II Jornadas de transferencia de I+D+i para una producción sostenible del plátano en las RUPs
Tenerife, 2-5 de Octubre de 2012

Bases para el control integrado de *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lep.: Noctuidae) en cultivos de platanera de Canarias

Modesto del Pino[1], Aurelio Carnero[1], Estrella Hernández[1] y Tomás Cabello[2]

[1] Dpto. Protección Vegetal, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA)

[2] Dpto. Biología Aplicada, Universidad de Almería (UAL)

modestodelpinoperez@hotmail.com / www.icia.es



Agradecimientos

Beca Predoctoral I.N.I.A:

"Control integrado de noctuidos plaga en cultivos de platanera de Canarias"

Proyectos y convenios de Investigación:

Convenio de colaboración ICIA-ASPROCAN:

"Bases para el control integrado de *Chrysodeixis chalcites* (Esper) en cultivo de platanera".

Convenios ICIA-UAL-AGROBÍO:

"Control biológico de *Chrysodeixis chalcites* y *Tuta absoluta* plagas en cultivo de platanera y tomate"

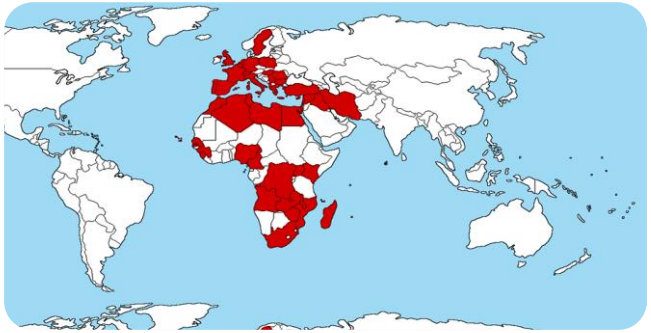
"Uso de *Trichogramma achaeae* para el control biológico de la lagarta de la platanera *Chrysodeixis chalcites*"

Proyecto MAC/1/C054-BIOMUSA:

"Transferencia de I+D+i para el desarrollo sostenible del cultivo del plátano en las RUPs"







Distribución de *C. chalcites* (**CABI**, 2007)

Chrysodeixis chalcites

(Esper, 1789)

Orden: Lepidoptera

Familia: Noctuidae

Nombre científico: *Ch. chalcites* (Esper, 1789)

- *Phalaena* (*Noctua*) *chalcites* Esper, 1789
- *Plusia verticillata* Guenée, 1852
- *Plusia buchholzi* Plötz, 1880

Nombre común: **lagarta**, **bicho camello**, plusia, oruga medidora, *golden twin spot*, *tomato looper*.

Distribución: Norte de Europa, Cuenca Mediterránea, Oriente Medio, Sur de África, **Islas Canarias**, Madeira, Cabo Verde, etc. (**CABI**, 2007).

Especie polífaga: 17 familias de plantas hortícolas, ornamentales e industriales: algodonero, alfalfa, coles, girasol, geranio, judía, maíz, nabos, patata, pepino, pimiento, plátano, soja, tabaco, tomate.

Daños que ocasiona en el cultivo



En planta joven



En hoja



Del Pino, M.; Carnero, A.; Cabello, T.; Hernandez, E., 2011. La lagarta o bicho camello, *Chrysodeixis chalcites* (Esper, 1789), una plaga emergente en los cultivos de platanera de Canarias**.** *Phytoma España*, **225**: 21-24.

Daños que ocasiona en el cultivo



En fruto





Del Pino, M.; Carnero, A.; Cabello, T.; Hernandez, E., 2011. La lagarta o bicho camello, *Chrysodeixis chalcites* (Esper, 1789), una plaga emergente en los cultivos de platanera de Canarias**.** *Phytoma España*, **225**: 21-24.

Objetivos



BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA

1) Evaluación de los efectos de la temperatura sobre la biología de *Chrysodeixis chalcites* en condiciones de laboratorio

2) Estudio de la fenología de *Ch. chalcites* en cultivos de platanera al aire libre y en invernadero



CONTROL QUÍMICO

3) Evaluación de la eficacia de diversos insecticidas químicos, biológicos o biorracionales para el control de la plaga en condiciones de laboratorio y de campo



LUCHA BIOTÉCNICA

4) Evaluación de la eficiencia de cápsulas comerciales de feromonas sexuales sintéticas y de trampas para la captura y seguimiento de imagos de *Ch. chalcites*



CONTROL BIOLÓGICO

5) Prospección, catalogación y evaluación de la incidencia de parasitoides de *Ch. chalcites*, con especial interés en especies del género *Trichogramma*

6) Estudio de la biología y respuesta funcional de *Trichogramma achaeae*

7) Evaluación de efectos secundarios de plaguicidas sobre *T. achaeae*

8) Evaluación de la efectividad de *T. achaeae* como agente de control biológico



FENOLOGÍA DE *Ch. chalcites*

Antecedentes

▣ **Especie migratoria** (**CAYROL**, 1972)

▣ **Nº de generaciones:**

- ✓ Norte de África: 8-9 generaciones/año
- ✓ Francia: 3 generaciones/año
- ✓ España: poco estudiado / presente todo el año

  SE España: sedentaria (**CABELLO** *et al*., 1996)

Canarias: ¿migratoria o sedentaria?

SPITZER, K.; JAROS, J., 2004. Mass migration of *Chrysodeixis chalcites* (Esper, 1789) in Tenerife, Canary Islands (Lepidoptera: Noctuidae). *SHILAP Revista de lepidopterología,* **32(125):** 19-22.

CAYROL, R.A., 1972. Famille des Noctuidae. En: **BALACHOWSKY, A.S.** (Ed.) *Entomologie appliquée a l'agriculture. Lépidoptères. Tome II. Volume 2.* Masson et Cie. París: 1255-1520.
CABELLO, T.; GONZÁLEZ, M.P.; JUSTICIA, L.; BELDA, J.E., 1996. *Plagas de noctuidos (Lep.; Noctuidae) y su fenología en cultivos en invernaderos.* Informaciones Técnicas 39/96. Dirección General de Investigación y Formación Agraria. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 155 pp.



FENOLOGÍA DE *Ch. chalcites*

Material y métodos

▣ **Metodología:** **CABELLO y VARGAS** (1990), **BELDA** *et al*. (1994), **CABELLO** *et al*. (1996)

▣ **Periodo de seguimiento:** Mar. 2008 – Dic. 2010

▣ **Localizaciones (5):**

- **Tenerife (3):** Las Galletas, Puerto de la Cruz, Valle de Guerra
- **La Palma (2):** El Remo, Fuencaliente

▣ **Captura de adultos:** Trampas feromonas sexuales

- Feromona: OpenNatur (Pherobank®)
- Trampa: Tipo embudo o *funnel* (Econex®)
- Agente insecticida: DDVP (Diclorvos)

▣ **Colocación:** aire libre (2) + invernadero (2) / loc.

▣ **Seguimiento semanal:** recogida e identificación de adultos

▣ Cambio mensual de feromonas y DDPV

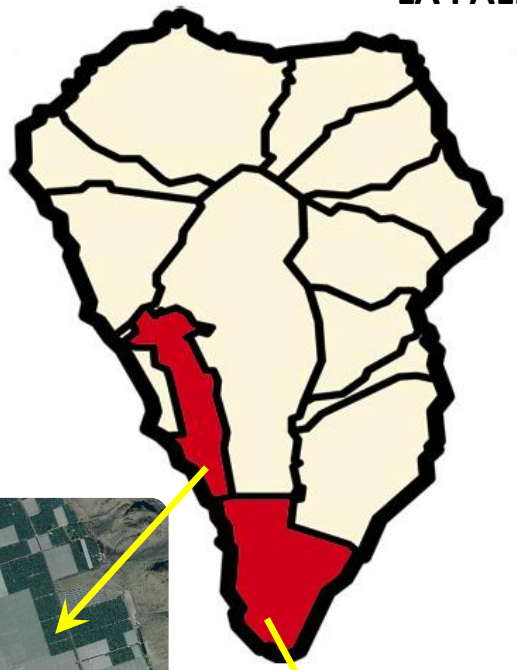
CABELLO, T.; GONZÁLEZ, M.P.; JUSTICIA, L.; BELDA, J.E., 1996. *Plagas de noctuidos (Lep.; Noctuidae) y su fenología en cultivos en invernaderos.* Informaciones Técnicas 39/96. Dirección General de Investigación y Formación Agraria. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 155 pp.



VALLE DE GUERRA
Lat.: 28º 31’ 42” N
Long.: 16º 23’ 13” W
Ubicación: AL + INV
Inicio: 07/04/2008
Fin: 29/11/2010



PUERTO DE LA CRUZ
Lat.: 28º 24’ 22” N
Long.: 16º 33’ 31” W
Ubicación: AL
Inicio: 07/04/2008
Fin: 29/11/2010





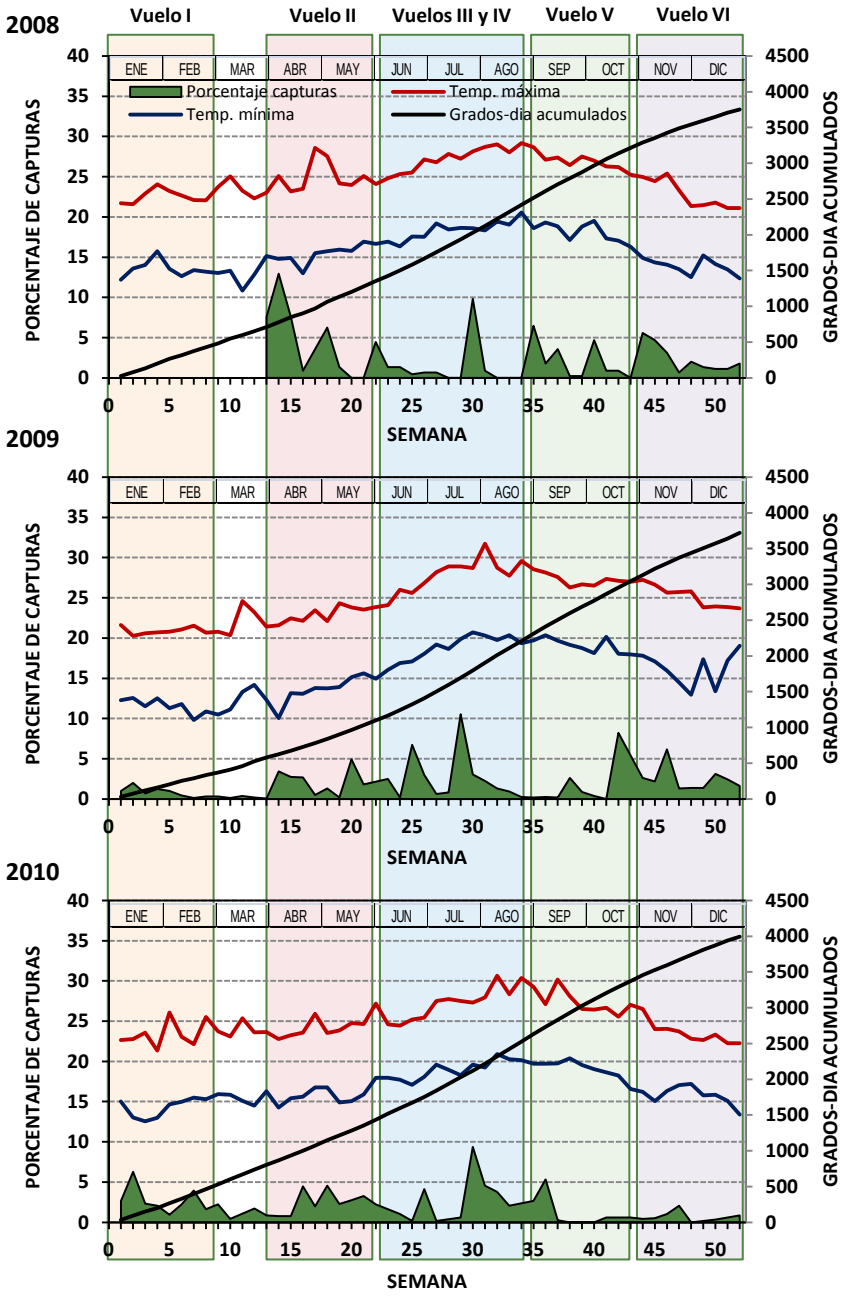
EL REMO
Lat.: 28º 33’ 21” N
Long.: 17º 53’ 17” W
Ubicación: AL + INV
Inicio: 08/05/2008
Fin: 17/08/2010



LAS GALLETAS
Lat.: 28º 01’ 52” N
Long.: 16º 39’ 32” W
Ubicación: AL + INV
Inicio: 13/03/2008
Fin: 27/12/2010



FUENCALIENTE
Lat.: 28º 28’ 43” N
Long.: 17º 51’ 42” W
Ubicación: AL + INV
Inicio: 23/04/2008
Fin: 14/03/2010



Resultados y discusión

Relación capturas/temperatura

Relaciones entre temperatura y fenología de *Ch. chalcites*. Las Galletas (TF)

Característica fenológica	Fecha	% Capturas	GDA
Primera captura	Principios de enero	2,06	31,36
Vuelo I	Mitad de enero	4,61	84,76
Vuelo II	Principio de abril	3,57	778,42
Vuelo III	Mitad de junio	3,28	1576,51
Vuelo IV	Final de julio	5,92	2036,11
Vuelo V	Principio de septiembre	2,17	2629,90
Vuelo VI	Mitad de octubre	4,19	3128,31
Última captura	Final de diciembre	1,29	3832,50

$$\text{Grados-dia (GD)} = \frac{(T_{max} + T_{min})}{2} - T_0$$

Con:
T_{max} = Temperatura máxima diaria (ºC)
T_{min} = Temperatura mínima diaria (ºC)
T_0 = Temperatura umbral mínima de desarrollo (ºC) (T_0 = 10ºC)

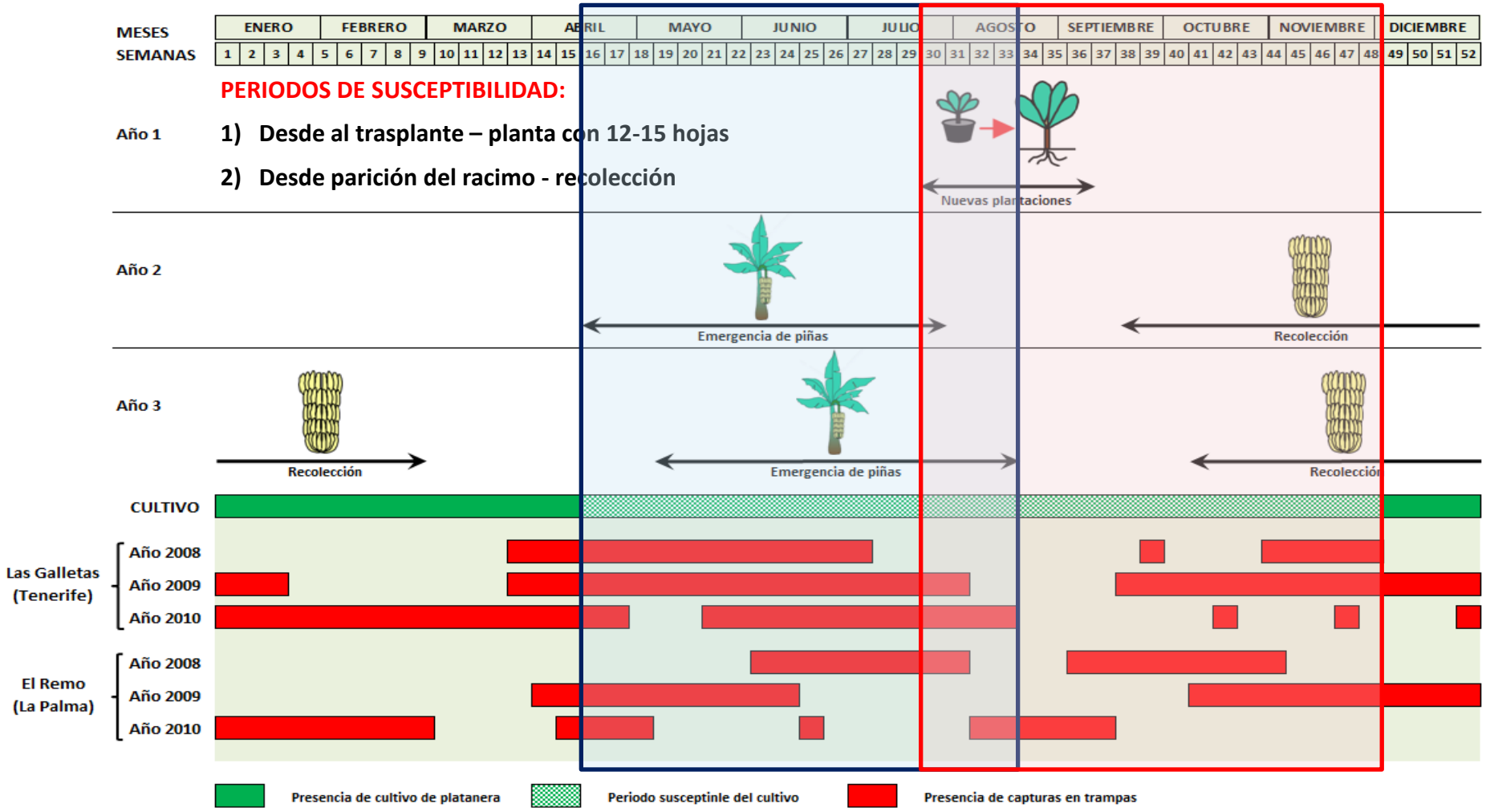
- Mezcla poblaciones inmigrantes y sedentarias
- **Spitzer y Jaros** (2004): adultos inmigrantes (abril)
- **Cabello** *et al*. (1996): mayo, junio y octubre (2-3 gen./año)

Especie sedentaria en Canarias: 5-6 generaciones/año

Posibles fenómenos de dispersión entre islas

Cabello, T.; González, M.P.; Justicia, L.; Belda, J.E., 1996. *Plagas de noctuidos (Lep.; Noctuidae) y su fenología en cultivos en invernaderos.* Informaciones Técnicas 39/96. Dirección General de Investigación y Formación Agraria. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 155 pp.

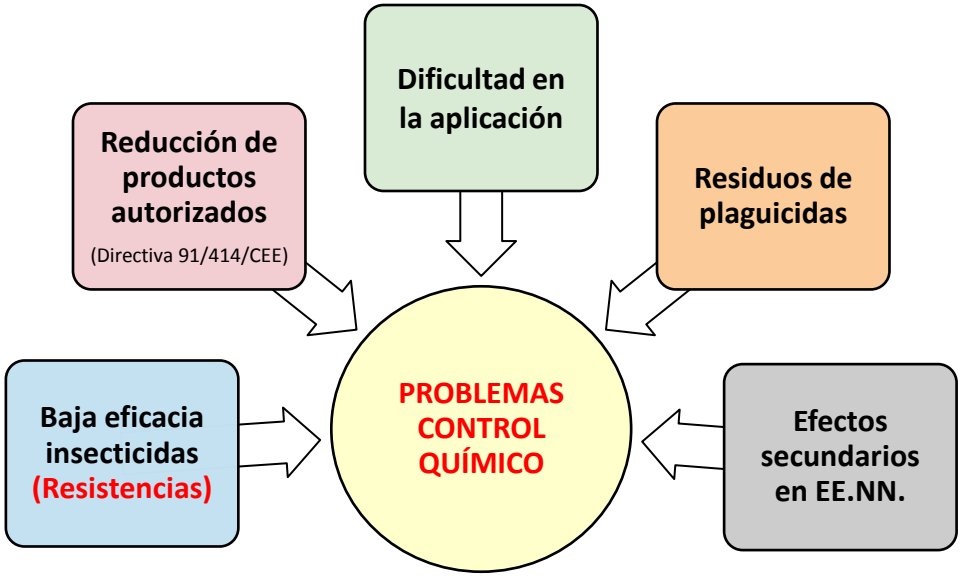
Relación fenología *Ch. chalcites* / cultivo platanera



Cabrera, J.; Galán Saúco, V., 2005. Evaluation of the banana cultivars Zelig, Grande Naine and Gruesa under different environmental conditions in the Canary Islands, *Fruits*, **60**: 1–13.



CONTROL QUÍMICO



Productos fitosanitarios autorizados en España (**M.A.R.M.**, 2011)

Materia activa	Nombre comercial	P.S.
Azadiractin 3,2% EC	Azatin, Align, Fortune Aza, Ziradina, Neem Oil, Zar, Azar, Zafiro, Azafit.	N.P.
Bacillus thuringiensis kurstaki 16%	Novo biobit, Dipel X., Bacilmar, Bioscrop BT16, Bethirul 16WP	N.P.
Bacillus thuringiensis kurstaki 32%	Bactur 2X, Belthirul, Bazthu-32, Merger, Sequra 32, Epsilon, Talia 32 …	N.P.
Clorpirifos 48% EC	Dursban 48, Pyrinex 48 EC, Danfito, Fostan, Choke, Delfos, Panda 48 LE …	21
Indoxacarb 30% WG	Steward DP	6
Lambda-cihalotrin 2,5% WG	Karate King	7

M.A.R.M., 2011. *Registro de productos fitosanitarios.* http://www.mapa.es/es/agricultura/pags/fitos/registro/menu.asp

Evaluación en laboratorio

Material y métodos


Producto comercial

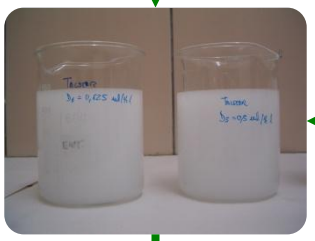
+



Mojante 0,5%

CONDICIONES DE ENSAYO:
Tª: 25 ± 2 ºC
H.R.: 65 ± 10%
Fotoperiodo: 16:8 h (L:O)
Discos hoja (9 cm)

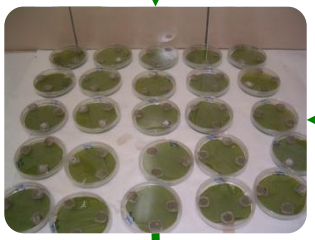
N = 5 discos de hoja/m.a

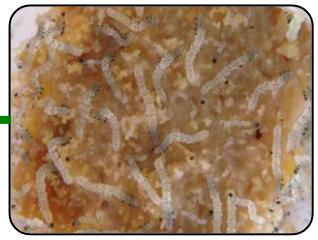

Residuo fresco
Secado 1 h

Placa de Petri +
Agar + disco de hoja

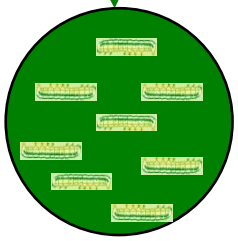

Inmersión 5 seg.

N = 40 larvas L2/m.a.




8 larvas L2/placa

Mortalidad
24h, 48h, 72h y 96h





▣ **Metodología: IRAC** (2009) Método de inmersión de hoja

▣ **Ensayos (3):**

- Población de laboratorio (1)
- Poblaciones de campo (2): Tenerife y La Palma (F1)

▣ **Diseño experimental:**

- Aleatorio: 1 factor (materia activa), 5 repeticiones
- 10 materias activas a dosis de campo
- Testigo: agua + mojante

▣ **Eficacia:**

$$PE_{AM} = \left(\frac{M_t - M_t'}{100 - M_t'}\right) \times 100$$

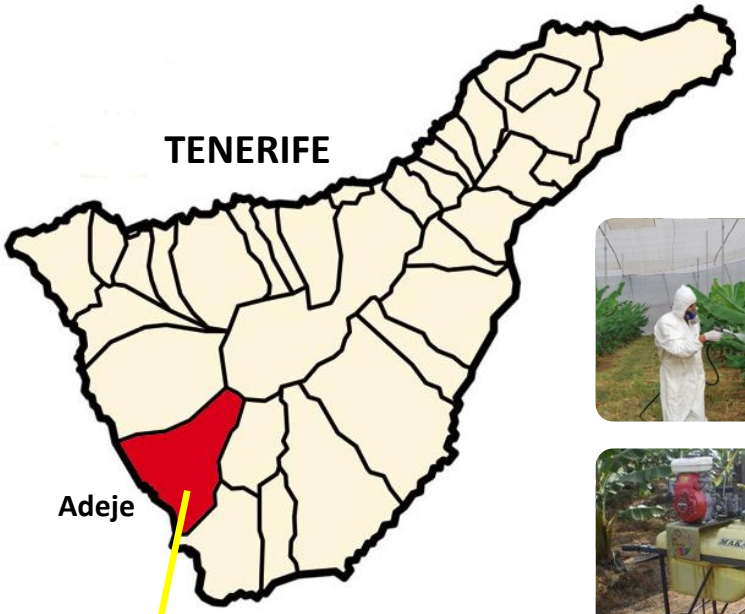
- Análisis MLG, Test de Tukey (P<0,05), PASW Statistics v. 18
- Ecuación de Abbot modificada (**Andújar** *et al.*, 1997)

Materia activa	Nombre comercial	Dosis	Distribuidor
Azadiractina	Align	1,00 ml/l	Sipcam Inagra
B. thuringiensis aizawai	Xentari GD	0,50 g/l	Kenogard
B. thuringiensis kurstaki	Sequra 32	0,50 g/l	Kenogard
Bifentrin	Talsar 10 LE	0,80 ml/l	FMC Foret
Clorpirifos	Dursban 48(	2,00 ml/l	Dow Agrosciences
Etofenprox	Shark	1,00 ml/l	Sipcam Inagra
Fenoxicarb + Lufenuron	Lufox	1,00 ml/l	Syngenta Agro
Indoxacarb	Steward	0,04 g/l	Du Pont Ibérica
λ- cihalotrin	Karate King	0,80 g/l	Syngenta Agro
Spinosad	Spintor 480 SC	0,25 ml/l	Dow Agrosciences

IRAC, 2009. IRAC Susceptibility Test Methods Series. Method No: 007 Version: 3 (June 2009). *Insecticide Resistance Action Committee*: www.irac-online.org
Andújar, A.; Barranco, P.; Belda, J.E.; Cabello, T.; Carreño, R., 1997. Análisis de eficacia de productos fitosanitarios. *Phytoma España*, **92**: 32-40.

Evaluación en campo

Material y métodos





CALDERA DEL REY
Lat.: 28º 4’ 19” N
Long.: 16º 43’ 2” W
Superficie: 16000 m²
Variedad: Gruesa Palmera





- Carretilla Makato®
- Aplicación: 03/04/2009
- Gasto: 1600 l/ha
- Regulador pH (0,5 cc/l)

ESCALA DE DAÑOS:
- **Grado 0:** Sin daños en hojas
- **Grado 1:** 5 - 20 % área foliar con daños
- **Grado 2:** 21 – 40 % área foliar con daños
- **Grado 3:** 41 – 60 % área foliar con daños
- **Grado 4:** > 60 % área foliar con daños

Grado 0 Grado 1 Grado 2 Grado 3 Grado 4



▣ Diseño experimental:

- Bloques al azar: 11 tratamientos x 3 repeticiones
- 9 materias activas a dosis de campo
- Testigo: agua + mojante / Testigo absoluto

▣ Evaluación:

- 9 plantas/bloque: nº de larvas/planta (5 hojas)
- Conteos: -1, 3, 11, 17 y 24 días d.d.t.
- Evaluación de daños (según escala)

▣ Eficacia:

$$PE_{AM} = \left(\frac{M_t - M_t'}{100 - M_t'}\right) \times 100$$

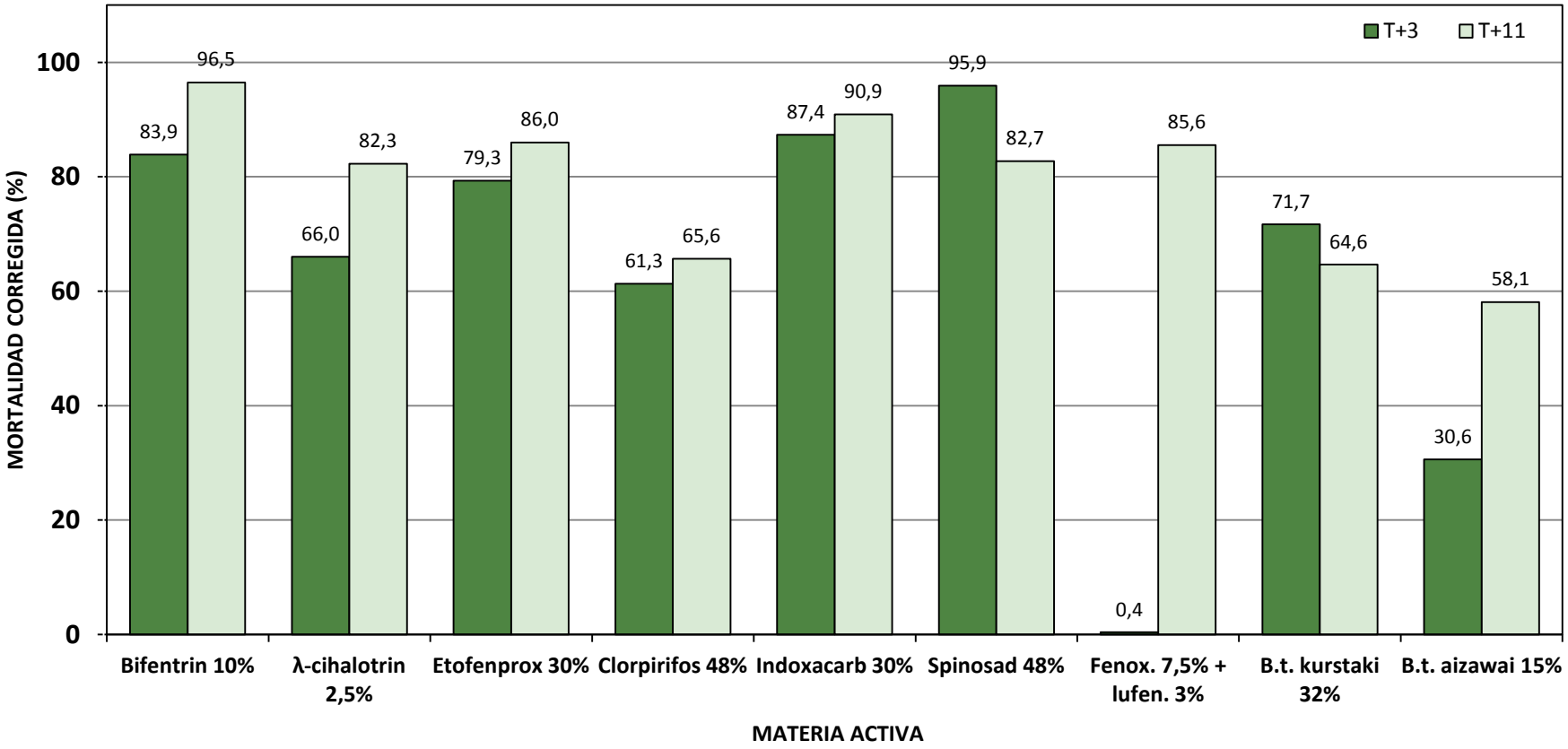
- Análisis MLG, Test de Tukey (P<0,05)
- Abbot modificada (**ANDÚJAR** *et al.*, 1997):

Materia activa	Nombre comercial	Dosis
B. thuringiensis aizawai	Xentari GD	0,50 g/l
B. thuringiensis kurstaki	Sequra 32	0,50 g/l
Bifentrin	Talsar 10 LE	0,80 ml/l
Clorpirifos	Dursban 48(	2,00 ml/l
Etofenprox	Shark	1,00 ml/l
Fenoxicarb + Lufenuron	Lufox	1,00 ml/l
Indoxacarb	Steward	0,04 g/l
λ- cihalotrin	Karate King	0,80 g/l
Spinosad	Spintor 480 SC	0,25 ml/l

Resultados y discusión

Evaluación de la eficacia en campo

Porcentaje medio de eficacia a los 3 y 11 días de la aplicación





CONTROL BIOLÓGICO

▣ Trabajos anteriores:

CABELLO, T., 1989. Natural enemies of noctuid pests (Lep., Noctuidae) on alfalfa, corn, cotton and soybean crops in southern Spain. *J. Appl. Ent.,* **108:** 80-88.

ALCÁZAR, M.D.; BELDA, J.E.; BARRANCO, P.; CABELLO, T., 2002. *Parasitoides de especies plaga en hortícolas de invernaderos en Almería.* Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla: 181 pp.

Parasitoides de huevos:

- *Trichogramma cordubensis* Vargas y Cabello
- *Litomastix truncatellus* Dalman

Parasitoides de larvas:

- *Cotesia plutella* Kurdjumov
- *Cotesia ruficrus* Haliday
- *Cotesia kazak* Telenga
- *Hyposoter didymator* Thumberg
- *Exorista sorbillans* Wiedemann

▣ Trabajos realizados en Canarias:

HERNÁNDEZ, M.P., 2007. *Seguimiento de Chrysodeixis chalcites y Spodoptera littoralis en platanera en la isla de El Hierro; búsqueda de entomófagos y entomopatógenos.* Trabajo Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna: 79 pp.

Parasitoides de larvas:

- *Cotesia sp.*
- *Exorista sorbillans* Wiedemann

Entomopatógenos:

- *Chch*NPV-SP2
- *Aspergillus* spp.

Material y métodos

▣ **Metodología: CABELLO** (1989)

▣ **Muestreo:** huevos, larvas y pupas de *C. chalcites*

▣ **Años:** Septiembre 2007 – Mayo 2010

▣ **Islas:** Tenerife, La Palma, El Hierro y Gran Canaria

▣ **Cultivos:**

Platanera: Aire libre y malla

Vegetación espontánea asociada: tabaco moro (*Nicotiana glauca*) y tomatillo del diablo (*Solanum nigrum*)

Cultivos hortícolas asociados: calabaza, coles, judía, pimiento y tomate

Ornamentales: geranio



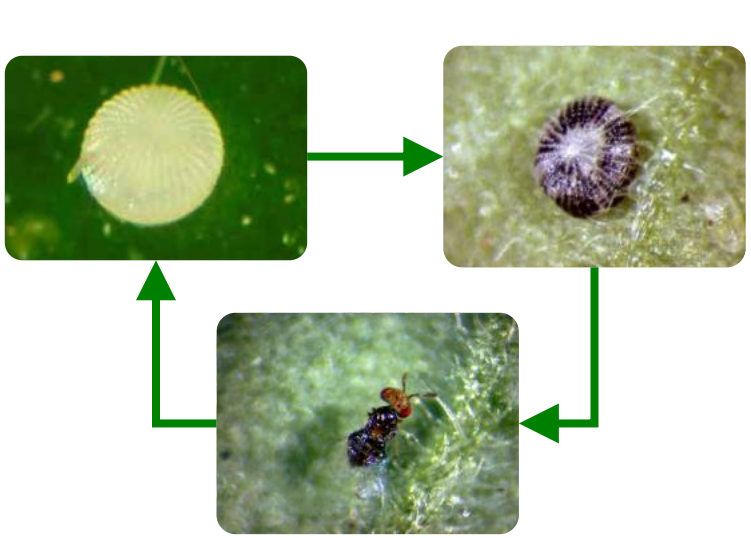


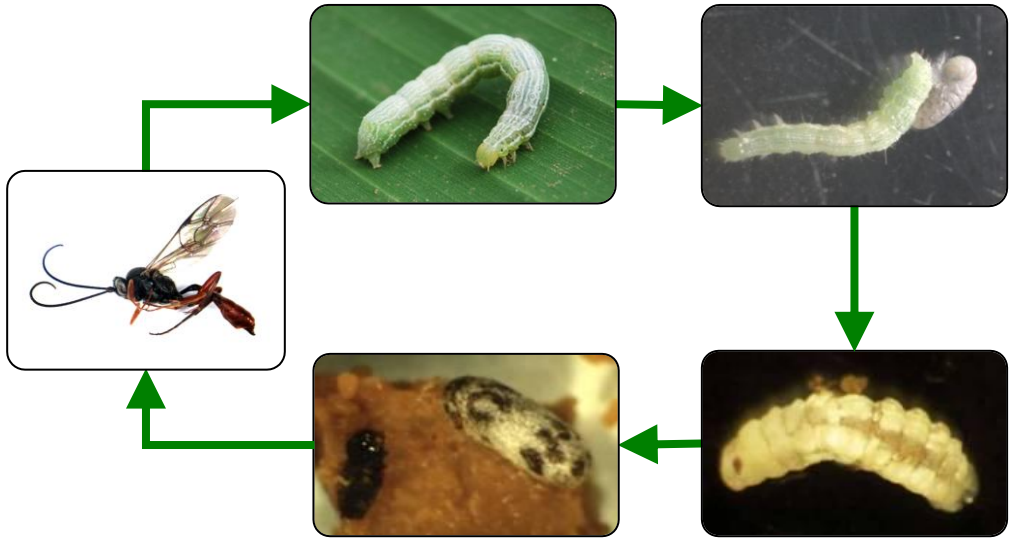
MUESTREO DE HUEVOS:

1) Recolección de hojas con huevos de *C. chalcites*
2) Aislado de huevos en tubos ensayo
3) Evolución y conservación adultos en alcohol 96º
4) Identificación morfológica (Museo de Historia Natural, Londres) y molecular (Universidad de California, Riverside)

MUESTREO DE LARVAS:

1) Recolección manual de larvas y pupas de *C. chalcites*
2) Aislado en botes con dieta artificial
3) Evolución y conservación de adultos en seco
4) Identificación morfológica: Gloria Ortega (Museo de Ciencias Naturales , Tenerife)

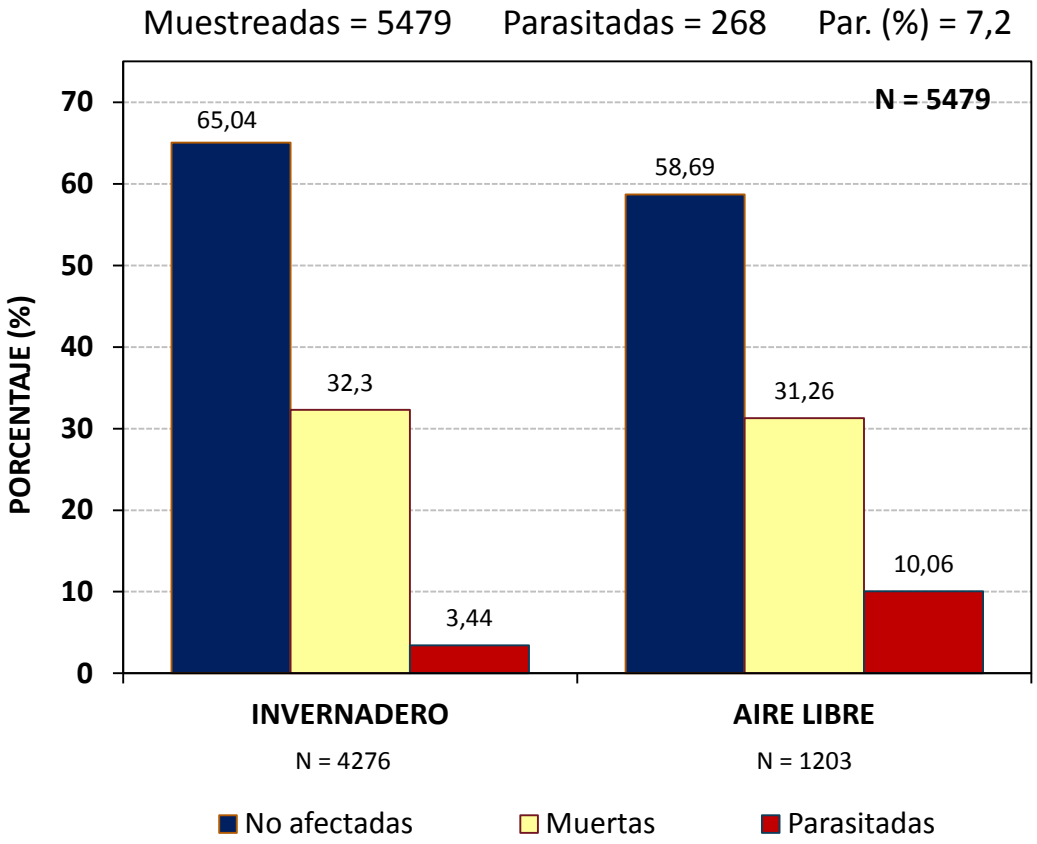




CABELLO, T., 1989. Natural enemies of noctuid pests (Lep., Noctuidae) on alfalfa, corn, cotton and soybean crops in southern Spain. *J. Appl. Ent.,* **108:** 80-88.

Resultados y discusión

Parasitismo y mortalidad de larvas de *Ch. chalcites*





Larva de *Ch. chalcites* afectada por *Chch*NPV-SP2
HERNÁNDEZ (2007)**; BERNAL** *et al*. (2009)

BAJOS NIVELES PARASITISMO DEBIDOS A:

1) Condiciones climáticas adversas

2) Estructuras de invernaderos

3) Prácticas agronómicas: aplicación de fitosanitarios

4) Baja incidencia inicial de *Ch. chalcites*

BELDA (1994), **ALCÁZAR** *et al*. (2002), **PINO** *et al.* (2003)

BERNAL, A.; SIMÓN, O.; MUÑÓZ, D.; WILLIAMS, T.; CABALLERO, P., 2009. Selección de un nucleopoliedrovirus para el control de *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lepidoptera: Noctuidae): comparación genética y biológica de aislados geográficos. *VI Congreso Nacional de Entomología Aplicada.* Palma de Mallorca: 74.

Resultados y discusión

Parasitoides de larvas

- **Hymenoptera: Braconidae**
  - *Cotesia glomerata* (Linnaeus, 1758)
  - *Cotesia sp.*
  - *Rhogas* sp.
- **Hymenoptera: Ichneumonidae**
  - *Ctenochares bicolorus* (Linnaeus, 1767)
  - *Hyposoter rufiventris* (Pérez, 1895)
- **Diptera: Tachinidae**
  - *Aplomyia confinis* (Fallén, 1820)



Cotesia sp.



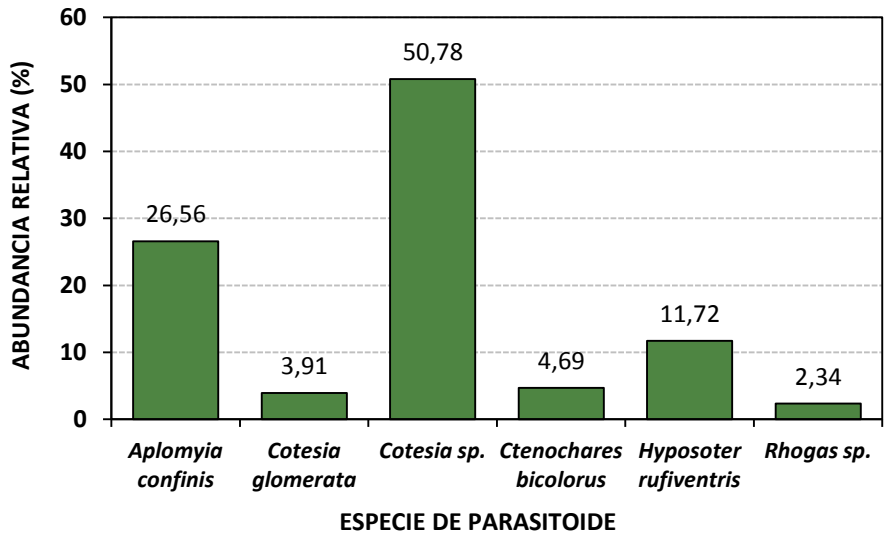
Rhogas sp.



Hyposoter rufiventris



Aplomyia confinis



CANARIAS: (**HERNÁNDEZ**, 2007):
- *Cotesia sp*.
- *Exorista sorbillans* Wiedemann

PENÍNSULA: **CABELLO** (1989), **BELDA** (1994), **TORRES-VILA** *et al*. (2000), **ALCÁZAR** *et al*. (2002):
- *Cotesia plutella* Haliday
- *Cotesia kazak* Telenga
- *Hyposoter didymator* Thunberg

HERNÁNDEZ, M.P., 2007. *Seguimiento de Chrysodeixis chalcites y Spodoptera littoralis en platanera en la isla de El Hierro; búsqueda de entomófagos y entomopatógenos.* Trabajo Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna: 79 pp.







Resultados y Discusión

Parasitoides de huevos de *Ch. chalcites*

Muestreados = 2776 Parasitados = 1785 Par. (%) = 64,30

Isla	Número de parcelas	Número medio de huevos/parcela		Parasitismo (%)	
		Muestreados	Parasitados	Medio	Máximo
El Hierro	7	7,57	5,00	48,57	100,00
Gran Canaria	2	58,50	41,50	70,82	71,64
La Palma	22	49,14	42,05	81,01	100,00
Tenerife	28	48,93	23,86	38,58	97,06
Total	**59**	**44,42**	**29,00**	**56,68**	**100,00**

▣ **Hymenoptera: Trichogrammatidae**

- *Trichogramma* spp.

Primera cita del género en las Islas Canarias

Arechavaleta, M.; Rodríguez, S.; Zurita, N.; García, A., (coord.) 2010. *Lista de especies silvestres de Canarias. Hongos, plantas y animales terrestres. 2009*. Gobierno de Canarias. 579 pp.



Foto: Tomás Cabello (UAL)

Trichogramma spp.

Orden: Hymenoptera

Familia: Trichogrammatidae

Género: *Trichogramma* Westwood, 1833

Insectos muy pequeño (<1 mm)

Endoparásitos de huevos: Lepidoptera y Diptera

210 especies a nivel mundial

11 especies citadas en España: *T. achaeae, T. bourarachae, T. brassicae, T. cacoeciae, T. cordubensis, T. embryophagum, T. evanescens, T. gicai, T. pintoi, T. sembildis, T. urquijoi*

Identificación de *Trichogramma:*

- ✓ **Características morfológicas:** genitalia y antenas de machos:

  Problemas: Variaciones intraespecíficas, incompatibilidad reproductiva, presencia de especies crípticas (*T. cacoeciae*), etc.

- ✓ **Hibridación experimental**
- ✓ **Técnicas moleculares:** RAPD, RFLP, microsatélites, secuencias ITS1 y ITS2 del ADN

Mills, N., 2010. Egg parasitoids in biological control and integrated pest management, Chapter 15. En: **Consoli, F.L.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.** (Eds.) *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Progress in Biological Control, vol 9. Springer, New York: 389-412



Foto: Estrella Hernández (ICIA)

Identificación morfológica

Material y métodos

Dra. E. HERNÁNDEZ / Dr. A. POLASZEK – Museo de Historia Natural, Londres (Reino Unido)

PROCEDIMIENTO:

1) Preparaciones al microscopio óptico

2) Identificación y diagnóstico de especies

- Morfología de genitalias y antenas de machos
- Claves taxonómicas: **LIN** (1994), **NAGARAJA y NAGARKATTI** (1970), **NAGARAJA y NAGARKATTI** (1971), **PINTO** (1999), **PINTUREAU y BABAULT** (1988) y **PINTUREAU** (2008)
- Comparación con material de referencia del NHM

3) Escaneado de preparaciones: ala anterior, antenas y genitalia del macho

4) Descripción morfológica: **PINTO** (1999)

GENITALIA:
- Longitud de la cápsula genital (LG)
- Anchura de la cápsula genital (AG)
- Distancia apical (DA)
- Anchura apical (AA)
- Longitud de las apodemas (LAP)
- Longitud de la lámina dorsal (LD)
- Longitud del aedeago (LA)

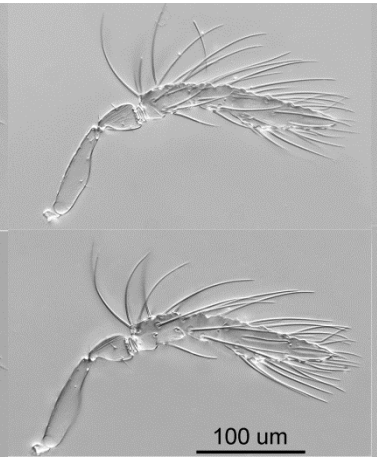
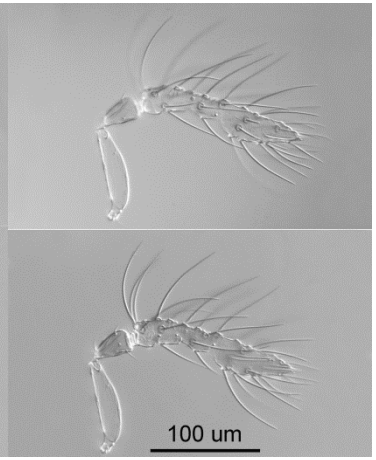
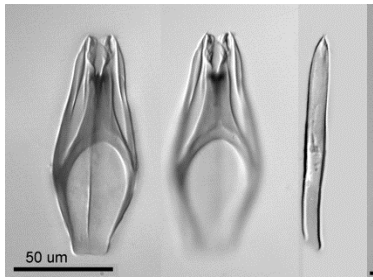
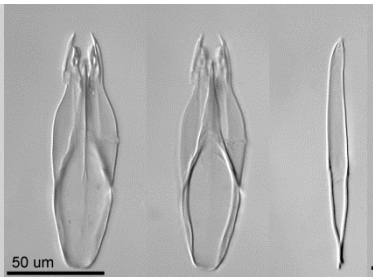
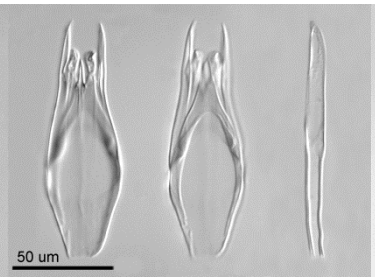
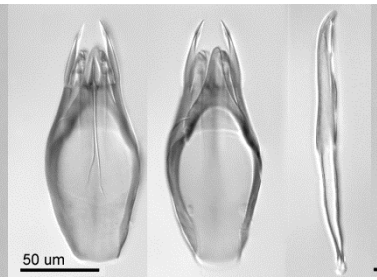
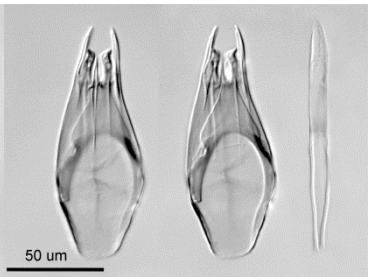
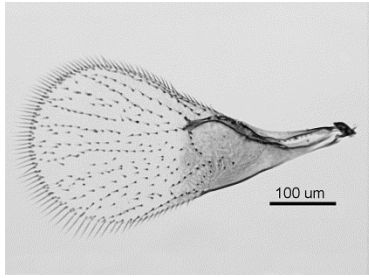
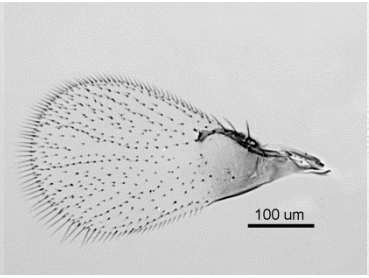
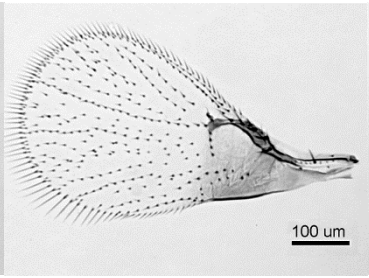
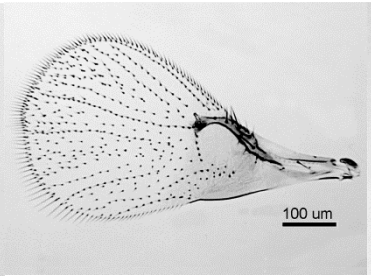
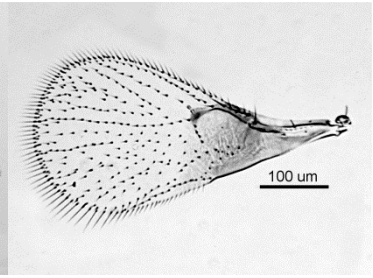
ANTENA:
- Longitud del escapo (LE)
- Longitud del flagelo (LF)
- Anchura del flagelo (AF)
- Longitud de la seta más larga del flagelo (LSF)
- Anchura de la base del flagelo (BF)

PINTO, J.D., 1998. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Memoirs of Entomological Society of Washington*, **22**: 1-287.

Identificación morfológica de *Trichogramma*

Resultados y discusión

N = 39

	T. achaeae	*T. bourarachae*	*T. euproctidis*	*T. evanescens*	*T.* sp. p. *brassicae*
	n = 11	n = 3	n = 11	n = 4	n = 15
Antenas ♂					
Genitalia ♂					
Alas ♂					

Identificación molecular

Material y métodos

Estancia de investigación: UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA, Riverside (EE.UU.)

Dr. R. STOUTHAMER / Dr. P. RUGMAN-JONES

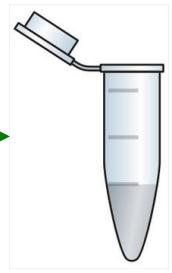
PROCEDIMIENTO:

STOUTHAMER *et al*. (1999)

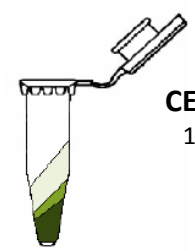
1) Extracción del ADN
2) Amplificación por PCR
3) Secuenciación de regiones ITS2 DNAr
4) Comparación con secuencias ITS2 conocidas: **KUMAR** *et al*. (2009), **SILVA** *et al*. (1999) y **SUMER** *et al*. (2009)



N = 39



EXTRACCIÓN DE ADN:
60 µl Chelex-100 (5%) (Biorad®)
2 µl de Proteinasa-K (20 mg/ml)



CENTRIFUGACIÓN
14000 rpm – 1 min
+
INCUBACIÓN
55 ºC – 1 h
99 ºC – 10 min
+
CENTRIFUGACIÓN
14000 rpm – 4 min



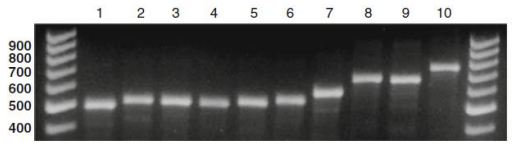
CEBADORES O *PRIMERS*
(**STOUTHAMER** *et al*., 1999):
ITS2-forward:
5'-TGTGAACTGCAGGACACATG-3'
ITS2rev-Trich:
5'-GTCTTGCCTGCTCTGCTCTGAG-3'

PCR

CICLADO:
Inicio: 95 ºC – 3 min
Ciclos: 94 ºC – 45 s
58 ºC – 45 s
72 ºC – 1 min (x 37 ciclos)
Fin: 72 ºC – 3 min

REACCIÓN PCR:
2 µl de ADN
2,5 µl buffer PCR 10x Thermopol
5 µl dNTP's (10 mM)
0,5 µl cebadores (10 ng)
0,2 µl Taq DNA polimerasa (NEB)
14,3 µl de H_20

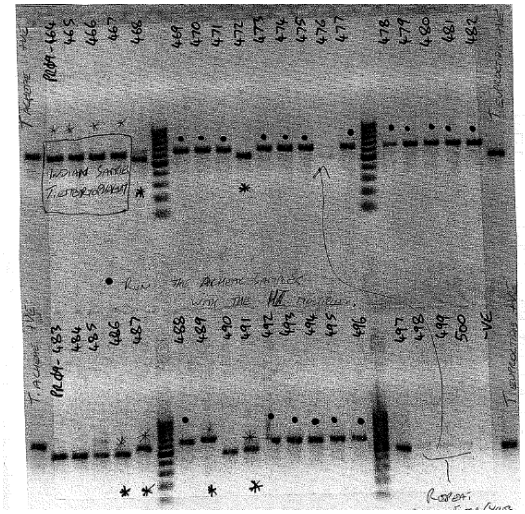
ELECTROFORESIS → **Gel de agarosa 1,5% + bromuro de etidio**



STOUTHAMER, R.; HU, J.; VAN KAN, F.; PLATNER, G.R.; PINTO, J.D., 1999. The utility of internal transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. *BioControl*, **43**: 421-440.

Identificación molecular

Resultados y discusión



Productos PCR de 39 muestras de *Trichogramma*

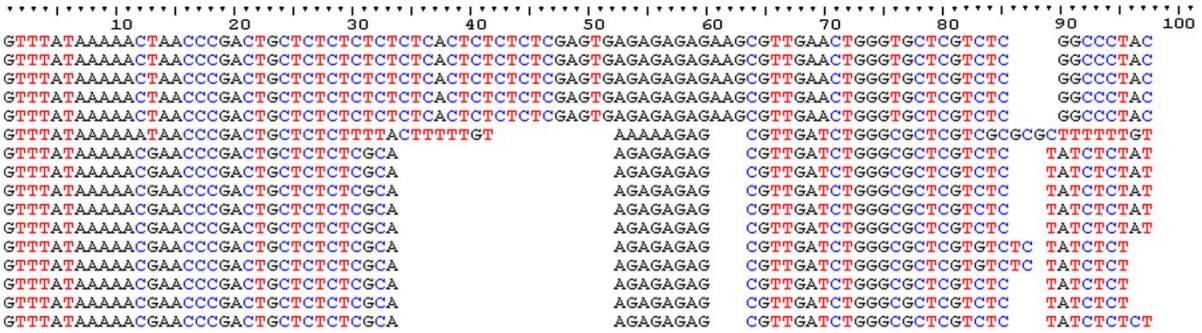
ESPECIE:	**Tamaño ITS2:**
T. evanescens	431 pb
T. euproctidis	377pb
T. achaeae	519 pb
T. bourarachae	560 pb
T. sp. p. *brassicae*	411 pb

N = 39

- *T. achaeae* (19)
- *T. bourarachae* (4)
- *T. euproctidis* (8)
- *T. evanescens* (3)
- *T*. sp. p. *brassicae* (2)
- Sin producto (3)

Secuencias de 5 especies de *Trichogramma* de Canarias en la región ITS2 del ADNr

Trichogramma species	Origin	sample / code no.	Genbank Acc. no.
achaeae	La Palma	PR09-478	LP10/09-07
achaeae	La Palma	PZ465	LP13/09-23
achaeae	Tenerife	PR09-488	TF05/09-55
achaeae	Gran Canaria	PR09-492	GC09/09-46
achaeae	El Hierro	PR09-494	HR01/09-07
bourarachae	Tenerife	PR09-489	TF43/09-25
evanescens	La Palma	PR09-468	LP03/09-12
evanescens	La Palma	PR09-472	LP13/09-30
evanescens	Tenerife	PR09-487	TF12/09-01
evanescens	Tenerife	PZ462	TF12/09-17
evanescens	Oman	PR-08108	
euproctidis	Tenerife	PR09-486	TF10/09-11
euproctidis	El Hierro	PR09-032	HR10/08-04
near *brassicae*	Gran Canaria	PR09-491	GC07/09-17
near *brassicae*	Gran Canaria	PZ464	GC07/09-50
brassicae	Turkey	s94-15	



BioControl (2012) 57:21–35
DOI 10.1007/s10526-011-9361-y

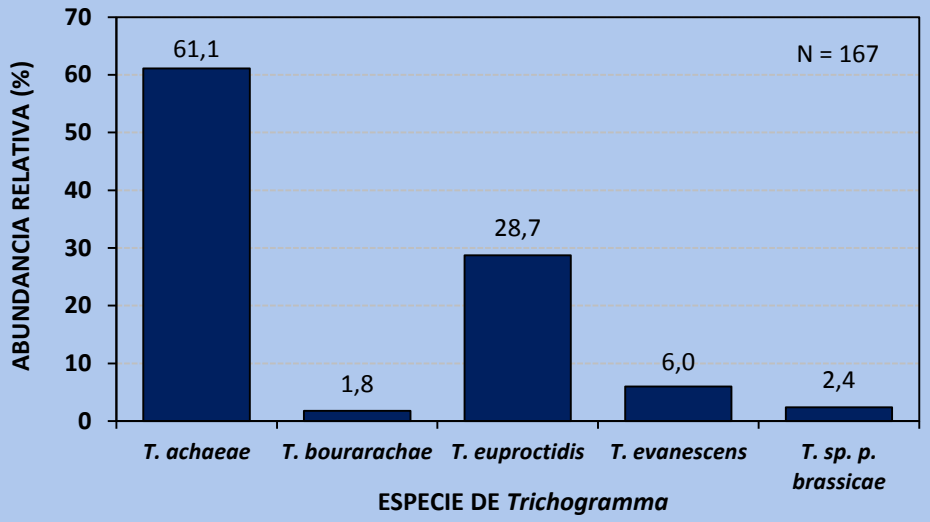
Molecular and morphological diagnoses of five species of *Trichogramma*: biological control agents of *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the Canary Islands

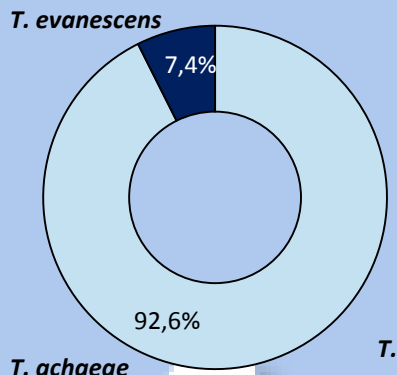
Andrew Polaszek · Paul F. Rugman-Jones · Richard Stouthamer · Estrella Hernandez-Suarez · Tomás Cabello · Modesto del Pino Pérez

Received: 1 September 2010 / Accepted: 15 April 2011 / Published online: 12 May 2011
© International Organization for Biological Control (IOBC) 2011

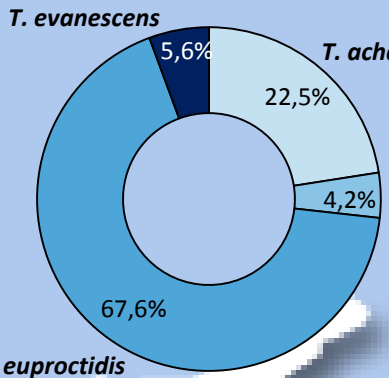
Abstract Prospecting for potential natural enemies of the invasive lepidopteran tomato pest *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and the banana pest *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lepidoptera: Noctuidae) on the Canary Islands archipelago, where no *Trichogramma* species were previously recorded, has led to the discovery of five distinct species. *T. achaeae* Nagaraja & Nagarkatti, *T. bourarachae* Pintureau & Babault, *T. euproctidis* (Girault) and *T. evanescens* Westwood are relatively widespread species. The fifth is warrant further investigation as a species probably new to science. Each species is treated in detail in order to facilitate identification in future using molecular and/or morphological characters, or a combination of both. All species are newly recorded for the Canary Islands, and the distribution of each within the islands and elsewhere is provided. Known host records are given within the Canary Islands and elsewhere. The most common species found, *T. achaeae*, is already being used in biological control programmes against *T. absoluta* in

Distribución de *Trichogramma* en Canarias

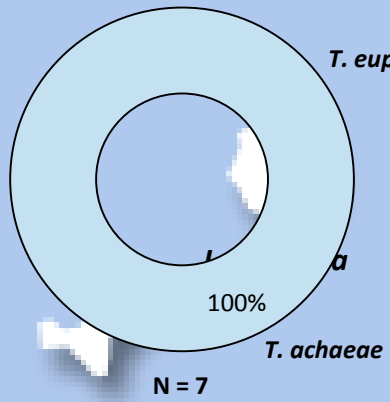




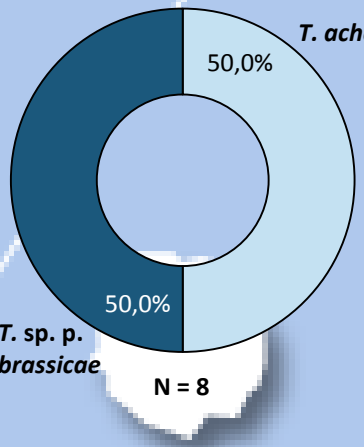
La Palma



Tenerife



El Hierro



Gran Canaria

Lanzarote

Fuerteventura



Foto: Tomás Cabello (UAL)

Trichogramma achaeae

(Nagaraja & Nagarkatti, 1970)

Orden: Hymenoptera

Familia: Trichogrammatidae

Especie cosmopolita: citada en 12 países

Distribución: Asia (China, India y Rusia), Europa (España: **Islas Canarias**, Francia, Rusia), África (Cabo Verde), América (Argentina, Barbados, Chile, Trinidad y Tobago, Estados Unidos)

Huéspedes: 26 especies del orden Lepidoptera: Gelechiiidae (*Pectinophora gossypiella*, *Sitotroga cerealella*, ***Tuta absoluta***), Noctuidae (***Chrysodeixis chalcites***, *Earias insulana*, *Helicoverpa armigera*, *Trichoplusia ni* y 6 spp más), Yponomeutidae (*Plutella xylostella* y 10 spp más) (**Polaszek**, 2010).

Muy abundante en Canarias: 61,1 %

Especie autóctona: mejor adaptada a cond. locales

No se han encontrado estudios sobre su biología

Polaszek, A., 2010. Biodiversity and host associations of *Trichogramma* in Eurasia. En: **Consoli, F.L.; Parra, J.R.P; Zucchi, R.A.** (Eds.) *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Progress in Biological Control, vol 9. Springer, New York: 237-266.











Biología de *T. achaeae*

- **Ciclo de vida: Muy corto ⇔ Insecto muy pequeño**

- **Desarrollo: Huevo-Adulto**
  - ❑ **25ºC 8,83 días**

- **Longevidad: Hembras adultas**
  - ❑ **25ºC 7,10 días**

- **Fecundidad**
  - ❑ **25ºC 55,75 huevos/♀ (Máx.: 97 huevos/♀)**

- **Depredación de huevos huéspedes (Host feeding)**

- **Emergencia de 2-3 parásitos/huevo *Ch. chalcites***

Fotos: Tomás Cabello (Universidad de Almería)



Efectos secundarios plaguicidas

- ***Trichogramma* spp. muy susceptible a fitosanitarios:**
  - Organofosforados
  - Carbamatos
  - Piretroides
  - Reguladores del crecimiento

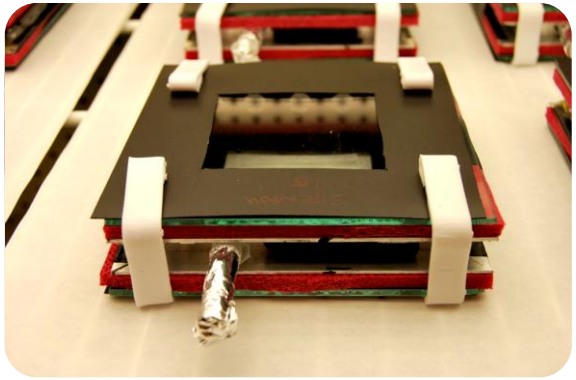
Cônsoli, F.L.; Parra, J.R.P.; Hassan, S.A., 1998. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *J. Appl. Entomol.*, **122**: 43–47.

Hassan, S.A.; Hafes, B.; Degrande, P.E.; Herai, K., 1998. The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), acute dose–response and persistence tests. *J. Appl. Entomol.*, **122**: 569-573.

Carvalho, G.A.; Reis, P.R.; Rocha, L.C.D.; Moraes, J.C.; Fuini, L.C.; Ecole, C.C., 2003. Side-effects of insecticides used in tomato fields on *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Acta Scientiarum Agron.*, **25**: 275–279.

Desneux, N.; Decourtye, A.; Delpuech, J.M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, **52**: 81-106.

No se han encontrado referencias para *T. achaeae*







Efectos secundarios de plaguicidas

▣ **Metodología:** IOBC/wprs "Plaguicidas y Organismos Beneficiosos" (**HASSAN** *et al.*, 2000)

▣ **Ensayos (3):**

1) Toxicidad inicial en adultos de *T. achaeae* (fase de vida "expuesta").

2) Toxicidad por aplicación directa de plaguicidas en pupas de *T. achaeae* (fase de vida "protegida").

3) Persistencia de la toxicidad en adultos de *T. achaeae*.

▣ **Materias activas ensayadas**:

Materia activa	Nombre comercial	Dosis	Tipo	Distribuidor
Azadiractin 3,2%	Align	1,5 ml/l	Insecticida	Sipcam Inagra, S.A.
Azufre 80%	Sufrevit	7,5 g/l	Acaricida	Sipcam Inagra, S.A.
B. thuringiensis kurstaki 32%	Sequra 32	0,5 g/l	Insecticida	Sipcam Inagra, S.A.
Bifentrin 10%	Talstar 10 LE	0,8 ml/l	Insecticida	FMC Agroquímica
Buprofezin 10%	Applaud	0,8 g/l	Insecticida	Syngenta Agro, S.A.
Clorpirifos 48%	Dursban 48	2 ml/l	Insecticida	Syngenta Agro, S.A.
Fenamifos 40%	Nemacur 40 LE	25 l/ha	Nematicida	Aragro
Fenbutaestan 55%	Norvan 55 SC	1 ml/l	Acaricida	Basf
Hexitiazox 10%	Zeldox	0,15 g/l	Acaricida	Syngenta Agro, S.A.
Indoxacarb 30%	Steward	0,04 g/l	Insecticida	DuPont
Oxamilo 10%	Vydate 10 L	10 l/ha	Nematicida	DuPont
Spinosad 48%	Spintor 480 SC	0,25 ml/l	Insecticida	Dow AgroSciences

HASSAN, S.A.; HALSALL, N.; GRAY, A.P.; KUHNER, C.; MOLL, M.; BAKKER, F.M.; ROEMKE, J.; YOUSIF, A.; NASR, F.; ABDELGADER, H., 2000. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). En: **CANDOLFI, H.P.; BLUMEL, S.; FORSTER, R.; BAKKER, F.M.; GRIMM, C.; HASSAN, S.A.; HEIMBACH, U.; MEAD-BRIGGS, M.A.; REBER, B.; SCHMUCK, R.; VOGT, H.** (eds), *Guidelines to Evaluate Side-effects of Plant Protection Products to Non-target Arthropods*. IOBC/WPRS, Gent.: 107-119.

Efectos secundarios de plaguicidas en *T. achaeae*

Materia activa	Dosis	Tipo	MÉTODO DE ENSAYO						
			ADULTOS		PUPAS		PERSISTENCIA		
			R (%)	Categoría	R (%)	Categoría	Días	Clase	Categoría
Azadiractin 3,2%	1,5 ml/l	I	100,0	T					
Azufre 80%	7,5 g/l	A	100,0	T					
B. thuringiensis 32%	0,5 g/l	I	13,7	N					
Bifentrin 10%	0,8 ml/l	I	100,0	T					
Buprofezin 10%	0,8 g/l	I	100,0	T					
Clorpirifos 48%	2 ml/l	I	100,0	T					
Fenamifos 40%	25 l/ha	N	100,0	T					
Fembutaestan 55%	1 ml/l	A	87,4	T					
Hexitiazox 10%	0,15 g/l	A	90,2	T					
Indoxacarb 30%	0,04 g/l	I	100,0	T					
Oxamilo 10%	10 l/ha	N	100,0	T					
Spinosad 48%	0,25 ml/l	I	100,0	T					

I = Insecticida A = Acaricida N = Nematicida

CATEGORÍAS IOBC (Laboratorio):
N = inocuo (< 30%)
M = moderadamente perjudicial (30-79%)
T = perjudicial (> 80%)

Boller, E.F.; Vogt, V.; Ternes, P.; Malavolta, C., 2005. *Working Document on Selectivity of Pesticides.* WPRS-SROP. 9 p.

Efectos secundarios de plaguicidas en *T. achaeae*

Materia activa	Dosis	Tipo	MÉTODO DE ENSAYO						
			ADULTOS		PUPAS		PERSISTENCIA		
			R (%)	Categoría	R (%)	Categoría	Días	Clase	Categoría
Azadiractin 3,2%	1,5 ml/l	I	100,0	T	29,1	N			
Azufre 80%	7,5 g/l	A	100,0	T	18,4	N			
B. thuringiensis 32%	0,5 g/l	I	13,7	N	15,6	N			
Bifentrin 10%	0,8 ml/l	I	100,0	T	100,0	T			
Buprofezin 10%	0,8 g/l	I	100,0	T	100,0	T			
Clorpirifos 48%	2 ml/l	I	100,0	T	100,0	T			
Fenamifos 40%	25 l/ha	N	100,0	T	100,0	T			
Fembutaestan 55%	1 ml/l	A	87,4	T	20,1	N			
Hexitiazox 10%	0,15 g/l	A	90,2	T	20,9	N			
Indoxacarb 30%	0,04 g/l	I	100,0	T	100,0	T			
Oxamilo 10%	10 l/ha	N	100,0	T	58,2	M			
Spinosad 48%	0,25 ml/l	I	100,0	T	100,0	T			

I = Insecticida A = Acaricida N = Nematicida

CATEGORÍAS IOBC (Laboratorio):
N = inocuo (< 30%)
M = moderadamente perjudicial (30-79%)
T = perjudicial (> 80%)

Boller, E.F.; Vogt, V.; Ternes, P.; Malavolta, C., 2005. *Working Document on Selectivity of Pesticides.* WPRS-SROP. 9 p.

Efectos secundarios de plaguicidas en *T. achaeae*

Materia activa	Dosis	Tipo	MÉTODO DE ENSAYO							*T. cacoeciae*
			ADULTOS		PUPAS		PERSISTENCIA			(BOLLER *et al.*, 2005)
			R (%)	Categoría	R (%)	Categoría	Días	Clase	Categoría	
Azadiractin 3,2%	1,5 ml/l	I	100,0	T	29,1	N	3,7	A	N*	T
Azufre 80%	7,5 g/l	A	100,0	T	18,4	N	4,3	A	N*	M
B. thuringiensis 32%	0,5 g/l	I	13,7	N	15,6	N	0,0	A	N*	N
Bifentrin 10%	0,8 ml/l	I	100,0	T	100,0	T	> 31	D	T*	-
Buprofezin 10%	0,8 g/l	I	100,0	T	100,0	T	-	-	-	N
Clorpirifos 48%	2 ml/l	I	100,0	T	100,0	T	26,7	C	T*	T
Fenamifos 40%	25 l/ha	N	100,0	T	100,0	T	-	-	-	-
Fembutaestan 55%	1 ml/l	A	87,4	T	20,1	N	-	-	-	-
Hexitiazox 10%	0,15 g/l	A	90,2	T	20,9	N	-	-	-	N
Indoxacarb 30%	0,04 g/l	I	100,0	T	100,0	T	6,2	B	T*	M
Oxamilo 10%	10 l/ha	N	100,0	T	58,2	M	-	-	-	T
Spinosad 48%	0,25 ml/l	I	100,0	T	100,0	T	-	-	-	M

I = Insecticida A = Acaricida N = Nematicida

CATEGORÍAS IOBC (Laboratorio):
N = inocuo (< 30%)
M = moderadamente perjudicial (30-79%)
T = perjudicial (> 80%)

CLASE (Persistencia):
A = no persistente (<5 días)
B = ligeramente persistente (5-15 días)
C = moderadamente persistente (16-30 días)
D = persistente (>30 días)

CATEGORÍAS IOBC: (Semicampo):
N* = inocuo (< 50%)
M* = moderadamente perjudicial (51-75%)
T* = perjudicial (> 75%)

BOLLER, E.F.; VOGT, V.; TERNES, P.; MALAVOLTA, C., 2005. *Working Document on Selectivity of Pesticides.* WPRS-SROP. 9 p.



Foto: Tomás Cabello (UAL)

Sueltas de *Trichogramma*

▣ ***Trichogramma*:**

- Ampliamente utilizado como agente de CB en **32 millones de ha:** cultivos herbáceos extensivos y forestales

- **18 especies de *Trichogramma*** utilizadas en maíz, azúcar de caña, arroz, algodón, remolacha azucarera, hortalizas y gimnospermas (pinos): ***T. brassicae, T. evanescens, T. cacoeciae, T. dendrolini***

No se han encontrado referencias para platanera

▣ ***Trichogramma achaeae*:**

- Parasitoide autóctono de las Islas Canarias

- Especie subtropical adaptada a climas cálidos

- Posibilidad de cría masiva con costes accesibles

-Disp. comercialmente: Convenios ICIA-Agrobio-UAL

- Empleada con éxito en invernaderos SE España:

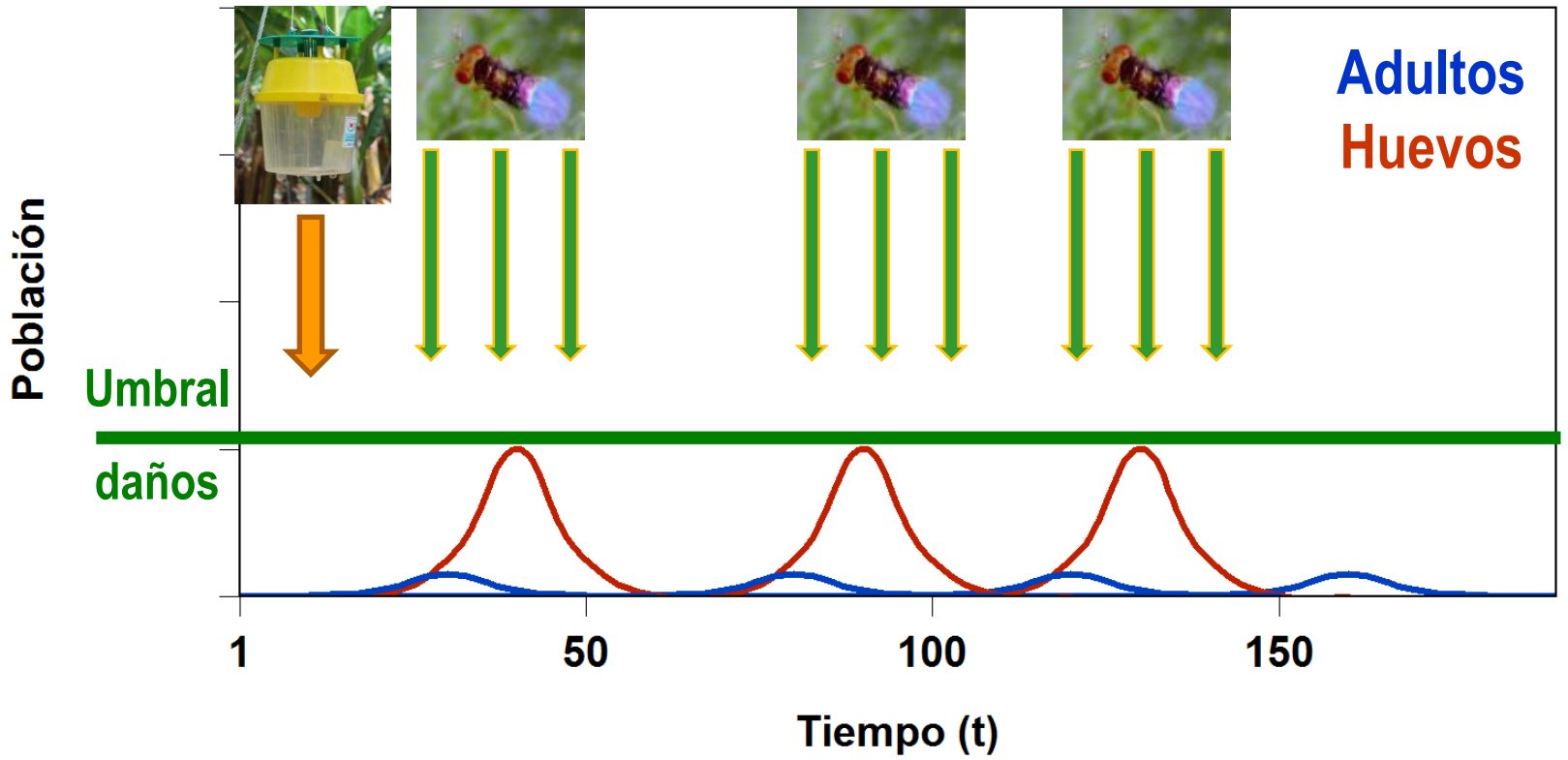
Tuta absoluta (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae)

Cabello, T.; Gallego, J.R.; Vila, E.; Soler, A.; del Pino, M.; Carnero, A.; Hernandez-Suarez, E.; Polaszek, A., 2009. Biological conotrol of the South American tomato pinworm *Tuta absoluta* (Lep. Gelechiidae), with releases of *Triochogramma achaeae* (Hym.: Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate. *IOBC/WPRS Bulletin,* **49**: 225-230.

Cómo se utiliza *Trichogramma achaeae*

Debido a las características de *Ch. chalcites*:

C.b. inundativo, con sueltas masivas y periódicas ➔ igual que un tratamiento químico

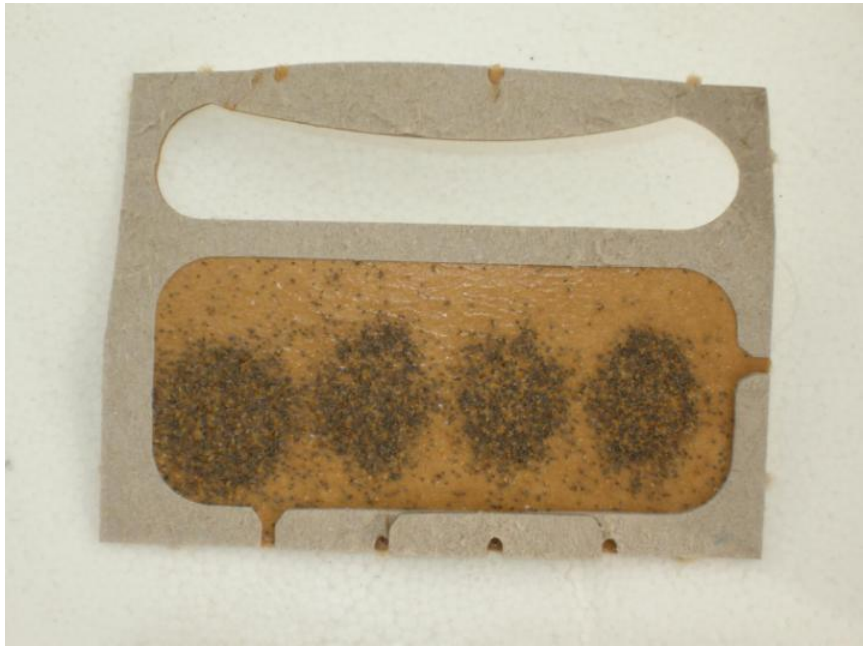


Cómo se utiliza *Trichogramma achaeae*



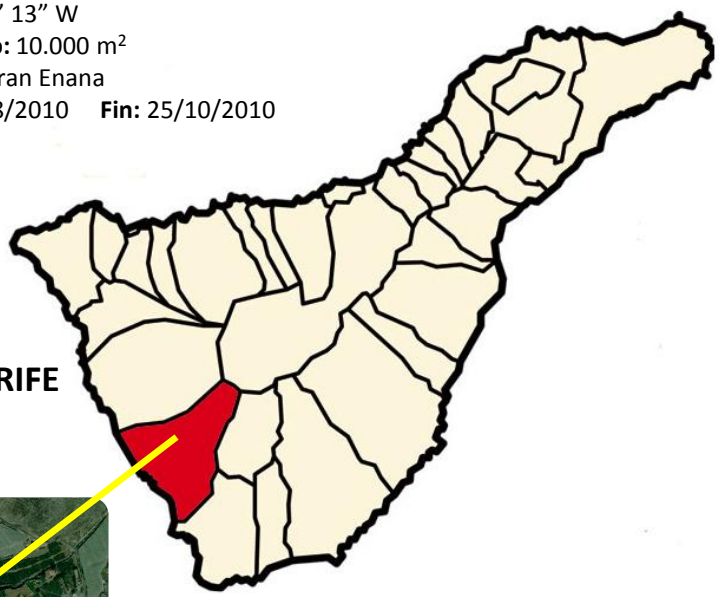
Dispensadores
2.500 ind./tarjeta
1 ó 2 curvas de liberación



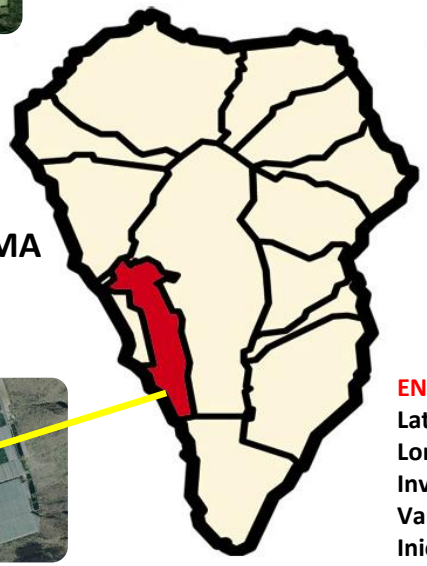


Material y métodos

ENSAYO 1. FAÑABÉ (TF)
Lat.: 28º 6’ 26” N
Long.: 16º 3’ 13” W
Invernadero: 10.000 m^2
Variedad: Gran Enana
Inicio: 16/08/2010 **Fin:** 25/10/2010









ENSAYO 2. EL REMO (LP)
Lat.: 28º 33 15” N
Long.: 17º 53’ 23” W
Invernadero: 23.000 m^2
Variedad: Gruesa Palmera
Inicio: 17/08/2010 **Fin:** 1/12/2010

- **Ensayos (2):**
  1) Fañabé (Tenerife)
  2) El Remo (La Palma)
- **Diseño experimental:** Parcelas divididas (espejo o *half-field design*), 2 tratamientos x 4 bloques:
  - Sueltas inundativas de *T. achaeae* (35 ad./m^2)
  - Control químico convencional
- **Evaluación:** semanal, 10 plantas al azar/bloque:
  - Tamaño población *C. chalcites*: huevos + larvas
  - Parasitismo de huevos
  - Nivel de daños en hojas (según escala)
- **Análisis estadístico:** Análisis MLG. PASW Statistics versión 18.0 (SPSS, 2009)

Origen del material:
BIOTOP (Francia)
TrichoControl© Agrobio
2.500 ad./tarjeta
1 curva de liberación









Primeros ensayos de campo con *T. achaeae*

Cultivo bajo malla (Torviscas, Tenerife)

Empresa: Lararte Agrícola S.L.
Invernadero: 10.000 m²
Variedad: Gran Enana
Marco plantación: 1,8 x 2 m (2 plantas/golpe)
Fecha transplante: finales Julio 2010
Inicio ensayo: 16/08/2010

Financian:

Gobierno de Canarias
Instituto Canario de Investigaciones Agrarias

Agrobío

Colaboran:

Cabildo de Tenerife

ASPROCAN
ASOCIACION DE ORGANIZACIONES DE PRODUCTORES DE PLATANOS DE CANARIAS

Infestación de la plaga: Natural

Control biológico (3.500 m²):

4 liberaciones de *T. achaeae* a 35 ad./m²

Control químico (3.500 m²):

2 aplicaciones insecticidas



Sólo *T. achaeae*

Origen del material:
BIOTOP (Francia)
TrichoControl© Agrobio
2.500 ad./tarjeta
1 curva de liberación

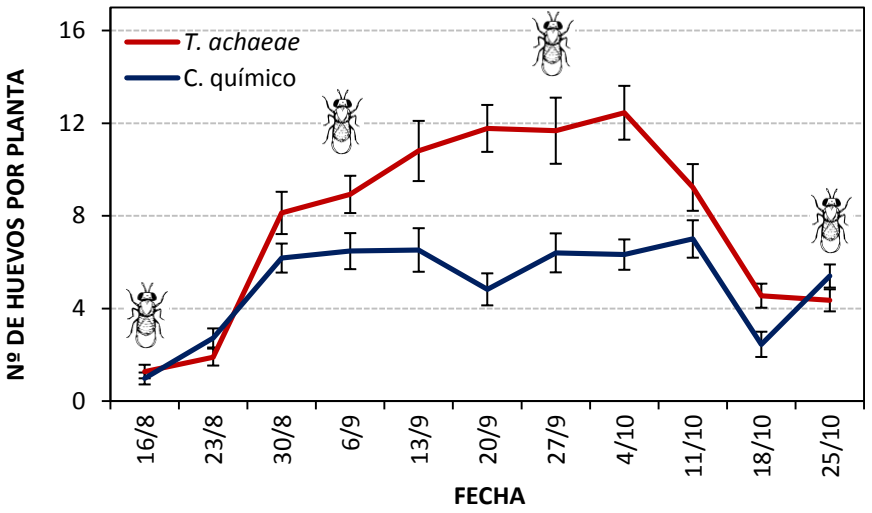


Sólo *Químico

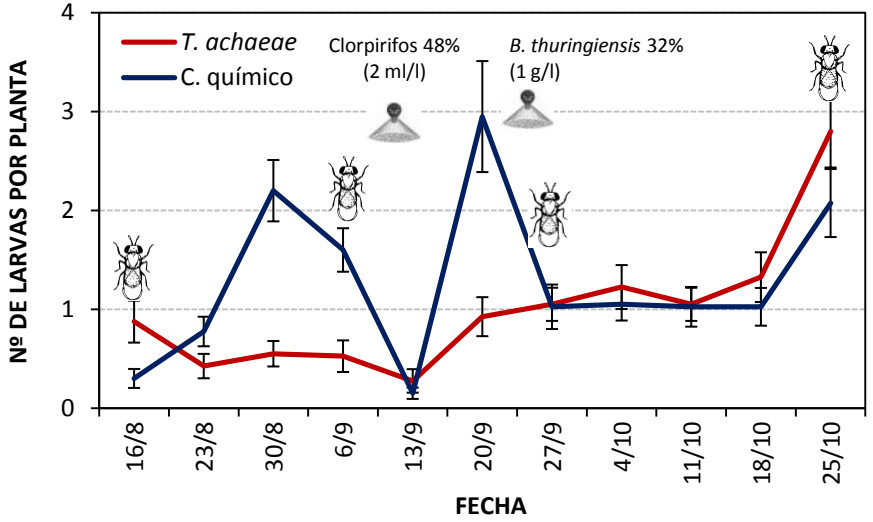
ENSAYO: Fañabé (Tenerife)

Resultados y discusión

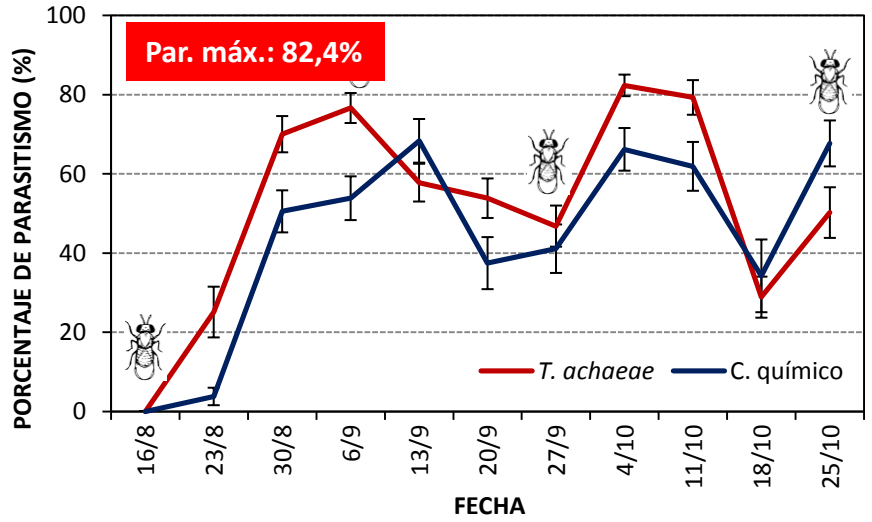
Evolución del nº medio de huevos *Ch. chalcites* por planta



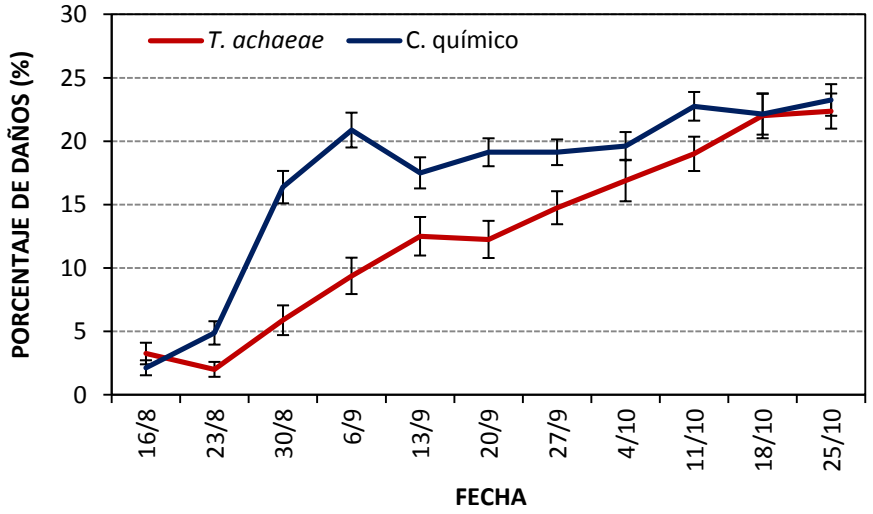
Evolución del nº medio de larvas *Ch. chalcites* por planta



Evolución del porcentaje de parasitismo por planta

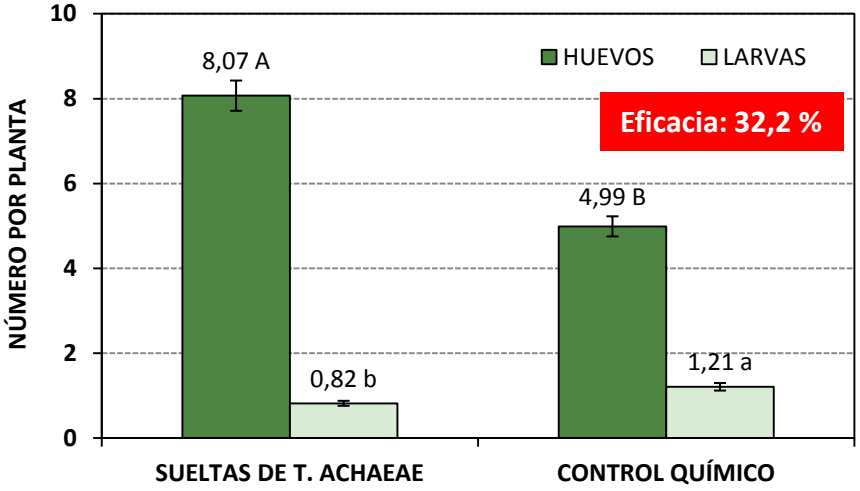


Evolución del porcentaje de daños en hoja

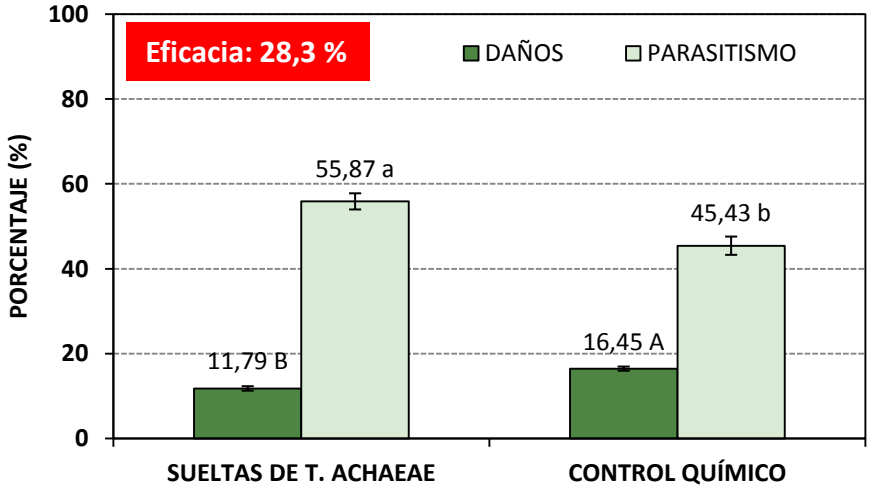


ENSAYO: Fañabé (Tenerife)

Nº medio de huevos y de larvas *Ch. chalcites*



Porcentaje de daños y de huevos parasitados



Resultados y discusión

Sólo *T. achaeae* | **Sólo *Químico**





0,8 larvas | **1,2 larvas**

11,8 % daños | **16,5 % daños**

***T. achaeae* es muy efectiva**
Eficacia ≈ 30%

Control Integrado de *Chrysodeixis chalcites*

1) Colocación de trampas de feromonas

2) Muestreo semanal de huevos y larvas en hojas y frutos

3) Sueltas de *T. achaeae* cuando aparezcan los primeros huevos (primavera y otoño)

4) Tratamientos con *B. thuringiensis* para el control de larvas jóvenes

5) Empleo de plaguicidas compatibles con *T. achaeae*

Fotos: Tomás Cabello (Universidad de Almería)



Muchas gracias por su atención

AGRADECIMIENTOS:

Ana Lucía Perdomo (ICIA-ULL)
Andrew Polaszek (MHN)
Enric Vila (Agrobío)
Gerardo Pérez (Europlátano)
Gloria Ortega (MCN TF)
José (Lararte Agrícola S.L.)
José Manuel Ledesma (Cabildo TF)
María García (ASPROCAN)
Moisés (Bardizaverde S.A.)
Nayra Cartaya (ASPROCAN)
Paul Rugman-Jones (UCR)
Richard Stouthamer (UCR)
Román Pérez
Romina Acosta (ICIA-ULL)
Santiago Perera (Cabildo TF)
Teresa (ICIA)

II Jornadas de transferencia de I+D+i para una producción sostenible del plátano en las RUPs
Tenerife, 2-5 de Octubre de 2012

Bases para el control integrado de *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lep.: Noctuidae) en cultivos de platanera de Canarias

Modesto del Pino[1], Aurelio Carnero[1], Estrella Hernández[1] y Tomás Cabello[2]

[1] Dpto. Protección Vegetal, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA)

[2] Dpto. Biología Aplicada, Universidad de Almería (UAL)

modestodelpinoperez@hotmail.com / www.icia.es

