

**DETECCIÓN DE LA *Helicoverpa armígera* EN EL DEPARTAMENTO DE
AMAMBAY; EN LOS CULTIVOS DE SOJA Y MAIZ.**

ENSON GUSMAN SOSA

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de
Asunción, como requisito para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.
Departamento de Protección Vegetal.

Universidad Nacional de Asunción

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería Agronómica – Producción Agrícola

Pedro Juan Caballero – Paraguay

2017

**DETECCIÓN DE LA *Helicoverpa armígera* EN EL DEPARTAMENTO DE
AMAMBAY; EN LOS CULTIVOS DE SOJA Y MAIZ.**

ENSON GUSMAN SOSA

Orientador: Prof. PhD.Marcos Arturo Ferreira A.

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agrarias, filial Pedro Juan Caballero de la Universidad Nacional de Asunción, como requisito para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Departamento de Producción Agrícola

Universidad Nacional de Asunción

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería Agronómica – Producción Agrícola

Pedro Juan Caballero – Paraguay

2017

Universidad Nacional de Asunción

Facultad de Ciencias Agrarias

Filial Pedro Juan Caballero

Producción Agrícola

**DETECTAR LA *Helicoverpa armigera* EN EL DEPARTAMENTO DE
AMAMBAY**

Esta tesis fue aprobada por la Mesa Examinadora como requisito parcial para optar por el grado de Ingeniero Agrónomo, otorgado por la Facultad de Ciencias Agrarias, Filial Pedro Juan Caballero de la Universidad Nacional de Asunción.

Firma

Autor: Enson Gusman Sosa _____

Orientador: Prof. PhD Marcos Ferreira A. _____

Co-Orientador: Prof. Dr. Ursino Barreto _____

Miembros del Comité Asesor:

Prof. PhD. Marcos Arturo Ferreira Agüero _____

Prof. Dr. Ing. Agr. Ursino Barreto _____

Pedro Juan Caballero, 2017

*A mis padres, esposa, hijos y hermanos por el apoyo incondicional durante
estos años de estudio.*

DEDICO

AGRADECIMIENTOS

Al Dios de toda Gracia, que nos llamó a su Gloria eterna en Jesucristo, el Cual nos perfecciona, afirma, fortalece y establece. A Él sea la Gloria y el Imperio por los siglos de los siglos. Amén.

A mí amada madre Francisca Sosa Aquino y mi padre Bonifacio Peralta, por la vida, apoyo, cariño y amor incondicional, por enseñarme que al final del esfuerzo, perseverancia, sacrificio y honestidad se encuentra el Éxito.

Agradezco a un papá, amigo y abuelo que sin duda alguna gracias a él esto pudo ser posible, hombre ejemplar digno de admirar, mi querido Abuelo Matías Sosa, Gracias.

A mi esposa, amiga y ayuda idónea Inocencia Coronel, por su amor, respeto y compañía en esta faceta de mi vida.

A mi hijo e hija Elías y Emily, que todos los días me alientan, a ser un mejor padre, amigo y persona. Inspirándome a mantenerme siempre fuerte y luchar por mis objetivos.

A mis hermanos Edilberto, Edhison, Estifen, Emanuel y Ever, por su apoyo incondicional.

A todas esas personas que apostaron y creyeron en mí brindándome apoyo incondicional en momentos críticos de la carrera.

A mi querida e invaluable abuelita Albina Valdez, que nos ha dejado, yéndose al más allá sin embargo vivirá siempre en nuestros corazones.

A mí orientador Prof. PhD. Marcos Ferreira, por su ayuda y paciencia.

A mis queridos compañeros Cristhian, Cesar, Gregorio, Mario, Jorge y compañeras, Daysi, Nathalia, Rilsis, Rocio, Elaine. Gracias.

A todos los Profesores, cuerpo docente de esta prestigiosa Institución por sus enseñanzas y apoyo para mi formación.

A todos los amigos, compañeros y colegas que a lo largo de estos años han hecho esta pasantía más amena y agradable.

DETECCIÓN DE LA *Helicoverpa armigera* EN EL DEPARTAMENTO DE AMAMBAY; EN LOS CULTIVOS DE SOJA Y MAIZ.

Autor: Enson Gusman Sosa

Orientador: Prof. PhD. Marcos A. Ferreira

RESUMEN

La *Helicoverpa armigera* (Noctuidae: Heliiothinae) es una plaga polífaga y cosmopolita que se distribuye por América del Sur. El objetivo de esta investigación fue identificar mediante técnica molecular la presencia de la *H. armigera* en la región del Amambay, Paraguay. Se instalaron trampas tipo delta con feromona sexual distribuidas en las localidades de Pedro Juan Caballero, Zanja Pytã, Capitán Bado, Karapaí y Bella Vista Norte en cultivos de soja zafra 2016/2017. Se utilizó paño de muestreo para colecta de orugas. Los especímenes colectadas fueron seleccionados mediante caracteres morfológicos externos, individualizados en frascos etiquetados con alcohol puro. Para identificación por análisis molecular se remitieron 24 muestras al laboratorio de Ecología Molecular de Artrópodos, ESALQ/USP. Se identificaron diez especímenes de *H. armigera* provenientes del municipio de Pedro Juan Caballero localidad de Mafussi y Zanja Pytã. Otros diez especímenes se identificaron como *H. zea* provenientes de Cerro Coraí, Capitán Bado, Cerro Kuatia y Karapaí. Las cuatro muestras restantes no amplificaron.

Palabras claves: *H. armigera*, feromona, trampa tipo delta, identificación molecular

Helicoverpa armigera NO DEPARTAMENTO DE AMAMBAY;
NAS CULTURAS DE SOJA E MILHO.

Autor: Enson Gusman Sosa
Orientador: Prof. PhD Marcos A. Ferreira

RESUMO

A *Helicoverpa armigera* (Noctuidae: Heliothinae) é uma praga polifagosa e cosmopolita que é distribuída em toda a América do Sul. O objetivo desta investigação foi identificar por técnica molecular a presença de *H. armigera* na região de Amambay, Paraguai. As armadilhas delta delta com feromônio sexual foram instaladas nas cidades de Pedro Juan Caballero, Zanja Pytã, Capitão Bado, Karapa'i e Bella Vista Norte na colheita de soja 2016/2017. O pano de amostragem foi usado para coletar lagartas. Os espécimes coletados foram selecionados por caracteres morfológicos externos, individualizados em garrafas com álcool puro. Para identificação por análise molecular, foram enviadas 24 amostras ao laboratório de Ecologia Molecular de Artrópodes, ESALQ / USP. Foram identificados dez espécimes de *H. armigera* do município de Pedro Juan Caballero, Mafussi e Zanja Pytã. Outros dez espécimes foram identificados como *H. zea* de Cerro Cora'i, Capitán Bado, Cerro Kuatia e Karapa'i. As quatroamostras restantes nãoamplificaram.

Palavras chaves: *H. armigera*, feromona, armadilha tipo delta, identificação molecular

Helicoverpa armigera DETECTION IN SOYBEAN AND CORN
CROPS OF AMAMBAY DEPARTMENT PARAGUAY

Author: Enson Gusman Sosa
Advisor: Prof. PhD. MARCOS A. FERREIRA.

SUMMARY

The *Helicoverpa armigera* (Noctuidae: Heliothinae) is a polyphagous pest and cosmopolitan distributed throughout South America. The objective of this research was to identify the presence of *H. armigera* in Amambay region, Paraguay, by molecular technique. Delta traps with sexual pheromone were installed and distributed in Pedro Juan Caballero, Zanja Pytã, Capitán Bado, Karapa'i and Bella Vista Norte localities in soybean crop 2016/2017. Sampling cloth was used for collecting caterpillar. The collected specimens were selected by external morphological characters, individualized in flasks labeled with pure alcohol. For identification by molecular analysis 24 samples were sent to the laboratory of Molecular Ecology of Arthropods, ESALQ / USP. Ten specimens of *H. armigera* were identified from Fortuna and Zanja Pytã. Ten other specimens were identified as *H. zea* from Cerro Cora'i, Captain Bado, Cerro Kuatia and Karapa'i. The remaining four samples did not amplify.

Keywords: *H. armigera*, pheromone, delta trap, molecular identification.

INDICE

	Páginas
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Ocurrencia y Distribución de la <i>Helicoverpa armígera</i>	3
2.2. Producción Agrícola Nacional	3
2.2.1. Producción Departamental de soja y maíz.....	4
2.2.2 Soja y Maíz transgénica con toxina de <i>Bacillus thuringiensis</i>	4
2.3. Monitoreo de plagas agrícolas con feromonas sexuales	4
2.3.1.Armadilla tipo delta con Feromona Iscalure	5
2.4. Identificación Molecular y Morfológica de la <i>H. armígera</i>	5
3. MATERIALES Y METODOS	4
3.1. Localización de la Investigación	4
3.2. Población de unidades y variables de medición	4
3.2.1.Las variables a ser estudiadas son:	4
3.3. Diseño para la recolección de datos primarios.....	10
3.3.1.Colecta y selección de especímenes del genero <i>Helicoverpa</i>	10
3.3.2.Campo.....	10
3.3.3.Laboratorio	10
3.3.4.Identificación por técnica molecular	10
3.4. Recursos materiales y equipo técnico.....	11
3.5. Descripción del proceso de recolección de datos primarios	11
3.6. Métodos de control y calidad de datos	12
3.7. Método de análisis e interpretación de los datos.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	13
4.1. Verificar ocurrencia o no de la <i>Helicoverpa armigera</i> en el Departamento de Amambay	13
4.2. Identificación por técnica molecular y localidades de distribución de la <i>Helicoverpa armigera</i>	14

5. CONCLUSIONES	18
6. RECOMENDACIONES	19
7. ANEXOS.....	20
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	24

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Figura1. CIdentificación por técnica molecular cadena de reacción de polimerasa PCR	5
Figura2. Contraste de genitales de <i>H. zea</i> imagen izquierdo e <i>H. armigera</i>	6
Figura3. Diseño esquemático ilustrando la presencia de tubérculos oscuros en el primer y segundo segmento abdominal de <i>Helicoverpa</i> , caracterizando o formato cela (protuberancia redonda y lisa).....	7
Figura4. Conversor de coordenadas utilizada disponible en línea: http://www.atlascajamarca.info/conversor/	12
Tabla1. Distribución de las armadillas en el departamento de Amambay	11
Tabla 2. Ocurrencia de <i>Helicoverpa armigera</i> y <i>Helicoverpa zea</i> en cultivos de soja y maíz en los distritos y localidades del departamento de Amambay Identificadas por análisis molecular.....	13

1. INTRODUCCIÓN

Helicoverpa armígera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) es una especie altamente polífaga, está reportada en más de 180 cultivos, tiene alta movilidad, alta fecundidad y diapausa facultativa que le permite sobrevivir en hábitats inestables y adaptarse a los cambios estacionales ocasionando daño en el estado de oruga al alimentarse de hojas, tallos, brotes, inflorescencias, frutos y vainas de sus plantas hospedantes (SENASICA 2014).

La ocurrencia de esta especie fue registrada en América del Sur en el 2013 inicialmente en Brasil en los Estados de Goiás y Bahía en soja y Mato Grosso, en algodón. Posteriormente registraron su ocurrencia en el Distrito Federal, Paraná, Rio Grande do Sul y en el municipio de Lagoa Vermelha también en los cultivos de soja, En Paraguay fue relatada por el SENA VE en el año 2013 departamento de Itapuá (Castiglioni et al. 2016).

Esta plaga es muy conocida debido a la diversidad de hospederos a la que se puede adaptar, no obstante estudios demuestran que tiene preferencias alimenticias por plantas de soja y maíz debido al alto contenido de proteínas la cual acelera el proceso biológico de la plaga para su reproducción y proliferación (Gächter 2015).

Los cultivos de importancia económica en el Paraguay son: maíz *Zea mays*, soja *Glycine max*, Trigo *Triticum sp*, arroz *Oryza sativa*, maní *Arachishypogaea*, tabaco *Nicotiana tabacum*, girasol *Helianthusannuus*, ka'a he'ê *Stevia rebaudiana*, mandioca *Manihot sculenta*, caña de azúcar *Saccharum officinarum*, productos fruti-hortícolas y en el Amambay se destacan la soja y maíz que consecuentemente son los cultivos más preferidos por la (*Helicoverpa armígera*) según varios entendidos en el área.

La preocupación es que esta plaga ataca los principales rubros de sustento económico de nuestro país pudiendo causar daños significativos y pérdidas económicas a los productores; es por ello que su presencia es una amenaza preocupante y existe la necesidad de saber si esta plaga ocurre y que nivel de infestación se encuentra, así también cuál es su distribución en el Departamento de Amambay.

Es por ello que con el presente proyecto busca obtener datos precisos sobre la presencia de la plaga en el Departamento del Amambay de esta manera para poder estudiar su de biología y modo de control. Además generar informaciones fidedignas para los productores e interesados de la región.

El objetivo de esta investigación es verificar la ocurrencia de la *Helicoverpa armígera* en el Departamento de Amambay, identificar mediante técnica molecular y determinar.por localidad la ocurrencia de *Helicoverpa armígera*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Ocurrencia y Distribución de la *Helicoverpa armígera*

Helicoverpa armígera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) se ha distribuido ampliamente en todo el mundo, siendo registrada prácticamente en toda Europa, Asia, África, Australia y Oceanía. En las Américas, esta plaga no se detectó hasta mediados del año 2013, su primera ocurrencia oficial fue en el Brasil en distintas regiones agrícolas principalmente en los estados de Paraná y Mato Grosso do sul (EMBRAPA 2013).

En Brasil, esta plaga confirmó su aparición en cultivares de soja *Glycine max* y algodón *Gossypiumhirsutum* se observó en los estados de Goiás, Mato Grosso y Bahía, respectivamente. El Paraguay en el mismo año informa la ocurrencia de esta plaga en cultivo de soja mediante Actividades de Vigilancia fitosanitaria, de la Dirección de Protección Vegetal del SENAVE en la localidad de Cantina Cué Alto Paraná (Pratissoli et al. 2015).

Sin embargo no se ha confirmado del todo la presencia de esta plaga ya que para la misma es necesario recurrir a pruebas específicas de identificación como PCR o la de morfológica distinción de órganos genitales

2.2. Producción Agrícola Nacional

Los principales rubros agrícolas de producción nacional son las siguientes: soja 3.080.000 has de superficie sembrada, maíz 1.030.000has, Caña de azúcar 116.000has, mandioca 175.000has, trigo 550.000has, arroz con riego 98.000 has, girasol 55.000has, maní 25.000has, sésamo 50.000has, tártago 5.500has, tabaco 2.500has, ka´a he´ê 2.500has; además se puede agregar la producción fruti-hortícola en escala familiar enfocado para el autoconsumo (Aquino 2014).

2.2.1. Producción Departamental de soja y maíz

En el Amambay la producción de soja en la campaña 2013/2014 fue de 159.032 has de superficie sembrada y en la campaña 2014/2015 169.628 has teniendo un incremento de 6.24%; en cuanto al maíz 37.499 has y 38.818 has con un leve incremento de 3.39% la tendencia es de seguir aumentando en superficie y productividad no obstante este último sigue siendo una limitante debido a diversos factores en el sistema de producción (INBIO 2015)

Aunque actualmente se menciona un nuevo record de producción en la zafra 2016/2017 debido a la introducción del evento Bt en la agricultura paraguaya de esta manera contribuye ferozmente a la economía nacional (CAPECO 2016).

2.2.2 Soja y Maíz transgénica con toxina de *Bacillus thuringiensis*

Los cultivos genéticamente modificados resistentes a insectos con toxina de la bacteria *Bacillus thuringiensis* Bt. Estos cultivos se caracterizan por expresar genes que codifican la expresión de proteínas que tienen acción insecticida en contra de algunos insectos, con un modo de acción único y altamente específico. Causan la muerte del insecto luego de adherirse a un receptor específico en las células intestinales y desencadenar una serie de procesos que terminan provocando la muerte de la plaga (Szwarc et al. 2016).

2.3. Monitoreo de plagas agrícolas con feromonas sexuales

La aplicación más extendida de feromonas sexuales consiste en su uso para detección y monitoreo de insectos plaga. Las trampas de feromonas son lo suficientemente sensibles y específicas para detectar bajas densidades de una especie. Esto posibilita la detección de especies invasoras que puedan considerarse plagas cuarentenarias, el seguimiento de una especie exótica ya establecida, así como el éxito en la introducción de una especie benéfica (Altesor et al. 2015).

Estas feromonas ha generado gran interés en ser utilizadas como herramienta de control y monitoreo dentro de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), que combinado con métodos de control biológico pueden coadyuvar a disminuir el uso y las aplicaciones de plaguicidas. Cabe destacar que las feromonas

son de bajo impacto ambiental, y que tienen además la particularidad de no generar resistencia en las poblaciones de insectos plaga (Hernández 2015).

2.3.1. Armadilla tipo delta con Feromona Iscalure

ISCALure *armigera* se utiliza para atraer polillas de *H. armigera* es una trampa Delta plástico con feromona sintética específica en este caso, sólo atrae machos de (*Helicoverpa armigera*). Para ello utilizar al menos una trampa cada 10 hectáreas, instalado a 1,5 m de altura promedio (nunca por debajo de la copa de la planta). Renovar los septos de goma cada 30 días, y los fondos adhesivos una vez observado que la adhesividad es reducida (ISCA tecnología 2013)

2.4. Identificación Molecular y Morfológica de la *H. armigera*

Reacción en Cadena de Polimerasa conocida como (PCR), es una técnica de biología molecular desarrollada en 1987 por KaryMullis cuyo objetivo es obtener un fragmento de copias de ADN, mediante esta tecnología es posible distinguir las especies de *Helicoverpa* con mayor precisión, rapidez y prácticamente sin errores además de ser una técnica altamente sensible permite obtener resultados de insectos en estado avanzado de degradación (Queiroz et al. 2013).

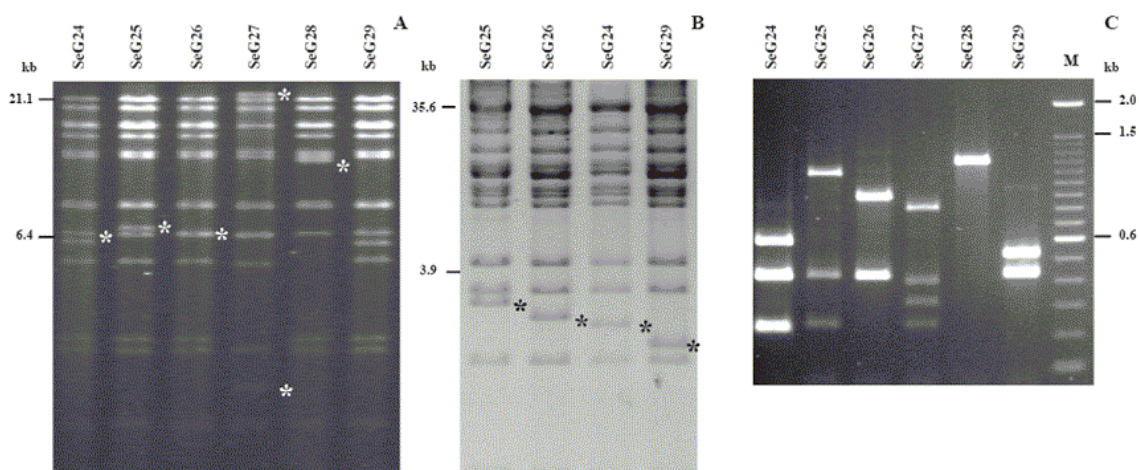


Figura1. Identificación por técnica molecular cadena de reacción de polimerasa PCR

Fuente: Revista de Entomología Colombiana Scielo.

Para la identificación morfológica de orugas son necesarios algunos criterios específicos ya que a simple vista es imposible diferenciar las especies. *H. zea* y *H. armigera* además presentan similitud con *Heliothis* Género tiene rasgos característicos idénticos a los demás géneros mencionados diferenciándose únicamente por la protuberancia velluda y con cerdas alargadas en el primer y octavo segmento del abdomen *Heliothis* la de *Helicoverpa* es lisa sin pelos única característica diferencial, puede ser observado con una lupa a campo o heteroscopio en laboratorio (Azambuja 2016).

Otra técnica utilizada es el contraste de genitales de los machos como se puede apreciar en la figura 1. *H. zea* (izquierda) y *H. armigera* (derecha). La diferencia se produce por el número de lobos en la vejiga (canal eyaculador que es parte del pene del macho) de las dos especies (Pitta et al. 2015)



Figura2. Contraste de genitales de *H. zea* imagen izquierdo e *H. armigera*

Fuente: Revista de Pesquisa agropecuaria Embrapa

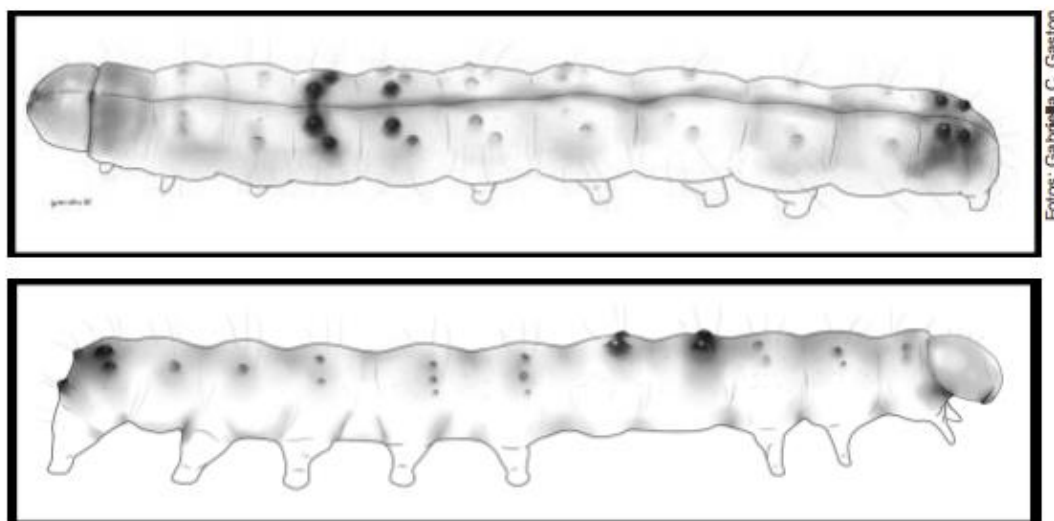


Figura3. Diseño esquemático ilustrando la presencia de tubérculos oscuros en el primer y segundo segmento abdominal de *Helicoverpa*, caracterizando o formato celda (protuberancia redonda y lisa)

Fuente: Circular técnica Embrapa Dourados MS

2.5. Daños que causan a las plantas la *H. armigera*

Las voraces orugas de *H. armigera* pueden alimentarse de hojas y tallos, pero muestran una fuerte preferencia por los órganos reproductivos, como brotes, inflorescencias, bayas, vainas, cápsulas (Azambuja 2016)

Perforan en estas partes, dejando agujeros grandes y redondos. Las larvas más viejas a menudo ingresan al tejido de la planta únicamente con la parte anterior de sus cuerpos. Los estadios jóvenes, sin embargo, pueden desaparecer completamente en el interior, por lo que a veces no se descubren antes de procesar el producto (por ejemplo, tomates). Las infecciones secundarias por hongos y bacterias son muy comunes y conducen a la putrefacción de las frutas (Embrapa 2013, Leite *et al.*, 2014)

El daño a las puntas de crecimiento perturba el desarrollo normal de la planta; la madurez puede retrasarse y las frutas a menudo se eliminan. Así que en el algodón, por ejemplo, las flores atacadas frecuentemente se abren prematuramente y

se quedan sin fruto: cuando las cápsulas se dañan, algunas se caen, y las que permanecen no producen pelusa por completo o producen pelusa de calidad inferior (De Grande *et al.* 2013)

En cultivos de soja los daños pueden ser hasta pérdidas totales, pudiendo atacar a las plantas en el estado vegetativo como así también en el estado reproductivo; en la fase vegetativa puede atacar a partir de la emergencia de las plántulas consumiendo los cotiledones o falsas hojas. En la etapa reproductiva tiene preferencia por las inflorescencias y vainas tiernas, sin embargo si carece de alimento consume los granos en estado de maduración.

Cultivos de importancia económica para Brasil como maíz, algodón, soja (*Glycine max*(Merida), frijol común (*Phaseolusvulgaris L.*), frijol caupi (*Vignaunguiculata L.*),(*Pennisetumglaucum L.*), sorgo y tomate están entre los cultivos más atacados por *H. armigera* en los últimos años (Specht *et al.* 2013;Pratissoli *et al.* 2015). En el Oeste Baiano estas orugas atacaron los cultivos de algodón,causando pérdidas de hasta un 80% de la producción, daños severos y dificultades de manejo, se demuestran en ese país por no tener productos registrados para su control (Cpezak *et al.*2013)

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización de la Investigación

La investigación del tipo no experimental fue realizado en el Departamento de Amambay en los distritos de: Pedro Juan Caballero; Bella Vista Norte; Zanja Pytã; Capitán Bado y Karapa'i. ubicada en la Región Norte del país entre las coordenada geográficas 22°34'00''S 55°43'00''W.

3.2. Población de unidades y variables de medición

La población en estudio fueron Lepidópteros del Genero *Helicoverpa* y especie *armígera* para detectar la ocurrencia y distribución en el Departamento de Amambay. Se montaron 30 trampas tipo delta con feromona sexual e utilización de paño de muestreo para colecta de orugas y que posteriormente fueron enviadas al laboratorio en tubos de ensayos con alcohol 100%, individualizado y rotulado (localidad, fecha de colecta, cultivo, hospedero) para su identificación molecular

3.2.1. Las variables a ser estudiadas son:

Ocurrencia o no de *Helicoverpa armígera* (variable categórica dicotómica): la ocurrencia fue determinada con el uso de trampas tipo delta con feromona sexual (Isca lure) y paño de muestreo (orugas) en cultivo de soja y maíz Transgénico con la toxina de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) siendo los cultivares Intacta-pro y maíz Bt PRO-2.

Identificación por técnica molecular reacción de cadena de polimerasa PRC(variable dicotómica nominal): las muestras colectadas fueron acondicionadas y enviadas al Laboratorio de Ecología Molecular de Artrópodos del Departamento

Entomología de la Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP – Piracicaba/SP/Brasil, donde se procedió a la extracción de ADN e identificación.

Localidad de ocurrencia (variable categórica nominal): se determinó de acuerdo a las muestras colectadas y resultados de PCR que posteriormente fueron sometidos en un programa de Geoestadística para su referenciación y mapeo.

3.3. Diseño para la recolección de datos primarios

3.3.1. Colecta y selección de especímenes del género *Helicoverpa*.

3.3.2. Campo

La investigación no experimental conto con 30 trampas distribuidas en los distritos de Pedro Juan Caballero: Chirigüelo, Yvype, Colonia 204, Lorito Picada, Cerro Cora'í uno y dos, Fortuna (Mafussi), Colonia Santa Clara, Colonia María Auxiliadora, Potrero Sur, 15 de Agosto. Mientras tanto para Bella Vista: Cruce Bella Vista, Duarte Cue uno y dos; Zanja Pytã: Fortuna segunda zona, tercera zona, Yvyju Rincón de Julio, Callejón Santa María y Zanja Pytã. Capitán Bado: Cerro 21, Nova Virginia, Cerro Kuatia uno y dos, Nova Yau, Capitán Bado (Mariscal López uno y dos). Karapa'í: Oro Verde, Piray y Estancia Meno.

Cada treinta días fueron hechas las recolecciones de los datos, cambiando los pisos y septos de goma que contiene la feromona sexual Isca Lure, los pisos retirados fueron llevados al laboratorio

3.3.3. Laboratorio

En el laboratorio de Protección vegetal de Entomología se procedió a la verificación de las muestras e individualización de los lepidópteros mediante técnica descriptivas y características morfológicas para imagos correspondientes al género *Helicoverpa* (Azambuja 2016), sometidas en frascos con alcohol puro.

3.3.4. Identificación por técnica molecular

Para identificación por análisis molecular se remitieron 24 muestras al laboratorio de Ecología Molecular de Artrópodos, ESALQ/USP cuyos resultados fueron remitidos después de 60 días

Tabla 1 Distribución de las armadillas en el departamento de Amambay

Distritos	Cantidad de armadillas
Pedro Juan Caballero	11
Zanja Pytã	6
Capitán Bado	7
Karapa'í	3
Bella Vista	3

3.4. Recursos materiales y equipo técnico

Los recursos utilizados fueron trampas tipo delta, feromona sexual Iscalure armigera, pisos adhesivos, para realizar la instalación de las mismas fueron necesarios; Smartphone para marcar los puntos, martillo, clavo, alambre dulce, base fija, medios de transporte.

El equipo técnico está conformado por el comité asesor y miembros del proyecto de CONACYT 14-INV-115.

3.5. Descripción del proceso de recolección de datos primarios

Para levantamiento de los datos se realizaron monitoreos con frecuencia de cada treinta días, se procedió a la toma fotográfica de los pisos adhesivos y fueron cambiados los pisos y el septo de goma que contiene la feromona de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

En el laboratorio se procedió a la identificación de las especies según las características morfológicas, los datos se cargaron en una planilla digital Excel según la localidad con las coordenadas geográficas, fecha y cantidad de espécimen.

3.6. Métodos de control y calidad de datos

Para el control de calidad de los datos, fueron necesarios materiales de apoyo como anotadores y planilla electrónica a fin de evitar alteraciones que puedan comprometer calidad de los datos. Las muestras colectadas del campo fueron contabilizadas en el laboratorio y recopiladas en una planilla electrónica.

3.7. Método de análisis e interpretación de los datos

Las muestras de *Helicoverpa* remitidas al laboratorio de ESALQ/USP para su identificación molecular permitieron demostrar los puntos en donde confirmo la presencia de la *H. armigera* y *H. zea* con las localidades correspondientes. Para la interpretación de los ejemplares posterior al corte con la enzima de restricción (una banda: *H. zea*; dos Bandas: *H. armigera*).

Obtenido los resultados se realizaron las conversiones de coordenadas correspondientes de: (Coordenadas decimales a coordenada universal transversal de MercatorUTM) con un programa de conversor de unidades disponible en línea.

Conversor de coordenadas

Las coordenadas geográficas deben ser ingresadas y serán mostradas en grados decimales. Los números negativos indican longitudes de Oeste y latitudes de Sur. Las coordenadas UTM deben ser ingresadas y serán mostradas en metros. El modelo de elipsoide utilizado es el WGS84.

Geográficas		UTM
Longitud: <input type="text"/>	➔	X: <input type="text"/>
Latitud: <input type="text"/>	➜	Y: <input type="text"/>
		Zona: <input type="text"/>
		Hemisferio: <input type="radio"/> N <input checked="" type="radio"/> S

Figura4. Conversor de coordenadas utilizada disponible en línea:
<http://www.atlascajamarca.info/conversor/>

Una vez obtenida las coordenadas en UTM, fue sometido a un Programa de Información Geográfica (SIG); ArcgisMaps primeramente creando el mapa del departamento del Amambay con sus debidas distribuciones de trampas. Posteriormente resaltando los distritos en donde fueron detectadas la *H. armigera* y *H. zea*.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Verificar ocurrencia o no de la *Helicoverpa armigera* en el Departamento de Amambay

Se ha verificado a través de técnica molecular la ocurrencia de la *Helicoverpa armigera* en el departamento de Amambay, específicamente en los distritos de Pedro Juan Caballero y Zanja Pytã en los cultivos de soja y maíz safra 2016/2017. (Figura1, Tabla2, Mapa1)

Tabla 2. Ocurrencia de *Helicoverpa armigera* y *Helicoverpa zea* en cultivos de soja y maíz en los distritos y localidades del departamento de Amambay identificadas por análisis molecular

Distritos	Localidades	Coordenadas (UTM) (X)(Y)		Cultivo/ Planta trampa	<i>Helicoverpa armigera</i>	<i>Helicoverpa zea</i>	No amplifico	Total
Pedro Juan Caballero	Cerro Kora'i	641643.474181751	7445518.38996839	<i>Zea mays</i>	-	4	3	7
	Fortuna Mafussi	626987.281281304	7498338.72942898	<i>Glycine max, Zea mays, Feromona</i>	2	-	-	2
Capitán Bado	Cerro kuatiá	641643.474181751	7445518.38996839	<i>Glycine max, Zea mays, Feromona</i>	-	2	-	2
Karapã'i	Karapã'i	630362.641874163	7410439.79899122	<i>Zea mays</i>	-	3	-	3
Zanja Pytã	Zanja Pytã	641036.207231745	7491406.83069569	<i>Glycine max, Feromona</i>	1	-	-	1
	Fortuna	627540.766368057	7497567.61012328	<i>Glycine max, Zea mays, Sorghumalepense, Feromona.</i>	7	1	1	9

En América del Sur, desde el año 2013 hubo informes de la ocurrencia de la *H. armigera* inicialmente en Brasil resultando en pérdidas económicas significativas en soja *Glycine max* L. Merrill, algodón *Gossypium hirsutum* L., maíz *Zea mays* L. y otros cultivos. Investigaciones brasileñas destacan a la *H. armigera* por su alta capacidad de adaptación, alimentación, aumento poblacional, distribución y desarrollo sobre diferentes especies hospederas. (Czepak et al., 2013a, Embrapa et al., 2013; Specht et al. 2013; Leite et al. 2014; Sosa-Gómez et al., 2015).

En Argentina, la *H. armigera* fue detectada por primera vez en la provincia de Tucumán (Murúa et al., 2014). Previamente, Chiarelli de Gahan y Touron (1954) reportaron su ocurrencia en ese país, pero claramente esta fue una identificación errónea según lo establecido por Hardwick (1965). Posteriormente en 2015, orugas de *H. armigera* fueron recolectadas de garbanzo en Rapelli, provincia de Santiago del Estero y adultos capturados con trampas de luz cerca de leguminosas y campos de algodón en las Breñas, provincia del Chaco, norte argentino. Además, se dispersó hacia el sur hasta el cinturón de maíz y soja argentina (Arneodo et al., 2015)

Estas informaciones corroboran la alta capacidad de migración de la *H. armigera*, en menos de cuatro años se ha distribuido desde el territorio Brasileño a la Argentina, Uruguay y Paraguay, debido a su facilidad de dispersión por las extensas áreas de soja y maíz cultivadas en el Cono Sur.

4.2. Identificación por técnica molecular y localidades de distribución de la *Helicoverpa armigera*

De las veinticuatro muestras sometidas al análisis y caracterización por técnicas moleculares, diez individuos fueron identificados como *H. armigera*, provenientes del municipio de Zanja Pytã (Localidad de Zanja Pytã (n=1), Fortuna (n=7) y Pedro Juan Caballero (Localidad de Mafussi n= 2). Otros diez individuos fueron identificados como *H. zea*, cuatro especímenes oriundos del municipio de Pedro Juan Caballero, localidad de Cerro Korá'i; tres del municipio de Karapa'i, y dos en el municipio de Zanja Pytã de la localidad Cerro Kwatia (Figura 1, Mapa 1). Por otro lado cuatro muestras no amplificaron. Estos resultados revelan la ocurrencia de la *H.*

armigera en cultivos de soja y maíz zafra 2016/2017 en los municipios del Departamento de Amambay.

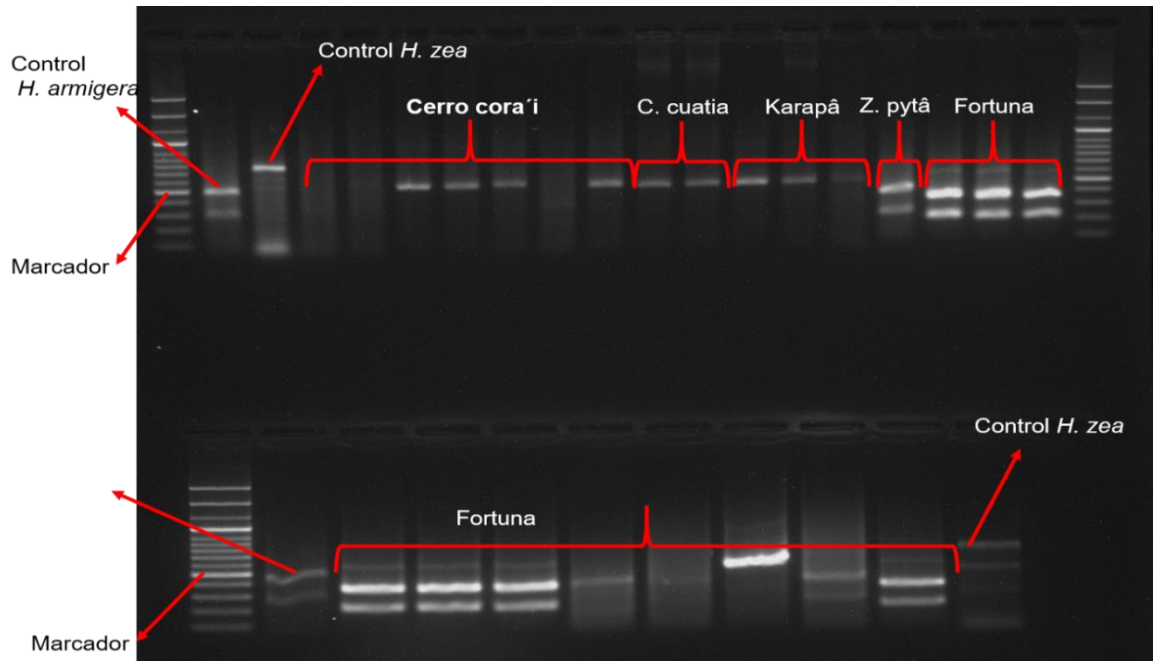
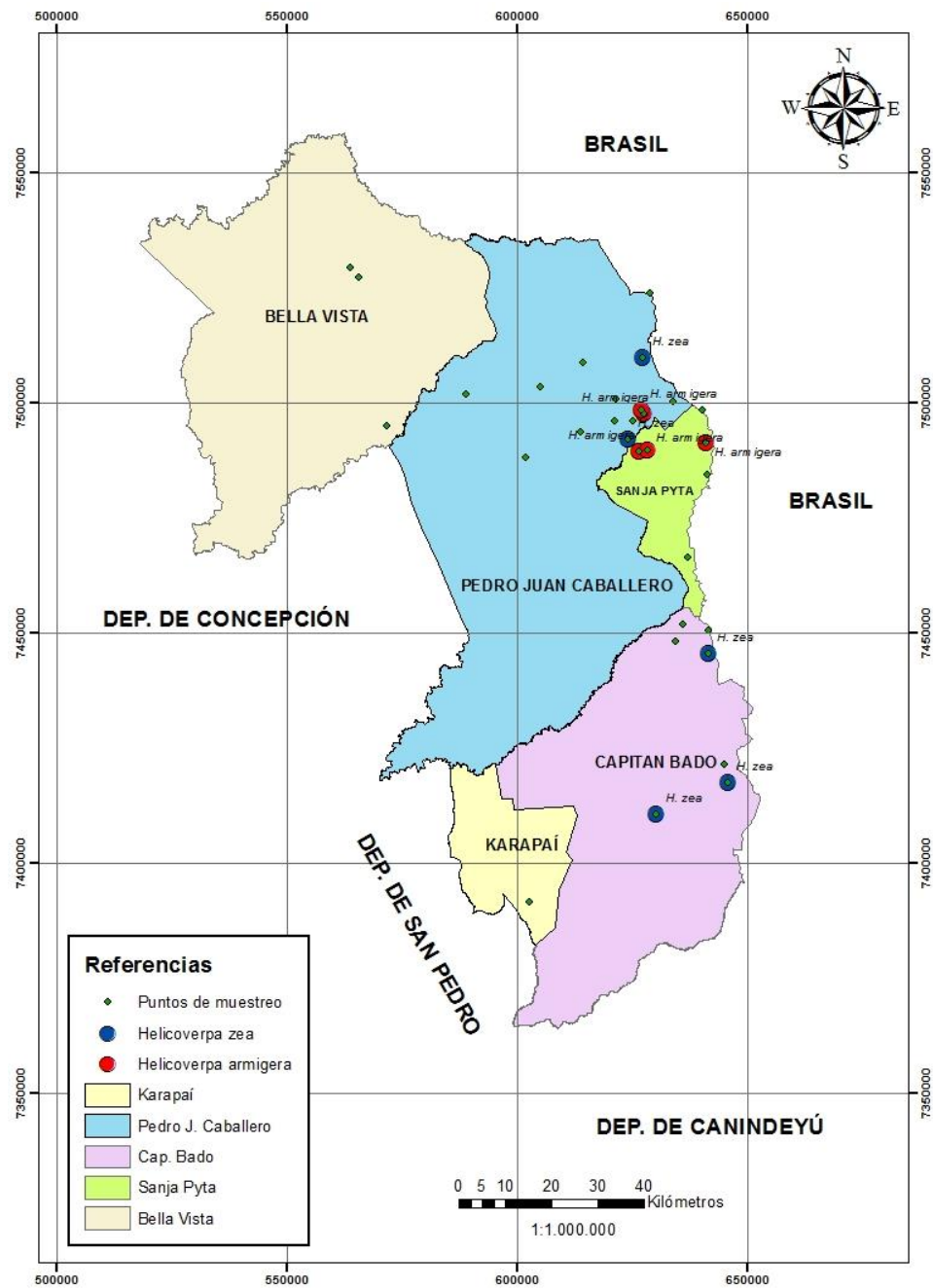


Figura 1. PCR-RFLP Gel de agarosa que caracteriza las bandas de los ejemplares posterior al corte con la enzima de restricción (una banda: *Helicoverpa zea*; dos Bandas: *Helicoverpa armigera*)

Debe considerarse que los locales de muestreos donde se han colectado especímenes de *H. armigera* están ubicadas próximas al límite fronterizo con Brasil (1 a 20 km). Tanto las localidades de Pedro Juan Caballero y Zanja Pyta lindan geográficamente con el estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, donde extensas áreas de soja y maíz forman un puente verde entre ambos países lo cual facilita la dispersión de la *H. armigera* por el territorio paraguayo desde el Brasil (Mapa 1). Teniendo en cuenta que esa plaga fue detectada por primera vez en el continente Americano en ese país (CZEPAK 2013)



Mapa1. Detección de la *Helicoverpa armigera* y *Helicoverpa zea* en soja y maíz zafrá 2016/2017 en los distritos del Departamento de Amambay

En Paraguay, el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE) 2013 informó su presencia en Cantina kué, departamento de Alto Paraná, en el cultivo de soja, sin embargo, utilizaron apenas características morfológicas externas sin realizar el análisis molecular del ADN para confirmar la especie.

En el Brasil la primera identificación morfológica y molecular fue realizada a partir de especímenes de *H. armigera* capturadas con trampas luminosas en cultivos de algodón, maíz y soja de los estados de Bahía, Distrito Federal, Mato Grosso y Paraná. La identificación morfológica se basó en los genitales masculinos y para el análisis molecular se amplificó la secuencia de los genes mitocondriales del citocromo B y de la región *cox1-tRNA^{Leu}-cox2*, posteriormente fueron depositadas en el GenBank (Embrapa 2013, Czepak *et al* 2013, Avila *et al* 2013).

La *H. armigera* se dispersó por el noreste y Centro-Oeste de Brasil, causando grandes pérdidas. Recientemente se confirmó por análisis molecular su presencia en el del Estado de Minas Gerais, Viçosa. Los insectos fueron colectados de cultivos convencionales y transgénicos de soja, algodón y maíz (Pinto *et al* 2017).

También el Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas (SINAVIMO), registraron la *H. armigera* en ocho provincias y 20 condados de Argentina, en los cultivos de soja, garbanzo, girasol y el cardo espumoso sin espinas *Carduus acanthoides*. Este es el primer reporte de *H. armigera* en girasol y cardo espinoso sin espinas en Argentina (Murúa *et al* 2016). En el mismo año también fueron identificados especímenes de *H. armigera* por caracterización molecular en Uruguay: Flores, Lavalleja, Cerro Largo y el departamento de Rocha (Castiglioni *et al*. 2016).

Investigaciones sobre distribución potencial de la invasión *H. armigera* en América del Norte demuestran que es una cuestión de tiempo debido a que la especie ya ha sido detectada en Argentina, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Puerto Rico, por la extensa producción de cultivos hospedadores, que facilitan su abundancia propensión para dispersarse en los sistemas eólicos, por lo que continuará extendiéndose más allá de América del Sur y Central (Kriticos *et al* 2015)

5. CONCLUSIONES

Se ha confirmado la ocurrencia de la *Helicoverpa armigera* en el departamento del Amambay en los cultivos de *G. max*, *Z. mays* y planta hospedera *S. halepense*.

Las muestras remitidas confirmaron la especie *H. armigera* y *H. zea* mediante técnica molecular en el laboratorio de ESALQ/USP.

Fueron detectados la *H. armigera* en el municipio de Pedro Juan Caballero localidad de Mafussi y municipio de Zanja Pytã localidad de Fortuna. También la *H. zea*, correspondientes al municipio de Pedro Juan Caballero, localidad de Cerro kora'í; Karapa'í, y municipio de Zanja Pytã de la localidad Cerro Kuatia

6. RECOMENDACIONES

Implementar el Manejo Integrado de Plagas (MIP) conjuntamente con los métodos de control químico para evitar la proliferación de esta plaga hacia los demás Departamentos.

Evitar plantas guachos de soja, maíz y maleza de sorgo de alepo en zafra de otros cultivos ya que estas pueden servir de hospederas.

Considerando su baja población en el Departamento del Amambay, no bajar la guardia ante esta plaga ya que puede causar daños significativos a los cultivos de principal ingreso económico al país.

Estudiar la distribución potencial de esta plaga hacia los demás departamentos del Paraguay.

7. ANEXOS

A1. Vista previa de equipos de trampas, feromonas y piso adhesivo



A2. Instalación de trampas con feromonas



A3. Primera trampa instalada a las adyacencias del cultivo



A4. Trampa instalada en colonia 204.



A5. Instalación de trampas cruce Bella Vista



A6. Colecta de orugas en cultivo de maíz colonia María Auxiliadora



A7. Monitoreo con paño de muestreo Callejón Santa María Zanja Pytã



A8. Preselección de orugas por técnica de diferenciación morfológica externa



A9. Recolección de pisos adhesivos



A10. Vista panorámica de insectos adheridos al piso



8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALTESOR P.; ROSSINI C.; GONZÁLEZ A.; 2015. Uso de feromonas para el monitoreo de *Epinotia aporema* (Lepidoptera: Tortricidae) : comportamiento reproductivo, respuesta de la antena del macho y prueba preliminar con trampas en campo: 1er. Congreso Latinoamericano de Etología Aplicada; Reunión Regional de la International Society for Applied Ethology América Latina, Montevideo, UY, 55p.
- AQUINO CAÑETE, M.G. MAG/DGP/UEA. 2014. Quinquenio 2009/2013: Serie Histórica por Departamento y por rubros agrícolas-pecuario. Asunción (PY). 61p.
- ARNEODO JD, BALBI EI, FLORES FM AND SCIOCCO-CAP A. 2015. Molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) in Argentina and development of a novel PCR-RFLP method for its rapid differentiation from *H. zea* and *H. gelotopoeon*. J. Econ. Entomol. 108: 2505-2510. <http://dx.doi.org/10.1093/jee/tov254>
- AVILA C J; VIVAN L M; TOMQUELSKI G V; 2013. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. ISSN 1517-4557. 12p.
- AZAMBUJA, R.; 2016. Bioecologia de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e Seu Controle Microbiano e Biotecnológico. Tesis (Dr. Biol.) Dourados, Br. Universidade Federal da Grande Dourados Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. 91p.
- BORGES E. M.; PEREIRA DA SILVA V.; BARBOSA PEREIRA M. J.; VIVAN L. M.; BLASSIOLI MORAES M. C.; LAUMANN R. A.; 2014. Monitoramento do percevejo marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) por feromônio sexual em lavoura de soja. Pesq. agropec. Bras., Brasília, v.49, n.11, p.844-852

- CASTIGLIONI E., PERINI C., CHIARAVALLE W., ARNEMANN J. A., UGALDE G., GUEDES J. V.; 2016. Primer registro de ocurrencia de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) en soja, en Uruguay. *Agrociencia Uruguay* Montevideo vol.20 no.1.
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.43, p.110-113, 2013. DOI: 10.1590/S1983-40632013000100015.
- CZEPAK C, VIVAN LM, ALBERNAZ KC. 2013b. Pragas da vez. *Cultivar* 167: 20-27.
- DEGRANDE PE, OMOTO C. 2013. Pragas: Estancar prejuízos. *Cultivar* 167:30-34.
- EMBRAPA; 2013. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. Dourados MS, BR. Editora eletrônica: Eliete do Nascimento Ferreira. 12 p.
- EMBRAPA. 2013. Ações emergenciais propostas pela Embrapa para o manejo integrado de *Helicoverpa* spp. em áreas agrícolas, Consultado el 01 de diciembre del 2017. Disponible en línea: <http://www.embrapa.br/alertahelicoverpa/ManejoHelicoverpa.pdf/view>
- FERREIRA AGÜERO M A. 2017. Profesor titular de la Catedra de Entomología Agrícola asistencia en aula. UNA/Facultad de Ciencias Agrarias. Filial Pedro Juan Caballero. PY
- GÄCHTER S., 2015. Preferencia de alimentación con diferentes hospederos bajo condiciones controladas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción. Campus Itapúa. Sede Hohenau. Itapúa. Py.
- HERNÁNDEZ A., 2015. El Uso de Feromonas para el Control de Plagas en Cultivos Extensivos. *Revista Agrícola INTAGRI*. Celaya, Guanajuato, MX.
- INBIO (Instituto de Biotecnología Agrícola). 2015. Estimación por Análisis Geo-Espacial de Cobertura del Cultivo de: Soja y Maíz en la Región Oriental del Paraguay. Asunción (PY). 26p.
- ISCA .2013. Ferramentas e Soluções para Manejo de Pragas (en línea). Ijuí - Rio Grande do Sul – BR Consultado 22 abril 2017. Disponible en: https://www.google.com.py/search?q=Armadilla+tipo+delta&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjvq6CMxjTAhXBfpAKHUzSAVkJ_AUIBigB&biw=1366&bih=643#tbm=isch&q=iscalure&imgrc=iRD0o3jpUVdVDM:&spf=387ecfhodoiohodhvolcodiojxo

- MURÚA M. G; SCALORA F S., NAVARRO F R., CAZADO L E, CASUZ A, VILLAGRÁN M. E, LOBOS E Y GASTAMINZA G. 2014. Primer registro de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) en Argentina. Rev. Florida Entomological Society. 97 (2): 854-856. AG. Tucumán.
- LEITE, A.; MAYO B.; PEIXOTO R.; PASCHOALIN, V.; DELGADO, S. Evaluación de la Diversidad microbiana de los granos de kéfir brasileños por PCR-DGGE y análisis pirosecuenciación. Alimentos 215-221p.
- PINTO F. A. MATTOS M V, SILVA F W. S. I, ROCHA S L. ELLIOT SIMON L. 2017. The Spread of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and Coexistence with *Helicoverpa zea* in Southeastern Brazil. Academic Editors: Andrew G. S. Cuthbertson and Archie K. Murchie. Department of Entomology, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Campus Universitário s/n, Viçosa, MG 36570-900, Brazil.
- PITTA, R. M.; CROSARIOL NETTO, J.; 2015. Riscos e oportunidades: lagartas Heliothinae. Pesq. agropec. bras., Brasília, BR. v.48, n.6, p.142-146
- PRATISSOLI, D.; LIMA, V.; PIROVANI, V.; LIMA, W; 2015. *Helicoverpa armigera* ocorrência de (Lepidoptera: Noctuidae) en el tomate en el estado de Espírito Santo, BR. vol.33 no.1
- QUEIROZ, P. R. M.; QUEIROZ, É. S. M.; SOARES, C. M.; SCOZ, L. B.; THOMAZONI, D.; SORIA, M. F.; MONNERAT, R. G. 2013. Identificação molecular de *Helicoverpa armigera*: tecnologia a serviço dos cotonicultores de Mato Grosso, BR. v. 43, n. 1, p. 110-113
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2014, Gusano de la Mazorca *Helicoverpa armigera* (Hübner) 1808 (Lepidoptera: Noctuidae) Mx, 23 p.
- SOSA-GÓMEZ D. R., SPECHT A.; LOPEZ-LIMA, A. 2016. Línea de tiempo y distribución geográfica de *H. armigera* (Hubner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) en Brasil. Revista Brasileira de Entomología. BR. V60. N°1. 101-104p.
- SPECHT A., SOSA-GÓMEZ D. R., VIEIRA S., MORAES P., CAVAGUCHI S. A., 2013. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.48, n.6, p.689-692p.
- KRITICOS D J., OTA N, HUTCHISON W D., BEDDOW J, WALSH T, TEK TAYW , BORCHERT D M., PAULA-MOREA S V., CZEPAK C, ZALUCKI M P. 2015. The Potential Distribution of Invading *Helicoverpa armigera* in North America: Is It Just a Matter of Time?. PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0119618

