



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

**Utilización del parasitoide *Uscana* sp. (Hymenoptera:
Trichogrammatidae) como agente de control biológico del gorgojo común**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS (RECURSOS BIÓTICOS)**

PRESENTA

Arturo Bonet Ceballos

Director de tesis: Dr. Ignacio Esteban Castellanos Sturemark



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
 Área Académica de Biología
 Doctorado en Ciencias en Biodiversidad y Conservación

M. EN A. JULIO CESAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que, después de revisar el trabajo titulado "Utilización del parasitoida *Uscana* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como agente de control biológico del gorgojo común ", que presenta el alumno del Doctorado en Recursos Bióticos **Biól. Arturo Bonet Ceballos**, el Comité Revisor de tesis ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Comité Revisor.

- PRESIDENTE:** Dr. Juan Márquez Luna
- SECRETARIO:** Dra. Iriana L. Zuria Jordan
- VOCAL:** Dr. Ignacio E. Castellanos Sturemarr
- SUPLENTE:** Dr. Julián Bueno Villegas

márquez
J. Luna
I. Zuria Jordan
Ignacio E. Castellanos Sturemarr
J. Bueno Villegas

Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"
 Mineral de la Reforma, Hgo., a 12 de noviembre del 2014.

DR. ORLANDO ÁVILA POZOS
 Director I.C.B.I.C.B.I.



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
 Carretera Pastora - Interoceánico Km. 4.5, Ciudad del Conocimiento,
 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
 Tel: +52 (51) 2192000 exts 6674
 doctorado-biodiversidad@hite.ahc.edu.mx



DEDICATORIA

Para mi familia María Luisa Castillo y Federico Julián Bonet Castillo

A la memoria de mis padres Federico Bonet Marco y Alicia Ceballos Vencis, y mis hermanos Alicia, Amparo, Carmina y Federico.

Para mis lectores

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Ignacio Castellanos por su apoyo durante la realización y culminación de este trabajo.

Al Instituto de Ecología A. C. (INECOL) en el Departamento de Entomología y en la Red de Interacciones Multitróficas por el espacio y tiempo para la cría y mantenimiento de insectos y la realización de experimentos de esta tesis.

A Delia García por su ayuda en la cría de insectos y su colaboración en la ejecución de los experimentos.

A los profesores del CIB-UACH que participaron en mi formación

A los integrantes del Comité tutorial Ignacio Castellanos, Iriana Zuria, Juan Márquez & Julián Bueno

Agradezco al CONACYT y SIGOLFO cuyos proyectos ayudaron a comprar equipo para su utilización en este trabajo.

Agradezco a Gabriela Heredia por el uso de sus microscopios y a Gloria Carrión por el uso de sus cámaras de crías.

A John Wiley & Sons por el uso de la figura 1.1 en este trabajo (licencia número 3485001157658).

CONTENIDO

PREFACIO	1
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN GENERAL	5
1.1 Control biológico de gorgojos con parasitoides del género <i>Uscana</i>	10
1.2. Antecedentes.....	11
1.2.1. Generalidades de Trichogrammatidae.....	11
1.2.2. Generalidades de <i>Uscana</i>	18
1.3. Planteamiento y justificación práctica del problema.....	28
1.4 Objetivo general.....	29
1.4.1. Objetivos particulares.....	30
1.4.2. Predicciones.....	31
1.4.3. Material y métodos.....	31
1.4.3.1. Mantenimiento de cepas.....	31
2. USCANA ESPINAE (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) IN CENTRAL MEXICO: NEW HOSTS, HOST PLANTS, DISTRIBUTION RECORDS, AND CHARACTERIZATION	33
2.1. Abstract.....	34
2.2. Resumen.....	34
2.3. Materials and Methods.....	35
2.3.1. Collection of Insects.....	35
2.3.2. Morphological Description of Adults.....	35
2.3.3. Cryptic Species Analysis through Morphological Characters.....	35
2.3.4. Cryptic Species Analysis through COI Barcode Analysis.....	35

2.3.5. Reproductive Compatibility.....	36
2.3.6. Statistical Analyses.....	38
2.4. Results.....	38
2.4.1. Morphological Analyses.....	38
2.4.2. Molecular Analyses of the COI Gene.....	39
2.4.3. Reproductive Compatibility.....	39
2.5. Discussion.....	39
2.6. Acknowledgements.....	40
2.7. References Cited.....	40
3. EFECTO DE LA EDAD DEL HOSPEDERO, LA EDAD Y EL TAMAÑO DE LA HEMBRA ADULTA DEL PARASITOIDE DE HUEVO <i>USCANA ESPINAE</i> PINTUREAU Y GERDING (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EN LA OVIPOSICIÓN, FECUNDIDAD Y PROPORCIÓN SEXUAL DE LA PROGENIE.....	42
3.1. Resumen.....	42
3.2. Introducción.....	43
3.3. Material y Métodos.....	46
3.3.1. Mantenimiento de cepas.....	46
3.3.2. Relación entre la edad del huevo del hospedero y la fecundidad de las hembras parasitoides.....	47
3.3.3. Relación entre la edad de las hembras de los parasitoides y su fecundidad.....	48
3.3.4. Relación entre el tamaño de la hembra progenitora y el número total de huevos parasitados.....	49
3.3.5. Análisis estadísticos.....	49
3.4. Resultados.....	50
3.4.1. Relación entre la edad del huevo del hospedero y la fecundidad de las hembras parasitoides.....	50
3.4.2. Proporción sexual de la progenie y la edad del hospedero.....	55
3.4.3. Relación entre la edad de las hembras de los parasitoides y su fecundidad.....	56
3.4.4. Proporción sexual de la progenie y la edad de la hembra parasitoide.....	61

3.4.5. Relación entre el tamaño de la hembra progenitora y el número total de huevos parasitados.....	62
3.5. Discusión.....	63
3.6. Literatura citada.....	65
4. EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN, HOSPEDERO Y SEXO SOBRE LA LONGEVIDAD Y FECUNDIDAD DE LOS ADULTOS DE <i>USCANA ESPINAE</i> PINTUREAU Y GERDING (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) DE DOS LOCALIDADES DE MÉXICO.....	70
4.1. Resumen.....	70
4.2. Introducción.....	70
4.3. Materiales y métodos.....	73
4.3.1. Organismos utilizados	73
4.3.2. Condiciones ambientales.....	74
4.3.3. Experimento de longevidad.....	74
4.3.3.1. Procedimiento.....	75
4.3.4 Análisis estadísticos.....	76
4.4. Resultados.....	77
4.4.1. Duración de la longevidad.....	77
4.4.2. Localidad.....	78
4.4.3. Alimentación.....	78
4.4.4. Hospederos.....	79
4.4.5. Progenie, porcentaje de supervivencia y proporción sexual de la progenie.....	80
4.4.6. Sexo.....	81
4.5. Discusión.....	83
4.6. Literatura Citada.....	85
5. DISCUSIÓN GENERAL.....	89

6. CONCLUSIONES GENERALES.....	94
7. LITERATURA CITADA.....	96

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. Especies válidas de <i>Uscana</i> : citas, nombre género anterior y distribución original de los especímenes (Dout and Viggiani 1968, Van Huis <i>et al.</i> 1991, Fursov 1995, Noyes 2003, Pinto 2006 y Bonet <i>et al.</i> 2012).....	19
Cuadro 2.1. Records of gene bank accession numbers, localities, hosts, host-plants, year of collection, geographical location, and altitude of <i>Uscana</i> populations analyzed.....	36
Cuadro 2.2. Morphological characters (mean \pm s. e., in microns) of adults males and females of <i>Uscana espinae</i> collected in five locations in central Mexico.....	37
Cuadro 2.3. Characterization of <i>Uscana espinae</i> haplotypes in central Mexico. Polymorphisms are located on the third codon, and synonyms.....	38
Cuadro 2.4. Progeny (mean \pm s. e.), sex ratio of progeny, percent survival from egg to adult, reproductive compatibility resulting from intra- and interpopulation crosses in <i>Uscana espinae</i> (pair and group matings). Males (M), Females (F), and male-female mixture (MF) that originated from Pantitlán, Morelos (PA) and Estanzuela, Veracruz (ES).....	39
Cuadro 4.1. Longevidad promedio (días \pm e. e., N = 580) de los adultos de <i>Uscana espinae</i> después de la cópula en Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz (Wald $X^2 = 3.9806$, p = 0.04603).....	80
Cuadro 4.2. Progenie, porcentaje de supervivencia y proporción sexual de la progenie de hembras de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz (cada tratamiento N = 35).....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Filogenia de Trichogrammatidae (Owen <i>et al.</i> 2007).....	17
Figura 1.2. Adultos de <i>Uscana espinae</i> . A) Cabeza de macho en posición ventral con dos antenas con mazas antenales con sedas. B) Maza antenal (segmentos C1-C4) de una hembra. C) Ala anterior de una hembra.....	25
Figura 3.1. Número de huevos totales colocados por las hembras de <i>Uscana espinae</i> en función de la edad de los huevos del hospedero <i>Acanthoscelides obtectus</i> (promedio \pm e. e., N=35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....	51
Figura 3.2. Número de adultos emergidos de <i>Uscana espinae</i> en función de la edad del hospedero <i>Acanthoscelides obtectus</i> (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....	52
Figura 3.3. Porcentaje de huevos parasitados de <i>Acanthoscelides obtectus</i> por <i>Uscana espinae</i> de los cuales emergieron adultos de <i>Uscana espinae</i> (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....	53
Figura 3.4. Curvas de interacción con el valor promedio \pm e. e. del número total de huevos colocados, número de progenie emergida y número de progenie no emergida de <i>Uscana espinae</i> (N = 35).....	55
Figura 3.5. Proporción sexual de la progenie en función de la edad del hospedero, 0 es sesgo a machos, 1 es sesgo a hembras (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....	56
Figura 3.6. Efecto de la edad de la hembra progenitora sobre el número total de huevos colocados (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....	57

Figura 3.7. Efecto de la edad de la hembra progenitora sobre el número de la progenie emergida (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....58

Figura 3.8. Efecto de la edad de la hembra progenitora sobre la progenie (%) desarrollada hasta la emergencia de los nuevos adultos (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....59

Figura 3.9. Curvas de interacción con el valor promedio \pm e. e. (N = 35) del número de huevos colocados por las hembras de la avispa.....60

Figura 3.10. Efecto de la edad de la hembra progenitora sobre la proporción sexual de la progenie (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).....61

Figura 3.11. Correlación entre el tamaño de la hembra progenitora y el número de huevos totales colocados (N= 25 en Pantitlán, N = 28 en Estanzuela).....62

PREFACIO

En este trabajo, se plantea conocer la identidad y los parámetros reproductivos de un parasitoide que ataca los huevos del gorgojo común (*Acanthoscelides obtectus*) para evaluar si puede ser un agente de control biológico y pueda ser utilizado para mitigar las poblaciones de los gorgojos en almacenes de frijol. En el capítulo 1 se tratarán las generalidades de los Trichogrammatidae y del género *Uscana*. En el capítulo 2 se verá la identidad de las poblaciones de la avispa y la posible existencia de especies crípticas. Los parámetros reproductivos en función de la edad del hospedero y de la edad de la hembra progenitora serán tratados en el capítulo 3. En el capítulo 4 se tratará como la alimentación (miel de abeja), la presencia o no de hospederos (huevo del gorgojo) y sexo tienen un efecto en la longevidad, la fecundidad (progenie aparente y total), porcentaje de supervivencia (número de progenie emergida como adulto entre el número total de huevos de la avispa) y proporción sexual de la progenie aparente. En el capítulo 5 se presenta una discusión general y finalmente en el capítulo 6 se hace una conclusión general. La literatura general es la que se cita en la introducción y discusión general.

RESUMEN

Dentro del marco de un programa de control biológico con himenópteros parasitoides para reducir las densidades poblacionales de los gorgojos común y mexicano [*Acanthoscelides obtectus* (Say) y *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)], que atacan semillas de frijol almacenado en el centro de México, se colectó el parasitoide *Uscana espinae* Pintureau y Gerding (Hymenoptera: Trichogrammatidae). En este trabajo, se da a conocer la identidad y algunos aspectos del comportamiento reproductivo de este himenóptero oófago que ataca a los gorgojos del frijol y se evalúa su aptitud y eficiencia como un buen agente de control para una posible liberación por inundación en contra de los gorgojos plaga de frijoles secos en el almacén.

Se reporta por primera vez la presencia de *U. espinae* Pintureau y Gerding en México, así como en nuevos hospederos (*A. obtectus*, *A. obvelatus* Bridwell, *A. oblonguttatus* (Fåhraeus) y *Mimosstes humeralis* (Gyllenhal)). Se amplía su distribución geográfica de Chile y Uruguay para ahora incluir a los estados de Morelos, Puebla y Veracruz en México. No se detectó evidencia de especies crípticas en seis poblaciones del centro de México mediante la utilización de caracteres morfológicos, un análisis de citocromo oxidasa I (COI I) y cruza reproductivas dentro y entre poblaciones. Se encontraron pocas diferencias o variación dentro y entre las seis poblaciones estudiadas en algunos caracteres morfológicos, genéticos y reproductivos. En una de las poblaciones de Morelos (en Tepoztlán) la relación de la fimbria / ancho del ala anterior de los machos es menor a la de otras poblaciones. Se encontraron tres haplotipos, el haplotipo tres se extiende a los tres estados y en algunas localidades se presentan dos haplotipos, en Pantitlán, Morelos, los haplotipos dos y tres, y en El Campanario, Ver., los haplotipos uno y tres. Por medio de cruza reproductivas (índice de compatibilidad reproductiva) no se encontró que exista

aislamiento reproductivo y se encontró que el coeficiente de compatibilidad reproductiva es alto (>80 %) en cualquier tipo de cruce.

Se examinó si la edad del hospedero (huevos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchinae) de 3, 24, 48, 72, 96, 120 horas) y la edad de las hembras de *U. espiniae* (24, 72 y 144 horas) provenientes de dos localidades del centro de México (Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz) tienen efecto sobre la oviposición, la fecundidad y la proporción sexual de la progenie en el laboratorio. Además, se determinó si el tamaño de las hembras de *U. espiniae* provenientes de las dos localidades está relacionado con el número de huevos colocados en los hospederos. En Pantitlán, la edad del hospedero afectó al número de huevos que la hembra deposita, ya que la meseta de máxima oviposición fue en las edades de 24, 48 y 72 horas con un promedio de 27, 25, 27 huevos por hembra, respectivamente; los hospederos de 3 horas y 120 horas de edad fueron los menos ovipositados (13 y 9 en promedio, respectivamente). En Estanzuela, se observó una distribución semejante a la de Pantitlán, también con una meseta desde las 24 a 72 horas después del apareamiento, aunque menos pronunciada que la de Pantitlán. Se encontró que la edad de las hembras de *U. espiniae* provenientes tanto de Estanzuela como de Pantitlán influyó en su tasa de oviposición, con una meseta desde las 24 a 72 horas y un promedio de 27 y 22 hijos por hembra de Pantitlán, respectivamente y un promedio de 28 y 28 hijos por hembra de Estanzuela. Se encontró que las hembras adulto de Estanzuela son más grandes en tamaño que las de Pantitlán; sin embargo, no se encontró que el tamaño de los adultos estuviera correlacionado con su fecundidad.

Por último, se evaluó si la alimentación (miel de abeja), presencia de hospedero (huevos de *A. obtectus*) y sexo de las avispas de *U. espiniae* influyen sobre su longevidad, fecundidad (progenie emergida y progenie total), porcentaje de supervivencia y proporción sexual de la

progenie emergida. Se encontró que los machos sin alimento son más longevos (cinco días) que las hembras (dos días). Cuando se alimentan, los machos y las hembras viven hasta nueve y siete días, respectivamente. Las hembras que se alimentan con miel colocan más huevos (29) que las hembras sin alimento (19). En el caso de las hembras con hospederos *ad libitum*, ellas mueren a los dos días no importando si tienen o no alimento. No se encontraron diferencias significativas en la longevidad de los parasitoides provenientes de Pantitlán y Estanzuela. El porcentaje de supervivencia y la proporción sexual de la progenie es semejante con y sin alimento, la proporción sexual de la progenie siempre estuvo sesgada a hembras.

Los resultados de este trabajo muestran que los adultos de *U. espiniae* son candidatos para ser considerados como agentes de control biológicos, ya que pueden reproducirse con una alta fecundidad aun sin alimento. Si en los granos almacenados de frijol se agrega alimento (miel de abeja) y se liberan ahí, las hembras podrían tener cinco días más de vida para buscar más hospederos.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En la agricultura moderna, los insumos de origen químico son de suma importancia para el éxito de las cosechas, ya que sus productos como fertilizantes y pesticidas suplen la función que la diversidad biológica y los procesos ecológicos proporcionan a las comunidades naturales. Aparte del beneficio para los cultivos, cada vez se hace más notorio su efecto negativo en el ambiente, como en la eutrofización de las aguas continentales, el efecto tóxico de los pesticidas en las cadenas tróficas de la fauna silvestre y el efecto cancerígeno de estos mismos a la salud humana (Tilman *et al.* 2002). Este impacto negativo está induciendo un cambio de estrategia en distintas ramas de estudio (Edwards 1989, De Bach & Rosen 1991), como la agroecología (restauración de la biodiversidad en los agrosistemas) (Gurr *et al.* 2003) y el manejo integrado de plagas para que se utilicen otras alternativas (control biológico y cultural) para el control de los herbívoros en los cultivos (Barbosa 1998, Barbosa & Castellanos 2005). En ambos casos se intenta que los cultivos tengan una entomofauna más diversa que incluya enemigos naturales que puedan limitar las poblaciones de los herbívoros plaga (Jervis 2005).

La regulación de la abundancia de organismos indeseables a través de la depredación, el parasitismo y la competencia es uno de los servicios ecológicos que presentan los sistemas agrícolas con cierto grado de biodiversidad (Altieri & Nicholls 1994, Altieri 1999, Jervis 2005). Los depredadores, parasitoides y patógenos actúan como agentes de control natural que bien manejados, pueden regular la población de herbívoros en un agroecosistema particular (Barbosa & Castellanos 2005, Jonsson *et al.* 2008). Esta biodiversidad puede ser utilizada como una

herramienta para controlar las plagas de insectos que atacan los cultivos básicos en las comunidades de campesinos (Gurr *et al.* 2003).

El uso de enemigos naturales como los himenópteros parasitoides es básico en el control biológico por inundación, ya que por medio de una cría masiva y su liberación en campo, se pueden incrementar sus poblaciones limitando a su vez la de sus hospederos (Mills 2010). Existen aproximadamente 240,000 especies descritas de parasitoides (Grimaldi & Engel 2005, Pennachio & Strand 2006), difiriendo cada especie en comportamiento y biología; incluso, la variación puede presentarse dentro y entre poblaciones de la misma especie (Wajnberg *et al.* 2012). El adulto parasitoide ovipone sobre, dentro o cerca del cuerpo de otro artrópodo, y usualmente el hospedero muere como resultado del desarrollo de la larva de la avispa parasitoide (Hassell & Godfray 1992).

El uso de parasitoides es parte fundamental en la técnica de control biológico para combatir muchas plagas de una gran variedad de cultivos de valor económico (Waage & Mills 1992, Murdoch & Briggs 1996, Jervis 2005). Su creciente uso ha permitido reducir la utilización de otros métodos convencionales como el de control químico con pesticidas, exclusión y condiciones ambientales adversas (desección y modificación de la temperatura). El control biológico es el uso consciente de organismos vivos para restringir el tamaño de las poblaciones de insectos no deseables (insectos plagas) causantes de pérdidas económicas en los cultivos (De Bach & Rosen 1991, Eilenberg *et al.* 2001). La técnica más usada en el control biológico es “el control biológico clásico”, que usa agentes exóticos para controlar plagas exóticas (Kidd & Jervis 2005). Sin embargo, no se sabe aún con claridad cuál es el impacto ambiental que los parasitoides exóticos introducidos tienen sobre otros insectos no dañinos en el ecosistema (Hochberg 1996,

Simberloff & Stiling 1996, Hawkins & Marino 1997), por lo que se ha sugerido estudiar y promover actividades con especies de parasitoides nativos cuando los hay, en lugar de introducir parasitoides exóticos. Con este método alternativo al control biológico clásico se trata de utilizar de una manera más eficiente a los parasitoides nativos ya presentes en el ecosistema, por vía de la inundación o aumento, es decir liberando periódicamente parasitoides producidos masivamente para mejorar el control natural existente, o a través de la modificación del hábitat, o la conservación del control biológico, de tal manera que favorezcan un incremento en la abundancia de los parasitoides (Tscharntke *et al.* 2007, Jonsson *et al.* 2008).

En las últimas décadas se ha impulsado una gran cantidad de estudios básicos bajo un marco teórico robusto (e.g., dinámica de poblaciones, interacciones complejas entre tres niveles tróficos, forrajeo óptimo y estrategias reproductivas para explicar la adecuación relativa y la ecología reproductiva de los parasitoides) (Fellowes *et al.* 2005, Jervis *et al.* 2005, Kidd & Jervis 2005, Boivin 2010a). Durante su comienzo, estos estudios se basaron en modelos biológicos que utilizaban la interacción hospedero-planta hospedera y parasitoide-hospedero por separado, y es a partir de los años ochenta cuando las interacciones parasitoide-hospedero-planta hospedera (los tres niveles tróficos en conjunto) empezaron a ser analizadas (Tscharntke & Hawkins 2002a, b). En los últimos 25 años el interés de los investigadores se ha dirigido a las interacciones parasitoide-planta hospedera, donde la planta juega un papel importante para la atracción de parasitoides por medio de compuestos orgánicos volátiles y/o recursos alimenticios como néctar y polen como el néctar, polinización, alimento o por compuestos volátiles (Turlings & Benrey 1998, De Moraes & Mescher 1999, Jervis & Heimpel 2005).

La interacción de parasitoides con otros organismos como el hospedero y la planta hospedera da como resultado relaciones ecológicas complejas con costos y beneficios distintos para cada nivel trófico (Cortesero *et al.* 2000, Tschardtke & Hawkins 2002a). Al formar parte del tercer nivel trófico, los parasitoides presentan una biología compleja y elaborada para su éxito reproductivo ya que dependen de una correcta y rápida identificación de su hábitat (Landis *et al.* 2000), localización de su hospedero, selección y aceptación de un hospedero adecuado para la oviposición (Vinson 1976, Godfray 1994, Vinson *et al.* 1998).

Los himenópteros parasitoides tienen un sistema genético haplodiploide, es decir, los hijos machos son producto de huevos no fertilizados y las hembras hijas son productos de huevos fecundados (Godfray 1994, Jervis *et al.* 2005, Heimpel & de Boer 2008). La hembra que va a ovipositar puede fácilmente controlar la proporción sexual de la población de parasitoides hijos y a su vez, puede decidir el número de hembras fecundadas, con lo que generalmente obtienen proporciones sexuales sesgadas a hembras (Boivin 2010b). Para conveniencia de las futuras generaciones de parasitoides, es deseable que la proporción sexual de la progenie sea sesgada a las hembras, ya que ésta lleva a un incremento en la tasa intrínseca de crecimiento del parasitoide ya que los machos no contribuyen a la mortalidad de las plagas (Hall, 1993).

En este trabajo, se recurre a la teoría del forrajeo óptimo, como el marco teórico conceptual en el cual se han basado los estudios de comportamiento reproductivo de los parasitoides en los últimos años (Godfray 1994, Alebeek 1996b, Potting *et al.* 1997, Quicke 1997, Fellowes *et al.* 2005). Su propósito es entender el comportamiento de forrajeo por parte de la hembra parasitoide cuando se encuentra en un ambiente con hospederos agregados, es decir, predecir cuándo y cómo una hembra deja un conjunto de hospederos, ya parasitados o no, para

localizar otro grupo de hospederos agregados a los que pueda colocar su progenie. Las hembras parasitoides optimizan la selección de sus hospederos para maximizar su adecuación y parasitar a los hospederos más “apetitosos”. Por lo tanto, es previsible que la hembra parasitoide tenga una edad óptima para dejar su descendencia lo más pronto posible, así como una edad propicia del hospedero para un desarrollo óptimo de su progenie.

Los practicantes del control biológico claman que los buenos agentes de control biológico tienen como atributos la especificidad del hospedero, correcta sincronía con sus hospederos, fecundidad alta para incrementar aceleradamente sus poblaciones y una tasa alta de éxito en la localización de sus hospederos (Hoffman & Frodham 1993, Jervis & Heimpel 2005). Estos atributos deben coincidir con los atributos expuestos en el marco teórico tratado en el anterior párrafo, por lo que un parasitoide debe tener una fecundidad alta, plasticidad en el control de la proporción sexual de la progenie, eficiente localización de los potenciales hospederos y la flexibilidad necesaria para adaptarse a distintas condiciones ambientales en las que se encuentran los hospederos (Godfray 1994, Quicke 1997, Fellowes *et al.* 2005). Por lo antes mencionado, es necesario conocer los distintos parámetros reproductivos bajo distintas condiciones ambientales en las que se pueden encontrar a los hospederos (Boivin 2010a). Se deben reconocer los límites de la mortalidad y supervivencia de la avispa. ¿Qué capacidad reproductiva tiene la avispa para ser agente de control biológico?

1.1. Control biológico de gorgojos con parasitoides del género *Uscana*

El conocimiento biológico que se tiene actualmente de los parasitoides de brúquidos es fragmentario a nivel mundial, sobre todo en América Latina, limitándose en la mayoría de los casos a los registros de himenópteros parasitoides asociados con diferentes especies de brúquidos. Por ejemplo, Hetz y Johnson (1988) enlistan a 22 especies de himenópteros que están asociados a 123 especies de 14 géneros de Bruchinae de Norteamérica. Más fragmentario es el número de especies del género *Uscana* conocidas a nivel mundial, que es únicamente de 28 especies (Pinto & Stouthamer 1994, Pinto 2006, véase Cuadro 1). De Santis (1989) y Huis van (1991) registran en Estados Unidos y Chile a *U. semifummipennis* como único parasitoide que ataca huevos. Siemens *et al.* (1991, 1992) encontraron que este parasitoide influye como factor de mortalidad de los huevos de *Stator limbatus* con un 20% de parasitismo.

Huis van (1990, 1991) argumenta la importancia que se le debe dar al control biológico de brúquidos, recomendando una mayor atención en lo que se refiere a la introducción y mantenimiento de los parasitoides en campo y almacén, así como en las bases biológicas y de comportamiento de la especie en cuestión como: su historia natural, la duración del ciclo biológico, la localización de su hospedero, la fecundidad aparente, longevidad (con o sin alimento) de los adultos y proporción sexual de la progenie de la avispa en sus hospederos. La identificación y determinación de los parasitoides usados como agentes de control biológico, es vital para no criar mezclas de especies en la cría masiva de las mismas con efectos negativos para el control de los hospederos plagas. El conocimiento que se tiene es mejor en el caso de la biología de parasitoides que atacan larvas y pupas del hospedero, en especial de especies africanas las cuales están siendo recomendadas para su uso como agentes de control (Sanon *et al.*

1998, Gauthier *et al.* 1999, Sankara *et al.* 2014). En el caso de los parasitoides que atacan los huevos de los gorgojos, Aleebek *et al.* (1996a, 1996b), Alebeek & Groot (1997) y Alebeek & Huis van (1997) han avanzado en el conocimiento reproductivo de *Uscana lariophaga*, reconociendo su potencial como posible agente de control biológico.

1.2. Antecedentes

1.2.1. Generalidades de Trichogrammatidae

Hymenoptera (320,000 especies conocidas) es uno de los cuatro linajes hiper diversos de los insectos que han sido exitosos en la tierra, acercándose a Coleoptera (350,000), Lepidoptera (150,000) y Diptera (120,000); estimaciones conservadoras indican que este grupo puede presentar hasta 1,200,000 especies cuando se conozcan todas las especies de microhimenópteros hasta ahora no descritos, entre los que se incluyen a los Proctotrupoidea, Chalcidoidea y Platigastroidea, en particular en los trópicos (Grimaldi & Engel 2005). Los Trichogrammatidae son parte de los Chalcidoidea (Hymenoptera), es una familia monofilética, caracterizada por tener tres tarsos segmentados, un número reducido de segmentos antenales, una estructura compacta del cuerpo con pequeñas alas posteriores que están vinculadas a las anteriores por los hamuli (anzuelos diminutos) y se desarrollan como parasitoides de huevos (Querino *et al.* 2010). Los himenópteros parasitoides evolucionaron de himenópteros fitófagos al parasitoidismo (= parasitismo), cuyos individuos fueron favorecidos por distintas estrategias de desarrollo. Desde la estrategia ancestral ectoparasitoide idiobionte (que coloca sus huevos sobre el hospedero y el hospedero ya no se desarrolla), hasta la endobionte idiobionte (sus huevos son colocados dentro del hospederos y el hospedero ya no se desarrolla) en la mayoría de los Trichogrammatidae, así

como la adquisición de la picadura del ovipositor de la hembra (Pennachio & Strand 2006). Los himenópteros parasitoides presentan la radiación más grande de parásitos artrópodos, tienen una alta diversidad (240,000 especies), son consumidores de tercer y cuarto nivel trófico en la cadena trófica y juegan un papel vital en un contexto de interacciones multitróficas en los ecosistemas naturales (Grimaldi & Engel 2005). Hay registros fósiles que muestran la presencia de los Chalcidoidea (mimáridos, tricogramátidos y tetracámpidos) desde hace más de 90 millones de años (Yoshimoto 1975).

Los Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), son avispas endoparasitoides muy pequeñas (0.2 - 1.5 mm) que atacan a los huevos de otros insectos. La mayoría de los tricogramátidos son endoparasitoides solitarios o gregarios de huevos de otros insectos, en particular de los que se encuentra en los órdenes: Lepidoptera, Hemiptera, Coleoptera, Thysanoptera, Hymenoptera, Diptera y Neuroptera. Son de los insectos más pequeños que hay en la tierra. Por lo que, por su tamaño, su fragilidad y problemas asociados a su colecta, es que son una de las familias más pobremente estudiadas de los himenópteros, así como de los insectos (Pinto 2006). Incluso, este autor menciona las dificultades para identificar a los especímenes ya montados en las colecciones de insectos, ya que es frecuente encontrar series de ejemplares con especies mixtas y donde las diferencias interespecíficas son muchas veces mínimas y en ocasiones no las hay (Pinto *et al.* 2003). En el ámbar del Oligoceno se ha encontrado una gran diversidad de tricogramátidos que se parecen a las especies actuales, al menos 30 millones de años han pasado sin mucha variación (Doutt & Viggiani 1968).

Es a partir del trabajo de Doutt y Viggiani (1968), donde registran 63 géneros, que en los últimos 30 años aumenta la descripción de una importante cantidad de géneros en

Trichogrammatidae, desde entonces se han agregado 25 nuevos géneros, por lo que en la actualidad hay 88 géneros con 839 especies descritas (Noyes 2003, Pinto 2006, Querino *et al.* 2010). Poco se sabe del papel que los Trichogrammatidae tienen en los procesos funcionales de los ecosistemas naturales, aunque su uso como enemigos naturales de otros insectos (parasitismo) permite valorarlos como un servicio ambiental importante para el mantenimiento de los ecosistemas. Han tenido una alta plasticidad para colonizar sus hospederos en diversos tipos de hábitats. Su distribución actual cubre la mayoría de los ambientes terrestres y en los ambientes acuáticos atacan huevos de odonatos y disticidos (Doutt y Viggiani 1968, Pinto *et al.* 2003).

Recientemente, Pinto (2006) estudió los géneros del Nuevo Mundo y reconoce la presencia de 55 géneros que son el 60% de los 88 géneros que actualmente se conocen. Para el continente Americano se conocen 232 especies, de las cuales el 40% son del género *Trichogramma*, el cual tiene suma importancia en el control biológico de insectos plagas (Pinto 1999). Varios géneros ricos en especies en el mundo como *Oligosita*, *Pseudoligosita*, *Mirufens* y *Chaetostricha*, presentan pocas especies en el Nuevo Mundo. Por el contrario, otros grupos como *Burksiella*, *Zagella*, *Lathromeroidea*, *Uscanoidea* y *Zaga* son ricos en especies en este hemisferio. Hasta ahora la clasificación de los Trichogrammatidae se ha basado en la estructura de la antena, la venación alar y la genitalia del macho (Viggiani 1984).

Owen *et al.* (2007), mediante un análisis filogenético, con datos moleculares, proponen nuevos agrupamientos en la clasificación de los Trichogrammatidae. Aunque, su filogenia no recupera a los grupos tradicionalmente reconocidos como monofiléticos, sí encontraron que la estructura del edeago corresponde con los grupos aquí recuperados y con la clasificación taxonómica tradicional (Fig. 1). Estos autores encontraron que en el dendrograma la

simplificación del edeago corresponde a los grupos más derivados, entre los que se encuentra el género *Uscana*. Los resultados con datos moleculares sugieren que los hospederos más primitivos asociados a Trichogrammatidae son de Coleoptera y que los de Lepidoptera y de Hemiptera son de más reciente radiación. Falta todavía una mejor explicación de estos resultados para casos como el género *Uscana* que está asociado a coleópteros y tienen un edeago simple y derivado. Los autores proponen la siguiente clasificación de los grupos supraespecíficos en la familia Trichogrammatidae: incluye una tribu, Trichogrammatini (4 géneros), dentro de la subfamilia Trichogrammatinae (32 géneros en *incertae sedis*), y tres tribus, Paracentrobiini (4 géneros), Chaetostrichini (11 géneros) y Oligositini (12 géneros) dentro de los Oligositinae (24 géneros en *incertae sedis*) (Figura 1). Todas las tribus fueron redefinidas con mayor precisión y muchos géneros fueron tratados como *incertae sedis* dentro de cada subfamilia. En el caso del género *Uscana*, éste quedó ubicado en la tribu Chaetostrichini dentro de la subfamilia Oligositinae.

A pesar de que el uso de tricogramátidos en México tiene muchos años, no ha habido un desarrollo de investigación en torno a estas avispas, lo que se ha dado es una cría masiva y liberación indiscriminada de las avispas y en muchos casos, sin saber con qué especies de *Trichogramma* se está trabajando. Esto fue demostrado por García-González *et al.* (2005), quienes al revisar los trabajos relativos a los tricogramátidos de los 11 congresos nacionales de control biológico encontraron que en sólo el 15% de éstos se reportó la especie de *Trichogramma*, refiriéndose el resto sólo como *Trichogramma*, *Trichogramma* sp. o *Trichogramma* spp. Este mismo patrón se ha presentado en los centros reproductores de la avispa, lo cual refleja un serio problema ya que al desconocerse la especie que se reproduce, se

desconoce contra qué plagas se deben liberar, ya que hay especies que tienen una alta especificidad a las plagas que parasitan; por ejemplo, *T. pintoi* es la única especie reportada que parasita la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella* L.) que es plaga en plantas crucíferas de la familia Brassicaceae como brocoli, coliflor y rábano, en contraste con *T. pretiosum* la cual llega a parasitar 28 especies diferentes de insectos plaga, aunque no parasita a *P. xylostella* (Hoffman *et al.* 1990). Por el trabajo taxonómico de García-González *et al.* (2005), ya se sabe qué especies de *Trichogramma* son criadas en los centros reproductores del país. En 21 centros reproductores, las especies determinadas fueron: *T. exiguum* Pinto y Platner (en 2 centros), *T. fuentesi* Torre (en 4), *T. pintoi* Voegelé (en 1) y *T. pretiosum* Riley (en 17).

Los estudios de taxonomía son indispensable para que un programa de investigación sobre agentes de control biológico pueda tener éxito y culminar en un mercado creciente de agentes de control biológico. Ya no se puede soslayar, como se demuestra con el caso mexicano descrito por García-González *et al.* (2005), que sin taxonomía se puede ser eficiente en este rubro. Muchos recursos se pierden por falta de conocimiento básico en la taxonomía de estas avispas.

Existen muchos ejemplos sobre la importancia de un conocimiento adecuado de la taxonomía y biología de los enemigos naturales. Casos exitosos con avispas de otras familias de Chalcidoidea se conocen en el mundo. En México por ejemplo, se importaron 25,000 individuos de cinco especies de *Encarsia* Forster (Hymenoptera: Aphelinidae) para un programa de control biológico de la mosquita blanca y de escamas plagas, y se criaron más de 4 millones de individuos los cuales fueron liberados en México (Clausen 1978). Este programa fue el primero en el que se utilizaron varias especies o poblaciones de parasitoides en distintos hábitats, el éxito diferenciado de cada especie se registró en las distintas etapas del programa de control biológico

y se tenía el conocimiento de la especie con la que se trabajaba. Por eso en el mundo, a partir del brote en los '90 de la mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) biotipo B (Homoptera: Aleyrodidae) el control biológico con parasitoides y entomopatógenos ha logrado sustituir a los insecticidas. El control con los parasitoides del género *Encarsia* (343 especies en el mundo) ha tenido éxito cuando se han hecho introducciones de una sola especie y liberaciones múltiples por aumento de varias especies (Heraty *et al.* 2007). Este género, refleja la problemática de cualquier grupo de parasitoides, en el que falta por describir muchas especies nuevas, la escasa disponibilidad de claves, la correcta separación de especies crípticas y el rearrreglo de la taxonomía y clasificación de *Encarsia* utilizando caracteres morfológicos y moleculares (Heraty *et al.* 2008).

1.2.2. Generalidades de *Uscana*

El género *Uscana* fue descrito por Girault en 1911 como parte de la familia Trichogrammatidae (55 géneros en el Nuevo Mundo), contiene avispas que atacan los huevos de coleópteros de las subfamilias Bruchinae y Buprestinae. Recientemente, Owen *et al.* (2007), mediante un análisis filogenético de la familia Trichogrammatidae, con datos moleculares, confirman al género *Uscana* en la clasificación taxonómica actual, dentro de la subfamilia Oligositinae y la tribu Chaetostichini. Su ubicación como parte de la familia, valida su estatus como género, lo cual no ha variado en las distintas revisiones que se han hecho a nivel mundial (Doutt & Viggiani 1968) y a nivel del Nuevo Mundo (Pinto 2006).

La especie tipo es *Uscana semifumipennis* Girault y fue colectada en el estado de Texas de EUA. Desde 1911, se han ido incorporando más especies al género en otros continentes, algunas especies han sido objeto de sinonimia o están en nuevas combinaciones. Doutt y Viggiani (1968) mencionan a 13 especies, Huis van *et al.* (1991b) mencionan a 16, Fursov en (1995) a 18, y Noyes (2003) y Pinto (2006) mencionan a 26 especies. En el Cuadro 1 se enlistan las 31 especies que actualmente se tienen como válidas en el mundo, su área de distribución original y sus hospederos.

Cuadro 1. Especies válidas de *Uscana*: citas, nombre anterior del género y distribución original de los especímenes, NR = No Reportado (Dout and Viggiani 1968, Van Huis *et al.* 1991, Fursov 1995, Noyes 2003, Pinto 2006 y Bonet *et al.* 2012).

Especies de <i>Uscana</i>	Distribución original	Hospedero	Literatura
<i>Uscana</i> Girault	Cosmopolita	NR	Girault (1911), Doutt y Viggiani (1968), Steffan (1954), Pinto (2006)
1. <i>U. alami</i> Yousuf & Schafee	India	NR	Yousuf & Shafee (1988)
2. <i>U. bruchidiusi</i> Pajni & Tewari	India	<i>Bruchidius pygmaculatus</i> , <i>B. saundersi</i> , <i>B. aureus</i> , <i>B. multilineolatus</i> , <i>Callosobruchus maculatus</i>	Pajni & Tewari (2004)
3. <i>U. bruchivorax</i> Steffan	Francia	<i>Bruchidius fasciatus</i>	Steffan (1954), Doutt & Viggiani (1968)
4. <i>U. callosobruchi</i> Lin	China	<i>Callosobruchus chinensis</i>	Lin (1994)

5. <i>U. caryedoni</i> Viggiani	Congo, Senegal, Costa de Marfil, Islas Cabo Verde	<i>Caryedon serratus</i> , <i>C. congense</i> , <i>Callosobruchus rodesianus</i>	Viggiani (1986), Viggiani & Harten (1996), Gagnepain & Rasplus (1989)
6. <i>U. changbaiensis</i> Lou & Chao	China	NR	Loy & Cao (1997)
7. <i>U. chilensis</i> Pintureau & Gerding	Chile	<i>Bruchus pisorum</i>	Pintureau & Gerding (1999)
8. <i>U. corythaumaii</i> (Livingstone & Yacoob)	India	NR	Hayat (2009)
9. <i>U. diogenae</i> (Risbec)	Senegal	<i>Diogenia fausta</i> (Orthoptera, Tettigonidae)	Risbec (1951), Doult & Viggiani (1968) <i>Ufens diogenae</i> , Vigianni (1969) new combination
10. <i>U. espiniae</i> Pintureau and Gerding	Chile, México	<i>Scutobruchus ceratioborus</i> (Phil.), <i>Pseudopachymerina spinipes</i> (Er.), <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say) en laboratorio) y campo, <i>Acanthoscelides obvelatus</i> Bridwell, <i>Mimosestes humeralis</i> (Gyllenhal), <i>Acanthoscelides oblongoguttatus</i> (Fåhraeus)	Pintureau <i>et al.</i> (1999), Bonet <i>et al.</i> (2012)
11. <i>U. femoralis</i> Pajni and Sood	India	<i>Conicobruchus albopubens</i> , <i>Callosobruchus maculatus</i> , <i>C. analis</i> , <i>C. chinensis</i> and <i>Zabrotes subfasciatus</i>	Pajni & Sood (1999)

12. <i>U. fumipennis</i> (Blood)	Rusia, República Checa, Dinamarca, Polonia, Inglaterra	NR	Blood (1923), Fursov, 1995
13. <i>U. galtoni</i> Girault	Australia	NR	Girault (1912), Doult & Viggiani (1968)
14. <i>U. giraulti</i> (Soyka)	Holanda	NR	Soyka (1934), Doult & Viggiani (1968)
15. <i>U. hodzhevanishvili</i> Fursov	Georgia, Antigua URSS	<i>Capnodis porosa</i> (Col.: Bruprestidae)	Fursov (1987)
16. <i>U. indica</i> Pajni & Tewari	India	<i>Bruchidius pygomaculatus</i>	Pajni & Tewari (2002)
17. <i>U. inflaticornis</i> (Nowicki)	Francia	NR	Nowicki (1937), Doult & Viggiani (1968)
18. <i>U. johnstoni</i> (Waterston)	Sudan, Turquía, Rumanía, Norte de África	<i>Sphenoptera gossypii</i> (Col.: Bruprestidae)	Waterston (1926), Doult & Viggiani (1968)
19. <i>U. lariophaga</i> Steffan	Sudan, Mali, Niger, Nigeria, Egipto	<i>Callosobruchus maculatus</i> , <i>C. chinensis</i> & <i>Bruchus atrolineatus</i>	Steffan (1954), Doult & Viggiani (1968), Huis van <i>et al.</i> (1990), Aleebek (1996)
20. <i>U. latipennis</i> Lin	China	NR	Lin (1994)
21. <i>U. latipennis</i> (Yousuf & Shafee)	India	NR	Yousuf & Shafee (1985)

22. <i>U. mukerjii</i> (Mani)	India	<i>Callosobruchus maculatus</i> , <i>C. analis</i> , <i>C. chinensis</i> , <i>C. quadrimaculatus</i> & <i>Z. subfasciatus</i>	Mani (1935), Mukerji and Bhuya (1936), Chatterji (1953), Doutt & Viggiani (1968), Pajni and Singh (1973)
23. <i>U. meerutensis</i> (Yousuf & Shafee)	India	NR	Yousuf & Shafee (1985)
24. <i>U. olgae</i> Fursov	Ucrania	<i>Bruchus affinis</i> , <i>B. atomarius</i> , <i>B. rufimanus</i> , <i>B. brachialis</i> , <i>B. loti</i> , <i>B. viciae</i> , <i>Bruchidius marginalis</i> , <i>B. seminaries</i> y <i>Acanthoscelides obtectus</i> en laboratorio	Fursov (1987, 1995)
25. <i>U. pacifica</i> (Doutt)	Saipan, Islas Marianas en el Pacífico, Micronesia	NR	Doutt (1955), Doutt & Viggiani (1968)
26. <i>U. rugatus</i> Lin	China	NR	Lin (1994)
27. <i>U. semifumipennis</i> Girault	EUA, México, llevado a Hawai y Japón	<i>Callosobruchus maculatus</i> , <i>Stator limbatus</i> , <i>Mimosestes amicus</i> , <i>M. sallei</i> , <i>Bruchus rufimanus</i> , <i>Caryedon serratus</i> , <i>Callosobruchus chinensis</i> , <i>Pachymerus gonager</i> , <i>Stator pruininus</i> , <i>Callosobruchus phaseoli</i>	Girault, (1911), Mitchell (1977), Hinckley (1960), Steffan (1954), Lepesme (1944), Bridwell (1918, 1919), Doutt & Viggiani (1968), Pinto (2006)
28. <i>U. senex</i> (Grese)	Ucrania, Rusia, Grecia, Bulgaria, Francia, Hungría e introducción a Chile	<i>Bruchus pisorum</i> , <i>B. lentis</i> , <i>B. affinis</i> , <i>Bruchidius unicolor</i> , <i>B. fasciatus</i> , <i>A. obtectus</i> & <i>Spermophagous sericeus</i>	Grese (1923), Doutt & Viggiani (1968) Fursov (1987, 1995), Steffan (1954)

29. <i>U. setifera</i> Lin	China	NR	Lin (1994)
30. <i>U. spermophagi</i> Viggiani	Italia, encontrado en Ukrania	<i>Spermophagus sericeus</i>	Viggiani (1979)
31. <i>U. terebrator</i> Viggiani	Islas Cabo Verde	NR	Viggiani (1996), Viggiani & Harten (1996)

El género *Uscana* se caracteriza por tener una antena con una maza antenal de cuatro segmentos (Fig. 2A y B) y hasta dos anellum (Doutt & Viggiani 1968; Pinto 2006), y no presenta funículo (porción del flagellum de la antena más cercano a la maza antenal). El primer segmento basal (C1) de la maza antenal en la hembra presenta al menos una *sensilla placodea*, en los otros segmentos (C2-C4) presenta sedas largas, sedas basicónicas y sensilas placodeas. Presenta un ala anterior variable en su forma (Fig. 2C), cuya longitud es de 1.8 a 2.0 veces su anchura, sedas de la fimbria cortas, venación con vena estigmal visible, dirigida hacia la parte posterior del margen del ala; con disco moderadamente denso de sedas, venas lineales presentes (incluyendo RS1) aunque algunas veces no se distinguen entre ellas de las sedas vecinas. En el caso de los machos, en el segmento C1 de la maza antenal con o sin *sensilla placodea* y edeago simple reducido, sin apodemas.

Uscana es un género que relativamente no es muy distintivo y superficialmente se asemeja a varios otros. Sin embargo, la maza antenal de cuatro segmentos y la falta de un funículo lo separan de la mayoría de otros géneros de la familia. No obstante, Pinto (2006) indica que ejemplares de otros géneros como *Pseuduscana*, *Tumidifemur* y *Uscanopsis* pueden confundirse con los de *Uscana* ya que tienen la misma fórmula antenal. Sin embargo, *Uscana* se mantiene como género estable con varias especies.

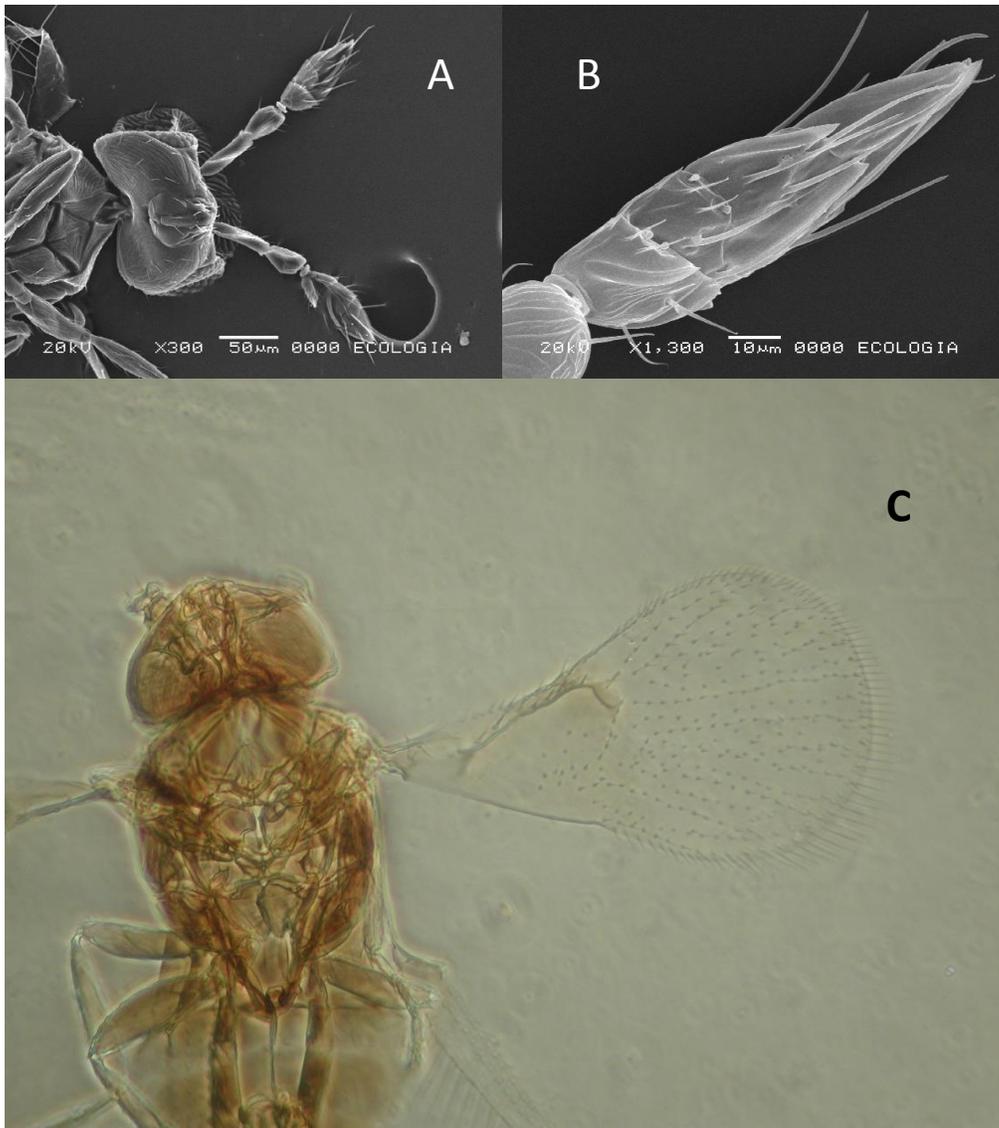


Figura 2. Adultos de *Uscana espiniae*. A) Cabeza de un macho en posición ventral mostrando las dos antenas con mazas antenales que poseen sedas. B) Maza antenal (segmentos C1-C4) de una hembra. C) Ala anterior de una hembra.

Uscana tiene una distribución cosmopolita y las 31 especies hasta ahora descritas y válidas están distribuidas en todas las regiones biogeográficas (Pinto 2006). En la Región

Paleártica, en Europa se tienen registradas 8 especies y en China 5 especies; en la Región Oriental, en India 8 especies y en las islas del Pacífico 1; en la Región del África Tropical en la parte norte 1 especie y en el oeste 4 especies; en la Región Neártica en EUA y México 1 especie y la Región Neotropical en Chile y México 1 especies y en la Región Australiana en Australia 1 especie (véase Cuadro 1), lo que refleja una distribución cosmopolita para este género. Esta distribución se ha dado por las colectas de los especialistas en Trichogrammatidae y los grupos de investigación relacionados al control biológico de gorgojos que son plaga de granos almacenados. Los esfuerzos no han sido lo suficientemente sistemáticos, como lo han sido en relación al género *Trichogramma*, y es conocido que falta mucho por identificar y describir en esta familia. Todavía es prematuro señalar una región biogeográfica como lugar posible de origen y mayor riqueza en especies de *Uscana*, pero en general, se esperarían muchas especies en los trópicos por la mayor cantidad de sus hospederos (Bruchinae) y de sus respectivas plantas hospederas (leguminosas y malvaceas).

Entre los investigadores europeos que han descrito y estudiado especies de este género se encuentran Steffan, Pintureau, Fursov y Viggiani, entre los especialistas africanos está Delobel y para China está Lin que reporta todos los Trichogrammatidae para ese país. En el caso de la India, Pajni, Sood y Tewari han encontrado a cuatro especies de *Uscana* como agentes de control biológico en contra de gorgojos de granos almacenados. En el continente Americano, solo se tenía conocimiento de la especie tipo *U. semifumipennis* descrita por Girault y que ha sido utilizada como agente de control biológico en Hawaii y Japón. En 1999, Pintureau & Gerding describen dos especies nuevas provenientes de Chile, *U. chilensis* y *U. espinae*. Los autores

también reportaron la presencia en Chile de *U. senex* introducida de Bulgaria como agente de control biológico.

¿Por qué hay tan pocas especies conocidas de *Uscana* en el país? El género *Uscana* forma parte de la superfamilia Chalcidoidea que tiene 29 familias y potencialmente unas 100,000 especies en el mundo. Apenas, en la última década en México, se empieza a conformar un pequeño grupo de especialistas que han estudiado entre otras familias a los Trichogrammatidae, especialistas como: Cancino, Myertseva, González-Hernández y García González. También se puede explicar por la escasez de material de *Uscana* en las colecciones de Trichogrammatidae en el mundo, e incluso faltan por describirse muchas especies adicionales del género. Esto puede deberse a que los métodos usuales de colecta no han servido para obtener ejemplares de este género, ya que es necesario que se colecten directamente los huevos de los hospederos (de la subfamilia Bruchinae). En México, se tienen registradas unas 330 especies de Bruchinae y se estima que en el mundo hay unas 1,700 especies (Romero & Johnson 2004). Es de esperarse que muchas especies de *Uscana* utilicen a los huevos de todas estas especies como hospederos para su progenie. Es evidente que se tiene poca información sobre especies de *Uscana* en México.

En cuanto a su distribución las especies de *Uscana* son de amplia distribución, como es el caso de *U. caryedoni* y *U. lariophaga* en el oeste africano, de *U. senex* y *U. olgae* en el sur de Rusia, Ucrania, Grecia y Bulgaria, de *U. semifumipennis* en el sur de EUA y México. Estas especies a su vez, son las que más hospederos por especie presentan, de dos a 11 especies de brúquidos: *U. lariophaga* (2 hospederos), *U. caryedoni* (3), *U. espiniae* (3), *U. bruchidiusi* (4), *U. olgae* (9), *U. semifumipennis* (11). Esto permite decir que el caso de *U. espiniae* en México, muy lejos de Chile y Uruguay (en donde se había reportado antes de este trabajo), no debería

sorprender su presencia, ya que puede ser el caso de una avispa generalista en hospederos y de una amplia distribución. Doult y Viggiani (1968) sugieren que el tamaño tan pequeño (0.5 mm) y lo ligero de los cuerpos de estos insectos sin duda incrementan las posibilidades de dispersión por el viento, además de que el comercio y movimiento de granos ha permitido que se encuentren en todo el mundo, incluso hasta en la fauna de las islas más aisladas en el Pacífico.

Faltan muchas especies de *Uscana* por descubrir y registrar en particular en los ecosistemas naturales y agrosistemas de los trópicos. Los especialistas que buscan agentes de control biológico en contra de gorgojos plagas de granos almacenado son los que más han colectado y determinado nuevas especies. Se requiere coleccionar más en el medio natural sobre todas las especies de brúquidos.

1.3. Planteamiento y justificación práctica del problema

El gorgojo común [*Acanthoscelides obtectus* (Say)] y mexicano (*Zabrotes subfasciatus* Boheman) del frijol son responsables del 20% de las pérdidas del frijol almacenado en el centro de Veracruz (Leroi *et al.* 1991, Bonet *et al.* 2000). Reducir el impacto de estos gorgojos sobre las semillas de frijol almacenadas es prioritario por ser un alimento de consumo básico, en particular en las comunidades de campesinos que viven del autoconsumo. Como parte del gremio de himenópteros parasitoides que atacan a los gorgojos común y mexicano del frijol en poblaciones silvestres de frijol (Pérez & Bonet 1984, Delgado *et al.* 1988), es probable que *Uscana espiniae* pueda ser un buen agente de control biológico, ya que en el campo en el estado de Morelos, *Uscana espiniae* llega a estar presente hasta en un 46% de las vainas con presencia de gorgojos.

Cuando la puesta de los huevos del hospedero es localizada por la hembra de *Uscana*, ella puede parasitar hasta un 80% de los hospederos encontrados (datos no publicados).

En Morelos y Puebla existen poblaciones de *Uscana espinae* que atacan a los gorgojos en poblaciones de *Phaseolus vulgaris* L. (frijol silvestre) (Pérez & Bonet 1984, Delgado *et al.* 1988). En Veracruz, se encontraron poblaciones de *Uscana espinae* en gorgojos que atacan vainas de *Acacia pennatula* y *A. sphaerocephala*. Sin embargo, previo al presente trabajo, se desconocía si las poblaciones de *Uscana* eran dos distintas especies o dos poblaciones lejanas de la misma especie. También se desconocía si los *Uscana* de Morelos y Veracruz difieren en su comportamiento reproductivo, selección de hospedero y plantas hospederas y si las avispas podían adaptarse a nuevos ambientes como los que se encuentran en los almacenes. Hasta ahora, se sabe que en Morelos al menos logran impactar con un 80% de parasitismo, lo que sugiere a esta avispa como un posible buen agente de control. Por lo tanto, este trabajo tuvo como objetivo principal determinar si los *Uscana* de Morelos y Veracruz tienen las características adecuadas para ser agentes de control biológico. Para esto, se requirió obtener información sobre su identidad, su biología y comportamiento reproductivo.

1.4. Objetivo general

Conocer la identidad, la biología y el comportamiento reproductivo del himenóptero oófago del género *Uscana espinae* que ataca al gorgojo común *Acanthoscelides obtectus* (Say), en semillas almacenadas de las variedades cultivadas de frijol, para evaluar su aptitud y eficiencia como un buen agente de control biológico.

1.4.1. Objetivos particulares

- Analizar a seis poblaciones de *Uscana* sp. provenientes de la parte central de México (Morelos, Puebla y Veracruz) y proveer registros de sus hospederos, asociaciones hospederos – planta y su distribución geográfica.
- Investigar la presencia de especies crípticas en *Uscana* por medio de caracteres morfológicos, análisis genotípicos (COI) y cruzas intra e inter – poblacionales.
- Analizar y comparar en las poblaciones de *Uscana* sp. de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz, la fecundidad (número de progenie) aparente y total, porcentaje de supervivencia y la proporción sexual de la progenie de la avispa.
- Determinar la edad óptima del hospedero (*A. obtectus*) para la oviposición de la hembra, en las poblaciones de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz
- Determinar la edad óptima de la hembra de *Uscana* sp. para oviponer su progenie en el hospedero, en las poblaciones de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz

- Analizar y comparar la longevidad de los adultos de *Uscana* sp. provenientes de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz, con presencia o ausencia de alimentos, presencia o ausencia de hospedero y en función del sexo.

1.4.2. Predicciones

Al final de este trabajo esperamos encontrar si las poblaciones de *Uscana* encontradas en el centro de México son de una o varias especies crípticas y si los atributos reproductivos encontrados (fecundidad [progenie aparente y total], proporción sexual de la progenie aparente, efecto de la edad del hospedero y de la hembra parasitoide sobre la fecundidad) son los adecuados para que la avispa pueda ser utilizada como un agente de control biológico.

Sabremos si la alimentación, presencia de hospederos y sexo tienen un efecto sobre la longevidad y fecundidad. El suplemento de alimento (miel de abeja) ayudará a la obtención de una mayor fecundidad.

1.4.3. Material y métodos

1.4.3.1 Mantenimiento de cepas

En el laboratorio se mantiene crías masiva del hospedero *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchinae) (con 17 años de antigüedad), que se utilizan para la crianza continua del parasitoide *Uscana spiniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) provenientes de tres localidades del centro de México: Pantitlán, Morelos (nueve años de antigüedad con reintroducciones en el 2005, 18°55'0.6"N, 98°59'36.6"W, 1285 m snm), Río Ahuehuevo, Puebla (10 años de

antigüedad, 18°37'0.36"N, 98°33'55.18"W, 1250 m snm) y Estanzuela, Veracruz (tres años de antigüedad, 19°27'12.8", 96°51'47.6"W, 1038 m snm). La crianza de los gorgojos y parasitoides, así como los experimentos se hicieron en el laboratorio del Instituto de Ecología A. C. con una temperatura promedio de 23 ± 0.5 °C y humedad relativa de 70 ± 4 % con un fotoperiodo de 12 horas días/12 horas noches. El desarrollo embrionario de la progenie se hizo a una temperatura promedio de 27 ± 0.5 °C y humedad relativa de 40 ± 4 % de humedad relativa en una cámara de cría. No se consideraron para el análisis las hembras que tuvieron descendencia única de machos ni las hembras y cuyo número total de huevos no tuvieron desarrollo embrionario.

Se realizó una prueba de poder en Gpower que diera un tamaño de muestra robusto para el registro del número de la progenie emergida y total, el porcentaje de supervivencia y la proporción sexual de la progenie ante cada variable. La prueba de poder se hizo con datos de un experimento anterior, el resultado del análisis de la prueba de poder dio que un mínimo de 33 parejas es necesario para obtener un alpha de 0.05 y un poder de 0.80, cifra suficiente para marcar una diferencia estadística entre las distintas variables experimentales. Todas las réplicas experimentales fueron de 35 parejas por variable experimental.

2. *USCANA ESPINAE* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) IN CENTRAL MEXICO: NEW HOSTS, HOST PLANTS, DISTRIBUTION RECORDS, AND CHARACTERIZATION

**USCANA ESPINÆ (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) IN
CENTRAL MEXICO: NEW HOSTS, HOST PLANTS, DISTRIBUTION
RECORDS, AND CHARACTERIZATION**

ARTURO BONET¹, TOSHIHIDE KATO², IGNACIO CASTELLANOS³, BERNARD PINTUREAU⁴ AND DELIA GARCÍA¹

¹Multitrophic Interaction Network, Instituto de Ecología A. C. Carretera antigua a Coatepec 351, El Haya,
Apartado Postal 63, 91070, Xalapa, Veracruz, Mexico
E-mail: arturo.bonet@inecol.edu.mx

²Department of General Systems Studies, Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo,
Tokyo 153-8902, Japan
E-mail: seedbeetle@yahoo.co.jp

³Biological Research Center, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Km. 4.5 carretera Pachuca-Tulancingo
S/N, Apartado Postal 69-1, 42184, Pachuca, Hidalgo, Mexico
E-mail: ignacioe@uaeh.edu.mx

⁴Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions, UMR INRA/INSA de Lyon, INSA, Bâtiment L. Pasteur, 09621 –
Villeurbanne-cedex, France
E-mail: Bernard.Pintureau@lyon.inra.fr

ABSTRACT

In the framework of a biological control program with hymenopteran parasitoids to reduce the population densities of the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say), and the Mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus* (Boheman), that attack bean seeds in storage facilities in central Mexico, the parasitoid, *Uscana espinæ* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae), was collected. This program developed new records on the distribution, hosts, and host-plants associated with *U. espinæ*. No evidence was found of cryptic species among 6 *U. espinæ* populations from central Mexico by use of morphological characters, mitochondrial gene analysis (cytochrome oxidase I), and intra- and inter-population reproductive crosses. The original geographic distribution of *U. espinæ* in Chile and Uruguay has been expanded to include the states of Morelos, Puebla, and Veracruz in Mexico.

Key Words: Bruchinae, egg parasitism, biological control, morphology, reproductive compatibility

RESUMEN

Dentro del marco de un programa de control biológico con parasitoides himenópteros para reducir las densidades de los gorgojos común y mexicano [*Acanthoscelides obtectus* (Say) y *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)] que atacan semillas de frijol almacenado en el centro de México, fue colectado el parasitoide *Uscana espinæ* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). La colecta de este parasitoide provee de nuevos registros sobre su distribución, hospederos y plantas hospederas. No se detectó evidencia de especies crípticas en seis poblaciones del centro de México mediante la utilización de caracteres morfológicos, un análisis del citocromo oxidasa I (COI) y cruza reproductivas dentro y entre poblaciones. Se amplía la distribución geográfica de *U. espinæ* de Chile y Uruguay para ahora incluir a los estados de Morelos, Puebla y Veracruz en México.

The genus *Uscana* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is comprised of solitary and idiobiont endoparasitoids, with 90% of its species using eggs of the coleopteran subfamily, Bruchinae, as hosts. It is a little studied cosmopolitan genus, and is among the most derived in accordance with the latest molecular phylogenetic classification of Trichogrammatidae (Owen et al. 2007). Some species parasitize the eggs of cos-

mopolitan insect pests such as the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* (Say), and the cowpea weevils *Callosobruchus maculatus* F. and *Bruchidius atrolineatus* Pic (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae), which feed on legume seeds, including beans of the genera *Phaseolus* and *Vigna*. *Uscana* spp. are specialists, achieving a high level of parasitism, making them possible biological control agents of bruchid beetles that feed

on stored beans (van Huis et al. 1990; van Huis 1991; Fursov 1995; Bonet et al. 2002). Worldwide, 28 species have been identified (Pinto 2006); of these, 3 have been recorded as endemic to the New World: *Uscana semifumipennis* Girault (also known in Japan and Hawaii), *U. espiniae* Pintureau & Gerding, and *U. chiliensis* Pintureau & Gerding (Fursov 1995, Pintureau et al. 1999, Pinto 2006). The type species *U. semifumipennis* has been recorded in the U.S., Mexico, and Guatemala (Pinto 2006). In Chile, there are records of *U. espiniae* and *U. chiliensis* (Pintureau et al. 1999), and specimens of *Uscana* spp. have been recorded in Brazil and Argentina (Pinto 2006). In Mexico, the only representative of the genus that has been recorded is *U. semifumipennis*, a natural enemy of Mexican bruchids (Pinto 2006).

To date, research has been conducted on the reproductive and behavioral aspects of some parasitoid species of the genus *Uscana*, with data on their hosts in order to determine whether they would make good biological control agents of pests of stored seeds. Studies have focused on African species such as *U. caryedoni* Viggiani (Delobel 1989), and *U. lariophaga* Steffan (van Alebeek & van Huis 1997), on the European species *U. olgae* Fursov and *U. senex* (Grese) (Fursov 1995), and on the Indian species *U. mukerjii* (Mani) (Sood & Pajni 2006). Regarding *U. lariophaga*, research has addressed several aspects of its behavior in order to control the bruchid *C. maculatus*, which feeds on stored *Vigna* seeds (van Huis et al. 1998, 2002, van Alebeek et al. 2007). Nevertheless, the taxonomy and other aspects of the biology of New World *Uscana* species are still poorly known.

The importance of studying *Uscana* wasps in Mexico relates to the possibility of using the genus in biological control of the bean and Mexican bean weevils (*Acanthoscelides obtectus* Say and *Zabrotes subfasciatus* Boheman), which cause significant losses to farmers who produce *Phaseolus* beans (Leroi et al. 1991; Bonet et al. 2000; Alvarez et al. 2005). Of particular concern is finding native biological control agents capable of mitigating the damage done by weevils to Mexico's bean cultivars, especially in the rustic storage facilities of self-sufficient farmers in central Mexico, where weevils damage 20% of all stored dried beans (Bonet et al. 2000). Research has shown that in field conditions, wasps of the genus *Uscana* parasitize up to 85% of the eggs of bruchids that attack wild bean seed populations (*Phaseolus vulgaris* var. *aborigenus* L.) in Mexico (Pérez & Bonet 1984; Delgado et al. 1988; Leroi et al. 1990).

The purposes of this study were to taxonomically identify *Uscana* species collected from 6 populations in Central Mexico, and provide records of their hosts, host associations with plants, and geographic distribution. The presence of cryptic *Uscana* species among populations was also investigated using morphological characters, geno-

type analysis (COI), and intra- and inter-population reproductive crosses.

MATERIALS AND METHODS

Collection of Insects

The analyzed individuals came from insects that were bred in the laboratory on the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*. The original stock of weevils had been collected from 5 locations in Central Mexico at altitudes of 697 to 1900 masl.: Pantitlán and Tepoztlán, in the State of Morelos; Río Ahuehuevo in Puebla; and Estanzuela and El Campanario I and II in Veracruz (Table 1). The initial *Uscana* individuals used for breeding were collected from 4 bruchid hosts and 3 host plants species (Table 1). During breeding, fecundity remained constant.

Morphological Description of Adults

Male and female *Uscana* adults were slide-mounted in Canada balsam (Platner et al. 1998). Measurements of the main taxonomic characters used to classify Trichogrammatidae species, especially *Uscana*, were taken; these include the antennal club and venation of the forewing in males and females, as well as the male genitalia (Table 2). The length of each morphological structure refers to the maximum length in micrometers.

Specimen identification was done by B. Pintureau and A. Bonet using the descriptions and key of Pintureau et al. (1999). Voucher samples on microscope slides were deposited in the IEXA insect collection at Instituto de Ecología A. C.

Cryptic Species Analysis through Morphological Characters

To determine if the wasp samples collected in the different populations corresponded to one or several species, comparisons of their morphological characters were performed (Pintureau et al. 1999; Pinto 2006). In both males and females, 2 antennal and one forewing measurements were compared, and for males, the aedeagus lengths were also compared (Table 2).

Cryptic Species Analysis through COI Barcode Analysis

The COI barcode technique was used to detect the presence of cryptic *Uscana* species as well as possible haplotypes (Herbert et al. 2003a, 2003b, 2004; Smith et al. 2005; Ratnasinham & Herbert 2007; Waugh 2007). Barcoding molecular gene analysis was carried out in 4 adult individuals from each of the 6 populations (Tables 1 and 3). DNA was extracted from each ethanol-preserved adult using the DNeasy Tissue Kit (Quiagen, Hilden, Germany). The whole adult body was

TABLE 1. RECORDS OF GENE BANK ACCESSION NUMBERS, LOCALITIES, HOSTS, HOST-PLANTS, YEAR OF COLLECTION, GEOGRAPHICAL LOCATION, AND ALTITUDE OF *USCANA* POPULATIONS ANALYZED.

GenBank accession No.	Host (Coleoptera: Bruchidae)	Host plant (Leguminosae)	Locality	Year of collection	Geographic location	Altitude (m asl)
AB600898 – AB600901	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say) and <i>Acanthoscelides obvelatus</i> Bridwell	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Río Ahuehuevo, Puebla	1996	18°37'0.36"N, 98°33'55.18"W	1250
AB600902 – AB600905	<i>Mimosestes humeralis</i> (Gyllenhal)	<i>Acacia pennatula</i> (Schltld. & Cham.) Benth.	Estanzuela, Veracruz	2003	19°27'12.8", 96°51'47.6"W	1038
AB600906 – AB600909	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say)	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Pantitlán, Morelos	2000	18°55'0.6"N, 98°59'36.6"W	1285
AB600910 – AB600913	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say) and <i>Acanthoscelides obvelatus</i> Bridwell	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Tepoztlán, Morelos	2005	18°59'51.9"N, 97°30.4"W	1900
AB600914 – AB600917	<i>Acanthoscelides oblongoguttatus</i> Fähræus	<i>Acacia sphaerocephala</i> Schltld. & Cham.	El Campanario I, Veracruz	2006	19°21'49.5", 96°50'44.1"	697
AB600918 – AB600921	<i>Mimosestes humeralis</i> (Gyllenhal)	<i>Acacia pennatula</i> (Schltld. & Cham.) Benth.	El Campanario II, Veracruz	2006	19°21'49.5", 96°50'44.1"	697

put in a 180µL ATL buffer with 20µL proteinase K and incubated at 55 °C for 36 h. After incubation, total genomic DNA was extracted following the manufacturer's instructions. A DNA fragment of the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) gene was amplified using the polymerase chain reaction (PCR) with the primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al. 1994). The template profile was as follows: 94.0 °C for 5 min; 35 cycles at 94.0 °C for 45 s, 48.0 °C for 45 s, and 72.0 °C for 90 s; and 72.0 °C for 8 min. PCR was performed in a reaction volume of 40 µL using 10 × EX Taq Buffer (Takara Bio, Tokyo, Japan), 0.2 mM each dNTP, 0.5 µM each primer, 0.5 U/µl EX Taq DNA polymerase (Takara Bio), and 0.2 µM template DNA. The PCR product was purified using Montage PCR (Millipore, Billerica, Massachusetts) and served as a template for cycle sequencing reactions with CEQ quick start mix (Beckman Coulter, Fullerton, California) following the manufacturer's instructions. After ethanol precipitation, the cycle sequencing products were sequenced using the CEQ8000 Genetic Analysis System (Beckman, Coulter). DNA sequences obtained in both directions were assembled and edited using ATGC version 4.0 (Genetyx, Tokyo, Japan). The assembled sequences were aligned manually and edited using Bioedit version 5.0.9 (Hall 1999). 531 base pairs of COI gene were compared for 4 *Uscana* individuals from each population in order to discern polymorphisms within them. The DNA sequences determined were deposited in the GenBank under the accession numbers AB600848-AB600921.

Reproductive Compatibility

Reproductive compatibility was analyzed for the 2 populations that were furthest apart (230 km) (Pantitlán, Morelos and Estanzuela, Veracruz). Crossings between male and female adults were done in group and single-pairs in order to obtain a reproductive compatibility coefficient between them (Pinto et al. 1991; Pintureau 1991; Stouthamer et al. 2000). Group mating provides some choice for mates and therefore would be more likely to reveal reproductive incompatibility; however, single-pair matings provide better quantification, in a 'no-choice' situation, of the level of incompatibility (Liu et al. 2002).

The different levels of reproductive compatibility seen in crosses between different populations help to explain the intra-specific variation observed in the species' geographic distribution (Hopper et al. 1993). A reproductive compatibility under 80% permits the separation of species in *Trichogramma* (Pinto et al. 1991), and cryptic species are present when heterogamic crosses are < 75% homogamic ones (Stouthamer et al. 2000). Pintureau (1991) and Pinto et al. (1991)'s procedure for crossing males (m) and females (f) was followed, with the reproductive compatibility

TABLE 2. MORPHOLOGICAL CHARACTERS (MEAN \pm SE IN MICRONS)¹ OF ADULT MALES AND FEMALES OF *USCANA ESPINAE* COLLECTED IN FIVE LOCATIONS IN CENTRAL MEXICO.

Adult characters	Pantitlán	Tepoztlán	Río Ahuehuevo	Estanzuela	El Campanario
Males (N)	14	5	5	13	10
Fimbria length/forewing width	0.21 \pm 0.00 a	0.19 \pm 0.00 b	0.21 \pm 0.01 a	0.22 \pm 0.00 a	0.23 \pm 0.01a
	$H = 13.58$; $df = 4,48$; $P = 0.0087$				
Mean lengths of the C1/C2 antennal segments	1.01 \pm 0.03	1.06 \pm 0.03	1.02 \pm 0.04	1.05 \pm 0.02	1.04 \pm 0.03
	$F = 0.59$; $df = 4,47$; $P = 0.6728$				
Mean lengths of the C3/C2 antennal segments	1.27 \pm 0.03	1.26 \pm 0.06	1.10 \pm 0.03	1.29 \pm 0.03	1.25 \pm 0.02
	$F = 0.29$; $df = 4,47$; $P = 0.8776$				
aedeagus length	52.37 \pm 0.70	56.61 \pm 1.87	53.44 \pm 0.90	53.94 \pm 0.79	55.02 \pm 1.04
	$F = 2.28$; $df = 4,47$; $P = 0.0769$				
Females (N)	10	5	5	14	8
Fimbria length/anterior wing width	0.18 \pm 0.00	0.18 \pm 0.00	0.18 \pm 0.00	0.18 \pm 0.00	0.17 \pm 0.01
	$H = 2.22$; $df = 4,40$; $P = 0.6962$				
Mean lengths of the C1/C2 antennal segments	1.12 \pm 0.03	1.10 \pm 0.02	1.15 \pm 0.04	1.10 \pm 0.04	1.12 \pm 0.04
	$F = 0.22$; $df = 4,40$; $P = 0.9231$				
Mean lengths of the C3/C2 antennal segments	1.34 \pm 0.04	1.19 \pm 0.02	1.34 \pm 0.04	1.28 \pm 0.03	1.33 \pm 0.04
	$F = 1.76$; $df = 4,42$; $P = 0.1581$				

¹F, F-statistic, H, Kruskal-Wallis test statistic. Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

TABLE 3. CHARACTERIZATION OF *USCANA ESPINAE* HAPLOTYPES IN CENTRAL MEXICO. POLYMORPHISMS ARE LOCATED ON THE THIRD CODON, AND SYNONYMS.

Haplotype	Populations (specimen #) ¹	Segregating position on COI fragment		
		121	211	355
Haplotype 1	CA I	A	C	G
Haplotype 2	ES, PA (2)	A	T	A
Haplotype 3	RA, PA (1, 3, 4), TE, CA II	G	T	A

¹The numbers appearing in brackets correspond to the individual used. Population abbreviations are given in Table 1.

coefficient of 2 populations (A × B) measured as the average number of female progeny in heterogamic combinations (A m × B f) divided by the mean in each homogamic combination (A m × A f), or (B m × B f), as well as their respective reciprocal crosses.

In the present study, heterogamic crosses were carried out with virgin individuals from each population without *a priori* knowledge of the sex of the 2 individuals or, for group mating, the sex of all individuals. When female progeny were recorded, they were *a posteriori* interpreted as resulting of crosses. As the sex of virgin adults could not be determined before each mating, it was assumed that the 35 replicates in both directions that resulted in female progeny included heterogamic crosses.

Two intra-population crosses were done (PA m × PA f) and (ES m × ES f) as homogamic controls, as well as one heterogamic inter-population cross (PA mf × ES mf). The individuals used for these crosses came from laboratory breeding on *A. obtectus* over 6 and 7 generations of wasp and host, respectively. Intra-population crosses were done under environmental conditions of 23 ± 2 °C, with 63 ± 10 % RH and at 12:12 h L:D. The embryonic development of wasp progeny occurred in a breeding chamber at 25 ± 1 °C, with a 55 ± 5 % RH.

For all crosses, both single-pairs and group, adult virgin males (m) and females (f) born on the same day were left alone with honey so that they would mate. Afterward, each female was isolated in a gelatin capsule with 50 eggs of the host *A. obtectus* (24 to 48 hours old); the eggs were changed daily, so that oviposition could occur until death of the adult female. For single-pair crosses ($N = 35$), mating occurred in one-half of a gelatin capsule (2.5 cm long × 0.6 cm diam). In the case of group crosses, adults ($N = 80$) were placed in a container (4 cm high × 7 cm base diam) for 24 h with honey in order for mating to take place. Afterward, 40 randomly chosen female individuals were isolated in gel capsules with host eggs. Parasitized host eggs were placed in a breeding chamber until progeny emerged. The sex of both adult progenitors and progeny was confirmed after they had died.

For each type of cross, the number of parasitized hosts per wasp female was recorded, as well

the number and sex ratio of progeny that emerged and the percentage of survival from egg to adult stage. The reproductive compatibility coefficient was calculated following Pinto et al. (1991). It is estimated as 2 percentages that compare levels of female progeny arising from heterogamic mating versus the homogamic control (Pinto et al. 1991): 100 × mean sex ratio of progeny (= proportion of female progeny) (A m × B f) / mean sex ratio of progeny (A m × A f), with the same calculation done for reciprocal mating.

Statistical Analyses

The morphological characters of individuals from different populations and the results of reproductive crosses between populations were compared with one way ANOVA. When significant differences were found, Tukey's multiple comparisons test was used to detect differences between populations. When ANOVA assumptions were not met, a non-parametric Kruskal-Wallis analysis of variance and multiple comparisons using the "Fisher's least significant difference on the ranks" test were used (Conover 1980; Sokal & Rohlf 1995).

RESULTS

The individuals collected from the 6 central Mexican populations belong to the species *U. espinae*. This is the first Mexican record for *U. espinae*; and *Acanthoscelides obtectus*, *A. obvelatus* Bridwell, *A. oblongoguttatus* (Fähræus), and *Mimosestes humeralis* (Gyllenhal) are new host records; and *Phaseolus vulgaris*, *Acacia pennatula* (Schltdl. and Cham.) and *A. sphaerocephala* Schltdl. and Cham. are new host plants for the wasp (Table 1).

Morphological Analysis

Measurements of the morphological characters (antennae, forewings and aedeagus) of individuals from different populations were similar (Table 2). The only difference was found in Tepoztlán, where the ratio of male fimbria length and anterior wing width was significantly different

from the corresponding ratios of all other populations (Table 2).

Molecular Analysis of the COI Gene

In the 6 populations analyzed, 3 haplotypes were found (Table 3). Variation within and among populations was less than 1% for the 531 base pairs of the COI gene. Haplotype 1 was found only at one location, El Campanario I, Veracruz, on *Acanthoscelides oblongoguttatus* on the plant, *Acacia sphaerocephala*. Haplotype 2 was found in Pantitlán, Morelos and Estanzuela, Veracruz. Haplotype 3 was found in 4 populations in 3 states (Morelos, Puebla, and Veracruz). The population in Pantitlán was the only one with more than one haplotype (haplotypes 2 and 3) (Table 3).

Reproductive Compatibility

No reproductive isolation between the 2 populations crossed was found. Adults from these 2 populations (Pantitlán and Estanzuela) had a

reproductive compatibility coefficient of 85% for single-pair crosses and 88-92% for group crosses, with no detectable element of reproductive incompatibility (Table 4).

The group cross in the Pantitlán population produced 15 % more parasitoids in its progeny ($F = 5.96$; $df = 2,102$; $P = 0.0036$) than that in the Estanzuela population (Table 4). The sex ratio in progeny of inter-population heterogamic crosses per group was lower ($H = 8.81$; $df = 2,102$; $P = 0.0122$) than those recorded from homogamic crosses in Pantitlán and Estanzuela (Table 4), but this difference did not reach the threshold of 75% used by Stouthamer et al. (2000) as an indication of species separation. Survival percentage of progeny to adulthood did not differ significantly within and among populations in the case of single-pair crosses and group crosses (Table 4).

DISCUSSION

The search for a biological agent to control *A. obtectus* and *Z. subfasciatus* led to the discovery

TABLE 4. PROGENY (MEAN \pm SE)¹, SEX RATIO OF PROGENY, PERCENT SURVIVAL FROM EGG TO ADULT, REPRODUCTIVE COMPATIBILITY RESULTING FROM INTRA- AND INTERPOPULATION CROSSES IN *USCANA ESPINAE* (PAIR AND GROUP MATINGS). MALES (M), FEMALES (F), AND MALE-FEMALE MIXTURE (MF) THAT ORIGINATED FROM PANTITLÁN, MORELOS (PA) AND ESTANZUELA, VERACRUZ (ES).

Biological parameters	Inter-population cross PA (MF) x ES (MF)	Intra-population cross	
		PA x PA (M x F)	ES x ES (M x F)
Single-pair matings			
Number of females	35	35	35
Proportion of females in progeny	0.52 \pm 0.04	0.62 \pm 0.03	0.61 \pm 0.02
	$H = 2.74$; $df = 2,105$; $P = 0.2541$		
No. of parasitoids produced	25.4 \pm 0.61	25.37 \pm 1.00	25.91 \pm 0.79
	$F = 0.14$; $df = 2,105$; $P = 0.8689$		
% of progeny surviving to adulthood	0.86 \pm 0.01	0.85 \pm 0.02	0.84 \pm 0.01
	$H = 0.52$; $df = 2,105$; $P = 0.7714$		
Reproductive Compatibility		85 %	85 %
Group matings			
Number of females	35	35	35
Proportion of females in progeny	0.53 \pm 0.02a	0.61 \pm 0.03b	0.58 \pm 0.04b
	$H = 8.81$; $df = 2,102$; $P = 0.0122$		
No. of parasitoids produced	28.70 \pm 0.91a	28.74 \pm 0.90a	24.62 \pm 1.09b
	$F = 5.96$; $df = 2,102$; $P = 0.0036$		
% of progeny surviving to adulthood	0.81 \pm 0.02	0.79 \pm 0.02	0.80 \pm 0.02
	$F = 0.01$; $df = 2,105$; $P = 0.4242$		
Reproductive Compatibility		88%	92%

¹F: F-statistic, H: Kruskal-Wallis test statistic. Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

of the endoparasitoid *U. espiniae*, parasitizing weevil eggs in several localities of central Mexico. It was identified on the basis of its morphology, using the species' diagnostic characters, and no cryptic species could be detected. It was determined that all *Uscana* specimens from Pantitlán, Tepoztlán, Río Ahuehuevo, Estanzuela, and El Campanario I and II belong to the same species, which appears to be distributed throughout central Mexico. This is a new record for Mexico, with new hosts and host plant associations. *Uscana espiniae* had been recorded only from Chile and Uruguay attacking the eggs of the bruchids *Pseudopachymerina spinipes* (Erichson 1833), *Scutobrachus ceratioborus* (Philippi) and *Stator furcatus* on *Acacia caven* (Molina) Molina and *Prosopis chilensis* (Molina) (Pintureau et al. 1999, Rojas-Rousse 2006). Thus, 4 new hosts have been identified (*Acanthoscelides obtectus*, *A. obvelatus*, *A. oblongoguttatus*, and *Mimosestes humeralis*) as well as 3 new host plants (*Phaseolus vulgaris*, *Acacia pennatula*, and *A. sphaerocephala*).

The COI barcode technique was used to test for the presence of cryptic *Uscana* species at the different locations. According to Herbert et al. (2003b) and Waugh (2007), if intra-population variation is < 2%, variation can be considered to be intra-specific. The variation recorded in the 6 populations considered was less than 1% for the 531 base pairs of the COI gene analyzed, leading to the conclusion that no cryptic species were present.

Among the 3 different haplotypes identified on the basis of the COI mitochondrial gene, two were found (2 and 3) on the same host plant, *P. vulgaris*, in Pantitlán. Haplotype 3 was found in individuals from 3 locations, Río Ahuehuevo, Tepoztlán, and El Campanario II, while haplotype 2 was also present in Estanzuela. This suggests that haplotypes 2 and 3 represent 2 morphs of the same species. Haplotype 1, more differentiated, was only present at location Campanario I where wasp individuals were collected inside *A. oblongoguttatus* eggs on the plant *Acacia sphaerocephala* pods.

Reproductive isolation was not found between individuals of Pantitlán and Estanzuela, as reproductive compatibility was 85% for single-pair crosses and 88-92% for group crosses, thus not under the 75% indicated by Stouthamer et al. (2000) to discriminate species. However, some variability was observed among populations in terms of number and sex ratio of progeny.

The use of native biological control agents is indispensable to reduce densities of bruchid beetles by environmentally friendly means. Phylogeographical research is needed throughout the geographic distribution area of *U. espiniae* in order to confirm its native or non-native status in Mexico (e.g., Alvarez et al. 2005), because the species was known only from Chile and Uruguay. Its distribution has now been expanded to include

the Mexican states of Morelos, Puebla, and Veracruz. *U. espiniae* populations from central Mexico could be recommended in mass rearing laboratories to be used in an augmentative program to control the common and Mexican bean bruchids (van Huis 1991, Bonet et al. 2005).

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Iriana Zuria and John Kingsolver for critical comments on an early manuscript. We thank Gabriela Heredia for permitting us to use her microscopes. Ignacio Castellanos thanks the "Programa de Mejoramiento del Profesorado (SEP), and FOMIX Hidalgo 95828, segunda fase" for their support.

REFERENCES CITED

- ALVAREZ, N., MCKEY, D., HOSSAERT-MCKEY, M., BORN, C., MERCIER, L., AND BENREY, B. 2005. Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan pest of beans. *Mol. Ecol.* 14: 1015-1024.
- BONET, A., CARBONELL, J., CRUZ, M., GARCÍA, D. MÉNDEZ, S., AND ROJAS, C. 2000. El Gorgojo: Insecto que Ataca las Semillas del Frijol. *Inst. Ecol. A. C., Xalapa, Veracruz, México.*
- BONET, A., MORALES, C., LÓPEZ, I., CRUZ, M., ROJAS, C., MÉNDEZ, S., AND GARCÍA, D. 2002. Control Biológico de los Gorgojos en Frijol Almacenado. *Inst. Ecol. A. C., Xalapa, Veracruz, México.*
- BONET, A., MORALES, C. O., AND ROJAS, C. V. 2005. El Control Biológico Con Parasitoides, Una Alternativa para Limitar a los Gorgojos en Frijol Almacenado. *Inst. Ecol. A. C., Xalapa, Veracruz, México.*
- CONOVER, W. J. 1980. *Practical Nonparametric Statistics.* John Wiley & Sons, New York, NY.
- DELGADO, A., BONET, A., AND GEPTS, P. 1988. The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in Middle America, pp. 163-184 *In* P. Gepts [ed.], *Genetic Resources of Phaseolus Beans.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- DELOBEL, A. 1989. *Uscana caryedoni* (Hym.: Trichogrammatidae): possibilités d'utilisation en lutte biologique contre la bruche de Farachide, *Caryedon serratus* (Col. Bruchidae). *Entomophaga* 34: 351-363.
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R. A., AND VRIJENHOEK, R. C. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3: 294-299.
- FURSOV, V. 1995. A world review of *Uscana* species (Hymenoptera, Trichogrammatidae), potential biological control agents of bruchid beetles (Coleoptera, Bruchidae). *Coll. INRA* 73: 15-17.
- HALL, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41: 95-98.
- HERBERT, P. D. N., CYWINSKA, A., AND BALL, S. L. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. London B* 270: 313-321.
- HERBERT, P. D. N., RATNASINGHAM, S., AND DEWAARD, J. R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergence among closely related species. *Proc. R. Soc. London B* 270: 1-4.

- HEBERT, P. D. N., PENTON, E. H., BURNS, J. M., JANZEN, D. H., AND HALLWACHS, W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astrartes fuligator*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 14812-14817.
- HOPPER, K. R., ROUSH, R. T., AND POWELL, W. 1993. Management of genetics of biological-control introductions. Annu. Rev. Entomol. 38: 27-51.
- LEROI, B., BONET, A., PICHARD, B., AND BIEMONT, J. C. 1990. Relaciones entre Bruchidae (Coleoptera) y poblaciones silvestres de *Phaseolus* (Leguminosae: Phaseolinae) en el norte de Morelos, México. Acta Zool. Mexicana 42: 1-28.
- LEROI, B., PICHARD, B., BONET, A., AND MONTES, J. 1991. Family stocks of beans in Mexico and control of dried bean beetle, pp. 1639-1647 In F. Fleurat-Lessard and P. Ducom [eds.], Proc. 5th Int. Working Conference on Stored-Product Prot., 9-14 Sep 1990, Bordeaux, France. Imprimerie du Médoc, Bordeaux, France.
- LIU, S., GEBREMESKEL, F. B., AND SHI, Z. 2002. Reproductive compatibility and variation in survival and sex ratio between two geographic populations of *Diadromus collaris*, a pupal parasitoid of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. BioControl 47: 625-643.
- OWEN, A. K., GEORGE J., PINTO J. D., AND HERATY, J. M. 2007. A molecular phylogeny of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with an evaluation of the utility of their male genitalia for higher level classification. Syst. Entomol. 32: 227-251.
- PÉREZ, G., AND BONET, A. 1984. Himenópteros parasitoides de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) en Tepoztlán, Morelos. Folia Entomol. Mexicana 59: 71-78.
- PINTO, J. D. 2006. A Review of the New World Genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). J. Hymenop. Res. 15: 38-16.
- PINTO, J. D., STOUTHAMER, R., PLATNER, G. R., AND OATMAN, E. R. 1991. Variation in reproductive compatibility in *Trichogramma* and its taxonomic significance (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ann. Entomol. Soc. America 84: 37-46.
- PINTUREAU, B. 1991. Indices d'isolement reproductif entre espèces proches de Trichogrammes (Hym. Trichogrammatidae). Ann. Soc. Entomol. France 27: 379-392.
- PINTUREAU, B., GERDING, M., AND CISTERNAS, E. 1999. Description of three new species of Trichogrammatidae (Hymenoptera) from Chile. Canadian Entomol. 131: 53-63.
- PLATNER, G. R., VELTEN, R. K., PLANOUTENE, M., AND PINTO, J. D. 1998. Slide-mounting techniques for *Trichogramma* (Trichogrammatidae) and other minute parasitic Hymenoptera. Entomol. News 110: 56-54.
- RATNASINGHAM, S., AND HEBERT, P. D. N. 2007. BOLD: The barcode of life data system (www.barcodinglife.org). Mol. Ecol. Notes 7: 355-364.
- ROJAS-ROUSSE, D. 2006. Persistent pods of the tree *Acacia caven*: a natural refuge for diverse insects including Bruchid beetles and the parasitoids Trichogrammatidae, Pteromalidae and Eulophidae. J. Insect Sci. 6: 1-9.
- SMITH, M. A., WOODLEY, N. E., JANZEN, D. H., HALLWACHS, W., AND HEBERT, P. D. N. 2005. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 103: 3657-3662.
- SOKAL, R. R., AND ROHLF, F. J. 1995. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd edition. W. H. Freeman, New York, NY.
- SOOD, S., AND PAJANI, H. R. 2006. Effect of honey feeding on longevity and fecundity of *Uscana mukerjii* (Mani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) an egg parasitoid of bruchids attacking stored products (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 42: 438-444.
- STOUTHAMER, R., JOCHEMSEN, P., PLATNER, G. R., AND PINTO, J. D. 2000. Crossing incompatibility between *Trichogramma minutum* and *T. platneri* and its implications for their application in biological control. Environ. Entomol. 29: 827-837.
- VAN ALEBEEK, F. A. N., AND VAN HUIS, A. 1997. Host location in stored cowpea by the egg parasitoid *Uscana lariophaga* Steffan (Hym., Trichogrammatidae). J. Appl. Entomol. 121: 399-405.
- VAN ALEBEEK, F. A. N., ANTWI, K. K., VAN HUIS, A., AND VAN LENTEREN, J. C. 2007. Dispersal and functional response of *Uscana lariophaga* in two different habitats: stored cowpea pods and seeds. Bull. Insectol. 60: 63-70.
- VAN HUIS, A. 1991. Biological methods of bruchid control in the tropics: a review. Insect Sci. Applic. 12: 87-102.
- VAN HUIS, A., KAASHOEK, N. K., AND MAES, H. M. 1990. Biological control of bruchids (Col.: Bruchidae) in stored pulses by using egg parasitoids of the genus *Uscana* (Hym.: Trichogrammatidae): a review, pp. 99-107 In F. Fleurat-Lessard and P. Ducom [eds.], Proc. 5th Int. Working Conference on Stored-Product Prot., 9-14 Sep 1990, Bordeaux, France. Imprimerie du Médoc, Bordeaux, France.
- VAN HUIS, A., SCHÜTTE, C., AND SAGNIA, S. 1998. The impact of the egg parasitoid *Uscana lariophaga* on *Callosobruchus maculatus* populations and the damage to cowpea in a traditional storage system. Entomol. Exp. Appl. 89: 289-295.
- VAN HUIS, A., VAN ALEBEEK, F. A. N., VAN ES, M., AND SAGNIA, S. B. 2002. Impact of the egg parasitoid *Uscana lariophaga* and the larval-pupal parasitoid *Dinarmus basalis* on *Callosobruchus maculatus* populations and cowpea losses. Entomol. Exp. Appl. 104: 289-297.
- WAUGH, J. 2007. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. BioEssays 29: 188-197.

3. EFECTO DE LA EDAD DEL HOSPEDERO, LA EDAD Y EL TAMAÑO DE LA HEMBRA ADULTA DEL PARASITOIDE *USCANA ESPINAE* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EN LA OVIPOSICIÓN, FECUNDIDAD Y PROPORCIÓN SEXUAL DE LA PROGENIE.

3.1. Resumen

Se examinó si la edad del hospedero (huevos de *A. obtectus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) de 3, 24, 48, 72, 96, 120 horas) y la edad de las hembras de *Uscana espiniae* Pintureau y Gerding provenientes de dos localidades del centro de México (Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz) tienen efecto sobre su oviposición, su fecundidad (progenie emergida y progenie total) y su proporción sexual de la progenie emergida, con el fin de utilizar esta información como criterio para seleccionarla como agente de control biológico para una liberación por inundación en contra de brúquidos plagas de frijoles secos. Además, se determinó si el tamaño de las hembras de *U. espiniae* provenientes de las dos localidades está relacionado con el número de huevos puestos. En Pantitlán, la edad del hospedero afectó al número de huevos que la hembra depositó, ya que la meseta de máxima oviposición fue en las edades de 24, 49 y 72 horas con un promedio de 27, 25, 27 huevos por hembras, respectivamente; los hospederos de 3 horas y 120 horas de edad recibieron menos huevos de la hembra parasitoide (13 y 9 en promedio, respectivamente). En Estanzuela se observó una distribución semejante a la de Pantitlán, también con una meseta desde las 24 hasta las 72 horas después del apareamiento, aunque menos pronunciada que la de Pantitlán. Se encontró que la edad de las hembras de *U. espiniae* si influye en la tasa de oviposición en el hospedero, en las primera edades presenta una

meseta (desde las 24 a 72 horas después de la cópula), con un promedio de 27 y 21 huevos por hembra de Pantitlán y un promedio de 28 y 29 huevos por hembra de Estanzuela, respectivamente, decreciendo después de las 72 horas a 11 y 10 huevos. Se encontró que las hembras adulto de Estanzuela son más grandes en tamaño que las de Pantitlán; sin embargo, no se encontró que el tamaño de los adultos estuviera correlacionado con su fecundidad.

3.2. Introducción

El gorgojo común del frijol, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) es una plaga importante de granos almacenados en diferentes países del mundo (Bonet *et al.* 2000). En México, la especie ataca varias especies de frijol, y puede llegar a consumir hasta el 20% de los granos almacenados (Leroi *et al.* 1991; Bonet *et al.* 2000). Actualmente el control de esta especie en México se basa en el control cultural, físico-mecánico y químico como los plaguicidas; sin embargo, el uso de estos químicos puede ser tóxico para el humano, además de ser costoso (Franco 1986). Reducir el impacto de estos gorgojos sobre las semillas almacenadas de frijol es prioritario por ser un alimento de consumo básico, en particular en las comunidades de campesinos que viven del autoconsumo.

El uso de enemigos naturales como los himenópteros parasitoides es básico en el control biológico por inundación, ya que por medio de una cría masiva y su liberación en campo, se pueden incrementar sus poblaciones limitando a su vez la de sus hospederos (Mills 2010). Existen aproximadamente 240,000 especies descritas de parasitoides (Grimaldi & Engel 2005, Pennachio & Strand 2006), difiriendo cada especie en comportamiento y biología; incluso, la

variación puede presentarse dentro y entre poblaciones de la misma especie (Wajnberg *et al.* 2012). El adulto parasitoide ovipone sobre, dentro o cerca del cuerpo de otro artrópodo, y usualmente el hospedero muere como resultado del desarrollo de la larva de la avispa parasitoide (Hassell & Godfray 1992).

Para tener éxito en el control biológico de insectos es fundamental conocer la biología reproductiva y el comportamiento de los adultos parasitoides involucrados. Por ejemplo, Huis van (1991) y Huis van *et al.* (1991 a, b) argumentan que el control biológico en brúquidos debe recibir más atención en lo que se refiere a la introducción y mantenimiento de las poblaciones en campo y almacén, así como en las bases biológicas y conductuales de la especie en cuestión. Así es como se ha generado una gran cantidad de estudios que sugieren una relación entre la calidad de hospedero y la supervivencia y la proporción sexual de la progenie, entre otros parámetros reproductivos de los parasitoides de brúquidos (Collaza *et al.* 1991, Pak *et al.* 2000, Jervis *et al.* 2008).

Una variable importante que determina la calidad del hospedero es si éste tiene la edad adecuada para que la progenie del parasitoide pueda completar su desarrollo (Godfray 1994, Jervis *et al.* 2008). Para aquellos parasitoides que utilizan los huevos como hospederos, se ha visto que la calidad del huevo (e.g., la edad, peso o tamaño) afecta la decisión de la hembra en cuanto a la cantidad de huevos que va a oviponer, así como el número de adultos que pueden emerger (i.e., la supervivencia de su progenie) (Blackburn 1991 a, b, Ellers & Jervis 2003, Jervis *et al.* 2008, Boivin 2010). Otra variable a considerar para los parasitoides es el tamaño de los individuos en relación al número de progenie: a mayor tamaño más progenie (King 1987, van den Assen *et al.* 1989, Godfray 1994, Boivin & Lagacé 1999). Las hembras adultas de algunas

especies de himenópteros parasitoides como *Uscana spinae*, que atacan los huevos de gorgojos del frijol en la parte central de México, tienen un control directo en la proporción sexual de su progenie a través de la fertilización (Bonet *et al.* 2012). Los huevos fertilizados producen hembras diploides, mientras que los no fertilizados producen únicamente machos haploides (reproducción partenogenética arrenotoca) (Heimpel & Boer 2008). Las decisiones para colocar sus huevos con una proporción sexual determinada por parte de la hembra progenitora se da en un tiempo delimitado. Este comportamiento está influido por estímulos físicos y ambientales, el modo de desarrollo larvario del parasitoide como la idiobiosis (no hay crecimiento y desarrollo del hospedero) y la koinobiosis (el hospedero sigue creciendo y desarrollándose), en relación al futuro y crecimiento del hospedero, así como del genoma interno y procesos fisiológicos del parasitoide (Godfray 1994, Quicke 1997, Jervis & Ferns 2011). Una de las características deseadas para lograr un buen control biológico es que la proporción sexual esté sesgada a favor de las hembras ya que ésta lleva a un incremento en la tasa intrínseca de crecimiento del parasitoide ya que los machos no contribuyen a la mortalidad de las plagas (Hall, 1993).

Las hembras de *U. spinae* emergen como adultos de vida libre con sus gónadas maduras o casi maduras y con el total de huevos que colocarán a lo largo de su vida, por lo que al emerger pueden parasitar hospederos (lo cual las caracteriza como una especie con un sistema reproductivo cuasi pro-ovigénico). La fecundidad o capacidad de carga inicial de sus huevos “initial egg load”, es decir los huevos que la hembra progenitora puede oviponer en las primeras 24 horas después de la cópula (Mills & Kuhlmann 2000), ha sido utilizado como un parámetro efectivo para medir la calidad del hospedero (e.g., la edad del hospedero) y la importancia de la edad de la hembra sobre su capacidad para dejar progenie (Ellers & Jervis 2003).

El objetivo de este capítulo es conocer los atributos reproductivos de dos poblaciones de *U. espiniae* (una proveniente de Pantitlán, Morelos y otra de Estanzuela, Veracruz) que pueden ser utilizadas como agentes de control biológico para limitar las poblaciones del gorgojo común *A. obtectus* que ataca el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en varias localidades de México. Específicamente, se pretende conocer para cada población de *U. espiniae*: 1) ¿cuál es la relación entre la edad del huevo del hospedero y la fecundidad de las hembras parasitoides medida como el número de huevos parasitados (progenie total), número de adultos que emergen de los huevos (progenie emergida), porcentaje de parasitoides adultos que logran emerger y proporción sexual de la progenie emergida?, 2) ¿cuál es la relación entre la edad de las hembras de los parasitoides y su fecundidad (número de huevos parasitados, número de adultos que emergen de los huevos, porcentaje de parasitoides adultos que logran emerger y proporción sexual de la progenie emergida)? y 3) si el tamaño de las hembras de *U. espiniae* está relacionado con el número de huevos ovipuestos

3.3. Material y Métodos

3.3.1. Mantenimiento de cepas.

Los individuos de *A. obtectus* utilizados en los experimentos se han mantenido en el laboratorio en crías masivas del hospedero intercaladas en el tiempo (17 años de antigüedad), los cuales se han utilizado para la crianza continua del parasitoide. Los individuos de *U. espiniae* utilizados en los experimentos provienen de dos localidades del centro de México, una de Pantitlán, Morelos (nueve años de antigüedad con reintroducciones en el 2005, 18°55'0.6"N,

98°59'36.6"W, 1285 m snm) y otra de Estanzuela, Veracruz (tres años de antigüedad, 19°27'12.8", 96°51'47.6"W. 1038 m snm) (Bonet *et al.* 2012). La crianza de los gorgojos y parasitoides, así como los experimentos se hicieron en el laboratorio con una temperatura promedio de 23 ± 0.5 °C y 70 ± 4 % de humedad relativa con un fotoperiodo de 12/12 horas (día/noche). El desarrollo embrionario de la progenie se hizo a una temperatura promedio de 27 ± 0.5 °C y 40 ± 4 % de humedad relativa en una cámara de cría. No se utilizaron para los análisis aquellas hembras que tuvieron descendencia única de machos y/o que sus huevos no tuvieron desarrollo embrionario.

3.3.2. Relación entre la edad del huevo del hospedero y la fecundidad de las hembras parasitoides

En todos los experimentos se utilizaron hembras de 24 horas de edad aisladas dentro de cápsulas de gel transparentes con miel *ad limitum* y con un macho. A hembras vírgenes de *U. espiniae* recién copuladas provenientes de dos localidades (Pantitlán y Estanzuela) se les ofrecieron 50 huevos del hospedero con distintas edades (tratamiento = 3, 24, 48, 72, 96, 120 horas de haber sido ovipositados por las hembras de *A. obtectus*). Se retiró la pareja de parasitoides después de su muerte, dejando los huevos para la emergencia de su progenie. Se registró para cada pareja el número total de huevos parasitados, el número de adultos emergidos, el porcentaje de parasitoides que lograron emerger y la proporción sexual de la progenie. Para determinar el número de huevos parasitados, se observó si éstos cambian de color de blanco a negro, lo cual ocurre cuando los huevos de *A. obtectus* son parasitados por *U. espiniae* (A. Bonet, observación personal). Para determinar el número y sexo de los adultos emergidos, se contó el

número de avispas que emergieron de los hospederos [el número de adultos emergidos es proporcional al número de huevos parasitados ya que de cada huevo solamente emerge un parasitoide (A. Bonet, observación personal)]. Para calcular el porcentaje de parasitoides que lograron emerger se dividió el número de adultos emergidos, entre el número de huevos parasitados. Se utilizó un total de 35 hembras por tratamiento (i.e., para cada edad del hospedero).

3.3.3. Relación entre la edad de las hembras de los parasitoides y su fecundidad

Para determinar la relación entre la edad de las hembras de *U. spinae* y su fecundidad, se utilizaron 35 hembras con distintas edades (tratamientos = 24, 72, 144 horas de haber emergido) provenientes de las dos localidades (Pantitlán y Estanzuela) a las cuales se les ofrecieron 50 huevos del hospedero (*A. obtectus*) con 48 horas de edad. En todos los experimentos se utilizaron hembras aisladas en cápsulas de gel transparentes con miel *ad libitum* y con un macho. Se retiró la pareja de parasitoides después de su muerte, dejando los huevos para la emergencia de la progenie. Para cada pareja se registró el número total de huevos parasitados, el número de adultos emergidos, el porcentaje de parasitoides que logran emerger, así como la proporción sexual de la progenie.

3.3.4. Relación entre el tamaño de la hembra progenitora y el número total de huevos parasitados

Se colocaron 25 hembras de 24 horas de edad en cápsulas transparentes con miel *ad libitum* y con un macho, y después de haberse observado la cópula se les ofreció 50 huevos del hospedero de 48 horas de edad. Se contaron los huevos parasitados y se tomaron medidas (promedio en micras de las tibias del segundo par de patas) en un microscopio óptico de las tibias de las hembras progenitoras como indicación de su tamaño (Godfray 1994). Se registró para cada pareja el número total de huevos parasitados en 24 horas.

3.3.5. Análisis estadísticos

Los datos se analizaron utilizando pruebas de Kruskal-Wallis (KW), análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico, ya que no se cumplieron los supuestos de homogeneidad de la varianza. Se utilizaron pruebas posthoc de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis para realizar las comparaciones (número de huevos parasitados, número de adultos que emergen de los huevos, porcentaje de parasitoides que logran emerger y proporción sexual de la progenie emergida) entre las distintas edades de los huevos y de las hembras de la avispa en cada localidad. Se consideró como “la edad óptima de la avispa hembra progenitora” y “la edad óptima del hospedero” aquella en la que se registró el número máximo de huevos parasitados. Se presentan los valores como promedio \pm error estándar.

3.4. Resultados

3.4.1. Relación entre la edad del huevo del hospedero y la fecundidad de las hembras parasitoides

Se encontró que el número total de huevos colocados por las hembras de *U. spinae* provenientes tanto de Pantitlán como de Estanzuela difirió significativamente entre las distintas edades de los huevos de *A. obtectus* (Pantitlán: $H_{[5, 217]} = 97.88$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[5, 212]} = 31.85$, $p < 0.05$; Fig. 1). En Pantitlán, se encontró que la edad “óptima” de los huevos del hospedero para la oviposición por el parasitioide es desde las 24 a las 72 horas, ya que en estas edades las hembras de *U. spinae* colocaron el mayor número de huevos (Fig. 2). En Estanzuela, desde la edad inicial del hospedero de 3 horas, hasta la de 96 horas, las hembras de la avispa colocaron el mayor número huevos (Fig. 1).

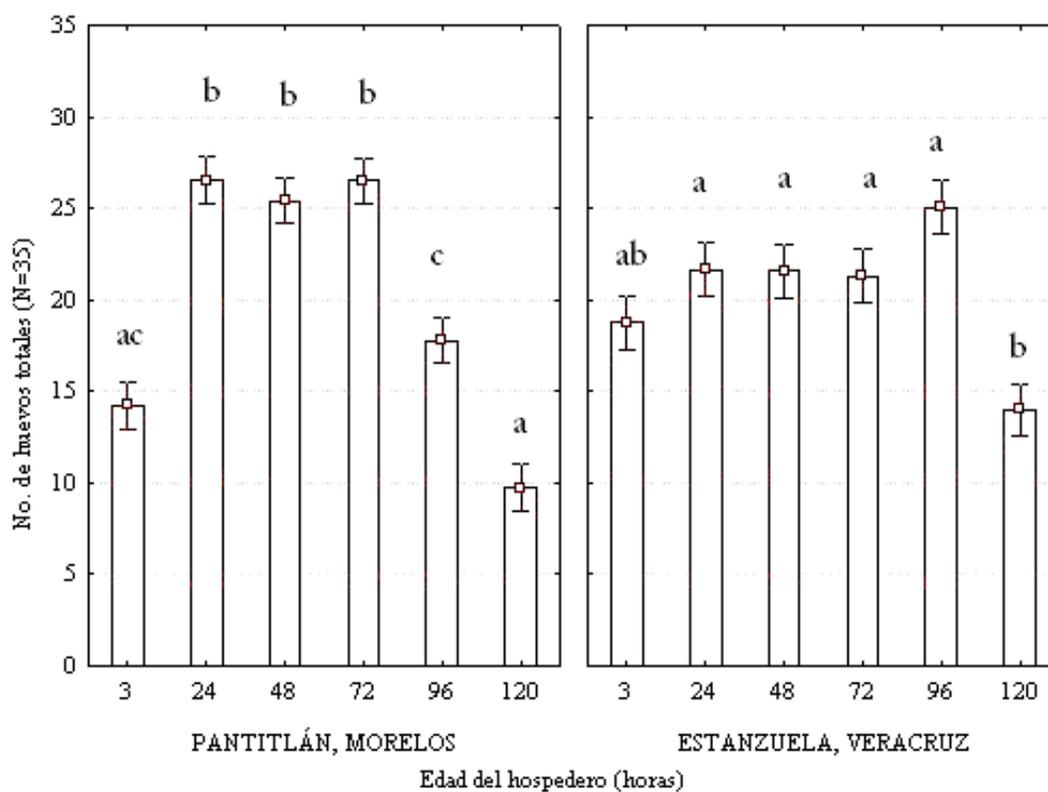


Figura 1. Número de huevos totales colocados por las hembras de *Uscana espinae* en función de la edad de los huevos del hospedero (Edad del hospedero) *Acanthoscelides obtectus* (promedio \pm e. e., N=35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

Se encontró que el número de adultos emergidos de los huevos con distintas edades difirió significativamente para las dos localidades (Pantitlán: $H_{[5, 217]} = 99.63$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[5, 212]} = 75.95$, $p < 0.05$; Fig. 2). En Pantitlán, se encontró que el mayor número de adultos emergidos por hembra fue para huevos cuya edad fue entre las 24 y 72 horas (Fig. 2), mientras que para Estanzuela, el mayor número de adultos emergidos por hembra se presentó desde la edad inicial del hospedero de 3 horas, hasta la de 96 horas (Fig. 2).

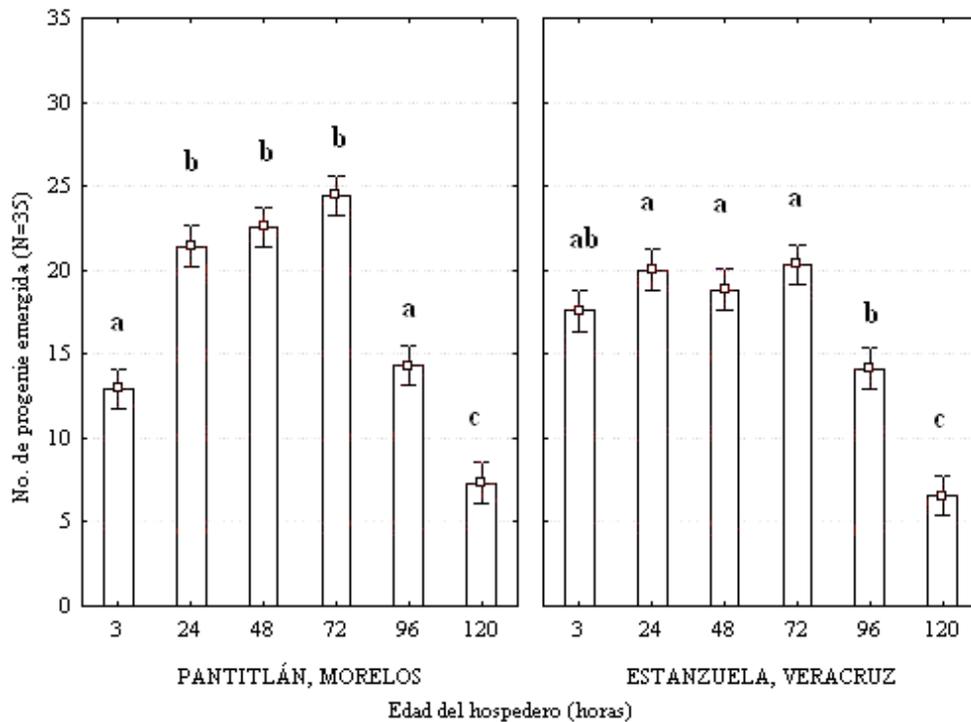


Figura 2. Número de adultos emergidos de *Uscana espinae* en función de la edad del hospedero *Acanthoscelides obtectus* (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

Para las dos localidades se encontró que el porcentaje de huevos parasitados de los cuales emergieron adultos difirió significativamente entre los grupos de edad (Pantitlán: $H_{[5, 217]} = 36.64$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[5, 212]} = 28.10$, $p < 0.05$; Fig 3). En consecuencia, se observa que el desarrollo embrionario de los huevos colocados por la hembra sí se ve afectado por la edad del hospedero. En el caso de Estanzuela, fue notorio que para las edades tardías de 96 y 120 horas se encontró un bajo porcentaje de supervivencia de la progenie con un 54 y 64 % de supervivencia y se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto de las otras edades (Fig. 3). A pesar del bajo porcentaje de supervivencia de la progenie, las avispas sí pusieron sus huevos en

estas etapas del hospedero. Para los individuos provenientes de Pantitlán, aunque el porcentaje de huevos parasitados por *U. espiniae* de los cuales emergieron adultos difirió significativamente entre las edades, la tendencia de disminución conforme aumenta la edad del hospedero, no fue tan clara como en el caso de Estanzuela (Fig. 3).

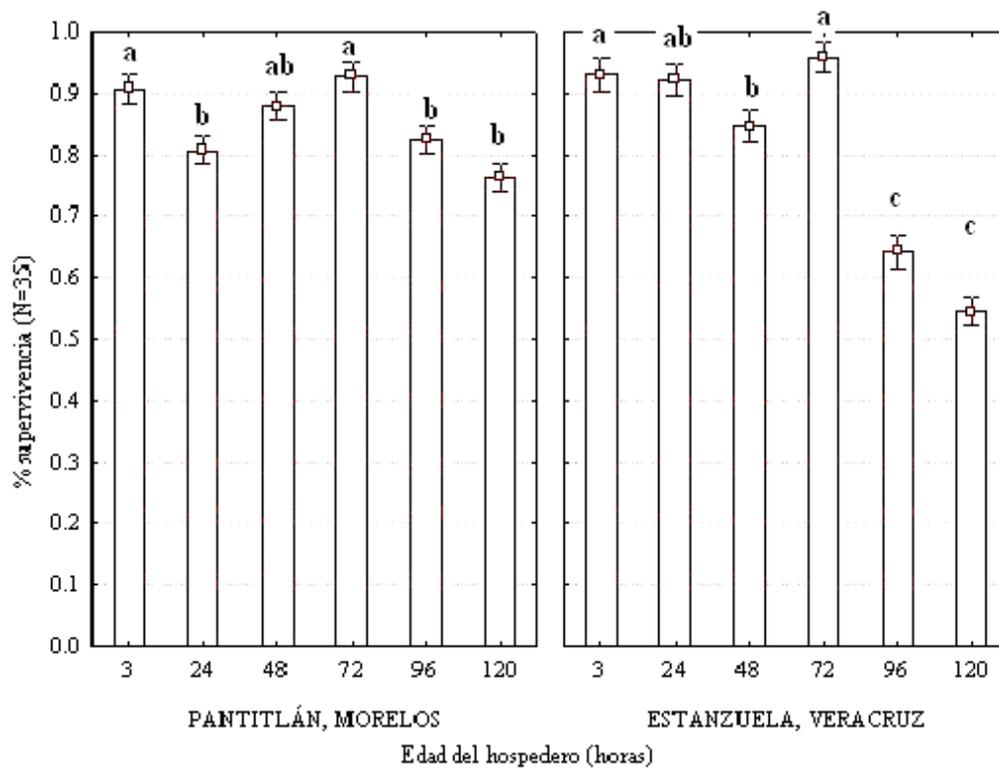


Figura 3. Porcentaje de huevos parasitados de *Acanthoscelides obtectus* por *Uscana espiniae* de los cuales emergieron adultos (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

En la figura 4 se muestra que la tendencia de oviposición difiere en las dos localidades. En Pantitlán es evidente la forma de “U” invertida en donde las hembras se toman un tiempo inicial para ovipositar. Buscan los huevos un poco más maduros que los recién colocados de unas cuantas horas, para así llegar a los picos máximos entre las 24 y 48 horas (Fig. 4). Las curvas del total de huevos y de adultos emergidos son semejantes. El porcentaje de los huevos parasitados de los cuales no emergieron avispas es de un 10 al 20 %, lo que da una supervivencia de la progenie entre 80 y 90 %. La edad de 120 horas no es propicia para la supervivencia por el total de huevos colocados y el número de adultos emergidos (Fig. 4). En el caso de Estanzuela, se observa que desde el principio las hembras colocaron todos sus huevos y después se ve una línea descendente a partir de las 72 horas, siendo esta tendencia más clara para el número de adultos emergidos, aunque el total de huevos aumenta en la edad 96 debido a la gran cantidad de huevos parasitados sin emerger (36 %) y de 46 % en la edad de 120 horas. En esta población de *U. spinae* las edades tardías de los hospederos sí afectaron el desarrollo embrionario de la progenie (Fig. 4).

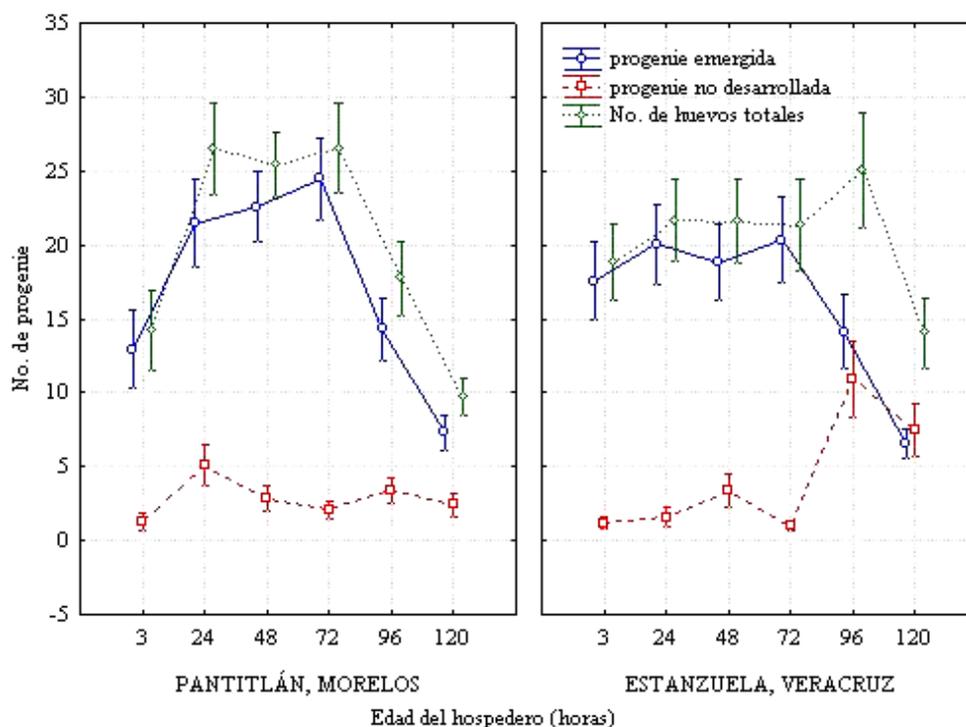


Figura 4. Curvas de interacción con el valor promedio \pm e. e. del número total de huevos colocados, número de progenie emergida y número de progenie no emergida de *Uscana espinae* (N = 35).

3.4.2. Proporción sexual de la progenie y la edad del hospedero

Se encontraron diferencias significativas en la proporción sexual de la progenie que emergió de huevos de diferentes edades (Pantitlán: $H_{[5, 217]} = 19.80$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[5, 212]} = 28.10$, $p < 0.05$; Fig. 5). En las edades de 3 a 72 horas los valores que presentan ambas localidades están sesgados a hembras, y es en la edad de 96 horas que se encontraron diferencias con las de 3 y 24 horas ($p < 0.05$): a partir de esta edad en ambas poblaciones la proporción de

sexos estuvo sesgada hacia machos (Fig. 5).

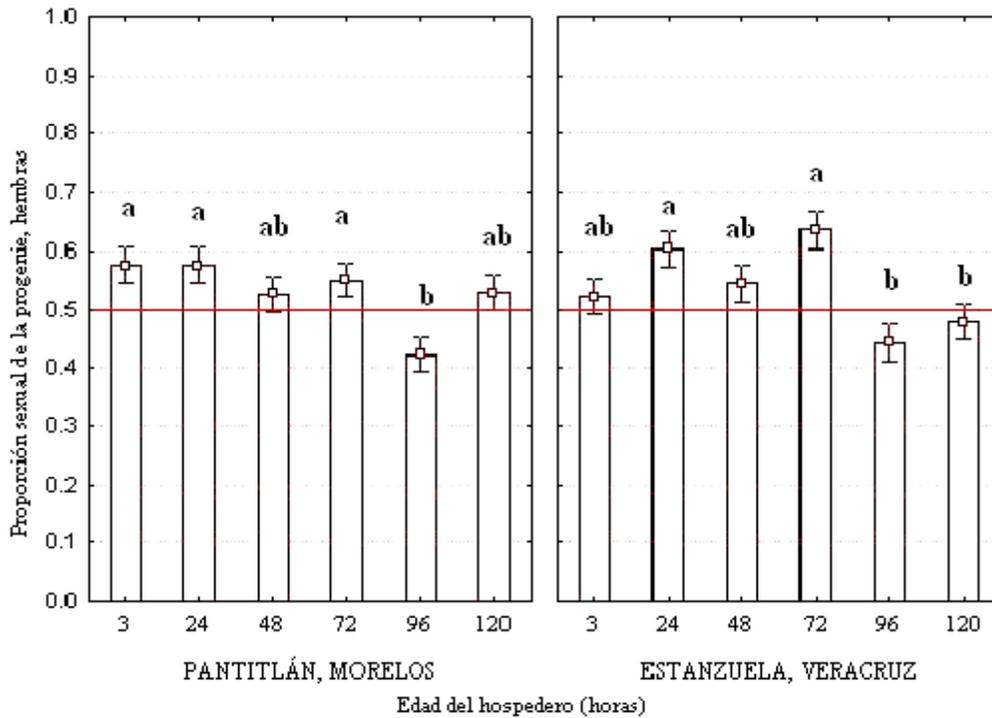


Figura 5. Proporción sexual de la progenie de *Uscana espiniae* en función de la edad del hospedero (huevos de *Acanthoscelides obtectus*), 0 es sesgo a machos, 1 es sesgo a hembras (promedio \pm e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

3.4.3. Relación entre la edad de las hembras de los parasitoides y su fecundidad

Las hembras de *U. espiniae* con distintas edades presentaron diferencias significativas en la cantidad de total de huevos colocados en las dos localidades (Pantitlán: $H_{[2, 103]} = 64.10$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[2, 106]} = 69.12$, $p < 0.05$; Fig. 6), por lo que la edad de la hembra progenitora sí está relacionada con la cantidad de huevos que puede ovipositar (Fig. 6).

En Pantitlán se encontró que las hembras colocan un mayor número de huevos cuando tienen una edad de 24 horas después de la cópula ($p < 0.05$), (Fig. 6). El número de huevos colocados por las hembras de 24, 72 y 144 horas fue de 26.85 ± 0.82 , 21.23 ± 1.07 y 10.64 ± 0.51 y un máximo de 35, 34 y 21 huevos respectivamente (Fig. 6). En Estanzuela se encontró que las hembras que tienen de 24 a 72 horas de edad son las que ponen un mayor número de huevos ($p < 0.05$) (Fig. 6). El número de huevos colocados por las hembras de 24, 72 y 144 horas fue de 28.17 ± 0.71 , 28.72 ± 1.18 y 10.48 ± 0.44 , y un máximo de 35, 43 y 15 huevos, respectivamente (Fig. 6).

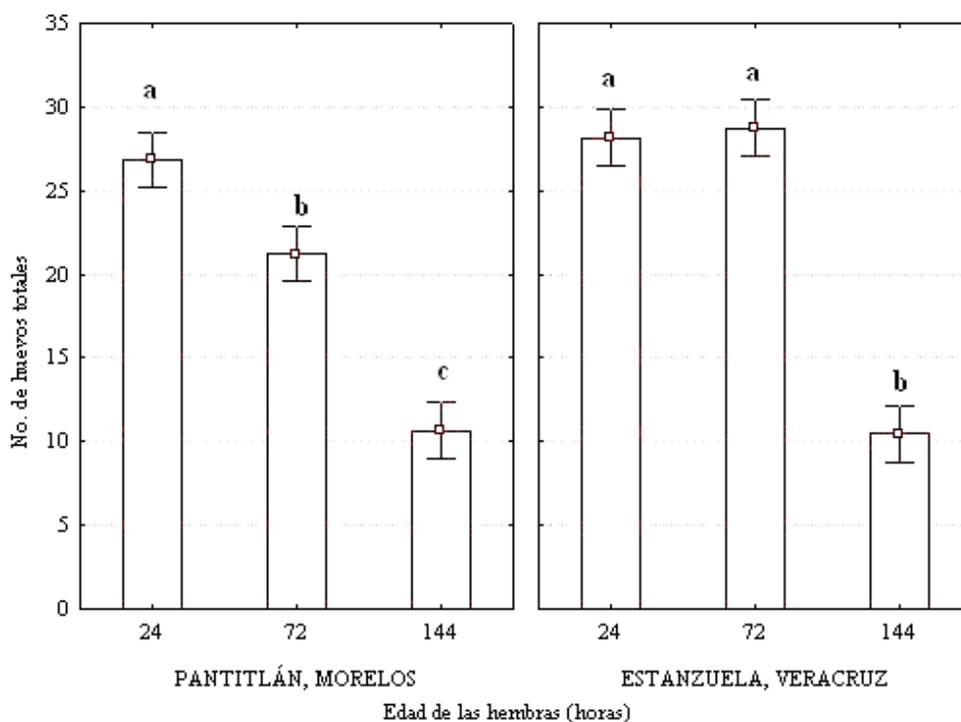


Figura 6. Efecto de la edad de la hembra progenitora de *Uscana spiniae* sobre el número total de huevos colocados (promedio \pm e. e., $N = 35$). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

Se encontraron diferencias significativas en el número de adultos que emergieron de los

huevos en las dos localidades cuando las hembras ovipositoras de *U. espiniae* tuvieron distintas edades (Pantitlán: $H_{[2, 103]} = 61.30$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[2, 106]} = 69.27$, $p < 0.05$; Fig. 7). En Pantitlán se encontró que el mayor número de adultos emergidos por hembra se dio cuando éstas tenían 24 horas de edad (23.91 ± 0.69 huevos) y el número de adultos emergidos decreció significativamente con la edad ($p < 0.05$): de las hembras de 72 horas emergieron 18.5 ± 0.98 adultos y de las de 144 horas emergieron 10.23 ± 0.51 adultos (Fig. 7). En Estanzuela, el mayor número de adultos emergidos por hembra se dio entre las 24 y 72 horas de edad (Fig. 7), con un promedio de 25.22 ± 0.72 y 26.25 ± 1.14 , respectivamente y difirió significativamente del número de adultos emergidos de las hembras de 144 horas (9.74 ± 0.48 huevos) ($p < 0.05$) (Fig. 7).

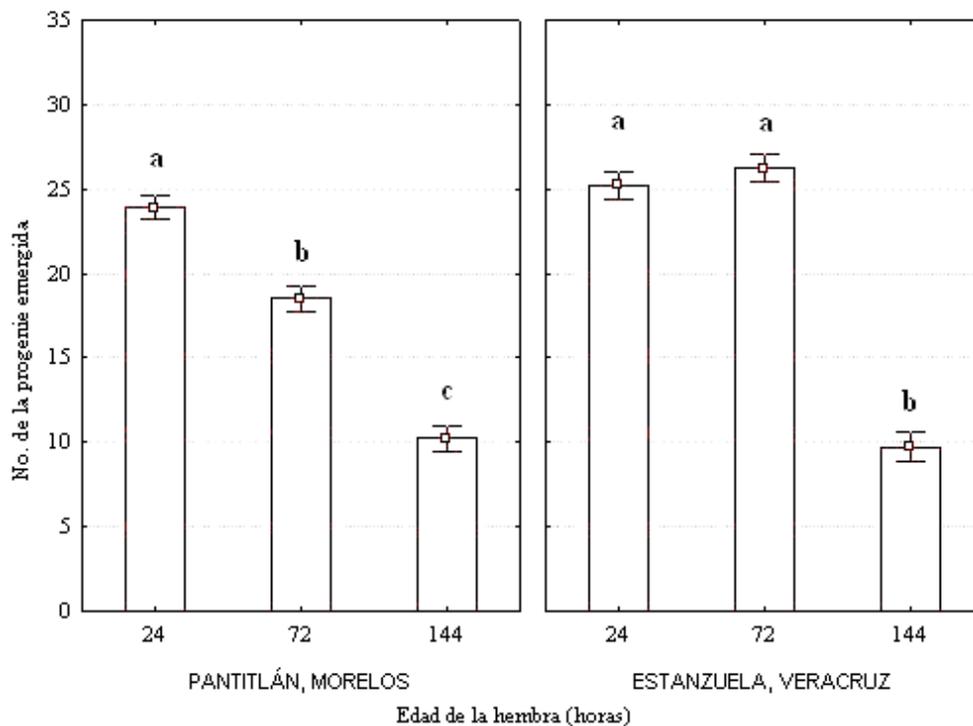


Figura 7. Efecto de la edad de la hembra progenitora de *Uscana espiniae* sobre el número de la progeñie emergida (promedio ± e. e., N = 35). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

Los números de huevos colocados por las hembras de *U. espiniae* y de los cuales no emergieron adultos fueron bajos (menos de tres). Solamente en Pantitlán se encontraron diferencias significativas (Pantitlán: $H_{[2, 103]} = 28.03$, $p < 0.05$; Estanzuela: $H_{[2, 106]} = 24.69$, $p > 0.05$; Fig. 8). En Pantitlán, el promedio más elevado fue de 3 ± 0.42 huevos no emergidos por hembra, lo mismo ocurrió en Estanzuela 3 ± 0.33 . En consecuencia, el porcentaje de supervivencia de la progenie colocada es de un 90% en promedio en ambas poblaciones (Fig. 8).

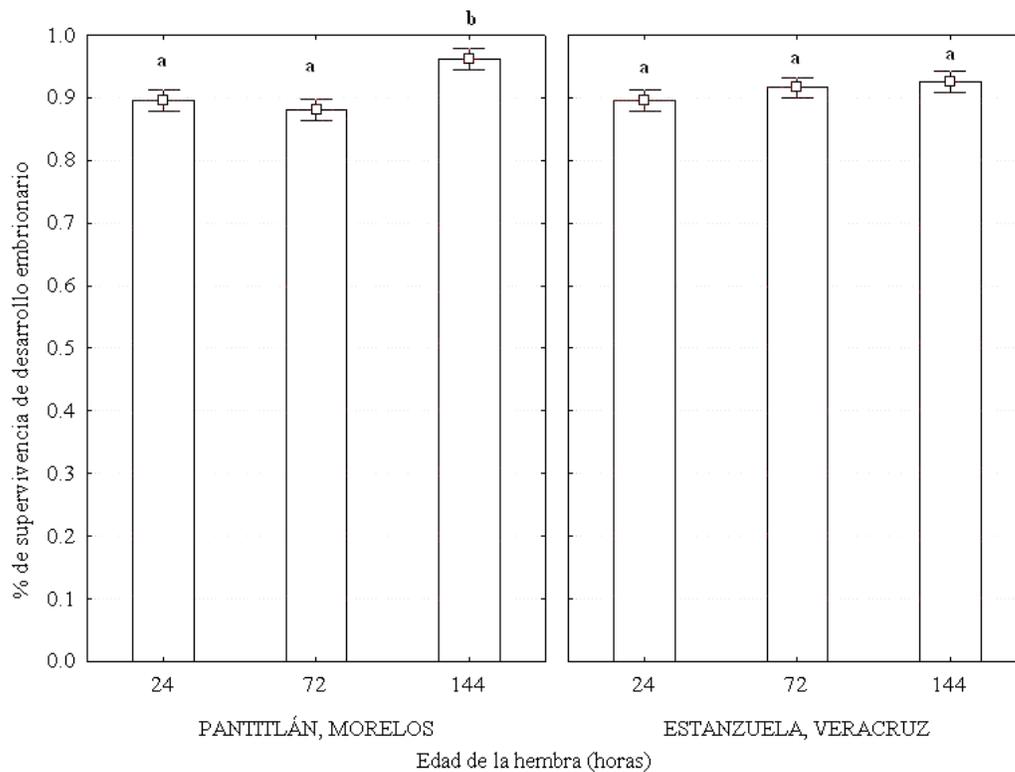


Figura 8. Efecto de la edad de la hembra progenitora de *Uscana espiniae* sobre la progenie (%) desarrollada hasta la emergencia de los nuevos adultos (promedio \pm e. e., $N = 35$). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

En la figura 9 se puede observar que la edad de la hembra sí influye en la colocación y fecundidad de sus huevos. En el caso de Pantitlán, las hembras jóvenes colocan un mayor número de huevos, en cambio en edades posteriores a 144 horas (seis días) el número de huevos colocados disminuye a menos de la mitad. En Estanzuela se mantiene entre la edad 24 y 72 la misma cantidad de huevos colocados para disminuir a menos de la mitad.

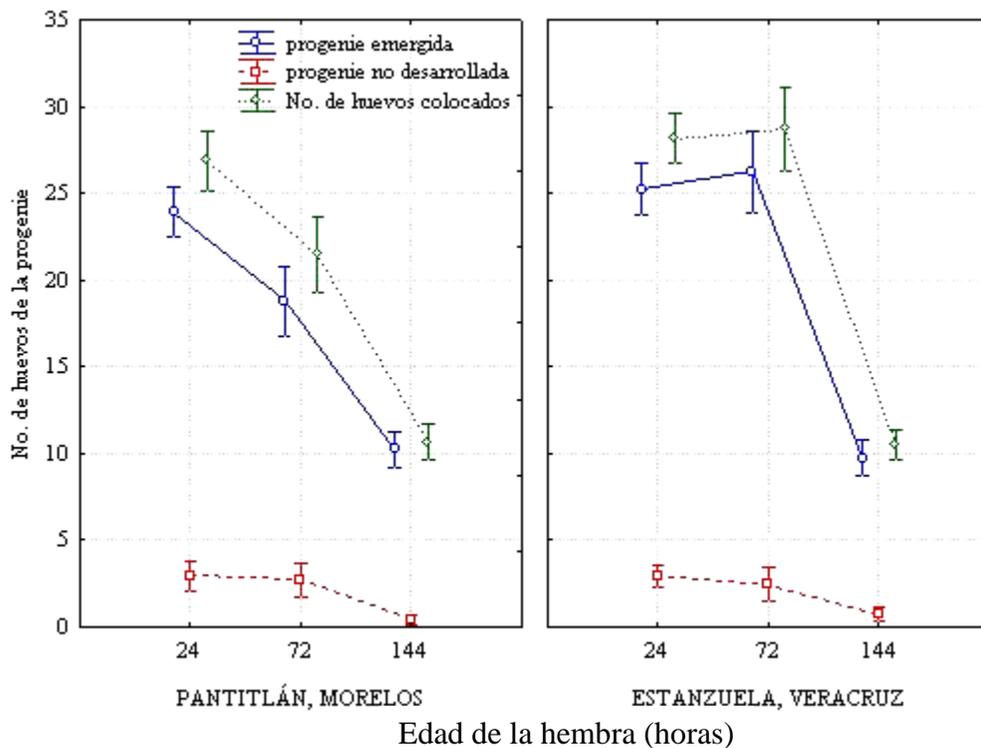


Figura 9. Curvas de interacción con el valor promedio \pm e. e. (N = 35) del número de huevos colocados por las hembras de la avispa *Uscana espinae* de diferentes edades.

3.4.4. Proporción sexual de la progenie y la edad de la hembra parasitoide

No se encontraron diferencias significativas en la proporción sexual de la progenie (Pantitlán: $H_{[2, 103]} = 4.57, p > 0.05$; Estanzuela: $H_{[2, 106]} = 4.27, p > 0.05$; Fig. 10) con hembras de avispa de diferentes edades. Sin embargo, se aprecia una ligera tendencia a poner más machos en edades más avanzadas, en particular en las hembras de Pantitlán (Fig. 10).

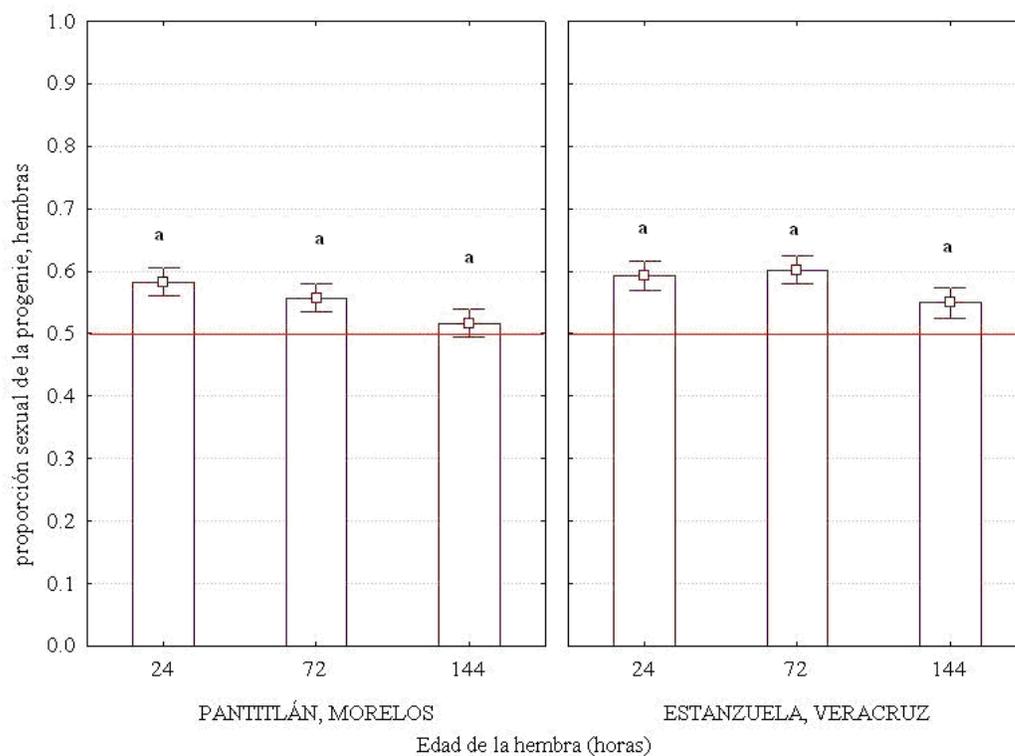


Figura 10. Efecto de la edad de la hembra progenitora de *Uscana spinae* sobre la proporción sexual de la progenie (promedio \pm e. e., $N = 35$). Los tratamientos (edades) con letras distintas difieren significativamente ($p < 0.05$).

3.4.5. Relación entre el tamaño de la hembra progenitora y el número total de huevos parasitados

Con base en las medidas de las tibias de cada hembra progenitora, no se encontró una relación entre el tamaño del hembra y el número de progenie (Pantitlán: $r = -0.274$, $p = 0.183$; Estanzuela: $r = -0.261$, $p = 0.174$). Lo que sí se encontró es una diferencia significativa entre el tamaño de las hembras progenitoras provenientes de las dos localidades ($F = 17.133$, $p = 0.000131$, $N = 25$, $N = 28$; Mann Whitney $U = 159$, $p = 0.000666$, $N = 25$, $N = 28$), las hembras de Estanzuela son más grandes que las hembras provenientes de Pantitlán (Fig. 11).

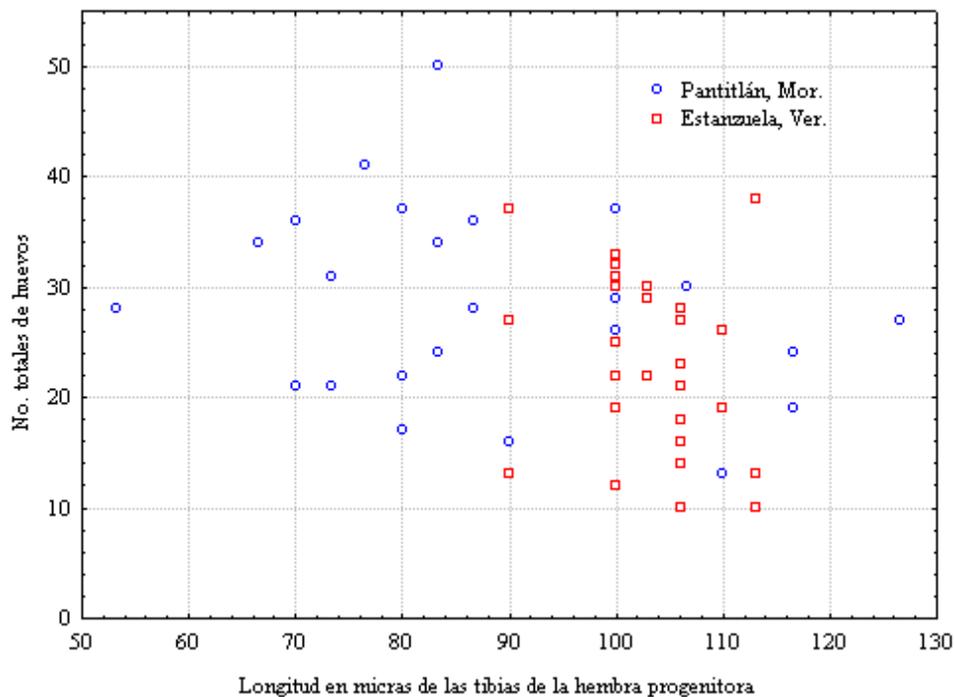


Figura 11. Relación entre el tamaño de la hembra de *Uscana espinae* y el número de huevos totales que coloca ($N = 25$ en Pantitlán, $N = 28$ en Estanzuela).

3.5. Discusión

Se encontró que tanto la edad del hospedero (los huevos de *A. obtectus*) como la edad de la avispa progenitora (las hembras de *U. espinae*) afectan la fecundidad (el total de huevos colocados) y el número de adultos que emergen de los huevos parasitados. Incluso en las edades tardías de los hospederos, más de una tercera parte de la progenie no tuvo un desarrollo embrionario adecuado, afectando la supervivencia (40 % al menos) de la progenie. Se observa la tendencia de que, del primer al tercer día, los huevos del hospedero representan edades óptimas para que una hembra de *U. espinae* coloque sus huevos, lo cual probablemente se deba a que la calidad de los hospederos es adecuada para un desarrollo normal de la progenie. De forma similar, al inicio y en las edades posteriores a las 72 horas de la hembra progenitora disminuye el número de huevos ovipositados, lo cual probablemente se deba a que primero la hembra progenitora no tiene todos sus huevos maduros y en las edades posteriores a que ya no dispone de espermatozoides viables para la fertilización y/o los hospederos ya están muy maduros (Jervis *et al.* 2001, Jervis *et al.* 2012).

En el caso de Estanzuela, las hembras aceptaron hospederos de mayor edad, desde la edad inicial del hospedero (24 horas) hasta el cuarto día para después ya no aceptar más hospederos de edades tardías. Otras especies de *Uscana* presentan la tendencia de “U” invertida que se encontró en este trabajo (Kapila & Agrawal 1995), aunque la edad de decrecimiento varía de las 24 a 48 horas en función de la temperatura. En *U. mukerjii* de la India, la edad del hospedero en el que las hembras colocaron el mayor número de huevos fue en las primeras 24 horas [a 30 °C en Pajni & Bharawaj (1996) y a 31 °C en Chartejii (1953)] y en el caso de hembras a 27 °C, es a partir de las 48 horas de edad del hospedero (Kapila & Agrawal 1995) que la hembra ya empieza a no aceptar

los hospederos (i.e., disminuye la oviposición). Este mismo patrón sucede con las poblaciones de *U. espiniae*, aunque el decrecimiento es a partir de las 72 horas, a una temperatura promedio de 23 °C. En el caso de *U. caryedoni* (Delobel 1989) es hasta el tercer día que el número de huevos colocados empieza a declinar, a pesar de la alta temperatura de 30 °C, a esa misma temperatura en *U. lariophaga* (Van Huis *et al.* 1991b) es a partir de las 48 horas que empieza a declinar. Los resultados indican que las hembras prefieren los huevos más jóvenes aunque no de las primeras horas y que a partir de las 72 horas o menos dependiendo de la temperatura, como ocurre en otras especies, la preferencia empieza a disminuir conforme aumenta la edad del hospedero (Jervis *et al.* 2012). La edad del hospedero parece no tener relación con la proporción sexual de la progenie emergida como lo encontró King (1999, 2000) para *Spalangia cameroni*, este mismo patrón lo encontró Huis *et al.* (1991b) para *U. lariophaga*.

En el caso de la edad de las hembras de *U. espiniae*, entre más tiempo pasa, disminuye el número de huevos que colocan. Desde que emerge, la hembra puede colocar toda su progenie si encuentra a su pareja y a los hospederos adecuados. Es notorio que a partir de los dos días de edad, aun teniendo al alcance al hospedero adecuado, sí se ve afectada su posibilidad de colocar más huevos (Huis *et al.* 1991b). Los espermatozoides al escasear pueden ser una limitante para la oviposición en edades tardías (King & Bressac 2010). En el caso de la proporción sexual de progenie ésta no se ve afectada por la edad de la hembra progenitora, en todas las edades el sesgo a hembras es notorio aunque hay un poco más de machos en la edad tardía como Henter (2004) lo menciona para *U. semifumipennis*.

No se observó una relación entre el tamaño de la hembra y el número de su progenie como ya Jervis & Ferns (2011) lo confirman para algunos parasitoides, a pesar de que el tamaño

de la hembra entre las poblaciones varía. Hembras pequeñas pueden tener muchos hijos al igual que hembras grandes.

En conclusión, la edad adecuada de los hospederos, huevos de *A. obtectus*, es de 24 a 72 horas y en el caso de la edad de la hembra los primeros tres días de su emergencia son la edad óptima para colocar su progenie. Estas variables no afectan la proporción sexual de la progenie. No se encontró una relación entre el tamaño del cuerpo de la hembra progenitora y la fecundidad de la misma, aunque el tamaño de los individuos de ambas poblaciones es distinto, son más pequeños en Pantitlán, que en Estanzuela.

3.6. Literatura citada

- Blackburn, T. M. 1991a. A comparative examination of life-span and fecundity in parasitoid Hymenoptera. *Journal of Animal Ecology* 60: 151 – 164.
- Blackburn, T. M. 1991b. Evidence for a ‘fast-slow’ continuum of life-history traits among parasitoid Hymenoptera. *Functional Ecology* 5: 65 – 71.
- Boivin, G. 2010. Reproduction and immature development of egg Parasitoids. In: Cònsoli, F. L., J. R. P. Parra & R. A. Zucchi (Eds.). *Egg Parasitoids in Agrosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht. 1 – 24.
- Bonet, A., J. Carbonell, M. Cruz, D. García, S. Méndez & C. Rojas. 2000. *El gorgojo: insecto que ataca las semillas del frijol*. Instituto de Ecología, A. C. 14 pp.
- Bonet, A., T. Kato, I. Castellanos, B. Pintureau & D. García. 2012. *Uscana espiniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in central Mexico: new hosts, host plants, distribution records, and characterization. *Florida Entomologist* 95: 49 – 56.

- Chatterji, S. 1953. Biological notes on *Chaestostrichia mukerjii* Mani, (Hymenoptera: Trichogrammatidae) an egg parasite of *Bruchus analis* Fabr. *Indian Journal of Entomology* 15: 382 – 383.
- Collaza, S., S. B. Vinson, T. Y. Li & F. Bin. 1991. Sex ratios strategies of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hymenoptera, Scielionidae): influence of the host egg patch size. *Redia* 74: 279 – 286.
- Delobel, A. 1989. *Uscana caryedoni* (Hym.: Trichogrammatidae): possibilités d'utilisation en lutte biologique contre la bruche de l'arachide, *Caryedon serratus* (Col.: Bruchidae). *Entomophaga* 34: 351 – 363.
- Ellers, J. & M. A. Jervis. 2003. Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps. *Oikos* 102: 164 – 172.
- Ellers, J. & M. A. Jervis. 2004. Why are so few parasitoid wasp species pro-ovigenic? *Evolutionary Ecology Research* 6: 993 – 1002.
- Franco, T. L. 1986. Insectos del frijol almacenado y su control. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Centro de Información sobre frijol. 2 pp.
- Godfray, H. C. J. 1994. *Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press. New Jersey. 473 pp.
- Grimaldi, D. & M. E. Engel. 2005. *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press. New York. 772 pp.
- Hall, R.W. 1993. Alteration of sex ratios of parasitoids for use in biological control. In: Wrensch, D. L. & M. A. Ebbert (Eds.). *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*. Chapman and Hall. New York. 542 – 547.
- Hassell, M. P. & H. C. J. Godfray. 1992. The population biology of insect parasitoids. In: Crawley, M. J. (Ed.). *Natural enemies*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 265 – 292.

- Heimpel, G. E. & J. G. de Boer. 2008. Sex determination in the Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 53: 209 – 230.
- Huis, A. van, 1991. Biological methods of bruchid control in the tropics: a review. *Insect Science Applications* 12: 87 – 102.
- Huis, A. van, N. K. Kaachhoek & H. M. Maes. 1991a. Biological control of bruchids (Col.: Bruchidae) in stored pulses by using egg parasitoids of the genus *Uscana* (Hym.: Trichogrammatidae): a review. In: Fleurat-Lessard, F., P. Ducom (Eds.). *Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-product Protection*. Imprimerie du Médoc, Bordeaux, France. Vol. 3: 1639 – 1647.
- Huis, A. van, M. G. Wihkaamp, P. M. Lammers, C. G. M. Klein Goldewijk, J. H. van Seeters & N. K. Kaashoek. 1991b. *Uscana lariophaga* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), and egg parasitoid of bruchid beetle (Coleoptera: Bruchidae) storage pests in West Africa: host-age and host species selection. *Bulletin of Entomological Research* 81: 68 – 75.
- Henter, H. J. 2004. Constrained sex allocation in a parasitoid due to variation in male quality. *Journal of Evolutionary Biology* 17: 886 – 896.
- Jervis, M. & P. Ferns. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 443 – 461.
- Jervis, M. A., J. Ellers & J. A. Harvey. 2008. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annual Review of Entomology* 53: 361 – 385.
- Jervis, M. A., G. E. Heimpel, P. N. Ferns, J. A. Harvey & N. A. C. Kidd. 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of “ovigeny”. *Journal of Animal Ecology* 70: 442 – 458.
- Jervis, M. A., A. Moe & G. E. Heimpel. The evolution of parasitoid fecundity: a paradigm under scrutiny. *Ecology Letters* 15: 357 – 364.

- Kapila, R. & H. C. Agrawal. 1995. Biology of an egg parasite of *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 4: 335 – 341.
- King, B. H. 2000. Sex ratio and oviposition responses to host age and the fitness consequences to mother and offspring in the parasitoid wasp *Spalangia endius*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48: 316 – 320.
- King, B. H. & C. Bressac. 2010. No fitness consequence of experimentally induced polyandry in a monandrous wasp. *Behaviour* 147: 85 – 102.
- Leroi, B., B. Pichard, A. Bonet & J. Montes. 1991. Family stocks of beans in Mexico and control of dried bean beetle. In: Fleurat-Lessard, F. & P. Ducom (Eds.). *Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-product Protection*. Imprimerie du Médoc, Bordeaux, France. Vol. 3: 1639 – 1647.
- Mills, N. 2010. Egg parasitoids in biological control and insect pest management. In: Cònsoli, F. L., J. R. P. Parra & R. A. Zucchi (Eds.). *Egg Parasitoids in Agrosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht. 389 – 412.
- Mills N. J. & U. Kuhlmann. 2000. The relationship between egg load and fecundity among *Trichogramma* parasitoids. *Ecological Entomology* 25: 315 – 324.
- Pajni, H. R., S. Sood & N. Bharadwaj. 1996. Biology of *Uscana mukerjii* (Mani), a potential parasitoid for the biocontrol of bruchid pests (Trichogrammatidae; Hymenoptera). *Research Bulletin of the Panjab University, Science* 46: 77 – 87.
- Pak, G. A., H. C. E. M. Buis, I. C. C. Heck & M. L. G. Hermans. 2000. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host-age selection. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48: 316 – 320.
- Pennachio, F. & M. R. Strand. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 51: 233 – 258.
- Quicke, D. L. J. 1997. *Parasitic wasps*. Chapman & Hall. London. 470 pp.

Wajnberg, E., C. Curty & M. Jervis. 2012. Intra-population genetic variation in the temporal pattern of egg maturation in a parasitoid wasp. *PLoS ONE* 7: 1 – 7.

4. EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN, HOSPEDERO Y SEXO SOBRE LA LONGEVIDAD Y FECUNDIDAD DE LOS ADULTOS DE *USCANA ESPINAE* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) DE DOS LOCALIDADES DE MÉXICO

4.1. Resumen

Se evaluó si la alimentación (miel), presencia de hospedero (huevos de *A. obtectus*) y sexo de las avispas de *U. espiniae* influyen sobre su longevidad, fecundidad (progenie emergida y progenie total), porcentaje de supervivencia y proporción sexual de la progenie emergida. Se encontró que cuando no se proporciona alimento, los machos son más longevos (cinco días) que las hembras (dos días). Cuando se alimentan, los machos y las hembras viven hasta nueve y siete días, respectivamente, casi el doble de días. Las hembras que se alimentan con miel colocan más huevos (29) que las hembras sin alimento (19). Las hembras cuando tienen hospederos *ad libitum* mueren a los dos días no importando si hay o no alimento. No se encontraron diferencias significativas en la longevidad de los parasitoides provenientes de Pantitlán y Estanzuela. El porcentaje de supervivencia y la proporción sexual de la progenie es semejante con y sin alimento, la proporción sexual de la progenie siempre sesgada a hembras.

4.2. Introducción

Los parasitoides de la familia Trichogrammatidae (Hymenoptera) tienen una vida corta de pocos días, no obstante se les considera excelentes agentes de control biológico de los huevos de lepidópteros, coleópteros, hemípteros, etc. (Pinto 2006, Cònsoli *et al.* 2010). Son insectos endoparasitoides, ya que colocan sus huevos dentro del hospedero que parasitan. Los adultos

parasitan los huevos de muchos órdenes de insectos y las larvas crecen alimentándose de ellos completando su desarrollo hasta adultos (Quicke 1997). Ya como adultos de vida libre deben de conseguir pareja, alimentarse y encontrar huevos de su hospedero para poder colocar su progenie completando su ciclo de vida (Godfray 1994, Jervis *et al.* 2005).

Uscana espinae Pintureau and Gerding (Hymenoptera: Trichogrammatidae) es un endoparasitoide que se reproduce sexualmente y ataca los huevos de *Acanthoscelides obtectus* (Say) de la subfamilia Bruchinae en el centro de México (Bonet *et al.* 2012) y de otras especies de brúquidos que se alimentan de diversas leguminosas como *Phaseolus vulgaris*, *Acacia pennatula*, y *A. cornigera* (Bonet *et al.* 2012). Información detallada de su comportamiento reproductivo ayudará a evaluar su potencial como agente de control biológico para reducir poblaciones de brúquidos plagas del frijol común, como *A. obtectus* y *Zabrotes subfasciatus* Boheman. La hembra progenitora de la avispa prefiere colocar sus huevos (i.e., oviposita un mayor número de huevos) cuando su edad es de 24 hasta las 72 horas y tiene preferencia por los huevos de su hospedero cuando éstos tiene edades entre 24 a 72 horas (véase Capítulo 3).

Al momento de emerger, las hembras adulto de *U. espinae* tienen la mayoría de su carga de huevos maduros faltando pocos huevos que se formarán en las siguientes 24 horas formando una asíntota a las 48 horas, por lo que tienen un índice ovigénico cercano a uno, funcionan como cuasi pro-ovigénicos, listos para ser ovipuestos aunque en sentido estricto son sinovigénicos (Jervis *et al.* 2001). Su éxito reproductivo (mayor fecundidad y proporción sexual de la progenie emergida) al igual que muchas especies de avispas parasitoides, depende de la cantidad y calidad de recursos alimenticios (Oliveira *et al.* 2003, Eliopoulus 2007, Bernstein & Jervis 2008) y del número de hospederos disponibles (Jervis *et al.* 2005, Jervis *et al.* 2008, Jervis & Ferns 2011). La

alimentación les puede servir para mantenerse y extender en tiempo su actividad de forrajeo (búsqueda de pareja, por hospederos) (Jervis *et al.* 1996, Thompson 1999). Debido a que la eficiencia de los agentes de control biológico puede mejorar con una alimentación suplementaria (Heimpel *et al.* 1997), resulta importante conocer de qué manera ésta puede aumentar la eficiencia de *U. espiniae* como un agente de control biológico.

La longevidad o mortalidad de los parasitoides adultos es un parámetro importante ya que indica la duración de su vida y por otra parte, para el caso de las hembras, puede determinar el número de huevos que éstas pueden colocar (Jervis *et al.* 2005). La longevidad puede verse afectada por diversos factores intrínsecos (sexo, apareamiento, progenie emergida, proporción sexual de la progenie) y extrínsecos (alimentación, presencia de suficientes hospederos, temperatura, humedad relativa, localidad geográfica) que los adultos del parasitoide enfrentan (Leatemia *et al.* 1995, Heimpel *et al.* 1997, Gurr & Nicol 2000, Schmale *et al.* 2001, Kalyebi *et al.* 2005, Sood & Pajni 2006, Jervis *et al.* 2008, Luo *et al.* 2010, Lessard & Boivin 2013, Hegazi *et al.* 2013, Segoli & Rosenheim 2013). Además, la búsqueda y apareamiento con la pareja, alimentación para su mantenimiento y la localización de hospedero también afectan la fecundidad (número de progenie) de la hembra progenitora antes de morir (Jervis *et al.* 1996, Heimpel *et al.* 1997, Jervis *et al.* 2005). Los machos y hembras generalmente presentan longevidades distintas, los machos tienen que colocar sus espermatozoides en la hembra y la hembra lleva toda la carga de huevos que va a colocar desde que emerge. Poco sabemos, sobre por qué la longevidad de los adultos es de tan pocos días. Si las hembras progenitoras no encuentran alimento y sí a sus hospederos, entonces colocan toda su progenie muriendo poco después. En cambio, si no hay hospederos entonces su vida se extiende varios días más (Leatemia *et al.* 1995, Schmale *et al.*

2001). Evidentemente la hembra tiene poco tiempo para colocar su progenie. La producción de los huevos es metabólicamente costosa y puede conducir a una menor esperanza de vida bajo un estrés alimenticio (Tatar & Carey 1995). El alimento les permite mantenerse con vida y aumentar su carga de huevos, hasta que encuentren los huevos de su hospedero. Por lo tanto, resulta importante que en los sistemas de control biológico se considere a la alimentación de los adultos como un aspecto importante para que su longevidad se extienda. El objetivo del presente trabajo es evaluar si la localidad, alimentación, presencia de hospederos y sexo tienen un efecto en la longevidad, fecundidad (progenie emergida y total) y proporción sexual de la progenie emergida de *U. spinae*.

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Organismos utilizados

El estudio se realizó en el laboratorio con individuos de la especie *Uscana spinae*, cuyo origen proviene de tres plantas hospederas de dos localidades (Estanzuela, Veracruz, dos años, de *Acacia pennatula* y *A. sphaerocephala* y Pantitlán, Morelos, 10 años, de *Phaseolus vulgaris* L. silvestre); en las vainas de las dos primeras plantas se encontraron huevos de sus brúquidos hospederos, *Mimosestes humeralis* y *A. oblongotatus* y en la tercer planta *A. obvelatus* y *A. obtectus*. Los individuos de cada localidad se han mantenido en el laboratorio desde su colecta original en huevos de *Acanthoscelides obtectus* (Say) que a su vez se han reproducido en semillas secas de frijol *P. vulgaris* (variedad Michigan).

Todos los individuos del parasitoide utilizados en el experimento tenían 24 horas de haber emergido, y se colocaron por parejas hasta que copularan en cápsulas de gel transparente. A partir del inicio del experimento se registró el día de muerte de los adultos, la progenie emergida (número de adultos emergidos), la progenie total (número total de huevos colocados), porcentaje de supervivencia (proporción de número de adultos emergidos entre el número total de huevos colocados por la hembra progenitora) y la proporción sexual de la progenie emergida.

4.3.2. Condiciones ambientales

Todos los tratamientos se hicieron en el laboratorio con una temperatura de 28 ± 1 °C en el día y 25 ± 1 °C en la noche, humedad relativa de 55 ± 10 % y fotoperiodo de 12 horas luz: obscuridad.

4.3.3. Experimento de longevidad

Cuatro factores (localidad, alimentación, presencia de hospedero y sexo) se tomaron en cuenta para dilucidar su efecto sobre la longevidad en días de los adultos de *U. espiniae*. Cada individuo, machos y hembras en pareja, se enfrentaron a distintas combinaciones de los cuatro factores, registrándose el día de su muerte para registrar la longevidad, y además, en el caso de las hembras con hospederos, se obtuvo el número de su progenie emergida y total, porcentaje de supervivencia y proporción sexual de la progenie.

Los factores a considerar fueron la localidad (Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz), la alimentación (con o sin), la presencia de hospederos (con o sin) y el sexo (machos o hembras). Se realizaron 16 combinaciones de estos factores como tratamientos sobre los organismos. Por lo tanto, cada adulto de la avispa podría tener disponibles por cada tratamiento: 1) localidad (Pantitlán, Morelos o Estanzuela, Veracruz), 2) alimento (miel de abeja *ad libitum*), con o sin presencia, 3) hospederos (50 huevos de *Acanthoscelides obtectus* con 24-48 horas de edad que se intercambiaban por otros 50 huevos diariamente hasta la muerte de la hembra), con o sin presencia y 4) sexo, machos y hembras (35 parejas).

4.3.3.1. Procedimiento

Todos los individuos (machos y hembras) recién emergidos (24 horas) fueron separados en cápsulas transparentes formando parejas, y se observó que los individuos copularan. Los individuos que formaban las parejas (N = 35 parejas por tratamiento) permanecieron juntos hasta la muerte, aunque en los tratamientos con hospederos, estos últimos se dejaban hasta la muerte de la hembra.

Se registró cada 24 horas para cada tratamiento (con y sin alimento, con y sin hospedero y sexo) la longevidad (en número de días) y en su caso el número, sexo y proporción sexual de la progenie colocada por cada hembra bajo cada tratamiento.

Para la realización del experimento se seleccionó al azar el orden de la localidad con que se iba a trabajar y después, también al azar, el orden de los tratamientos. Se midió al mismo

tiempo la duración y muerte de machos y hembras por cada tratamiento. Cuando todos los adultos de cada tratamiento morían se iniciaba otro tratamiento.

Las variables experimentales utilizadas para medir longevidad fueron 16 en total, ocho para cada localidad (Estanzuela, Ver. y Pantitlán, Mor.). Se utilizaron 70 individuos (35 machos y 35 hembras) por cada variable o tratamiento, se reportan promedios ($x \pm e.e.$). En el caso de las hembras que tuvieron hospederos, aparte de la longevidad (del día de emergencia hasta el día de la muerte) se registró el número de hijos emergidos, número de hijos totales, porcentaje de supervivencia, sexo y proporción sexual de la progenie.

Cada tratamiento asignado al azar estaba compuesto de cuatro factores a los que los individuos se enfrentaban. Se distinguen por tres letras ordenadas de la siguiente manera: primera letra: sin o con alimento; segunda letra: sin o con hospedero; tercera letra: macho o hembra. El cuarto factor es la localidad, Pantitlán y Estanzuela, así que cada individuo se puede enfrentar a uno de ocho tratamientos: 1) ssm = sin alimento, sin hospedero, macho; 2) ssh = sin alimento, sin hospedero, hembra; 3) ccm = con alimento, con hospedero, macho; 4) cch = con alimento, con hospedero, hembra; 5) scm = sin alimento, con hospedero, macho; 6) sch = sin alimento, con hospedero, hembra; 7) csm = con alimento, sin hospedero, macho y 8) csh = con alimento, sin hospedero, hembra.

4.3.4. Análisis Estadístico

Se utilizó un modelo general mixto no alineado en Statistica (Statsoft, Okla., USA) para evaluar los efectos de la alimentación, los hospederos, sexo y la localidad sobre la longevidad,

número de progenie emergida y proporción sexual de la progenie (Bolker *et al.* 2008). Para los conteos se utilizó una distribución Poisson (link con logaritmos) salvo el caso del porcentaje de supervivencia y la proporción sexual de la progenie que se utilizó la distribución binomial con un link logit. Se utilizó el estadístico de Wald X^2 para indicar las diferencias entre tratamientos.

4.4. Resultados

4.4.1. Duración de la longevidad

La longevidad de los adultos (machos y hembras, N = 557) de *U. espiniae* que copularon para todos los tratamientos fue de 3.64 ± 0.114 días, con un mínimo de 1 día y máximo de 9 días de vida (Cuadro 1). Los machos tuvieron una longevidad promedio de 5.18 ± 0.12 días con un mínimo de 3 y un máximo de 9 días, en cambio las hembras vivieron un promedio de 2.10 ± 0.11 días, con un mínimo de uno a un máximo de seis días. Se observa que los machos duran más días vivos que las hembras, de cuatro veces más cuando tienen alimento y sin hospederos, el valor máximo en machos llegó a nueve días con alimento y sin hospedero (Cuadro 1). Es notoria la diferencia entre la longevidad de machos y hembras cuando estuvieron en contacto con los hospederos, las hembras mueren rápidamente después de colocar su progenie. Las hembras tuvieron 6.46 ± 0.30 días de vida cuando tuvieron alimento y sin hospederos, en los demás tratamientos viven de 1 a 2 días, en cambio los machos duraron dos días más llegando a 9 días.

4.4.2. Localidad

No se encontraron diferencias significativas en la longevidad en cuanto a la localidad de origen (Wald $X^2 = 0.1194$, $p = 0.73$), en Pantitlán la longevidad promedio fue de 3.52 ± 0.13 y en Estanzuela de 3.74 ± 0.17 (Cuadro 1). Para el caso de los individuos provenientes de Pantitlán, las hembras con hospedero y sin o con alimento tuvieron una longevidad promedio de 1.1 ± 0.05 días (cch), 1.66 ± 0.08 días (ssh) y 1.94 ± 0.13 (csh). Los machos vivieron un promedio de 5.49 ± 0.086 días o sea vivieron 4 veces más que las hembras. Para el caso de los individuos provenientes de Estanzuela, las hembras copuladas con hospedero y sin o con alimento tuvieron una longevidad promedio de 1.43 ± 0.08 días (cch), 1.66 ± 0.11 días (ssh) y 6.46 ± 0.30 (csh). Los machos vivieron un promedio de 4.87 ± 0.224 días, es decir vivieron 1.82 veces más que las hembras.

4.4.3. Alimentación

La presencia de alimento sí tuvo un impacto significativo en la longevidad (Wald $X^2 = 36.776$, $p < 0.0001$). Los individuos con alimento vivieron un promedio de 4.38 ± 0.173 días en contraste con individuos sin alimento con un promedio de 2.90 ± 0.100 días, 1.5 más días cuando hay alimento (Cuadro 1). Para el caso de Pantitlán, los machos sin alimento vivieron 4.96 ± 0.092 días, con un día más con alimentos, 6.01 ± 0.113 . Las hembras tuvieron una longevidad menor con 1.60 ± 0.063 sin alimento y 1.53 ± 0.086 con alimento. En Estanzuela, los machos vivieron

3.69 ± 0.031 sin alimento y 6.10 ± 0.383 con alimento. Las hembras vivieron 1.34 ± 0.067 días sin alimento y 3.94 ± 0.341 con alimento.

4.4.4. Hospederos

La presencia de hospederos afectó la longevidad de los individuos con 4.19 ± 0.160 sin hospederos y 3.07 ± 0.125 con hospederos (Wald $X^2 = 42.056$, $p < 0.0001$). Los machos sin hospederos tuvieron una longevidad de 5.45 ± 0.205 días y con hospederos fue de 4.90 ± 0.118 . En el caso de las hembras sin hospederos, éstas vivieron 2.93 ± 0.194 días, mientras que aquellas con hospederos vivieron 1.28 ± 0.39 , tres veces menos que los machos. El efecto de la presencia de hospederos en las hembras es notable ya que colocan sus huevos en ellos y mueren inmediatamente (Cuadro 1); en cambio, cuando no tienen hospederos, en promedio las hembras duran de tres a seis días más dependiendo de si se alimentan o no.

La longevidad de los machos con hospederos fue mayor (Pantitlán 6.40 ± 0.15 ; Estanzuela 3.19 ± 0.13) que en las hembras (Pantitlán 1.11 ± 0.05 ; Estanzuela 1.43 ± 0.08). En los machos la presencia de los hospederos no parece modificar su longevidad, los machos siempre sobreviven más días que las hembras (Cuadro 1).

Los machos con alimento y sin hospederos viven más de 7.2 ± 0.252 días en promedio y las hembras 4.2 ± 0.317 , tres días menos. Cuando tienen alimento con hospederos los machos viven un promedio de 4.86 ± 0.22 días, en cambio las hembras un promedio de 1.27 ± 0.053 días. Es decir, en presencia de hospederos, la vida de las hembras se reduce de 1.0 a 1.5 días, ya que colocan toda su progenie en ellos.

Cuadro 1. Longevidad promedio (días \pm e. e., N = 560) de los adultos de *Uscana espinae* después de la cópula en Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz (Wald $X^2 = 3.9806$, $p = 0.04603$).

Longevidad (días) promedio de <i>Uscana espinae</i> (cada tratamiento N=35)					
Localidad		Estanzuela, Ver.		Pantitlán, Mor.	
	hospederos	sin	con	sin	con
	alimento				
Machos	sin	2.86 \pm 0.14	4.51 \pm 0.10	4.54 \pm 0.08	5.37 \pm 0.13
	con	8.77 \pm 0.30	3.19 \pm 0.13	5.63 \pm 0.14	6.40 \pm 0.15
Hembras	sin	1.66 \pm 0.11	1.03 \pm 0.03	1.66 \pm 0.08	1.54 \pm 0.09
	con	6.46 \pm 0.30	1.43 \pm 0.08	1.94 \pm 0.13	1.11 \pm 0.05

4.4.5. Progenie, porcentaje de supervivencia y proporción sexual de la progenie

Los resultados de la progenie emergida (número de adultos emergidos), progenie total (número total de huevos colocados), porcentaje de supervivencia (proporción de número de adultos emergidos entre el número total de huevos colocados por la hembra progenitora) y proporción sexual de la progenie emergida en cuatro tratamientos donde los individuos tuvieron hospederos disponibles se presentan en el Cuadro 2.

La localidad tuvo un efecto significativo en el número de la progenie emergida (Wald $X^2 = 13.298$, $p = 0.0003$) y en la progenie total (Wald $X^2 = 8.688$, $p = 0.0003$). Para los individuos provenientes de Pantitlán, el promedio de la progenie emergida fue de 23.33 ± 0.526 con una progenie total de 24.67 ± 0.511 . Los individuos provenientes de Estanzuela, comparados con los

de Pantitlán, tuvieron valores menores de progenie emergida, con 21.44 ± 0.997 y una progenie total de 23.28 ± 1.031 . La alimentación también tuvo un efecto en el número de la progenie emergida (Wald $X^2 = 164.94$, $p = 0.0001$) y total (Wald $X^2 = 145.54$, $p = 0.0001$), ya que hubo más progenie cuando se proporcionó alimento (progenie emergida, 27.45 ± 0.401 ; progenie total 28.91 ± 0.450) que cuando no (progenie emergida, 17.31 ± 0.625 ; progenie total 19.04 ± 0.657). En Pantitlán y Estanzuela, cuando se proporcionó alimento la progenie emergida tuvo un promedio de 26.31 ± 0.468 individuos y 28.60 ± 0.597 , respectivamente; en cambio, sin alimento la progenie tuvo un promedio de 20.34 ± 0.614 y 14.28 ± 0.817 individuos. Para la progenie total, se encontró que con alimento, ésta fue mayor con 27.20 ± 0.501 y 30.62 ± 0.628 , respectivamente, mientras que sin alimento fue menor 22.14 ± 0.659 y 15.94 ± 0.867 .

No se encontró que el porcentaje de supervivencia de la progenie (proporción de número de adultos emergidos entre el número total de huevos colocados por la hembra progenitora) difiriera significativamente entre tratamientos (Wald $X^2 = 0.00068$, $p = 0.97920$). En todos los tratamientos se encontró que aproximadamente un 11 % de la progenie no se desarrolló hasta la etapa adulta (porcentaje de supervivencia). Tampoco se encontró que la proporción sexual de la progenie difiriera significativamente entre tratamientos (entre las hembras con o sin alimento o entre localidades) (Wald $X^2 = 0.00031$, $p = 0.98598$), aunque los valores encontrados están ligeramente sesgados a hembras (Cuadro 2).

4.4.6. Sexo

Los machos (5.18 ± 0.11) duran tres días más con vida que las hembras (2.10 ± 0.11) (Wald $X^2 = 342.94$, $p = 0.0000$). Se encontró que el sexo tiene un efecto sobre la localidad. En

ambas localidades los machos tienen mayor longevidad (Pantitlán, 5.48 ± 0.09 ; Estanzuela, 4.86 ± 0.22) que las hembras (Pantitlán, 1.56 ± 0.053 ; Estanzuela, 2.64 ± 0.21) y los machos de Pantitlán son un día más longevos que los machos de Estanzuela.

Cuadro 2. Progenie (número de hijos), porcentaje de supervivencia (No. de progenie emergida / progenie total) y proporción sexual de la progenie de hembras de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz (cada tratamiento N = 35 parejas).

Hembras copuladas					
Localidad		Progenie emergida (machos y hembras) (Wald $X^2 = 34.752$, $p < 0.0001$)	Progenie total (machos y hembras) (Wald $X^2 = 39.482$, $p < 0.0001$)	% supervivencia	Proporción sexual de la progenie (% de hembras)
Pantitlán	Sin alimento	20.34 ± 0.61	22.14 ± 0.66	0.92 ± 0.00	0.55 ± 0.01
	Con alimento	26.31 ± 0.47	27.20 ± 0.50	0.97 ± 0.01	0.58 ± 0.00
Estanzuela	Sin alimento	14.28 ± 0.81	15.94 ± 0.87	0.89 ± 0.02	0.54 ± 0.03
	Con alimento	28.60 ± 0.60	30.63 ± 0.63	0.93 ± 0.00	0.57 ± 0.00

4.5. Discusión

Los resultados de este trabajo muestran que la alimentación, la presencia de hospederos y el sexo de los individuos de *U. espiniae* tuvieron una relación significativa con la longevidad y progenie de la avispa. Los individuos con alimento vivieron significativamente más (1.5 veces más) que aquellos individuos que no tuvieron acceso al alimento. La alimentación también tuvo un efecto positivo y significativo en el número de la progenie emergida y total, las hembras de *U. espiniae* que tuvieron acceso a la miel tuvieron una fecundidad 1.7 veces mayor que aquellas que no tuvieron acceso al alimento. La alimentación es un factor importante que incrementa tanto la longevidad como la progenie de los parasitoides himenópteros (Leatemia *et al.* 1995, Heimpel *et al.* 1997, Gurr & Nicol 2000, Kalyebi *et al.* 2005, Sood & Pajni 2006, Eliopoulos 2007, Bernstein & Jervis 2008, Luo *et al.* 2010, Lessard & Boivin 2013, Hegazi *et al.* 2013, Segoli & Rosenheim 2013).

En el campo, los parasitoides obtienen gran parte de su energía de los carbohidratos del néctar de las flores, nectarios extraflorales y las excretas azucaradas de algunas especies de insectos, principalmente de hemípteros (Heimpel *et al.* 1997, Wackers 2004, Luo *et al.* 2010). Se ha visto que la miel de abeja es un buen sustituto del alimento que los parasitoides pueden obtener del campo. Por ejemplo, Sood & Pajni (2006) encontraron que el acceso a miel puede aumentar de 2.4 a 2.5 veces la longevidad y 1.5 veces la fecundidad de una especie de *Uscana* (*U. mukerjii*), un resultado comparable al encontrado en este trabajo en donde se encontró que la miel incrementó 1.5 veces la longevidad y 1.7 veces la fecundidad de *U. espiniae*.

La presencia de hospederos también tuvo un efecto significativo en la longevidad de la avispa, aunque la diferencia se debió principalmente al efecto de este factor sobre las hembras.

Los machos sin hospederos tuvieron una longevidad promedio de 5.45 días y con hospederos su longevidad promedio fue de 4.90, sin embargo las diferencias no fueron significativas. Para el caso de las hembras sin hospederos, éstas vivieron un promedio de 2.93 días, mientras que aquellas con hospederos vivieron un promedio de 1.28 días, tres veces menos que los machos, y la diferencia en longevidad entre las hembras con y sin hospederos sí fue significativa. El efecto de la presencia de hospederos en la longevidad de las hembras es notable ya que éstas colocan sus huevos en ellos y mueren inmediatamente, aún con la presencia de alimento; en cambio, cuando no tienen hospederos las hembras duran de tres a seis días más en promedio dependiendo de si se alimentan o no. La reducción en la longevidad de las hembras parasitoides cuando hay hospederos presentes ha sido reportada previamente (Matsumoto 1974, Hohmann & Luck 2004, Eliopoulos *et al.* 2005, Carbone *et al.* 2008) y la explicación que se ha dado ha sido que existe un compromiso entre la reproducción y la sobrevivencia (Papaj 2000, Carbone *et al.* 2008). Al no haber hospederos presentes, las hembras son capaces de reasignar nutrientes de sus huevos (e.g., lípidos) a sus tejidos somáticos (Papaj 2000, Carbone *et al.* 2008).

Se encontró que los machos y hembras de *U. espiniae* difieren significativamente en su longevidad, los machos viven tres días más (un promedio 5.18 días) que las hembras (un promedio 2.10 días) y en ambas localidades los machos tuvieron una mayor longevidad que las hembras. La diferencia en la longevidad de machos y hembras pudo deberse en parte a que la maduración de gónadas es más costosa en hembras que en machos ya que la ovogénesis requiere de más nutrientes que la espermatogénesis (Jervis *et al.* 2008) y las hembras de *U. espiniae* no emergen como adultos con todas sus gónadas maduras. En un futuro sería interesante estudiar por qué difiere la longevidad de machos y hembras en *U. espiniae*, ya que la mayoría de los trabajos

se han enfocado en conocer las causas de la variación en la longevidad de las hembras y no la de los machos.

En este trabajo se encontró que la longevidad y fecundidad de *U. espiniae* aumentan cuando los individuos tienen acceso al alimento. Debido a que la longevidad y fecundidad de los adultos son factores importantes en la dinámica de poblaciones de los parasitoides e influyen en su efectividad para encontrar y parasitar hospederos, resulta importante que en los sistemas de control biológico se considere a la alimentación de los adultos como un aspecto importante para incrementar su eficacia (Heimpel *et al.* 1997; Eliopoulos *et al.* 2005; Eliopoulos 2007). En particular, un aumento en la longevidad de los parasitoides puede incrementar su eficacia en condiciones en las que los hospederos se encuentren en bajas densidades, ya que los parasitoides dispondrán de mayor tiempo de vida para localizar a los hospederos (Matsumoto 1974).

4.6. Literatura citada

- Bernstein, C. & M. Jervis. 2008. Food searching in parasitoids: the dilemma of choosing between 'immediate' or future fitness gains. In: Wajnberg, E., C. Bernstein & J. Van Alphen (Eds.). *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids from theoretical approaches to field applications*. Blackwell Publishing. Oxford. 129 – 171.
- Bolker, B. M., M. E. Brooks, C. J. Clark, S. W. Geange, J. R. Poulsen, M. H. H. Stevens & J. S. White. 2008. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 127 – 135.
- Bonet, A., T. Kato, I. Castellanos, B. Pintureau & D. García. 2012. *Uscana espiniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in central Mexico: new hosts, host plants, distribution records, and characterization. *Florida Entomologist* 95: 49 – 56.

- Carbone, S. S., M. P. Nieto & A. C. Rivera. 2008. Egg resorption behaviour by the solitary egg parasitoid *Anaphes nitens* under natural conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 127: 191 – 198.
- Cônsoli, F. L., J. R. P. Parra & R. A. Zuchi. 2010. *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer London. 479 pp.
- Eliopoulus, P. A. 2007. The importance of food supplement for parasitoids of stored product pests: the case of *Ventura canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Integrated Protection of Stored Products, IOBC/wprs Bulletin* 30: 37 – 41.
- Eliopoulos, P. A., G. J. Stathas & S. L. Bouras. 2005. Effects and interactions of temperature, host deprivation and adult feeding on the longevity of the parasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *European Journal of Entomology* 102: 181 – 187.
- Godfray, H. C. J. 1994. *Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press. New Jersey. 473 pp.
- Gurr, G. M. & H. I. Nicol. 2000. Effect of food on longevity of adults of *Trichogramma carverae* Oatman and Pinto and *Trichogramma nr brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Australian Journal of Entomology* 39: 185 – 187.
- Hegazi, E., W. Khafagi & F. Schlyter. 2013. Egg maturation dynamics of the parasitoid *Microplitis rufiventris*: starvation speeds maturation in early life. *Physiological Entomology* 38: 233 – 240.
- Heimpel, G. E., J. A. Rosenheim & D. Kattari. 1997. Adult feeding and lifetime reproductive success in the parasitoid *Aphytis melinus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 83: 305 – 315.
- Jervis, M. & P. Ferns. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 443 – 461.

- Jervis, M. A., M. J. W. Copland & J. A. Harvey. 2005. The Life-cycle. In: Jervis, M. A. Jervis (Ed.). *Insects as natural enemies, a practical perspective*. Springer. Dordrecht. 73 – 166.
- Jervis, M. A., J. Ellers & J. A. Harvey. 2008. Resource acquisition, Allocation, and Utilization in Parasitoid Reproductive Strategies. *Annual Review of Entomology* 53: 361 – 385.
- Jervis, M. A., G. E. Heimpel, P. N. Ferns, J. A. Harvey & N. A. C. Kidd. 2001. Life-History strategies in parasitoids wasps: a comparative analysis of “ovigeny”. *Journal of Animal Ecology* 70: 442 – 458.
- Jervis, M. A., N. A. C. Kidd & G. E. Heimpel. 1996. Parasitoid adult feeding behavior and biocontrol – a review. *Biocontrol News and Information* 17: 11 – 22.
- Kalyebi, A. S. Sithanatham, W. A. Overholt, S. A. Hassan & J. M. Mueke. 2005. Parasitism, longevity, and progeny production of six indigenous Kenyan trichogrammatid egg parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) at different temperature and relative humidity regimes. *Biocontrol Science and Technology* 15: 255 – 270.
- Leatemia, J. A., J. E. Lang & J. E. Corrigan. 1995. Effects of adult nutrition on longevity, fecundity, and offspring sex ratio of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *The Canadian Entomologist* 127: 245 – 254.
- Lessard, E. & G. Boivin. 2013. Effect of low temperature on emergence, fecundity, longevity and host-feeding by *Trichogramma brassicae*. *BioControl* 58: 319 – 329.
- Luo, S., J., J. Li, X. Liu, Z. Lu, W. Pan, Q. Zhang, Z. Zhao. 2010. Effects of six sugars on the longevity, fecundity and nutrient reserves on *Microplitis mediator*. *Biological Control* 52: 51 – 57.
- Matsumoto, B. M. 1974. On the adult longevity of the entomophagous parasite, *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Entomophaga* 19: 325 – 329.
- Oliveira, H. N., J. C. Zanuncio, D. Pratisoli & M. C. Picanco. 2003. Biological characteristics of *Trichogramma maxacalii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Brazilian Journal of Biology* 63: 647 – 653.
- Papaj, D. R. 2000. Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology* 45: 423 – 448.

- Pinto, J. D. 2006. A Review of the New World Genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). *Journal of Hymenoptera Research* 15: 38 – 163.
- Quicke, D. L. J. 1997. *Parasitic Wasps*. Chapman & Hall. London. 470 pp.
- Schmale, I., F. L. Wäckers, C. Cardona & S. Dorn. 2001. Control potential of three hymenopteran parasitoid species against the bean weevil in stored beans: the effect of adult parasitoid nutrition on longevity and progeny production. *Biological Control* 21: 134 – 139.
- Segoli, M. & J. A. Rosenheim. 2013. Spatial and temporal variation in sugar availability for insects parasitoids in agricultural fields and consequences for reproductive success. *Biological Control* 67: 163 – 169.
- Sood, S. & H. R. Pajni. 2006. Effect of honey feeding on longevity and fecundity of *Uscana mukerjii* (Mani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), and egg parasitoid of bruchids attacking stored products (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 42: 438 – 444.
- Tatar, M. & J. R. Carey. 1995. Nutrition mediates reproductive trade-offs with age-specific mortality in the beetle *Callosobruchus maculatus*. *Ecology* 76: 2066 – 2073.
- Thompson, S. N. 1999. Nutrition and culture of entomophagous insects. *Annual Review of Entomology* 44: 561 – 592.
- Wackers, F. L. 2004. Assessing the suitability of flowering attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control* 29: 307 – 314.

5. DISCUSIÓN GENERAL

La búsqueda de un agente biológico para el control de *A. obtectus* y *Z. subfasciatus* en frijol almacenado ha conducido al hallazgo de un endoparásitoide, *U. espiniae*, que parasita huevos de gorgojos en varias localidades del centro de México. Todos los especímenes de *Uscana* colectados en Morelos, en Pantitlán (PA) y Tepoztlán (TE), en Puebla, en Río Ahuehuevo (RA) y en Veracruz, en Estanzuela (ES) y dos sitios en el Campanario (CA I y CA II) pertenecen a la misma especie con una distribución en el centro de México. Esta especie es un nuevo registro para México, con nuevos hospederos y plantas hospederas. *Uscana espiniae* se había registrado de Chile y Uruguay atacando los huevos de los brúquidos *Pseudopachymerina spinipes* (Er.), *Scutobruchus ceranoborus* (Fil) y *Stator furcatus* en *Acacia caven* (Molina) Molina y *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz (Pintureau *et al.* 1999, Rojas-Rousse 2006). Aquí se identifican cuatro nuevos hospederos (*Acanthoscelides obtectus*, *A. obvelatus*, *A. oblongoguttatus* y *Mimosestes humeralis*). La especie de parasitoide fue identificada con base en su morfología, utilizando caracteres diagnósticos de las especies, y no se detectó ninguna especie críptica.

La técnica de código de barras con el marcador molecular COI se utilizó para detectar la presencia de especies crípticas en las distintas localidades muestreadas. Según Herbert *et al.* (2004) y Waugh (2007), si la variación intra – población es < 2 %, la variación puede considerarse intraespecífica. La variación registrada en las seis poblaciones consideradas fue menor del 1 % de los 531 pares de bases del gen COI analizadas, conduciendo a la conclusión de que no hay especies crípticas. Entre los tres haplotipos identificados sobre la base del gen mitocondrial COI, dos (haplotipos 2 y 3) fueron encontrados en Pantitlán (PA), sobre la misma planta hospedera, *P. vulgaris*. El haplotipo 3 se encontró en individuos de tres ubicaciones, Río

Ahuehuevo (RA), Tepoztlán (TE), y El Campanario (CA II), mientras que el haplotipo 2 únicamente estaba presente en Estanzuela (ES). Esto sugiere que los haplotipos 2 y 3 representan dos morfos de la misma especie. El haplotipo 1, más diferenciado, solo estaba presente en la ubicación CA I, donde se colectaron los individuos dentro de huevos de *A. oblongoguttatus* en vainas de *Acacia sphaerocephala*. El aislamiento reproductivo no se encontró entre individuos de PA y ES, con una compatibilidad reproductiva del 85 % para un solo par y 88 – 92 % para la cruce en grupo, por tanto, no fue menor al 75 % indicado por Stouthamer *et al.* (2000) para discriminar especies. Sin embargo, cierta variabilidad se observó en las poblaciones en términos de número y de la proporción de sexo de la progenie.

El uso de agentes de control biológico nativos es indispensable para mitigar la densidad del gorgojo común del frijol. Se necesita realizar una investigación filogeográfica en toda la zona de distribución geográfica de *U. espiniae* con el fin de confirmar su estado nativo o haber sido introducido en México (por ejemplo, Alvarez *et al.* 2005), ya que la especie sólo se conocía de Chile y Uruguay. Su distribución se ha ampliado para incluir a los estados mexicanos de Morelos, Puebla y Veracruz. La posible extensa área de distribución concuerda con la extensa distribución de otras especies de *Uscana* al sur y este de Europa, *U. olgae* y *U. senex* (Fursov 1987, 1995), en el centro de África, *U. caryedoni* y *U. lariophaga* (Viggiani 1986, Huis van 1990, Alebbek 1996 a, b), en la India, *U. mukerjii* (Mani 1935, Chaterjii 1953, Pajni & Singh 1973) y en el Nuevo Mundo con *U. semifumipennis* (Girault 1911, Doult & Viggiani 1968, Pinto 2006).

Para poder aumentar la eficacia de un agente de control biológico es necesario conocer su biología reproductiva, particularmente aquellos factores que influyen en su longevidad y

reproducción (Jervis *et al.* 1996). Algunos de los factores abióticos y bióticos que pueden limitar la longevidad (mortalidad) y el potencial de oviposición (fecundidad, proporción sexual de la progenie) de un parasitoide, son la edad del hospedero, la edad de la hembra progenitora, el tamaño de los adultos, la alimentación y el acceso a suficientes hospederos (Wackers 2004, Luo *et al.* 2010), los cuales fueron estudiados en este trabajo.

Los resultados obtenidos de los individuos provenientes de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz muestran que las hembras prefieren los huevos de *A. obtectus* más jóvenes, aunque no los recién puestos y que a partir de las 72 horas la preferencia empieza a disminuir conforme aumenta la edad del hospedero como ocurre en otras especies (Delobel 1989, Jervis *et al.* 2012). La proporción sexual de la progenie parece no haber sido afectada con la edad del hospedero, este mismo patrón lo encontró Huis *et al.* (1991b) para otra especie de *Uscana*, *U. lariophaga*. Es probable que las hembras de *U. spinae* estén seleccionando hospederos de edades entre uno y tres días debido a que estas edades representan las edades óptimas para que una hembra coloque más huevos, lo cual probablemente se deba a que la calidad de los hospederos son adecuados para un desarrollo normal de la progenie.

Los resultados también muestran que la edad de la avispa progenitora (las hembras de *U. spinae*) está relacionada con su fecundidad (el total de huevos colocados), así como el número de adultos que emergen de los huevos parasitados. Al inicio y en las edades posteriores a las 72 horas de la hembra progenitora disminuye el número de huevos ovipositados, probablemente debido a que primero la hembra no tiene toda su carga de huevos maduros y en las edades posteriores, a que ya no tiene espermatozoides viables para la fertilización o los hospederos ya están muy maduros (Jervis *et al.* 2001, Jervis *et al.* 2012). El patrón encontrado en la oviposición

de *U. espiniae* es de una “U” invertida y ha sido reportada en otras especies de *Uscana*, en *U. mukerjii*, *U. lariophaga* y *U. caryedoni* (Kapila & Agrawal 1995, Delobel 1989, Huis van 1991b). En el caso de la proporción sexual de la progenie, ésta no se ve afectada por la edad de la hembra progenitora, y el sesgo siempre fue a hembra, aunque en las edades tardías el sesgo cambia a machos.

No se encontró relación entre el tamaño de la hembra y el número de su progenie como ya Jervis & Ferns (2011) lo confirman para todos los parasitoides, a pesar de que el tamaño de los individuos entre las dos poblaciones varía, son más pequeños en Pantitlán que en Estanzuela. Hembras pequeñas pueden tener muchos hijos al igual que hembras grandes.

Se encontró que la alimentación, la presencia de hospederos y el sexo de los individuos de *U. espiniae* tuvieron una relación significativa con la longevidad y progenie de la avispa. Los individuos con alimento vivieron significativamente más que aquellos individuos que no tuvieron acceso al alimento. La alimentación también tuvo un efecto positivo y significativo en el número de la progenie emergida y total. La alimentación es un factor importante que incrementa tanto la longevidad como la progenie de los parasitoides himenópteros (Leatemia *et al.* 1995, Heimpel *et al.* 1997, Gurr & Nicol 2000, Kalyebi *et al.* 2005, Sood & Pajni 2006, Eliopoulos 2007, Bernstein & Jervis 2008, Luo *et al.* 2010, Lessard & Boivin 2013, Hegazi *et al.* 2013, Segoli & Rosenheim 2013). Se ha visto que la miel es un buen sustituto del alimento que los parasitoides pueden obtener del campo del néctar de las flores, nectarios extraflorales y las excretas azucaradas de algunas especies de insectos, principalmente de hemípteros (Heimpel *et al.* 1997, Luo *et al.* 2010).

La presencia de hospederos tuvo un efecto significativo en la longevidad de la avispa, aunque la diferencia se debió principalmente al efecto de este factor sobre las hembras. Se encontró que la longevidad de las hembras de *U. spinae* con hospederos fue significativamente menor que la longevidad de las hembras sin hospederos. La reducción en la longevidad de las hembras parasitoides cuando hay hospederos presentes ha sido reportada previamente y la explicación que se ha dado ha sido que existe un compromiso entre la reproducción y la sobrevivencia (Papaj 2000, Carbone *et al.* 2008). Al no haber hospederos presentes, las hembras son capaces de reasignar nutrientes de sus huevos (e.g., lípidos) a sus tejidos somáticos (Papaj 2000, Carbone *et al.* 2008).

Los resultados de este trabajo que muestran que el alimento tuvo un efecto positivo y significativo sobre la longevidad y fecundidad de *U. spinae*, éste puede ser utilizado en un sistema de control biológico para incrementar su eficacia (Heimpel *et al.* 1997; Eliopoulos *et al.* 2005; Eliopoulos 2007). En particular, un aumento en la longevidad de los parasitoides puede incrementar su eficacia en condiciones en las que los hospederos se encuentren en bajas densidades, ya que los parasitoides dispondrán de mayor tiempo de vida para localizar a los hospederos (Matsumoto 1974).

6. CONCLUSIONES GENERALES

En esta investigación se encontró que en seis poblaciones del centro de México existe una sola especie de tricogramátido, *Uscana espiniae* Pintureau y Gerding, atacando los huevos de las poblaciones de los gorgojos. Esta especie es un nuevo registro para el país y hasta hoy solo se conoce en los estados de Morelos, Puebla y Veracruz. Además, la colecta de esta especie de parasitoide provee de nuevos registros sobre sus hospederos y plantas hospederas, ya que se reportan cuatro hospederos nuevos (*Acanthoscelides obtectus*, *A. obvelatus*, *A. oblongotattus* y *M. humeralis*) y tres plantas hospederas nuevas (*Phaseolus vulgaris*, *Acacia pennatula* y *A. sphaerocephala*).

No se encontraron especies crípticas en *Uscana* por medio de caracteres morfológicos, análisis genotípicos (COI) y cruza intra e inter-poblacionales.

La edad óptima de los hospederos (huevos de *A. obtectus*) para la oviposición de *U. espiniae* en las poblaciones de Pantitlán, Morelos y Estanzuela, Veracruz fue de 24 a 72 horas.

Los tres primeros días después de la emergencia, fue la edad óptima de la hembra de *Uscana espiniae* para oviponer su progenie en su hospedero (huevos de *A. obtectus*) en ambas poblaciones estudiadas.

La alimentación, la presencia de hospederos y el sexo de los individuos de *U. espiniae* tuvieron una relación significativa con la longevidad y progenie de la avispa. Los individuos con alimento vivieron significativamente más que aquellos individuos que no tuvieron acceso al alimento y las hembras con alimento produjeron mayor número de progenie emergida y total. Las hembras sin hospederos tuvieron una mayor longevidad que aquellas con hospederos, mientras

que la longevidad de los machos sin hospederos no difirió significativamente de la longevidad de los machos con hospederos. Por último, los machos vivieron significativamente más que las hembras.

7. LITERATURA CITADA

- Alebeek, F. van. 1996a. Natural suppression of bruchid pests in stored cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) in West Africa. *International Journal of Pest Management* 42: 55 – 60.
- Alebeek, F. van. 1996b. *Foraging behaviour of the egg parasitoid *Uscana lariophaga*: towards biological control of bruchid pests in stored cowpea in West Africa*. PhD Thesis. Lanadbouwuniversiteit Wageningen. 176 pp.
- Alebeek, F. van & N. Groot. 1997. The arrestement response in the egg parasitoid *Uscana lariophaga* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Proceedings Experimental & Applied Entomology*, N. E. V. 5: 159 – 164.
- Alebeek, F. van. & A. van Huis. 1997. Host location in stored cowpea by the egg parasitoid *Uscana lariophaga* Steffan (Hym., Trichogrammatidae). *Journal Applied Entomology* 121: 399 – 405.
- Altieri, M. A. 1999. The ecological role of biodiversity in agrosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74: 19 – 31.
- Altieri, M. A. & C. I. Nicholls. 2004. *Biodiversity and pest management in agroecosystems*. Food Products Press. Binghamton, New York.
- Alvarez, N., D. Mc Key, M. Hossaert-McKey, C. Born, L. Mercier & B. Benrey. 2005. Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan pest of beans. *Molecular Ecology* 14: 1015 – 1024.
- Alzouma, I. 1995. Knowledge and control of the Coleoptera Bruchidae pests of food legumes in the Sahel. *Sael IPM* 1995: 2 – 16.
- Assem van den J., J. J. A. van Iersel, R. L. Los-den Hartogh. 1989. Is being large more important for female than for male parasitic wasps? *Behavior* 108: 160 – 195.
- Barbosa, P. 1998. *Conservation biological control*. Academic Press, New York. 397 pp.

- Barbosa, P. & I. Castellanos. 2005. *Ecology of predator – prey interactions*. Oxford University Press. 394 pp.
- Bernstein, C. & M. Jervis. 2008. Food searching in parasitoids: the dilemma of choosing between ‘immediate’ or future fitness gains. In: Wajnberg, E., C. Bernstein & J. Van Alphen (Eds.). *Behavioral ecology of insect parasitoids from theoretical approaches to field applications*. Blackwell Publishing. Oxford. 129 – 171.
- Blood, B. N. 1923. Notes on Trichogrammatinae taken around Bristol. *Annual Report and Proceedings of the Bristol Naturalists’ Society* 5: 253 – 258.
- Boivin, G. 2010a. Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. *Neotropical Entomology* 39: 457 – 463.
- Boivin, G. 2010b. Reproduction and immature development of egg parasitoids. In: Conzôli, F. L., J. R. P. Parra & R. A. Zucchi (Eds.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer Dordrecht. 1 – 24.
- Boivin, G. & M. Legacé. 1999. Effet de la taille sur la fitness de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annales de la Société Entomologique de France* 35: 371 – 378.
- Bonet, A., J. Carbonell, M. Cruz, D. García, S. Méndez y C. Rojas. 2000. *Control biológico de los gorgojos en frijol almacenado*. Instituto de Ecología A. C. 18 pp.
- Bonet, A., T. Kato, I. Castellanos, B. Pintureau & D. García. 2012. *Uscana espiniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in central Mexico: new hosts, host plants, distribution records, and characterization. *Florida Entomologist* 95: 49-56.
- Bridwell, J. C. 1918. Notes on the Bruchidae and their parasites in the Hawaiian Islands. *Proceedings of Hawaiian Entomological Society* 3: 465 – 505.
- Bridwell, J. C. 1919. Some additional notes on Bruchidae and their parasites in the Hawaiian islands. *Proceedings of Hawaiian Entomological Society* 4: 15 – 20.

- Carbone, S. S., M. P. Nieto & A. C. Rivera. 2008. Egg resorption behaviour by the solitary egg parasitoid *Anaphes nitens* under natural conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 127: 191 – 198.
- Chatterji, S. 1953. Biological notes on *Chaestotrichia mukherjii* Mani (Hymenoptera: Trichogrammatidae): an egg parasite of *Bruchus analis* Fabr. *Indian Journal Entomology* 15: 382 – 383.
- Clausen, C. P. 1978. *Introduced parasites and predators of arthropods pests and weeds: a world review*. Agriculture Handbook, United States Department of Agriculture. 545 pp.
- Cortesero, A. M., J. O. Stapel & W. J. Lewis. 2000. Understanding and manipulating plant attributes to enhance biological control. *Biological Control* 17: 35 – 49.
- De Bach, P. & D. Rosen. 1991. *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press. Cambridge. 408 pp.
- Delgado, A., A. Bonet & P. Gepts. 1988. The wild relative of *Phaseolus vulgaris* in Middle America. In: Gepts, P. (Ed.). *Genetic resources of Phaseolus beans*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. 163-184.
- Delobel, A. 1989. *Uscana caryedoni* (Hym.: Trichogrammatidae): possibilités d'utilisation en lutte biologique contre la bruche de l'arachide, *Caryedon serratus* (Col.: Bruchidae). *Entomophaga* 34: 351 – 363.
- De Moraes, C. M. & M. C. Mescher. 1999. Interactions in entomology: plant-parasitoid interaction in tri-trophic systems. *Journal of Entomological Science* 34: 31 – 39.
- De Santis, L. 1989. Catálogo de los himenópteros calcidoideos (Hymenoptera) al sur de los Estados Unidos, segundo suplemento. *Acta Entomologica Chilena* 15: 9 – 90.
- Doutt, R. L. 1955. Hymenoptera: Trichogrammatidae and Mymaridae. *Insects Micronesia* 19: 1 – 17.

- Doutt, R. L. & G. Viggiani. 1968. The classification of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcioidea). *Proceedings of the California Academy of Sciences (4th series)* 35: 477 – 586.
- Dyer, L. A. & P. D. Coley. 2002. Tritrophic interactions in tropical versus temperate communities. In: Tscharrntke, T. & B. A. Hawkins (Eds.). *Multitrophic level interactions*. Cambridge University Press. Cambridge. 67 – 88.
- Edwards, C. A. 1989. The importance of integration in sustainable agricultural systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 27: 25 – 35.
- Eilenberg, J., A. Hajek & C. Lomer. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46: 387 – 400.
- Eliopoulos, P. A., G. J. Stathas & S. L. Bouras. 2005. Effects and interactions of temperature, host deprivation and adult feeding on the longevity of the parasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *European Journal of Entomology* 102: 181 – 187.
- Eliopoulos, P. A. 2007. The importance of food supplement for parasitoids of stored product pests: the case of *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Integrated Protection of Stored Products* 30: 37 – 41.
- Elliot, N. C., J. D. Burd, S. D. Kindier & J. H. Lee. 1995. Temperature effects on development of three cereal aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphididae). *The Great Entomologist* 28: 199 – 204.
- Fellows, M. D. E., J. J. M. van Alphen & M. A. Jervis. 2005. Foraging behaviour. In: Jervis, M. A. (Ed.). *Insects as natural enemies*. Springer. Dordrecht. 1 – 71.
- Fursov, V. N. 1987. New species of *Uscana* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from Gruzia and the Ukraine. *Entomologicheskoe Obozrenie* 66: 175 – 183.
- Fursov, V. 1995. A world review of *Uscana* species (Hymenoptera, Trichogrammatidae), potential biological control agents of bruchid beetles (Coleoptera, Bruchidae). *Colloques de l'INRA* 73: 15 – 17.

- Gagnepain, C. & J. Y. Rasplus. 1989. *Caryedon serratus* and its parasitoids in the savanna around Lamto, Ivory Coast. *Entomophaga* 34: 559 – 567.
- García-González, F., A. González-Hernández & M. P. España-Luna. 2005. Especies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) presentes en centros reproductores de México. *Acta Zoológica Mexicana* 21: 125 – 135.
- Gauthier, N. A., A. Sanon, J. P. Monge & J. Huignard. 1999. Interspecific relations between two sympatric species of Hymenoptera, *Dinarmus basalis* (Rond) and *Eupelmus vuilleti* (Craw), ectoparasitoids of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.). *Journal of Insect Behavior* 12: 399 – 413.
- Girault, A. A. 1911. Descriptions of nine new genera of the chalcidoid family Trichogrammatidae. *Transactions of the American Entomological Society* 37: 1 – 42.
- Girault, A. A. 1912. Australian Hymenoptera Chalcidoidea. I. The family Trichogrammatidae with descriptions of new genera and species. *Memoirs of the Queensland Museum* 1: 66 – 116.
- Godfray, H. C. G. 1994. *Parasitoids behavioural and evolutionary ecology*. Princeton University Press. Princeton, N. J. 473 pp.
- Grese, N. S. 1923. *Bruchoctonus senex* (n gen., nov. sp.). byul. *Sortovodno-Semennogo Upr. Sakharostrosta, Kiev* 7: 117.
- Grimaldi, D. & M. R. Engel. 2005. *Evolution of the insects*. Cambridge Press. New York. 772 pp.
- Gurr, G. M. & H. I Nicol. 2000. Effect of food on longevity of adults of *Trichogramma carverae* Oatman and Pinto and *Trichogramma nr brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Australian Journal of Entomology* 39: 185 – 187.
- Gurr, G. M., S. D. Wratten & J. Luna. 2003. Multi-function agricultural biodiversity: pest management and other benefits. *Basic and Applied Ecology* 4: 107 – 116.

- Hall, R.W. 1993. Alteration of sex ratios of parasitoids for use in biological control. In: Wrensch, D. L. & M. A Ebbert (Eds.). *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*. Chapman and Hall. New York. 542–547.
- Hassell, M. P. & H. C. J. Godfray. 1992. The population biology of insect parasitoids. In: Crawley, M. J. (Ed.). *Natural enemies*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 265 - 292.
- Hawkins, B. A. & P. C. Marino. 1997. The colonization of native phytophagous insects in North America by exotic parasitoids. *Oecologia* 112: 566 – 571.
- Hayat, M. 2009. Records and descriptions of Trichogrammatidae from India (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Oriental Insects* 43: 201 – 227.
- Hegazi, E., W. Khafagi & F. Schlyter. 2013. Egg maturation dynamics of the parasitoid *Microplitis rufiventris*: starvation speeds maturation in early life. *Physiological Entomology* 38: 233 – 240.
- Heimpel, G. E. & J. G. de Boer. 2008. Sex determination in the Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 53: 209 – 230.
- Heimpel, G. E., J. A. Rosenheim & D. Kattari. 1997. Adult feeding and lifetime reproductive success in the parasitoid *Aphytis melinus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 83: 305 – 315.
- Heraty, J., J. Wooley & A. Polaszek. 2007. *Catalog of the Encarsia of the world*. <http://www.faculty.ucr.edu/~heraty/Encarsia.cat.pdf>. 87 pp.
- Herbert, P. D. N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen & W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A* 101: 14812 – 14817.
- Hetz, M. & C. D. Johnson. 1988. Hymenopterous parasites of some bruchid beetles of North and Central America. *Journal of Stored Products Research* 24: 131 – 143.

- Hinckley, A. D. 1960. The Klu beetle *Mimosestes sallaei* (Sharp), in Hawaii (Coleoptera: Bruchidae). *Proceedings of Hawaiian Entomological Society* 17: 260 – 269.
- Hochberg, M. E. 1996. Consequences for host populations levels of increasing natural enemies richness in classical biological control. *American Naturalist* 147: 307 – 318.
- Hoffmann, M. P. & A. C. Frodsham. 1993. *Natural enemies of vegetable insect pests*. Cooperative Extension, Cornell University, Ithaca, New York. 63 pp.
- Hoffman, M. P., L. T. Wilson, F. G. Salom & R. J. Hilton. 1990. Parasitism of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs: effect on pest management decision rules for processing tomatoes in the Sacramento Valley of California. *Environmental Entomology* 19: 753-763.
- Huis, A. van. 1990. *Uscana lariophaga* (Hym.: Trichogrammatidae), egg parasitoid of two bruchid species of cowpea in West Africa. *Proceedings Experimental Applied Entomology, N.E.V. Amsterdam* 1: 101-106.
- Huis, A. van. 1991. Biological methods of bruchid control in the tropics: a review. *Insect Science Application* 72: 87 – 102.
- Huis, A. van, N. K. Kaashoek & P. M. Lammers. 1990. *Uscana lariophaga* (Hym.: Trichogrammatidae), egg parasitoid of two bruchid species at cowpea in West Africa. *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society* 1: 101 – 106.
- Huis A. van, N. K. Kaashoek & H. M. Maes. 1991. Biological control of bruchids (Col.: Bruchidae) in stored pulses by using egg parasitoids of the genus *Uscana* (Hym.: Trichogrammatidae): a review. In: Fleurat-Lessard, F. & P. Ducom (Eds.). *Proceedings of the Fifth International Working Conference on Stored-product Protection*. Bordeaux, France, September 9 – 14, 1990. 99 – 108.
- Huis A. van, M. G. Wijkamp, P. M. Lammers, C. G. M. K. Goldewijk, J. H. Vanseeters & N. K. Kaashoek. 1991. *Uscana lariophaga* (Hymenoptera, Trichogrammatidae), an egg

parasitoid of bruchid beetle (Coleoptera, Bruchidae) storage pests in West Africa – host age and host species selection. *Bulletin of Entomological Research* 67: 65 – 75.

Huis, van A., P. W. Avendse, M. Schilthuizen, P. P. Wiegens, H. Heering, M. Hilshof & N. K. Kaashoek. 1994. *Uscana lariophaga*, egg parasitoid of bruchid beetle storage pests of cowpea in West Africa: the effect of temperature and humidity. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 70: 41 – 53.

Jervis, M. A. 2005. *Insects as natural enemies*. Springer. Dordrecht. 748 pp.

Jervis, M. A. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 443 – 461.

Jervis, M. A., M. J. W. Copland & J. A. Harvey. 2005. The life-cycle. In: Jervis, M. A. (Ed.). *Insects as natural enemies*. Springer. Dordrecht. 73 – 166.

Jervis, M. & P. Ferns. 2011. Towards a general perspective on life-history evolution and diversification in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society* 104: 443 – 461.

Jervis, M. A. & G. E. Heimpel. 2005. Phytophagy. In: Jervis, M. A. (Ed.). *Insects as natural enemies*. Springer. Dordrecht. 525 – 550.

Jervis, M. A., G. E. Heimpel, P. N. Ferns, J. A. Harvey & N. A. C. Kidd. 2001. Life – history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of “ovigeny”. *Journal of Animal Ecology* 70: 442 – 458.

Jervis, M. A., N. A. C. Kidd & G. E. Heimpel. 1996. Parasitoids adult feeding ecology and biocontrol: a review. *Biocontrol News Inf.* 16:N11 – 26.

Jervis, M. A., A. Moe & G. E. Heimpel. 2012. The evolution of parasitoid fecundity: a paradigm under scrutiny. *Ecological Letters* 15: 357 – 364.

Jonsson, M., S. D. Wratten, D. A. Landis & G. M. Gurr. 2008. Recent advances in conservation biological control of arthropods. *Biological Control* 45: 172 – 175.

- Kalyebi, A. S. Sithanatham, W. A. Overholt, S. A. Hassan & J. M. Mueke. 2005. Parasitism, longevity, and progeny production of six indigenous Kenyan trichogrammatid egg parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) at different temperature and relative humidity regimes. *Biocontrol Science and Technology* 15: 255 – 270.
- Kapila, R. & H. C. Agrawal. 1995. Biology of an egg parasitoid of *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 31: 335 – 341.
- Kidd, N. A. C. & M. A. Jervis. 2005. Populations dynamics. In: Jervis, M. A. (Ed.). *Insects as natural enemies*. Springer. Dordrecht. 435 – 524.
- King, B. H. 1987. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *Quarterly Review of Biology* 62: 367 – 396.
- King, B. H. 1990. Sex ratio manipulation by the parasitoid wasp *Spalangia cameroni* in response to host age: a test of the host – size model. *Evolutionary Ecology* 4: 149 – 156.
- Landis, D.A., S. D. Wratten & G. M. Gurr. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*. 45: 175 – 201.
- Leatemia, J. A., J. E. Laing & J. E. Corrigan. 1995. Effects of adult nutrition on longevity, fecundity and offspring sex ratio of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *The Canadian Entomologist* 127: 245 – 254.
- Lepesme, P. 1944. Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. *Encyclopedia Entomologique* 22: 196 – 223.
- Leroi, B., B. Pichard, A. Bonet & J. Montes. 1991. Family stocks of beans in Mexico and control of dried bean beetle. In: Fleurat-Lessard, F., P. Ducom (Eds.). Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored-product Protection. Imprimerie du Médoc, Bordeaux, France. Vol. 3: 1639-1647.
- Lessard, E. & G. Boivin. 2013. Effect of low temperature on emergence, fecundity, longevity and host-feeding by *Trichogramma brassicae*. *BioControl* 58: 319 – 329.

- Lin, N. Q. 1994, Systematic studies of Chinese Trichogrammatidae. *Contributions of the biological control research institute, Fujian Agricultural University, Special Publication No 4*. Chongqing Publishing House, Chongqing, China. 362 pp.
- Livingstone, D. & M. Yacoob. 1988. A new species of *Lathromeromyia* of the subgenus *Lathromeromina* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) from the eggs of *Corythauma ayyari* (Heteroptera, Tingidae). *Journal of the Bombay Natural History Society* 84: 396 – 398.
- Lou, J. X., T. W. Cao & B. Cong. 1997. Four new species of Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Journal of Shenyang Agricultural University* 28: 186 – 187.
- Luo, S., J. Li, X. Liu, Z. Lu, W. Pan, Q. Zhang & Z. Zhao. 2010. Effects of six sugars on the longevity, fecundity and nutrient reserves of *Microplitis mediator*. *Biological Control* 52: 51 – 57.
- Mani, M. S. 1935, First record of the trichogrammatid chalcid genus *Chaetostricha* Walker from India, with a description of a new species. *Records of the Indian Museum* 37: 337.
- Matsumoto, B. M. 1974. On the adult longevity of the entomophagous parasite, *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Entomophaga* 19: 325 – 329.
- Mills, N. 2010. Egg parasitoids in biological control and insect pest management. In: Cònsoli, F. L., J. R. P. Parra & R. A. Zucchi (Eds.). *Egg Parasitoids in Agrosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht. 389 – 412.
- Mitchell, R. 1977. Bruchid beetles and seed packing by Palo Verde. *Ecology* 58: 644 – 651.
- Mukerji, D. D. & M. A. H. Bhuya. 1936. Life history of *Chaetostrichia mukerjii* Mani (Trichogrammatidae, Hymenoptera). *Zoologischer Anzeiger* 115: 209 – 212.
- Murdoch, W. W. & C. J. Briggs. 1996. Theory for biological control: recent developments. *Ecology* 77: 2001 – 2013.

- Nowicki, S. 1937. Description of new genera and species of the family Trichogrammidae (Hym. Chalcidoidea) from the Palearctic region, with notes. II *Zeitschrift Angewand Entomologie Berlin* 23: 114 – 148.
- Noyes, J. S. 2003. *Universal Chalcidoidea database*. World Wide Web electronic publication. www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoids/index.html [accessed 05-Sep-2003].
- Owen, A. K., J. George, J. D. Pinto & J. M. Heraty. 2007. A molecular phylogeny of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with an evaluation of the utility of their male genitalia for higher level classification. *Systematic Entomology* 32: 227 - 251.
- Pajni, H. R. & T. Singh. 1973. A note on the taxonomic position of *Uscana mukerjii* (Mani), an egg parasite of store bruchids (Trichogrammatidae; Hymenoptera). *Research Bulletin Panjab University* 24: 163 – 164.
- Pajni, H. R. & S. Sood. 1999. A new species of *Uscana* Girault (Trichogrammatidae: Hymenoptera) from the eggs of *Conicobruchus albopubens* (Pic). *Journal of the Bombay Natural History Society* 96: 116.
- Pajni, H. R. & P. K. Tewari. 2002. *Uscana indica*, sp. nov. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from the eggs of *Bruchidius pygmaculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Oriental Insects* 36: 29 – 34.
- Pajni, H. R. & P. K. Tewari. 2004 A new species of *Uscana* Girault (Trichogrammatidae: hymenoptera) from the eggs of field bruchids. *Journal Bombay Natural History Society* 101: 285 – 287.
- Papaj, D. R. 2000. Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology* 45: 423 – 448.
- Pedigo, L. P. & M. R. Zeiss. 1996. *Analysis in insect ecology & management*. Iowa State University Press. Ames, Iowa. 168 pp.
- Pennachio, F. & M. R. Strand. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 51: 233 – 258.

- Pérez, G. y A. Bonet. 1984. Himenópteros parasitoides de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera:Bruchidae) en Tepoztlán, Morelos. *Folia Entomológica Mexicana* 59: 71-78.
- Pinto, J. D. 2006. A review of the new world genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). *Journal Hymenoptera Research* 15: 38 – 163.
- Pinto, J. D. & R. Stouthamer. 1994. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In: Wajmberg, E. & S. A. Hassan (Eds.). *Biological control with egg parasitoids*. CAB International. Oxon, United Kingdom. 1 – 36.
- Pinto, J. D., G. R. Platner & R. Stouthamer. 2003. The Systematics of the *Trichogramma minutum* species complex (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a group of important North American biological control agents: the evidence from reproductive compatibility and allozymes. *Biological Control*. 27: 167 – 180.
- Pintureau, B., M. Gerding & E. Cisternas. 1999. Description of three new species of Trichogrammatidae (Hymenoptera) from Chile. *Canadian Entomologist* 131: 53 – 63.
- Potting, R. P. J., W. A. Overholt, F. O. Danso & K. Takasu. 1997. Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* 70: 13 – 29.
- Querino, R. B., R. A. Zucchi & J. D. Pinto. 2010. Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a focus on the genera attacking Lepidoptera. In: Cónsoli, F. L., J. R. P. Parra & R. A. Zucchi (Eds.). *Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht. 191 – 218.
- Quicke, D. L. J. 1997. *Parasitic wasps*. Chapman & Hall. London. 470 pp.
- Risbec, J. 1951. I. Les chalcidoïdes d'A.O.F. – II Les Microgasterinae d'A.O.F. *Mém. Inst. Fr. Afr. Noire* 13: 400.
- Rojas-Rousse, D. 2006. Persistent pods of the tree *Acacia caven*: a natural refuge for diverse insects including bruchid beetles and the parasitoids Trichogrammatidae, Pteromalidae and Eulophidae. *The Journal of Insect Science* 6: 1 – 9.

- Romero, J. & C. D. Johnson. 2004. Checklist of the Bruchidae (Insecta: Coleoptera) of Mexico. *The Coleopterists Bulletin* 58: 613 – 635.
- Sankara, F., L. C. B. Dabiré, Z. Ilboudo, S. Dugravot, A. M. Cortesero & A. Sanon. 2014. Influence of host origin and host choice of the parasitoid *Dinarmus basalis*: Does upbringing influence choices later in life? *Journal of Insect Sciences* 14: 1 – 11.
- Sanon, A., A. P. Ouedraogo, Y. Tricault, P. F. Credland & J. Huignard. 1998. Biological Control of Bruchids in Cowpea Stores by Realease of *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) adults. *Environmental Entomology* 27: 717-725.
- Schmale, I., F. L. Wackers, C. Cardona & S. Dorn. 2001. Control potential of three hymenopteran parasitoid species against the bean weevil in stored beans: the effect of adult parasitoid nutrition on longevity and progeny production. *Biological Control* 21: 134 – 139.
- Segoli, M. & J. A. Rosenheim. 2013. Spatial and temporal variation in sugar availability for insects parasitoids in agricultural fields and consequences for reproductive success. *Biological Control* 67: 163 – 169.
- Siemens, D. H. & C. D. Johnson. 1992. Density-dependent egg parasitism as a determinant of clutch size in bruchid beetles (Coleoptera, Bruchidae). *Environmental Entomology* 27: 610 – 619.
- Siemens, D. H., C. D. Johnson & R. L. Woodman. 1991. Determinate of host range in bruchid beetles. *Ecology* 72: 1560 – 1566.
- Simberloff, D. & P. Stiling. 1996. How risky is biological control? *Ecology* 77: 1965 – 1974.
- Smith, L. & J. W. Press. 1992. Functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae): influence of host numbers versus host density. *Journal Entomological Science* 27: 375 – 382.
- Sood, S. & H. R. Pajni. 2006. Effect of honey feeding on longevity and fecundity of *Uscana mukerjii* (Mani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of bruchids

- attacking stored products (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 42: 438 – 444.
- Soyka, W. 1934. Neue trichogrammiden. *Naturh. Maandbl.* 23: 49 – 51.
- Steffan, J. R. 1954. Note sur le genre *Uscana* Grt. (Hym. Trichogrammatidae) et description d'espèces nouvelles parasite de bruches. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (2)* 26: 667 – 673.
- Stouthamer, R., P. Jochemsem, G. R. Platner & J. D. Pinto. 2000. Crossing incompatibility between *Trichogramma minutum* and *T. Platneri* and its implication for their application in biological control. *Environmental Entomology* 29: 827 – 837.
- Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor & S. Polasky. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671 – 677.
- Tscharntke, T. & B. A. Hawkins. 2002a. *Multitrophic level interactions*. Cambridge University Press. Cambridge. 274 pp.
- Tscharntke, T. & B. A. Hawkins. 2002b. Multitrophic level interactions: an introduction. In: Tscharntke, T. & B. A. Hawkins (Eds.). *Multitrophic Level Interactions*. Cambridge University Press. Cambridge. 1–7.
- Tscharntke, T., R. Bommarco, Y. Clough, T. Crist, D. Kleijn, T. Rand, J. Tylianakis & S. Vidal. 2007. Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. *Biological Control* 43: 294 – 309.
- Turlings, T. C. J. & B. Benrey. 1998. Effects of plant and development of parasitic wasps. *Ecoscience* 5: 321 – 333.
- Viggiani, G. 1969. Studies on Hymenoptera Chalcidoidea XXII. Re-description of the Trichogrammatidae described by J. Risbec. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri', Portici* 27: 187 – 209.

- Viggiani, G. 1979. Ricerche sugli Hymenoptera Chalcidoidea. LXII. *Uscana spermophagi* n.sp. (Trichogrammatidae) parassita di *Spermophagus sericeus* Geoffr. (Col. Bruchidae). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri', Portici* 36:51-53.
- Viggiani, G. 1984. Bionomics of the Aphelinidae. *Annual Review of Entomology* 29: 257 – 276.
- Viggiani, G. 1986. Description of a new species of *Uscana* Girault from Congo, with notes on other species (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri', Portici* 43: 7 – 10.
- Viggiani, G. 1996. New species of Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) from Cape Verde Islands, with notes on *Oligo cypriota* Nowicki (1936). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri', Portici* 51: 34 – 35.
- Viggiani, G. & A. Harten. 1996. Aphelinidae, Signiphoridae, Mymaridae and Trichogrammatidae of Cape Verde Islands (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri', Portici* 51: 67 – 81.
- Vinson, S. B. 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* 21: 109 – 133.
- Vinson, S. B., F. Bin & L. E. M. Vet. 1998. Introduction: critical issues in host selection by insect parasitoids. *Biological Control* 11: 77 – 78.
- Waage, J. K. & N. J. Mills. 1992. Biological control. In: Crawley, M. J. (Ed.). *Natural enemies: the population biology of predators, parasites and diseases*. Blackwell, Oxford. 412 – 430.
- Wäckers, F. L. 2004. Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control* 29: 307 – 314.
- Wajnberg, E., C. Curty & M. Jervis. 2012. Intra-population genetic variation in the temporal pattern of egg maturation in a parasitoid wasp. *PLoS ONE* 7: 1 – 7.
- Waterston, J. 1926. On a new trichogrammatid (Hym., Chalcidoidea) parasite of the cotton stemborer (*Sphenoptera* sp.). *Bulletin Entomological Research* 16: 309 – 313.

- Waugh, J. 2007. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *BioEssays* 29: 188 – 197.
- Yoshimoto, C. M. 1975. Cretaceous chalcidoid fossils from Canadian amber. *The Canadian Entomologist* 107: 499 – 527.
- Yousuf, M. & S. A. Shafee. 1985. New species of the genera *Neocentrobiella* and *Neolathromera* (Trichogrammatidae: Chalcidoidea) from India. *Indian Journal of Systematic Entomology* 2: 32 – 34.
- Yousuf, M. & S. A. Shafee. 1988. Taxonomy of Indian Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Indian Journal of Systematic Entomology* 4: 162 – 164.
- Yousuf, M. & S. A. Shafee. 1993. A new species of *Prosoligosita* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from India. *Bulletin of Pure and Applied Sciences (A)* 12 (1 – 2): 29 – 30.