

# MULTIPLEX PCR ASSAY TO IDENTIFY *Trichogramma* PARASITOIDS (HYMENOPTERA, TRICHOGRAMMATIDAE) REARED FROM MEXICAN INSECTARIES

## PCR MÚLTIPLE PARA IDENTIFICAR ESPECIES DE *Trichogramma* (HYMENOPTERA, TRICHOGRAMMATIDAE) PARASITOIDES CRIADAS EN INSECTARIOS MEXICANOS

Jaime González-Cabrera<sup>1</sup>, Hugo C. Arredondo-Bernal<sup>1\*</sup>, Richard Stouthamer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC. 28110. Colonia Tepeyac. Tecomán, Colima, México. (jgonz017@student.ucr.edu) (hugo.arredondo@senasica.gob.mx). <sup>2</sup>Department of Entomology, University of California, Riverside, CA 92521, USA. (richard.stouthamer@ucr.edu).

### ABSTRACT

Accurate identification of species as biological candidates is the first step in establishing successful biological control programs. In Mexico, *Trichogramma* parasitoids are identified using morphological characters, which is a laborious procedure made only by experts; in addition, some morphological structures are susceptible to changes due to differences in diet or environment, and consequently there is a latent risk of misidentification. Moreover, morphological identification requires the presence of males, leaving female-only populations unidentifiable. As an alternative to morphological identification, the purpose of this work was to develop a molecular method for the identification of *Trichogramma* parasitoids from Mexican insectaries. *Trichogramma* species reared in six insectaries were DNA-identified and subsequently, based on differences in ITS2 sequences, a DNA-multiplex PCR assay was designed to distinguish among those reared species. Thus, discrepancies were found between the reported and DNA-determined species identity, whereas the sample of all the insectaries together was supposed to contain three species of *Trichogramma* (*T. pretiosum*, *T. exiguum* and *T. platneri*), only two species (*T. pretiosum* and *T. fuentesi*) were present. In addition, it was found the presence of unnoticed species replacement. Fortunately, an accurate taxonomic identification of *Trichogramma* species can be made by using the DNA-multiplex PCR assay that was generated in this work. Additionally, this methodology may identify the native *Trichogramma* species, whose use in mass rearing projects is uncommon.

### RESUMEN

La identificación precisa de insectos benéficos es el primer paso en el establecimiento de programas exitosos de control biológico. En México, los parasitoides *Trichogramma* se identifican mediante caracteres morfológicos, lo cual es un procedimiento laborioso realizado solo por expertos; además, algunas estructuras morfológicas son susceptibles a cambios debido a las diferencias en la dieta o las condiciones ambientales, y por tanto existe el riesgo latente de una identificación taxonómica errónea. Más aún, la identificación morfológica requiere la presencia de machos, dejando a las poblaciones conformadas por solo hembras (partenogenéticas) sin identificar. Como alternativa a la identificación morfológica, el propósito de este estudio fue desarrollar un método molecular para la identificación de parasitoides *Trichogramma* de insectarios mexicanos. Las especies de *Trichogramma* reproducidas en seis insectarios se identificaron por ADN y después, con base en diferencias de las secuencias de ITS2, se diseñó una prueba PCR-múltiple para distinguir entre las especies reproducidas. Así, se encontraron discrepancias entre la identidad reportada y la determinada por ADN: se suponía que las muestras de todos los insectarios contenían tres especies de *Trichogramma* (*T. pretiosum*, *T. exiguum* y *T. platneri*), pero solo hubo dos especies (*T. pretiosum* y *T. fuentesi*) presentes. Además, se encontró la presencia de especies de reemplazo. Afortunadamente, utilizando la prueba PCR ADN-múltiple generada en este estudio puede hacerse una identificación taxonómica exacta de las especies de *Trichogramma*. Además, esta metodología puede identificar las especies nativas de *Trichogramma*, cuyo uso en proyectos de reproducción masiva es rara.

\*Author for correspondence ❖ Autor responsable.

Received: June, 2013. Approved: July, 2014.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 48: 703-711. 2014.

**Key words:** *Trichogramma pretiosum*, *T. exiguum*, *T. platneri*, *T. fuentesi*, Identificación-DNA, secuencias de ADN ITS2.