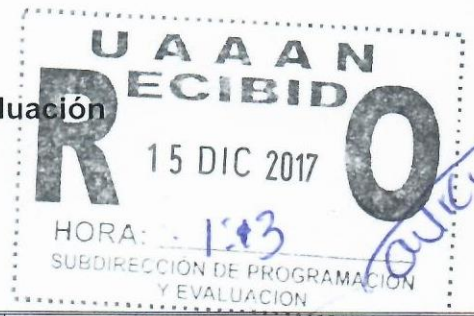




Dirección de Investigación
Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Form fields: Unidad: Saltillo, División: Agronomía, Departamento: Parasitología, Tema estratégico (ANA/PEP): Doctorado en Ciencias Parasitología Agrícola, Línea de investigación: Entomología, Título del proyecto: Manejo de Diaeretiella rapae en el control de Brevicoryne brassicae y biología del hiperparásito Alloxysta fuscicornis, Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000) \$ 75,000, El proyecto es: Nuevo Continución X, Tipo de investigación: Básica Aplicada X Tecnológica, e-mail del responsable sanchezcheco@gmail.com, Vinculación: Si No Fondos concurrentes: Cooperante(s): Entidad (es): Saltillo, Coahuila Municipio (s): Saltillo, Localidades: Saltillo, Coahuila, A realizar durante el(los) año(s): 2017-2019

Table with 5 columns: Participantes, Adscripción (Clave Depto.), Expediente No., Firma. Rows include Responsable (Dr. Sergio Rene Sánchez Peña), Colaborador (Dr. Oswaldo García Martínez, Dr. Luis Alberto Aguirre Uribe, Dr. Ernesto Cerna Chávez), Tesista (Francisco Javier López Monzón), and Programa Docente (Doctorado en Parasitología Agrícola).

Signature section with 'Vo. Bo.' and 'Autoriza' columns. Includes the signature of Dr. Ernesto Cerna Chávez, Jefe de Departamento, and Dr. Armando Robledo Olivo, Subdirector de Programación y Evaluación.

Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Manejo de <i>Diaeretiella rapae</i> en el control de <i>Brevicoryne brassicae</i> y biología del hiperparásito <i>Alloxysta fuscicornis</i>	75,000
---	--------

2.- Introducción

México ocupa el cuarto lugar en producción mundial de brócoli con 44.1 mil toneladas (SAGARPA, 2016), siendo Guanajuato el estado con mayor producción de este cultivo, con un total 63 mil 486 toneladas de brócoli fresco (Periódico am, 2016)

El pulgón de la col, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae), es una plaga de distribución mundial de plantas de la familia de las crucíferas incluyendo a la col, coliflor, col de Bruselas, col rizada, brócoli, mostaza, nabo y algunas especies de maleza (Ayal 1987).

Diaeretiella rapae es un parasitoide primario importante de una amplia gama de especies de pulgones, entre ellos el pulgón gris de la col *B. brassicae* (Elliott et al., 1994). El ciclo de vida de este parasitoide está dividido en dos estados: el estado inmaduro y el estado adulto con 21 días aproximadamente (Kant, 2012).

Alloxysta fuscicornis es una especie de origen europeo que presenta una distribución cosmopolita habiéndose citado en las regiones Holártica, Neotropical y en Australia (Villar et al. 2002).

Objetivos

- Determinar la influencia del suministro de alimento para *Diaeretiella rapae* en el parasitismo sobre *Brevicoryne brassicae* en campo.
- Evaluar el uso del sistema de plantas “banco” como fuente de producción continua de *Diaeretiella rapae*.
- Investigar el ciclo de vida, tiempo de desarrollo y longevidad del hiperparásito *Alloxysta fuscicornis* en condiciones de laboratorio.
- Determinar la fenología del hiperparásito asociado *Alloxysta fuscicornis*.

Hipótesis

Las estrategias de manejo de *D. rapae*, influirán significativamente en la incidencia del pulgón de la col. Algunos aspectos biológicos de *Alloxysta fuscicornis* dependerán de factores ambientales, mismo que afectará al parasitoide *D. rapae*.

3.-Revisión de Literatura

Origen e Importancia del Brócoli

Origen y Localización: esta hortaliza es originaria del Mediterráneo y Asia Menor. Existen referencias históricas de que el cultivo data desde antes de la Era Cristiana. Ha sido popular en Italia desde el Imperio Romano, en Francia se cultiva desde el siglo XVI (FAO, 2014).

El brócoli tiene un alto valor nutricional y medicinal que radica principalmente en su alto contenido de vitaminas, minerales, carbohidratos y proteínas. Estos ayudan a prevenir algunos tipos de cáncer, retardan el proceso de envejecimiento, mejoran el funcionamiento de los pulmones, disminuyen la aparición de cataratas y procesos de degeneración muscular. También disminuyen algunas complicaciones relacionadas con la diabetes (DESCA, 2015).

Descripción Botánica

El brócoli cuenta con un sistema radical poco profundizador, hojas grandes con bordes ondulados, de color verde intenso a verde grisáceo, y cuyo tallo principal termina en una inflorescencia primaria con flores dispuestas en una estructura denominada “pella” o “pan”, que se comercializa para fresco. Esta

inflorescencia, tipo corimbo compuesto, está formada por numerosos primarios foliares sostenidos en pedicelos dispuestos sobre pedúnculos suculentos. La formación de pella no requiere vernalización, y se gatilla después de cierta cantidad de hojas, desarrollándose a partir de la yema apical del tallo principal. Varía de color desde verde claro hasta púrpura según el cultivar, y permanece compacta hasta que maduran las flores. A partir de las yemas axilares de las hojas se desarrollan inflorescencias laterales de menor tamaño, que son utilizadas por la industria, especialmente del congelado y encurtido (Kehr, et al. 2012).

Plagas y Enfermedades

Dentro de las plagas que afectan al brócoli se encuentra el gusano de la Col (*Delia radicum*) el gusano de la col importado (*Pieris rapae*), polilla de la col (*Trichopulsia ni*), polilla de la col (*Plutella xylostella*) y gusano de la col respaldado por el púrpura (*Evergestis pallidata*) el escarabajo puga (*Phyllotreta* spp) son las plagas mencionadas por (Zvalo, et. al 2007), así como también el pulgón gris de la Col son las plagas que causan daño al cultivo del Brócoli. Los altos niveles de daño por alimentación harán que la defoliación severa, lo que resulta en plantas con retraso del crecimiento.

Las enfermedades más importantes que dañan este cultivo son causadas por bacterias; la mancha de la hoja bacteriana (*Pseudomonas syringae*), los síntomas consisten en manchas en las hojas que comienzan lesiones puntiformes como pequeñas, empapadas de agua. Más tarde, estas lesiones se vuelven de color marrón oscuro o púrpura con halos translúcidos. Black Rot (*Xanthomonas campestris*, pv. *Campestris*), esta se presenta en forma de marchite en los márgenes de las hojas, dañando los tejidos cloróticos progresivamente convirtiéndose en forma de "V". Mancha foliar (*Xanthomonas campestris* pv. *Armoraciae*), el primer síntoma aparece como depresión transluciendo un moteado en las hojas.

Brevicoryne brassicae

Importancia Económica

Metcalf y Flint (1984) mencionan que esta plaga se alimenta succionando los líquidos del floema principalmente de brotes tiernos, cuando los ataques son severos causan manchas necróticas, distorsión de hojas y tallos, inhibición del crecimiento y marchitamiento general. Además, es vector de aproximadamente 20 virus fitopatógenos, que incluyen el anillo negro de la col y los mosaicos de la coliflor y del rábano (Anaya, 1999).

Daño en Hospedero

La alimentación directa por el áfido en las plantas hospederas causa el amarillamiento, marchitamiento, distorsión y retardo en el crecimiento de las plantas infestadas. Estos prefieren alimentarse de las hojas jóvenes, venes, flores y a menudo profundizar en las cabezas de las coles de Bruselas y la col (Natwick 2009). Las plantas severamente infestadas se cubren con una masa de pequeños pulgones pegajosos (Griffin y Williamson, 2012) produce un desecho azucarado llamada mielecilla (Opfer y McGraff, 2013), este áfido transmite más de 20 virus de plantas diferentes, incluyendo el virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y el virus del mosaico del nabo (TuMV) (Broadbent, 1957) que dan como resultado enfermedades económicamente importantes de las crucíferas.

Control de *Brevicoryne brassicae*

Control Químico

Dentro del manejo de *Brevicoryne brassicae* con insecticidas se encuentran algunos ingredientes activos como: Cipermetrina, Deltametrina, Zeta-cipermetrina, Imidacloprid, Pirimicarb, Eofenprox y algunas Piretrinas naturales (Bermejo, 2011).

Control Biológico

En Argentina, Ricci y colaboradores (2002) reportan el efecto repelente de los aceites esenciales de *Laurel*

indica, Nicotiana glauca, Cynodo dactylon y *Pinus cembroides* a partir de las 24 horas de aplicación con concentraciones de 2, 500 y 100, 00 ppm.

Diaeretiella rapae

Importancia

Diaeretiella rapae es una de las especies entomófagas más importantes a nivel mundial en el control natural de *B. brassicae*, por su ciclo de vida, hábitos reproductivos y alta especificidad (Prado, 1991). (*Laurus nabilis*) y Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) sobre *B. brassicae*. En México, Orozco et al 2006 reportan mortalidad de *B. brassicae* utilizando concentraciones de extractos *In vitro* de *Azadirachta*

4.- Procedimiento Experimental

Aislamiento de especímenes. La recolección de especímenes (*B. brassicae* y *D. rapae*) se realizará en el mes de enero 2017 en parcelas de col y brócoli de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en el municipio de Saltillo Coahuila, México, recolectando partes de la planta para ser colocadas en botes de ½ litro de plástico transparentes para ser llevadas al laboratorio de ecología de insectos del Departamento de Parasitología.

Se recortarán pequeñas partes de la planta infestadas con *B. brassicae* y se colocarán en cajas Petri de plástico. Se esperará la eclosión de ninfas de pulgón que después se separaran de su progenitora para ser llevados a jaulas cría con plantas de brócoli.

Pequeñas muestras de plantas infestadas con pulgones vivos y momias del mismo, se colocarán en cajas de Petri con bolas de algodón con miel (alimento de la avispa), donde se esperará la eclosión de parasitoides de *D. rapae*. Estos adultos de *D. rapae* serán liberados en jaulas con plantas de brócoli infestadas con *B. brassicae* para su producción masiva.

Establecimiento de pie de cría de insectos. Las jaulas para la producción de insectos a utilizar en este estudio serán elaboradas. Se fabricará una estructura cubica con PVC con medidas de 50x50x50 cm, esta se cubrirá con malla de organza @MODATELAS y se dejará una extensión de malla en forma de calcetín en la parte de enfrente para el ingreso y manipulación de plantas e insectos. En total se producirán 6 jaulas entomológicas, dos para producción pulgones, dos para la avispa *D. rapae* y dos para *A. fuscicomis*.

Objetivo 1. Determinar la influencia del suministro de alimento para Diaeretiella rapae, en el parasitismo sobre Brevicoryne brassicae en campo.

Establecimiento de parcela experimental. Se establecerá una parcela de brócoli (50 m²) en las instalaciones de la UAAAN, un total de 90 plantas con 4 hojas verdaderas serán trasplantadas. Tres días después, serán divididas en grupos de 3 plantas con jaulas experimentales elaboradas con malla de organza (15x90x30 cm) y estacas de madera ancladas al suelo.

Ensayo en campo. En cada jaula se colocarán pulgones de *B. brassicae* de tercer instar ninfal extraídos de la jaula cría con pinceles entomológico. Los adultos de *D. rapae* (1-2 días después de la eclosión) para esta prueba se extraerán de las jaulas cría antes mencionadas con aspiradores entomológicos para ser colocados en botes de plástico transparente (250 ml) y una bola pequeña de algodón con agua dentro de cada bote para evitar la deshidratación de los insectos, la tapa de los botes tendrá pequeños agujeros para la circulación de aire. La proporción de insectos será de 80% hembras y 20% de machos.

La liberación de estas avispas se realizará un día después de la liberación de los pulgones dentro de las jaulas. La liberación se realizará colocando los pequeños botes dentro de las jaulas experimentales, se retirará la tapa cuidadosamente dentro de la jaula con una parte de la jaula descubierta a tal punto de evitar el escape de especímenes. Se esperará la emergencia de los insectos de los botes por unos 20 minutos y

después los botes serán retirados.

Una vez liberados los insectos dentro de las jaulas experimentales, se colocará un tubo de ensayo con algodón relleno de agua y miel (50 %) para la alimentación de las avispas. En otras jaulas se colocará un tubo de ensayo y bola de algodón con agua (100%) para alimentar a los parasitoides. En el resto de las jaulas no se les pondrá alimento (jaulas control). Cada tratamiento contará con 15 réplicas cada uno.

Evaluación. Después de quince días (por el ciclo de desarrollo del parasitoide), se contabilizarán los adultos de *B. brassicae* encontrados por jaula, así como también las momias y adultos de *D. rapae*, se revisará todo el interior de la jaula y partes de la planta (tallo y hojas).

Análisis estadístico. Los datos muestreados serán sometidos a un análisis de varianza con una prueba de Tukey con valor de $p < 0.05$

Objetivo 2. Uso del sistema de plantas "banco" como fuente de producción continua de Diaeretiella rapae en beneficio del cultivo del brócoli.

Producción de plantas banco. Se sembrarán 200 semillas de Sorgo variedad comercial en macetas de plástico transparente de 1 litro.

Cría de pulgón amarillo del sorgo. Se recolectarán especímenes de *Melanaphis sacchari* en parcelas de sorgo. Estos, se trasladarán al invernadero de Parasitología de la UAAAN en Saltillo para infestar plantas de sorgo previamente sembradas para la reproducción del pulgón.

Cría de D. rapae. De las plantas de sorgo infestadas con *Melanaphis sacchari* descrito anteriormente. Los pulgones serán expuestos a hembras apareadas de *D. rapae* para la oviposición de huevos. Una vez que los pulgones se encuentren en fase de momia, estos se cubrirán con malla de organza en espera de la instalación en parcelas.

Ensayo en campo. Para este ensayo, se usarán dos parcelas experimentales de brócoli con dos días de trasplante aproximadamente. Las plantas "banco" se colocarán a un costado de plantas de brócoli a cada 2 m² (1 planta "banco" por cada 4 de brócoli) con 100 parasitoides inmaduros por planta, se esperará la emergencia de los parasitoides.

Evaluación. Después de quince días (por el ciclo de desarrollo del parasitoide), se contabilizarán los adultos de *B. brassicae* encontrados por planta por al azar, así como también las momias y adultos de *D. rapae*, se revisará todas partes de la planta (tallo y hojas).

Análisis estadístico. Se realizará una prueba de T student con valor de $p < 0.05$ para comparar el parasitismo ocurrido en cada parcela con liberación y sin liberación, ya que se espera que naturalmente puedan llegar parasitoides a la parcela sin liberación.

Objetivo 3. Investigar el ciclo de vida, tiempo de desarrollo y longevidad del hiperparasito Alloxysta fuscicornis en condiciones de laboratorio.

Selección de Alloxysta fuscicornis en estados inmaduros de D. rapae. En cajas de Petri se colocarán 10 ninfas de tercer instar ninfal de *B. brassicae* que serán expuestas a 15 hembras apareadas de *D. rapae* para la oviposición de huevos.

Ciclo de vida de A. fuscicornis y tiempo de desarrollo a diferentes temperaturas. De los pulgones parasitados anteriormente se obtendrán los estados inmaduros de *D. rapae*, se separarán por días de edad;

1, 2, 3, 4, 5 y 6 días de edad de, estos serán expuestos a 15 hembras apareadas de *A. fuscicornis* en cajas Petri a temperaturas de 25 °C, 27 °C y 30 °C. Las ninfas de *B. brassicae* expuestas a *D. rapae* y los estados inmaduros de *D. rapae* contarán con 10 repeticiones cada una.

Evaluación. Se registrará los días el tiempo de desarrollo de las fases inmaduras y longevidad del adulto de *A. fuscicornis* con las diferentes temperaturas.

Análisis estadístico. Los datos muestreados serán sometidos a un análisis de varianza con una prueba de Tukey con valor de $P < 0.05$

Objetivo 4. Determinar fenología del hiperparásito asociado Allosxysta fuscicornis.

Establecimiento de parcela experimental. Se establecerá una parcela experimental con medidas de aproximadamente 50 m² en donde se trasplantarán 50 plantas de brócoli.

Técnica de muestreo. Se realizarán muestreos semanales de agosto 2017- agosto de 2018, se inspeccionarán al azar 30 plantas una vez al día por fecha de muestreo, se colectarán pulgones parasitados (momias). También se registrará la temperatura media y humedad relativa de la fecha de muestreo. Las muestras serán llevadas al laboratorio de Ecología del Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN en donde se colocarán en cajas Petri a temperaturas controladas para esperar la emergencia de especímenes.

Análisis estadístico. De los datos recolectados del año de evaluación, se les realizará un análisis de correlación de Pearson.

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad a realizar	2017		2018		2019	
	1er sem	2do sem	3ro sem	4to sem	5to sem	6to sem
Revisión de literatura	X	X	X	X	X	X
Muestreo de especímenes	X					
Jornada Científica	X					
Ensayos en campo	X					
Evaluación	X	X	X	X	X	
Análisis de datos	X	X	X			
Envío de manuscritos			X		X	
Ensayo en laboratorio			X			
Evaluación			X			
Estancia internacional				X	X	
Redacción de tesis					X	X
Pre-doctorales						X
Examen del grado académico						X

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Elaboración de jaulas entomológicas (50x50x50 cm), siembra y trasplante de semilla (planta banco), establecimiento de experimento, liberación de parasito	10,000		5,000		5,000			5,000				

en parcela y evolución cada 15 días													
Investigar el ciclo de vida, tiempo de desarrollo y longevidad del hiperparásito <i>Alloxysta fuscicornis</i> en condiciones de laboratorio, establecimiento de ensayo y evaluación diaria por 30 días en condiciones controladas de Cámara Bioclimática				20,000		10,00	10,00					10,00	

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2017	Año estimado de conclusión	2019
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

- Dos artículos científicos
- Dos congresos nacionales e internacionales
- Tesis
- Obtención de grado

6.-Literatura Citada

Ayal, Y. 1987. The foraging strategy of *Diaeretiella rapae*: the concept of the elementary unit of foraging. *Journal of Animal Ecology* 56: 1057-1068.

Bermejo, J. 2011. Información Sobre *Brevicoryne brassicae*. Nota legal. Agrologica en Línea. www.agrologica.es.

Broadbent, L. 1957. Investigation of Virus Diseases of Brassica Crops. Agric. Research Council Report Ser, 14. 94 pp.

DESCA (Programa de Desarrollo Económico Sostenible en Centroamerica. 2015. Ficha 32. UE.

FAO (Fundación Para Alimentos y Agricultura). 2014. Fichas técnicas. Manual instructivo.

Griffin R. P., Williamson J. 2012. Cabbage, Broccoli & Other Cole Crop Insect Pests. HGIC 2203, Home & Garden Information Center. Clemson Cooperative Extension. Clemson University, Clemson, SC. (2 October 2013).

Kehr, M. E., Diaz R. P. 2012. Producción de Brócoli Para la Agroindustria. Folleto Informativo no. 61. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Ministerios de Agricultura. Temuco, Chile.

Pal, M., Singh, R. 2013. Biology and Ecology of the Cabbage Aphid, *Brevicoryne brassicae* (Linn.) (Homoptera: Aphididae): A Review. *Journal of Aphidology*. The Aphidological Society. India.

Villar, P. J., N. Díaz, H. H. Evenhuis, Farré, P. R. 2002. South American Charipinae: Review and description of two new species (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(5):541-546.

Terrasas, R. R., 2016. Guanajuato tiene la corona en hortalizas. AM León. Recuperado de