *In*: Wajnberg, E. and Hassan, S. A. (Eds.). *Biological Control with Eggs Parasitoids*. Center for Agriculture and Biosciencia International. Wallingford, Great Britain. p. 1-36.
- PINTUREAU, B.; GERDING, M. AND CISTERNAS, E. 1999. Description of three new species of Trichogrammatidae (Hymenoptera) from Chile. *The Canadian Entomologist* 131(1): 53.
- SHOJAI, M. 1993. *Trichogramma News*. Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry. Braunschweig, Germany. 7: 50.
- SINGH, P. 1977. *Artificial diets for insects, mites and spiders*. Auckland, New Zealand. Entomology Division Department of Scientific and Industrial Research. 594 p.
- VINSON, S. B. 1997. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. *In*: Parra J. R. P. y Zucchi, R. A. (Eds.). *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*. Fundação de Estudios Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ). Sao Paulo, Brasil. p. 67-119.