

## POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Trichogramma atopovirilia* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) COMO PARASITOIDE DE LA POLILLA DE LOS GRANOS

José Morales S.<sup>1</sup>, Carlos Vásquez<sup>1</sup>, José S. Gallardo<sup>1</sup>, Franklin Gutiérrez<sup>1</sup>, Yolmar Ríos<sup>1</sup> y Nieves L. Pérez<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se estudió bajo condiciones de laboratorio el potencial biológico de la avispa parasitoide, *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner. Huevos de 0-24 horas de edad de la polilla de los granos, *Sitotroga cerealella* (Olivier), utilizados como hospedero, fueron expuestos en viales de vidrio a una hembra del parasitoide durante su vida. El patrón de emergencia de los adultos indicó que los parasitoides produjeron la más alta progenie el día 1 de parasitismo (33,0 a 58,3 %). Para el día 4 la emergencia acumulada varió de 69,5 a 91,0 %. En los días subsiguientes la emergencia fue poca o nula. El tiempo promedio de desarrollo del parasitoide (huevo-adulto) fue de 9,5 días. La longevidad promedio de las hembras de *T. atopovirilia* fluctuó desde 3,8 hasta 7,1 días a las diferentes densidades de huevos del hospedero. La proporción sexual de la progenie (macho: hembra) mostró predominio de las hembras con un rango de 1:1,0 a 1:4,2.

**Palabras clave adicionales:** Parasitoide de huevos, *Sitotroga cerealella*, control biológico

### ABSTRACT

#### Biological potential of *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as parasitoid of the angoumois grain moth

The biological potential of the parasitoid wasp *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner was studied under laboratory conditions. *Sitotroga cerealella* (Olivier) 0-24 h-old eggs served as the host. Newly mated female parasitoids were confined to several host-egg densities along their life. High adult emergence pattern on day 1 (from 33.0 to 58.3 %) indicates that parasitism was greatest that day. By day 4, adult emergence had accumulated to 69.5 - 91.0 %. Subsequent emergence was insignificant or non existent. Mean developmental time from egg to adult was 9.5 days. Mean longevity of *T. atopovirilia* females ranged from 3.8 to 7.1 days at the different egg-host densities. Sex ratio of parasitoid progeny (male: female) showed a predominance of females ranging from 1:1.0 to 1:4.2.

**Additional key words:** Egg parasitism, *Sitotroga cerealella*, biological control

### INTRODUCCIÓN

Las avispidas del género *Trichogramma* son parasitoides generalmente de huevos del orden Lepidoptera y se utilizan ampliamente como agentes de control biológico en proyectos de liberaciones inundativas (DeBach, 1974; Stinner, 1977). Su uso en contra de plagas agrícolas y forestales ha aumentado debido a la facilidad de cría masiva en huevos de hospederos alternativos (Zucchi, 1988; Zucchi et al., 1991). Investigaciones relacionadas con liberaciones de especies del género *Trichogramma* en millones de

hectáreas cultivadas y bosques han reportado éxito en el control de insectos plagas (Li, 1994; Pratisoli, 1995; Monje et al., 1999).

Se han desarrollado sistemas de cría masiva de *Trichogramma* spp. en Norte América, Francia, Brasil y Venezuela (Laing y Eden 1990; Ferrer 2001); sin embargo, muchos aspectos requieren ser estudiados para conocer el efecto de diferentes factores ligados a la especie del parasitoide y al hospedero (Parra y Zucchi, 1986).

El género *Trichogramma* contiene unas 180 especies identificadas (Pinto, 1998), muchas de las cuales son importantes agentes de control

Recibido: Octubre 17, 2003

Aceptado: Octubre 14, 2004

<sup>1</sup> Dpto. de Ciencias Biológicas, Decanato de Agronomía, Universidad Centrocidental "Lisandro Alvarado". Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela. e-mail: jmorales\_gar@yahoo.com

biológico por lo que se requiere llevar a cabo investigaciones sobre su biosistemática para determinar cuales especies pueden ser más efectivas en el control de insectos plagas. En Venezuela y Brasil, por ejemplo, se han caracterizado y descrito numerosas especies de este género (Velásquez, 1993; Querino, 2002).

Entre las especies de *Trichogramma* reportadas como agentes de control biológico se encuentra la avispa *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner, parasitoide de huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Paron et al., 1998; Navarro y Marcano, 1999; Cañete y Foerster, 2000).

En vista de la importancia de las especies de *Trichogramma* como agentes de control biológico, el propósito de este estudio fue determinar el patrón de emergencia de los adultos de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de los huevos de la polilla de los granos (*Sitotroga cerealella* Olivier), el tiempo de desarrollo (huevo-adulto), la longevidad y la proporción sexual de la progenie del parasitoide.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención y mantenimiento del parasitoide *T. atopovirilia* y de los huevos del hospedero *S. cerealella*

La avispa *T. atopovirilia* usada en este estudio fue obtenida de una colonia procedente del Ingenio Azucarero Los Mochis, estado de Xinaloa, México y mantenida en el laboratorio de la empresa Servicio Biológico (Servbio) en Sanare, estado Lara, Venezuela. Los machos y las hembras de la avispa recién emergidos fueron confinados dentro de un envase de vidrio de 4,1 L de capacidad para asegurar la cópula. El envase fue previamente desinfectado con hipoclorito de sodio para evitar el desarrollo de hongos. Una tapa de tela chifón (32 x 32 hebras por cm<sup>2</sup>) sujeta firmemente con una banda de goma permitió mantener una apropiada circulación de aire. En el interior del frasco se aplicó miel diluida con agua al 50% en forma de líneas finas para proveer de alimento al parasitoide.

Los huevos de *S. cerealella* fueron suministrados por el laboratorio Servbio. Estos huevos, de 0-24 h de edad estuvieron disponibles para su uso en cartulinas de color negro.

Tanto las avispas como el hospedero fueron llevados al laboratorio de la Unidad de

Investigación de la Cátedra de Zoología Agrícola de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, Venezuela. Las avispas fueron mantenidas en el laboratorio a una temperatura ambiente de 27± 2 °C, 80 ± 10 % HR y 12:12 h (D:N) de fotoperíodo, mientras que los huevos fueron colocados en el refrigerador a una temperatura de 10 °C para retardar el desarrollo embrionario. LA identificación de la especie de las avispas fue realizada por la Dra. Ranyse Barbosa Querino da Silva (Universidad de Piracicaba, Brasil).

### Determinación del patrón de emergencia de los adultos de *T. atopovirilia*

Las cartulinas con huevos de 0-24 h de edad de *S. cerealella* fueron cortadas en tiras finas de aproximadamente 1 x 3 cm. Bajo el aumento del microscopio estereoscópico, estos huevos fueron contados y el exceso fue removido para obtener las densidades de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 y 50 huevos por tira, respectivamente. Adultos del parasitoide previamente copulados, de 0-24 h de edad, fueron seleccionados al azar de los envases de vidrio utilizando un pincel número 1 y colocados en un tubo de ensayo el cual fue enfriado exteriormente con agua helada. El frío causó la inmovilización de las avispas en el tubo y facilitó su manipulación. Enseguida, éstas fueron colocadas dentro de una cápsula de Petri que contenía una capa de hielo sobre la cual se había colocado papel de filtro. Con la ayuda de un microscopio estereoscópico, las avispas hembras fueron escogidas al azar y confinadas individualmente en tubos de vidrio (21 x 70 mm) que contenían una tira con determinada densidad de huevos. Los tubos fueron previamente desinfectados con hipoclorito de sodio y enjuagados con agua destilada. Como en el caso anterior, se suministró miel en forma de líneas finas como alimento a las avispas. Cada tubo fue tapado con una capa doble de tela chifón. Cada densidad de huevos fue replicada ocho veces.

Transcurridas 24 h, los tubos fueron enfriados con agua a 1 °C durante 10 segundos para inmovilizar al parasitoide y retirar la tira con los huevos para reemplazarla por otra con la misma densidad de huevos. El procedimiento fue repetido diariamente hasta que ocurrió la muerte del parasitoide (Morales et al., 2000). Cada 48 horas, el parasitoide recibió miel como alimento.

Las tiras de cartulina con los huevos parasitados fueron colocadas en otros tubos previamente rotulados. Estos tubos fueron observados diariamente y una vez ocurrida la emergencia, los mismos fueron colocados en agua a 1 °C para inmovilizar los parasitoides. Esto se repitió durante los 4 días subsiguientes. Cada día se contó el número de parasitoides emergidos, el cual se expresó como un porcentaje del total de parasitoides emergidos en cada una de las densidades de huevos. Los porcentajes de emergencia fueron graficados con relación al tiempo para las densidades estudiadas.

#### Determinación del tiempo de desarrollo (huevo-adulto) de *T. atopovirilia* en huevos de *S. cerealella*

El tiempo de desarrollo (huevo-adulto) de *T. atopovirilia* fue medido a partir de las pruebas conducidas para determinar el patrón de emergencia de los adultos. Diariamente, los huevos parasitados de *S. cerealella* fueron observados y el número total de individuos emergidos en cada una de las densidades estudiadas fue anotado para cada día de parasitismo. El tiempo transcurrido desde la fecha del inicio del parasitismo hasta la emergencia de las avispidas también fue registrado durante los días en los cuales ocurrió emergencia de adultos. Estos datos fueron usados para calcular el tiempo promedio de desarrollo de *T. atopovirilia* durante los días en los cuales la avispidita ejerció el parasitismo.

#### Determinación de la longevidad de las hembras de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de huevos de *S. cerealella*

La longevidad de las hembras fue medida en cada uno de los individuos de *T. atopovirilia* confinados en los tubos de ensayo y utilizadas para obtener el patrón de emergencia. Los parasitoides fueron observados diariamente y el número de días que cada uno permaneció vivo fue anotado y usado para calcular la longevidad promedio. Esto permitió graficar el porcentaje de hembras vivas de *T. atopovirilia* con relación al tiempo de vida del parasitoide a las diferentes densidades de huevos del hospedero.

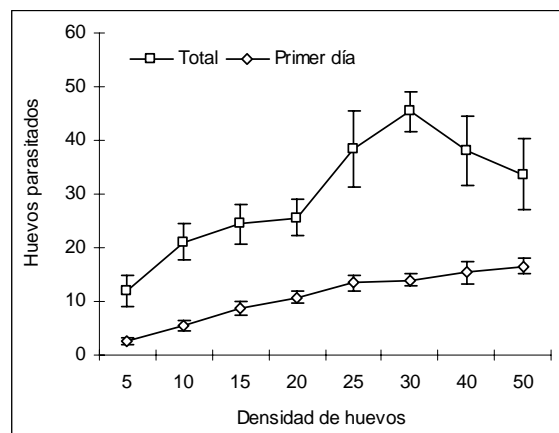
#### Determinación de la proporción sexual de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de huevos de *S. cerealella*

La proporción sexual de *T. atopovirilia* también fue medida con los datos obtenidos en las pruebas de parasitismo para obtener el patrón de emergencia. La progenie producida por cada uno de los parasitoides a las diferentes densidades de huevos del hospedero fue anotada. Seguidamente, los parasitoides emergidos fueron separados por sexo. La proporción sexual fue expresada como la relación macho: hembra.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Patrón de emergencia de los adultos de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de huevos de *S. cerealella*

El número de huevos parasitados durante el tiempo de vida de *T. atopovirilia* incrementó a medida que aumentó la densidad de huevos del hospedero hasta alcanzar su máximo a la densidad de 30 huevos por parasitoide (Figura 1). A partir de esta densidad, el número total de huevos parasitados comenzó a decrecer como probable consecuencia de la disminución de la capacidad de parasitismo del insecto con la edad y/o menor tasa de oviposición por agotamiento parcial de su carga de huevos (Price, 1984; Heimpel y Rosenheim, 1998).



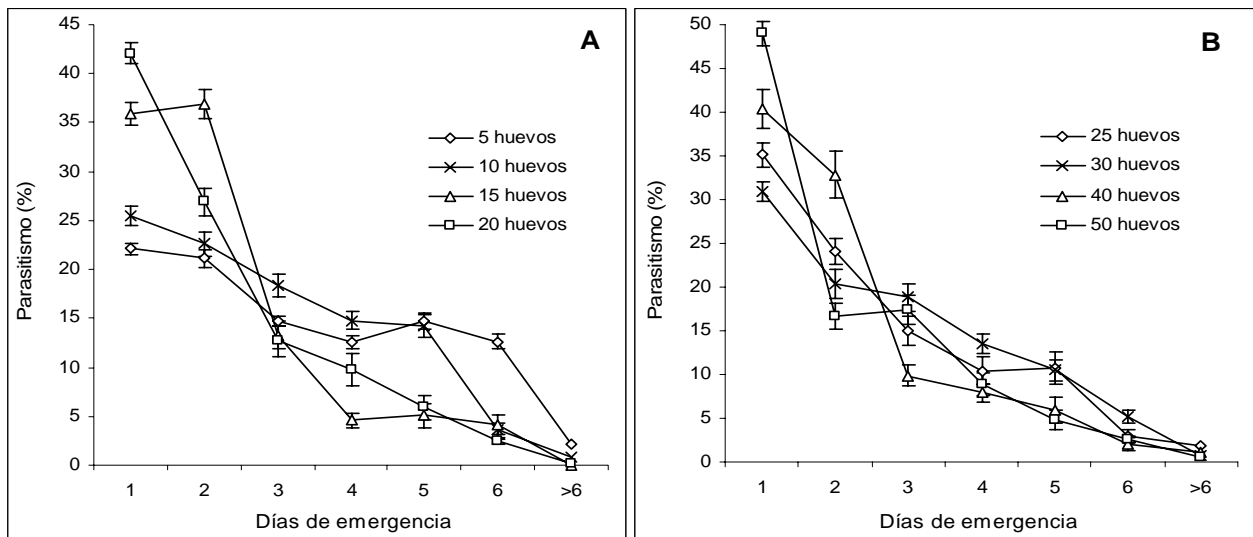
**Figura 1.** Efectividad del parasitismo en el primer día y durante toda la vida de *T. atopovirilia* en función de la densidad de huevos del hospedero. Las barras representan el SE

Cuando el análisis se realizó en el primer día de parasitismo, la efectividad fue continuamente en aumento (incluso a la máxima densidad de 50 huevos por parasitoide), reflejando una alta capacidad inicial de *T. atopovirilia* como agente de control biológico a altas densidades de huevos del hospedero.

En el primer día, la mayor proporción de huevos parasitados (número de huevos parasitados con relación al número de huevos disponibles) fue de 58,3 %, la cual se logró con la densidad de 20 huevos por parasitoide y la menor (33,0 %) se alcanzó con la densidad de 50 huevos por parasitoide.

En la Figura 2 se observa cómo el porcentaje de emergencia de los adultos de *T. atopovirilia* en

el día 1 a densidades bajas y medias tendió a aumentar progresivamente con la densidad de los huevos. Sin embargo, a altas densidades no hubo un patrón definido. A partir del día 2 la tendencia fue a disminuir el porcentaje de parasitismo. El porcentaje de emergencia acumulado de *T. atopovirilia* estuvo comprendido entre el 69,5 y 91,0% durante los 4 primeros días de edad del parasitoide a las diferentes densidades del hospedero. Esto significó que las hembras de *T. atopovirilia* depositaron diariamente un número variable de huevos como generalmente ocurre en las especies proovigénicas (Heimpel y Rosenheim, 1998). Después del día 4 de edad del parasitoide, el porcentaje de emergencia de adultos generalmente fue bajo o nulo.



**Figura 2.** Patrón de emergencia de *T. atopovirilia* a densidades bajas y medias (A) y altas (B) de huevos de *S. cerealella*. Las barras representan el SE

La menor pendiente de las líneas en las densidades de 5, 10 y 15 huevos por parasitoide (Figura 2A) indica que en los primeros días de parasitismo se mantuvo una alta y relativamente constante efectividad de oviposición para luego decrecer en los días posteriores. A las densidades altas (Figura 2B) se observa una fuerte pendiente de las líneas lo que indica una rápida disminución de esta efectividad luego del primer día de parasitismo.

El máximo número de avispidas obtenidas luego de un día de parasitismo fue de 2,81 individuos y ocurrió por efecto del parasitismo del día 1 (Cuadro 1), mientras que la progenie total de una hembra durante su vida fue 12,18 individuos,

en promedio. Cañete y Foerster (2003) reportaron 104,5 como el número promedio de huevos puestos por las hembras del parasitoide durante su vida.

La capacidad de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* puede ser comparable a la mostrada por otras especies de ese género. Nagarkatti y Nagaraja (1978) evaluaron la fecundidad de *Trichogramma confusum* Viggiani bajo condiciones de laboratorio y encontraron que la mayor tasa de oviposición fue obtenida durante el día 1 de edad y ésta disminuyó después del día 12. Bourarach y Hawlitzky (1989) compararon la capacidad de parasitismo de las hembras de *Trichogramma evanescens* Girault y

*Trichogrammatoidea lutea* Westwood y demostraron que el número de huevos parasitados y de adultos emergidos era similar en ambas especies. El período de oviposición duró sólo 6 días y la tasa de oviposición máxima fue alcanzada el día 1 de edad de los parasitoides.

#### Tiempo de desarrollo (huevo-adulto) de *T. atopovirilia* en huevos de *S. cerealella*

El tiempo de desarrollo de *T. atopovirilia*, desde la fase de huevo hasta la emergencia del adulto varió desde 9 hasta 12 días con un

promedio de 9,5 días (Cuadro 1). Del total de adultos emergidos durante los días de parasitismo de los huevos de *S. cerealella*, el mayor número emergió a los 9 y 10 días (59,2 y 28,5 %, respectivamente) mientras que a los 11 días emergió el 10,8 %. Para el día 12 la emergencia de avispidas fue solamente 1,5 %. Cañete y Foerster (2003) indicaron 9 días como el tiempo aproximado de desarrollo (huevo-adulto) de *T. atopovirilia* a una temperatura de 25 °C, lo que coincide con el tiempo promedio reportado en este estudio.

**Cuadro 1.** Progenie (número promedio de individuos  $\pm$  SE) y tiempo de desarrollo de *T. atopovirilia* obtenida en huevos de *S. cerealella*

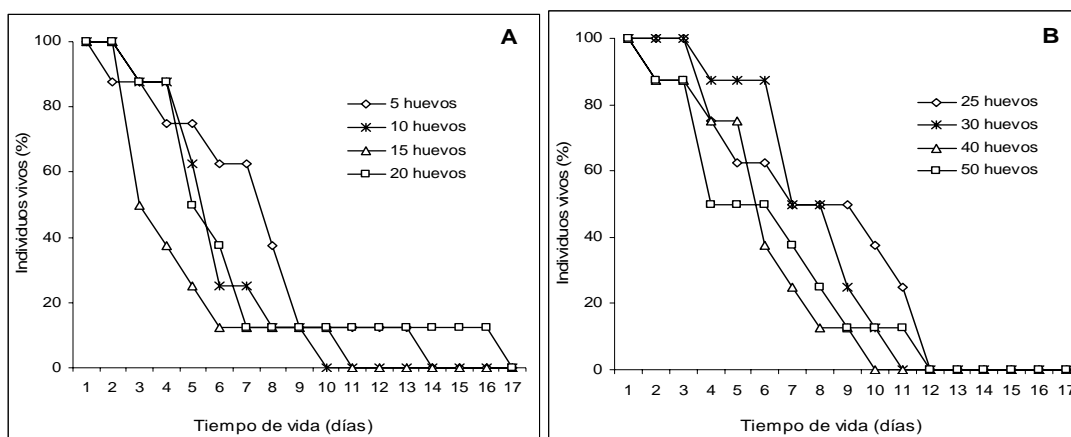
Día de la emergencia(*)	Día del parasitismo (basado en 8 densidades de huevos)								Total	% del total
	1	2	3	4	5	6	> 6			
9	2,81 $\pm$ 0,70	1,89 $\pm$ 0,17	1,00 $\pm$ 0,17	0,70 $\pm$ 0,24	0,24 $\pm$ 0,10	0,33 $\pm$ 0,15	0,20 $\pm$ 0,10	7,17 $\pm$ 1,63	59,2	
10	1,24 $\pm$ 0,39	1,01 $\pm$ 0,28	0,41 $\pm$ 0,13	0,16 $\pm$ 0,07	0,33 $\pm$ 0,13	0,13 $\pm$ 0,05	0,20 $\pm$ 0,21	3,48 $\pm$ 1,26	28,6	
11	0,99 $\pm$ 0,36	0,11 $\pm$ 0,09	0,10 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	1,36 $\pm$ 0,57	10,8	
12	0,06 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,02	–	–	–	0,17 $\pm$ 0,09	1,4	
Total	5,10 $\pm$ 1,47	3,07 $\pm$ 0,57	1,55 $\pm$ 0,36	0,91 $\pm$ 0,35	0,61 $\pm$ 0,25	0,50 $\pm$ 0,22	0,44 $\pm$ 0,33	12,18 $\pm$ 3,55	100,0	
Tiempo de desarrollo (días)	9,7	9,5	9,4	9,3	9,6	9,4	9,6	9,5		

(\*) Contado a partir del primer día de parasitismo

#### Longevidad de las hembras de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de los huevos de *S. cerealella*

La longevidad de los adultos de *T. atopovirilia* mostró alta variabilidad en las diferentes densidades de huevos del hospedero (Figura 3). Aunque la vida media del parasitoide (50 % de individuos vivos) estuvo entre de 3,8 y 7,1 días,

existió un rango bastante amplio en la longevidad total de los adultos, siendo este rango mayor (de 10 a 17 días) en las densidades bajas y medias (Figura 3A) y menor (de 10 a 12 días) en las densidades altas (Figura 3B). En general, para el día 5 de parasitismo más del 50 % de los parasitoides permanecieron vivos para las densidades de huevos evaluadas.



**Figura 3.** Longevidad de las hembras de *T. atopovirilia* a densidades bajas y medias (A) y altas (B) de huevos de *S. cerealella* (valores medios de ocho repeticiones)

Cañete y Foerster (2003) reportaron 11,4 días como el tiempo promedio de longevidad de las hembras de *T. atopovirilia* utilizando como hospedero los huevos de *Anticarsia gemmatalis* Hubner. Destacan que en ausencia de alimento la longevidad del parasitoide fue reducida significativamente (6,7 días) lo que sugiere que el mismo probablemente se alimenta de nutrientes extraídos de los huevos del hospedero. Investigaciones realizadas por Bourarach y Hawlitzky (1989) reportan que la cópula, alimentación, presencia del hospedero y la interacción de estos factores pueden afectar la longevidad de los parasitoides.

#### Proporción sexual de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de los huevos de *S. cerealella*

La proporción sexual de la progenie de *T. atopovirilia* mostró amplia variación con relación a las diferentes densidades de huevos de *S. cerealella* (Cuadro 2). En general, del total de adultos emergidos, se observó predominio de las hembras sobre los machos con valores que fluctuaron desde 1:1 a la densidad de 10 huevos hasta 1:4,2 a las densidades de 5 y 25 huevos. Nagarkatti et al. (1991) reportaron que la proporción sexual de *Trichogramma nubilale* Ertle y Davis utilizando como hospedero huevos de *Manduca sexta* L. favoreció la producción de hembras (80-90 %). Hurlbutt (1987) también observó amplia variación en la proporción sexual del parasitoide y lo atribuyó a factores de tipo genético y de edad del parasitoide.

**Cuadro 2.** Proporción sexual de la progenie de *T. atopovirilia* a diferentes densidades de huevos de *S. cerealella*

Densidad de huevos	Nº de individuos	♂ : ♀
5	26	1: 4,2
10	83	1: 1,0
15	64	1: 2,4
20	154	1: 4,1
25	125	1: 4,2
30	135	1: 2,5
40	139	1: 1,4
50	122	1: 1,5

Los altos niveles observados en la efectividad del parasitismo de *T. atopovirilia* sobre los huevos de *S. cerealella* permiten mostrar las bondades

del uso de este parasitoide como parte de los sistemas de manejo de plagas en diversos cultivos agrícolas atacados por insectos del orden Lepidoptera.

#### AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT-UCLA) por el financiamiento al proyecto 022-AG-2000. A Robert Smith por la revisión del manuscrito, Lisbeth Díaz por el trabajo estadístico y Francisco Ferrer Wurst por sus sugerencias y suministro del material biológico. A Juan Puerta y Lolimar Aranguren por los montajes de las láminas y a Mary Luz Montes y Chiquinquirá Brito por colaborar en la obtención de los datos experimentales.

#### LITERATURA CITADA

- Bourarach, K. y N. Hawlitzky. 1989. Étude comparative des Potentialités biologiques de deux trichogrammes: *Trichogramma evanescens* et *Trichogrammatoidea lutea* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomophaga* 34 (1): 95-104.
- Cañete, C. L., y L. A. Foerster. 2000. Egg Parasitoids of *Helicoverpa zea* in Southern Paraná, Brasil, and rearing of *Trichogramma atopovirilia* on an alternative host. Abstract Book I. XXI-International Congress of Entomology, Brasil, August 20-26, 2000.
- Cañete, C. L., y L. A. Foerster. 2003. Incidencia natural e biología de *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomología* 47: 201-204.
- DeBach, P. 1974. *Biological Control by Natural Enemies*. Cambridge University, Cambridge.
- Ferrer, F. 2001. *Biological control of agricultural insect pests in Venezuela: advances, achievements, and future*

- perspectives. *Biocontrol News and Information* 22 (3): 67-74.
6. Heimpel, G. E. y J. A. Rosenheim. 1998. Egg limitation in parasitoids: A review of the evidence and a case study. Department of Entomology, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota. pp. 160-168.
  7. Hurlbrutt, B. 1987. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *The Quart. Rev. Biol.* 62: 367-396.
  8. Laing, J. E. y G. M. Eden. 1990. Mass production of *Trichogramma minutum* Riley on factitious host eggs. In: S.M. Smith, J.R. Carrow y J.E. Laing (eds.). *Inundative Release of the Egg Parasitoid, Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) against Forest Insect Pest such as the Spruce Budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Mem. Entomol. Soc. Can.* 153. pp. 10-24.
  9. Li, L. Y. 1994. Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: A survey. In: E. Wajnberg y S. A. Hassan (eds.). *Biological Control with Egg Parasitoids*. CAB International. Wallingford. pp. 37-53.
  10. Monje, J. C., C. Zebitz y B. Ohnesorge. 1999. Host and host age preference of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on different hosts. *J. Econ. Entomol.* 92(1): 98-103.
  11. Morales, J., J. Gallardo, C. Vásquez y Y. Ríos. 2000. Patrón de emergencia, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) con relación al cogollero del maíz. *Bioagro* 12(2): 47-54.
  12. Nagarkatti, S. y H. Nagaraja. 1978. Experimental comparison of laboratory reared vs. wild-type *Trichogramma confusum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). I: Fertility, fecundity and longevity. *Entomophaga* 23(2): 129-136.
  13. Nagarkatti, S., K. J. Giroux y T. P. Keeley. 1991. Rearing *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). *Entomophaga* 36(3): 443-446.
  14. Navarro, R. y R. Marcano. 1999. Preferencia de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. atopovirilia* Oatman y Platner por huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) de diferentes edades. *Bol. Entomol. Venez.* 14(2): 87-93.
  15. Paron, M. J. F. O., A. K. Ciociola e I. Cruz. 1998. Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes densidades de ôvos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 27: 427-433.
  16. Parra, J. y R. Zucchi. 1986. *Trichogramma* no controle de pragas. In: *Atualização sobre Métodos de Controle de Pragas*. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de Sao Paulo. pp. 54-75.
  17. Pinto, J. D. 1998. Systematic of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Washington. Entomol. Soc.* Washington. 287 p.
  18. Pratisoli, D. 1995. Bioecología de *Trichogramma pretiosum* Riely, 1879, nas traças de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873), em tomateiro. Tesis. Universidad de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de Sao Paulo. Piracicaba. 135 p.
  19. Price, P. W. 1984. *Insect Ecology*. John Wiley. New York.
  20. Querino, R. B. 2002. Taxonomía do género *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) na América do Sul. Tesis. Universidad de São Paulo. Piracicaba. São Paulo. Brasil. 214 p.

21. Stinner, R. E. 1977. Efficacy of inundative releases. *Ann. Rev. Entomol.* 22: 515-531.
22. Velásquez, M. 1993. Diagnóstico de especies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en algunas regiones de Venezuela. Univ. Nac. Exp. Rómulo Gallegos, San Juan de los Morros, Venezuela. 205 p.
23. Zucchi, R. A. 1988. New species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) associated with sugar cane borer *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) in Brazil. *Les Colloques INRA* 43: 133-140.
24. Zucchi, R. A., J. R. P. Parra, y S. Silveira. 1991. *Trichogramma* species associated with some lepidopterous pest in Brazil. *Les Colloques INRA* 56: 131-134.
25. Zucchi, R. A., y R. C. Montero. 1997. O género *Trichogramma* na América do Sul. In: J. R. P. Parra y R. A. Zucchi (eds.). *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*. Fundação de Estudos Agrários Luiz Queiroz. Piracicaba. pp. 41-46.