UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TESIS DOCTORAL

Título
Evaluación y manejo de *Orius laevigatus, Anthocoris nemoralis* (Hemiptera: Anthocoridae), *Nesidiocoris tenuis y Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) como agentes de control biológico de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)
Autor/es
Miguel Aragón Sánchez
Director/es
Vicente Santiago Marco Mancebón y Ignacio Pérez Moreno
Facultad
Facultad de Ciencia y Tecnología
Titulación
Departamento
Agricultura y Alimentación
Curso Académico

Evaluación y manejo de *Orius laevigatus, Anthocoris nemoralis* (Hemiptera: Anthocoridae), *Nesidiocoris tenuis y Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) como agentes de control biológico de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), tesis doctoral de Miguel Aragón Sánchez, dirigida por Vicente Santiago Marco Mancebón y Ignacio Pérez Moreno (publicada por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© El autor
© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2017
publicaciones.unirioja.es
E-mail: publicaciones@unirioja.es

Universidad de La Rioja

Departamento de Agricultura y Alimentación

Evaluación y manejo de *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis* (Hemiptera: Anthocoridae), *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) como agentes de control biológico de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae).

Memoria presentada por

Miguel Aragón Sánchez

Para optar al grado de

Doctor por la Universidad de LA Rioja

Directores:

Vicente S. Marco Mancebón

Ignacio Pérez Moreno

2017

Universidad de La Rioja

Departamento de Agricultura y Alimentación

Evaluación y manejo de *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis* (Hemiptera: Anthocoridae), *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) como agentes de control biológico de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae).

Memoria presentada por **Miguel Aragón Sánchez**

Para optar al grado de Doctor por la Universidad de LA Rioja

Fdo.: Miguel Aragón Sánchez

V°B° del Director

V°B° del Director

Fdo.: Vicente S. Marco Mancebón

Fdo.: Ignacio Pérez Moreno

Índice

Resumen i

Capítulo 1. Introducción general. **1**

1.1 Manejo Integrado de Plagas 1
1.2 Control biológico 2
1.3 Spodoptera exigua 4
1.3.1 Posición taxonómica y distribución geográfica 4
1.3.2 Morfología y Biología 5
1.3.3 Plantas huésped y daños 8
1.3.4 Métodos de control utilizados contra *Spodoptera exigua* 9
Control cultural 9
Control físico 9
Control etológico 10
Control químico 12
Control biológico 12
1.4 Orius laevigatus 14
1.4.1 Posición taxonómica y distribución geográfica 14
1.4.2 Morfología y biología 15
1.4.3 Importancia en el control biológico de plagas 18
1.5 Anthocoris nemoralis 19
1.5.1 Posición taxonómica y distribución geográfica 19
1.5.2 Morfología y biología 20
1.5.3 Importancia en el control biológico de plagas 22
1.6 Nesidiocoris tenuis 23
1.6.1 Posición taxonómica y distribución geográfica 23
1.6.2 Morfología y biología 23
1.6.3 Importancia en el control biológico de plagas 26

1.7 Macrolophus pygmaeus 27
1.7.1 Posición taxonómica y distribución geográfica 27
1.7.2 Morfología y biología 28
1.7.3 Importancia en el control biológico de plagas 31

Capítulo 2. Objetivos. 32

Capítulo 3. Material y métodos generales. 33

3.1 Condiciones ambientales 34
3.2 Material biológico y su manejo 34
3.2.1 Cría masiva de *Spodoptera exigua* 34
3.2.2 Cría masiva de las especies de la familia Anthocoridae 36
3.2.3 Cría masiva de las especies de la familia Miridae 38
3.3 Metodología general para obtener los parámetros de las tablas de vida 39
3.3.1 Tablas de vida para las especies de la familia Anthocoridae 41
3.3.2 Tablas de vida para las especies de la familia Miridae 41
3.4 Análisis estadísticos 43

Capítulo 4. Capacidad depredadora y parámetros de las tablas de vida de *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* sobre huevos y larvas de *Spodoptera exigua*. 45

4.1. Introducción 45
4.2. Material y métodos 47
4.2.1. Capacidad de consumo de huevos de *Spodoptera exigua* 47
4.2.2. Capacidad de consumo de larvas de *Spodoptera exigua* 48
4.2.3. Tablas de vida sobre huevos de *Spodoptera exigua* 49

4.3. Resultados 50
4.3.1. Capacidad depredadora de *Orius laevigatus* 50
4.3.2. Capacidad depredadora de *Anthocoris nemoralis* 55
4.3.3. Capacidad depredadora de *Nesidiocoris tenuis* 59
4.3.4. Capacidad depredadora de *Macrolophus pygmaeus* 63
4.4. Discusión 66
4.5. Conclusiones 70

Capítulo 5. Evaluación del efecto de la interacción intragremial entre *Nesidiocoris tenuis, Orius laevigatus y Anthocoris nemoralis* sobre el consumo de huevos de *Spodoptera exigua* puestos en plantas de pimiento. 71

5.1. Introducción 71
5.2. Material y métodos 74
5.2.1. Material vegetal 74
5.2.2. Unidades experimentales 75
5.2.3. Bioensayos de interacción intragremial 75
5.2.4. Análisis estadístico 77
5.3. Resultados 78
5.3.1. Consumo de huevos de *Spodoptera exigua* en la interacción entre *Nesidiocoris tenuis* y *Orius laevigatus* 78
5.3.2. Consumo de huevos de Spodoptera exigua en la interacción entre *Nesidiocoris tenuis* y *Anthocoris nemoralis* 79
5.3.3. Consumo de huevos de *Spodoptera exigua* en la interacción entre *Anthocoris nemoralis* y *Orius laevigatus* 80
5.3.4. Mortalidad de los depredadores *Nesidiocoris tenuis*, *Orius laevigatus* y *Anthocoris nemoralis* en la interacción intragremial 81
5.4. Discusión 84
5.5. Conclusiones 87

Capítulo 6. Efecto por contacto residual de los fungicidas kresoxim-metil y trifloxistrobin sobre *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* en condiciones de laboratorio. 89

6.1. Introducción 89
6.2. Material y métodos 93
6.2.1. Productos fitosanitarios evaluados 93
6.2.2. Aplicación de los productos fitosanitarios 93
6.2.3. Unidades experimentales 95
6.2.4. Manejo de los depredadores 97
6.2.5. Análisis estadístico 98
6.3. Resultados 99
6.3.1. Efecto de los fungicidas Krexosim-metil y trifloxistrobin sobre Orius laevigatus 99
6.3.2. Efecto de los fungicidas Krexosim-metil y trifloxistrobin sobre *Anthocoris nemoralis* 103
6.3.3. Efecto de los fungicidas Krexosim-metil y trifloxistrobin sobre *Nesidiocoris tenuis* 106
6.3.4. Efecto de los fungicidas Krexosim-metil y trifloxistrobin sobre sobre *Macrolophus pygmaeus* 110
6.4. Discusión 111
6.5. Conclusiones 114

Capítulo 7. Bibliografía. 116

Resumen

Spodoptera exigua (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga cosmopolita, considerada con especie plaga en números cultivos, Actualmente uno de los principales métodos de control sobre este insecto es el químico, por lo que la búsqueda de diferentes herramientas para el control de esta plaga ha incrementado. En el contexto de Manejo Integrado de Plagas (IPM) se incluyen tanto prácticas como materiales que buscan ser amigables para el medio ambiente, dentro de este sistema se encuentra el Control Biológico (CB), donde se utilizan organismos vivos para disminuir las poblaciones de insectos plaga. El orden Hemiptera incluye especies depredadoras de importantes plagas agrícolas, de las que destacan las familias Anthocoridae y Miridae (Hemiptera) que incluyen diferentes especies reconocidas como agentes potenciales de control biológico de plagas (CB). Están presentes en todas las regiones zoogeográficas del mundo y son capaces de alimentarse de una amplia variedad de presas.

Dentro de la familia Anthocoridae se encuentra el depredador *Orius laevigatus* (Fieber, 1860), utilizado con éxito desde hace varios años en el CB del trips de las flores, *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) en diversos cultivos protegidos hortícolas y ornamentales. Y el depredador *Anthocoris nemoralis* (Fabricius, 1794) utilizado principalmente para el control de psílidos, sin embargo, puede alimentarse de numerosas especies de trips, pulgones, cochinillas, así como de huevos y pequeñas larvas de lepidópteros y ácaros. En la Familia Miridae se encuentran depredadores como *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895) que este depredador se utiliza en cultivos hortícolas, especialmente en tomate, para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), y de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechidae). Y el depredador *Macrolophus pygmaeus* (Reuter, 1839), siendo uno de los depredadores más importantes de *T. absoluta* en cultivo de tomate, sin embargo, se puede encontrar de forma natural en otros cultivos.

Hasta donde llega nuestro conocimiento, no se ha llevado a cabo ninguna investigación que haya evaluado potencial depredador de *S. exigua* por parte de *O. laevigatus*, *A. nemoralis*, *N. tenuis* y *M. pygmaeus*, por lo que en este trabajo se evalúa la capacidad depredadora de los estadios ninfales y de los adultos de estos cuatro depredadores sobre huevos y larvas de *S. exigua*, se determinan los parámetros biológicos y de la tabla de vida de estos depredadores cuando se alimentan de huevos de *S. exigua*. Por otra parte, se analiza el efecto de la interacción intragremial entre los depredadores *O. laevigatus, A. nemoralis* y *N. tenuis* sobre su propia mortalidad y sobre su capacidad de consumo de huevos de *S. exigua*. Así como evaluar los efectos secundarios de los fungicidas kresoxim-metil y trifloxistrobin sobre la mortalidad, los parámetros biológicos y los parámetros de la tabla de vida de *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus*, en condiciones de laboratorio.

Los resultados obtenidos en este trabajo fueron que todos los estadios ninfales y los adultos (machos y hembras) de los cuatro depredadores estudiados fueron capaces de depredar huevos de *S. exigua*. Solo las ninfas N5 y los adultos (machos y hembras) de los cuatro depredadores estudiados fueron capaces de consumir larvas de primer estadio de *S. exigua*. Por otra parte, solo adultos de *N. tenuis* fue capaz de depredar larvas de segundo estadio del noctuido. El tipo de dieta no presenta diferencias significativas en los calores de la Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) de los depredadores *O. laevigatus*, *A. nemoralis* y *N. tenuis,* a pesar de ello, algunos parámetros biológicos se veían ligeramente afectados por el tipo de presa.

Se establece una interacción intergremial positiva entre el depredador *N. tenuis* y el depredador *O. laevigatus* cuando la densidad de huevos de *S. exigua* es baja, por otra parte, se estima una interacción intergremial negativa entre estos dos depredadores al aumentar la densidad de huevos de *S. exigua*. Entre el depredador *N. tenuis* y el depredador *A. nemoralis* presentan un tipo de interacción intergremial negativa a una densidad de huevos de *S. exigua* baja, sin

embargo, en una densidad alta de huevos de *S. exigua*, la interacción intergremial entre los dos depredadores se vuelve neutra. En cuanto al tipo de interacción intergremial entre el depredador *A. nemoralis* y el depredador *O. laevigatus* se observa que es neutra, tanto para baja densidad de huevos de *S. exigua*, como para alta densidad de huevos de *S. exigua*. La mortalidad en el depredador *N. tenuis* aumenta al estar en interacción con otros depredadores, siendo la interacción con *A. nemoralis*, a baja densidad de huevos de *S. exigua*, la que presenta un mayor porcentaje de mortalidad para este mirido. De mismo modo, la mortalidad en el depredador *O. laevigatus* aumenta al estar en interacción con el depredador *A. nemoralis*, llegando a un porcentaje de mortalidad mayor cuando la densidad de presa es baja. La mayor mortalidad del depredador de *A. nemoralis*, se observa cuando la densidad de presa es baja, tanto para cuando se encuentra solamente este depredador como para cuando se establece las interacciones intergremiales con otros depredadores.

En condiciones de laboratorio, el kresoxim-metil se comporta como moderadamente tóxico (categoría de peligrosidad 3 de la OILB) sobre adultos de *O. laevigatus*, mientras que el trifloxistrobín es un producto inocuo (categoría 1). El trifloxistrobín redujo significativamente la tasa intrínseca de crecimiento de la población. El kresoxim-metil es un fungicida ligeramente tóxico (categoría 2 de la OILB) y reduce la tasa intrínseca de crecimiento de *A. nemoralis*, mientras que el trifloxistrobín es un producto inocuo (categoría 1 de la OILB), sin embargo, disminuye de forma muy significativa la tasa intrínseca de crecimiento de la población. En el caso de los adultos de *N. tenuis*, el kresoxim-metil es un producto ligeramente tóxico (categoría 2 de la OILB) y no influye sobre la tasa intrínseca de crecimiento de la población, por otra parte, el trifloxistrobín es un producto inocuo para los adultos de *N. tenuis* (categoría 1 de la OILB) y no altera la tasa intrínseca de crecimiento de la población. El kresoxim-metil y el trifloxistrobín se comportan como fungicidas moderadamente tóxicos (categoría de peligrosidad 3 de la OILB) sobre adultos de *M. pygmaeus*.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.

1.1. Manejo Integrado de Plagas

La agricultura convencional, tradicionalmente productivista y estrechamente relacionada con el monocultivo, ha traído consigo la aparición de una serie de problemas medioambientales y toxicológicos relacionados, entre otros aspectos, con el uso de plaguicidas para el control de insectos y ácaros plaga: aparición de resistencias, desarrollo de nuevas plagas y problemas ecotoxicológicos (Chandler *et al.,* 2011; Delgado, 2010; Köhler & Triebskorn, 2013; Zalom, 2010). Ante esta situación, la respuesta que se ha planteado para disminuir estos problemas y reducir al máximo el uso de productos químicos es el Manejo Integrada de Plagas (IPM), donde se considera como objetivo prioritario la obtención de productos de calidad, de manera rentable y sin producir daños en el medio ambiente (Viñuela, 2005).

Dentro del IPM se incluyen prácticas y materiales que son amigables con el entorno, por lo que Kogan (1998) lo define como “Un sistema de manejo que, en el contexto del ambiente asociado y la dinámica poblacional de la plaga, utiliza todas las técnicas y métodos disponibles y compatibles para mantener a la población en niveles por debajo de aquellos que causan daño económico”. Posteriormente, Kogan & Shenk (2002) sostienen que el IPM “es un sistema de apoyo a la toma de decisiones para la selección y el uso de tácticas, individuales o múltiples, para el control de plagas, las cuales se coordinan armoniosamente en una estrategia de manejo basada en un análisis de costos con relación a los beneficios, considerando los intereses e impactos sobre los productores, la sociedad y el ambiente”.

En la Unión Europea, la aplicación de los principios generales del IPM es obligatoria desde el 1 de enero de 2014, de acuerdo con la Directiva 2009/128/CE, de 21 de octubre de 2009. Esta Directiva se ha traspuesto en España a través de

dos Reales Decretos, uno de los cuales es RD1311/2012, de 14 de septiembre, por el que se establece el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios, que utiliza el término Gestión Integrada de Plagas y que tiene como principios generales los siguientes:

- Prevenir o disminuir las poblaciones de organismos nocivos mediante rotación de cultivos, técnicas de cultivo adecuadas, material de siembra o plantación certificada, variedades resistentes, equilibrio en el manejo del riego, prácticas de fertilización, limpieza de maquinaria.
- Anteponer los métodos biológicos, biotecnológicos, culturales, físicos y genéticos a los métodos químicos para el control de plagas y enfermedades.
- Vigilar a los organismos nocivos mediante métodos e instrumentos adecuados.
- Utilizar los umbrales de intervención antes de realizar los tratamientos fitosanitarios.
- Tener en cuenta la selectividad de los productos fitosanitarios, de forma tengan menores efectos secundarios, tanto para la salud humana, como para los organismos no diana y el medio ambiente
- Limitar el empleo de productos fitosanitarios por parte de los usuarios profesionales.
- Establecer estrategias para evitar la aparición de resistencias.
- Comprobar el éxito de las medidas fitosanitarias aplicadas.

Acorde con todo ello, el control bilógico debe convertirse en uno de los métodos preferentes de cara a su incorporación al IPM.

1.2. Control Biológico

De un modo general, el control biológico (CB) se puede definir como “la acción de los enemigos naturales (depredadores, parasitoides y entomopatógenos) para

mantener la población de otro organismo a densidades inferiores de las que tendría en su ausencia" (DeBeach, 1964; Urbaneja *et al.,* 2005a). De modo más concreto, el objetivo a conseguir es que las densidades de las poblaciones plaga se encuentren por debajo del nivel de daño económico (Jacas & Urbaneja, 2008). Hoy día, el CB es ya un método de control de plagas ampliamente utilizado en numerosos países y cultivos de todo el mundo (Gerling *et al*., 2001; Jacas & Urbaneja, 2008; Van Lenteren, 1995).

El CB se puede dividir en dos grandes grupos en función del tipo de enemigo natural utilizado. Así, se habla de lucha microbiológica, cuando se emplean organismos entomopatógenos (virus, bacterias, hongos, protozoos y nematodos, principalmente) y de lucha macrobiológica cuando se utilizan artrópodos depredadores y parasitoides (Viñuela, 2005).

De acuerdo con Eilenberg *et al*. (2001) y Bale *et al*. (2008), existen diversos tipos de CB:

- Clásico: también conocido como de importación, se utiliza principalmente contra plagas invasoras. Está basado en la importación y liberación de agentes de CB provenientes, normalmente, del lugar de origen de las plagas con el fin de que establezcan y las controlen a medio/largo plazo. Una vez introducido el enemigo natural, se aclimata y pasa a formar parte de la fauna natural de la región.
- Inundativo: consiste en la realización de liberaciones repetidas de cantidades elevadas del enemigo natural para un control eficiente de la plaga.
- Inoculativo: en este caso, se introduce el enemigo natural en cantidades más bajas, esperando que se multiplique en el cultivo y consiga un control de la plaga, durante un periodo largo, aunque no de forma permanente.

- Por conservación: se basa en manejar el agroecosistema para crear un ambiente favorable para los enemigos naturales, a la vez que se evitan prácticas que los perjudiquen. De este modo, aumenta su riqueza y abundancia en la zona de cultivo.

Cabe mencionar que la eficacia de este método dependerá, en gran medida, de las características de cada uno de los enemigos naturales implicados y de la correcta gestión que se haga respecto al agroecosistema. Actualmente, es muy frecuente que el uso del CB vaya acompañado del control químico (Garzón *et al*., 2015; Medina *et al*., 2008), por lo que resulta esencial una adecuada gestión de ambas herramientas (y otras, en su caso) dentro del IPM, sobre todo en lo que respecta a la consideración de los efectos secundarios de los productos fitosanitarios sobre los enemigos naturales.

1.3. *Spodoptera exigua*

1.3.1. Posición taxonómica y distribución geográfica

Según la Infraestructura Mundial de Información en Biodiversidad, la posición taxonómica de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) es la siguiente (GBIF, 2017a):

PHYLLUM: Arthropoda
CLASE: Insecta
ORDEN: Lepidoptera
SUBORDEN: Heteroneura
SUPERFAMILIA: Noctuoidea
FAMILIA: Noctuidae
SUBFAMILIA: Amphipyrinae
GÉNERO: *Spodoptera*
ESPECIE: *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808)

Los nombres vulgares de uso más generalizado son “gardama”, “rosquilla verde” y “gusano soldado de la remolacha” (Arroyo, 1995). Se trata de una especie cosmopolita, que se distribuye a lo largo de los cinco continentes (GBIF, 2017a; fig. 1).

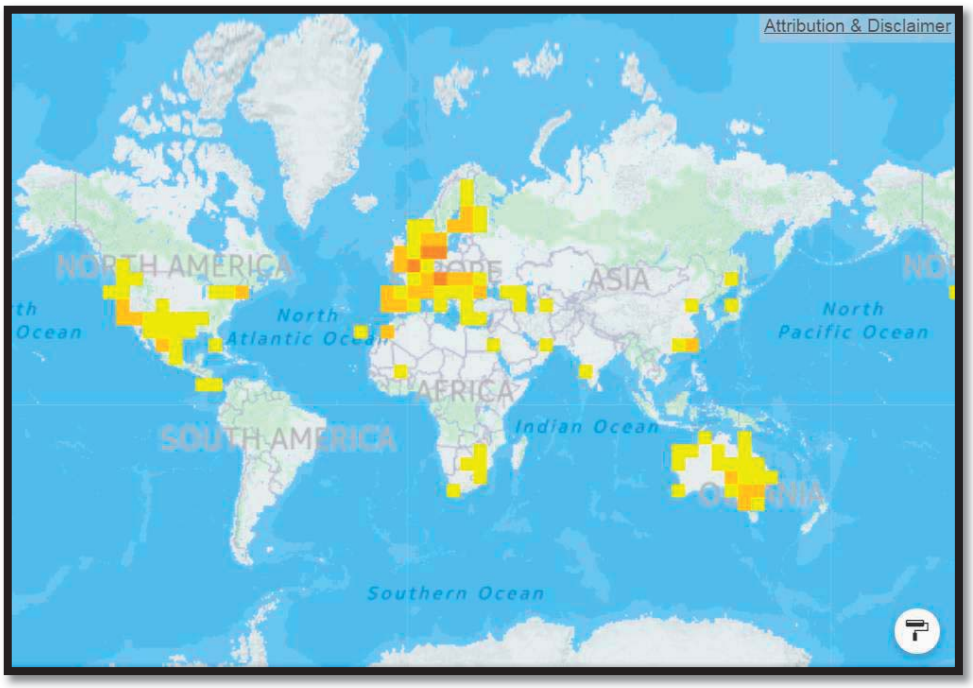

Figura 1. Distribución geográfica de *S. exigua* a nivel mundial (GBIF, 2017a).

1.3.2. Morfología y Biología

Los huevos de *S. exigua* son esféricos, con la base plana y estrías longitudinales, y miden entre 0,35 y 0,37 mm de diámetro. El color varía dependiendo de su edad. Recién puestos son de un color blanco amarillento que posteriormente cambia a verde claro y finalmente a marrón oscuro cuando la larva está próxima a emerger (Gómez de Aizpurúa, 1992; fig. 2a).

Las larvas pasan por cinco estadios. Son de color verde pálido o amarillo durante los primeros, pero conforme avanza su desarrollo, adquieren tonos más intensos y

poseen una franja lateral oscura (fig. 2b). Las larvas de último estadio (L5) son muy variables en su apariencia, tendiendo a ser verdes dorsalmente, de color rosado o amarillo ventralmente, con una franja blanca lateral y el cuerpo prácticamente desprovisto de pelos (Capinera, 1999). En su máximo desarrollo llegan a alcanzar hasta 3,6 cm de longitud (Caballero, 2004).

La pupa es de color café claro y mide aproximadamente 1 cm de longitud (Caballero, 2004; fig. 2c).

La envergadura de las polillas adultas es de 25 a 30 mm aproximadamente. Las alas anteriores son de color café grisáceo, con una mancha pálida en el margen medio frontal, y las alas posteriores son blancas con el margen anterior oscuro (Metcalf & Flint, 1988).

En regiones de clima templado, *S. exigua* permanece en estado de pupa durante el invierno. Sin embargo, puede encontrarse activa a lo largo de todo el año en lugares cálidos. La pupación tiene lugar en el suelo y, para ello, la L5 construye una cámara de arena mediante la adhesión de partículas del mismo con una secreción bucal que se endurece cuando se seca (Pérez-Montesbravo, 2006). La duración del estado de pupa es de 6 a 7 días en climas cálidos (Capinera, 1999). Al poco tiempo de emerger las polillas adultas tiene lugar la cópula. La oviposición comienza 2 a 3 días después de la misma, pudiendo durar hasta 7 días (Heppner, 1998). Una hembra adulta de *S. exigua* pone entre 300 y 600 huevos, aproximadamente, en el envés de las hojas, colocados en grupos de 50 a 150 y cubiertos por pelos y escamas de su cuerpo (Capinera, 2001; fig. 2d). El periodo de incubación oscila entre 2 y 5 días, en función de la temperatura. La larva se alimenta durante más o menos tres semanas (Metclaf & Flint, 1988). Como ya se ha dicho, pasa por cinco estadios larvarios, cuya duración, en condiciones óptimas de temperatura (24°C), es de 2,3; 2,2; 1,8; 1,0 y 3,1 días, respectivamente (Wilson, 1932).

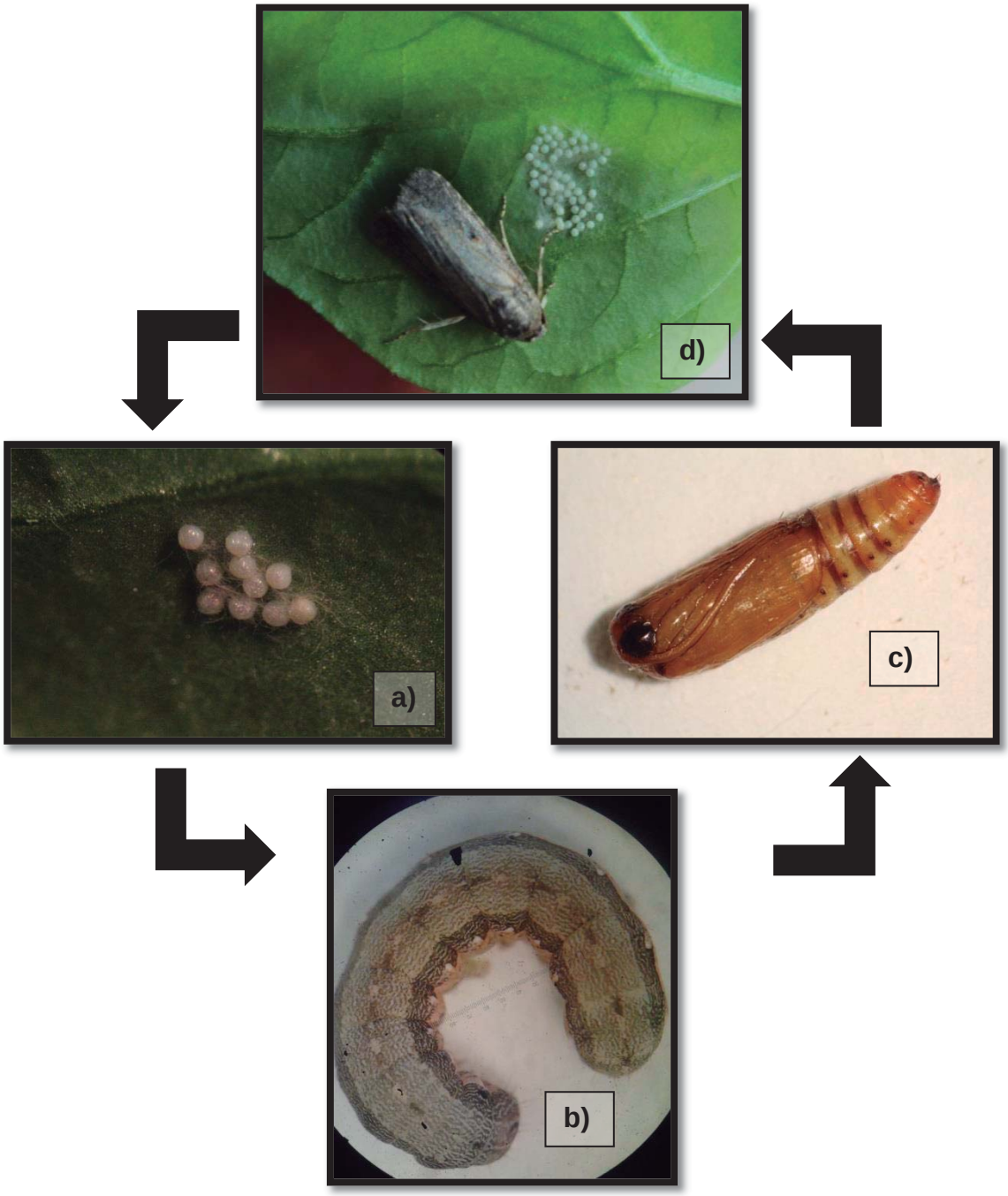

Figura 2. Estados de desarrollo de *S. exigua*: a) Huevo; b) Larva; c) Pupa; d) Adulto.

Su ciclo biológico se completa entre 24 y 36 días, según las condiciones de temperatura. Normalmente, en zonas cálidas tienen lugar cuatro generaciones al año (Caballero, 2004).

1.3.3. Plantas huésped y daños

Spodoptera exigua es una plaga que ataca a más de 35 especies cultivadas, por lo que es considerada como una de las más importantes a nivel mundial en hortalizas y otros cultivos (Viñuela *et al.*, 2000). Puede llegar a ser una plaga significativa en cultivos tan variados como alfalfa, algodón, amaranto, apio, brócoli, cebolla, col, coliflor, espárrago, espinaca, garbanzo, guisante, judía, lechuga, maíz, patata, pimienta, rábano, remolacha, soja, sorgo, tabaco, y tomate (Aragón & Tapia, 2009; Capinera, 1999; Ehler, 2007; Kornosor & Sterkay, 1999). Ataca también a cultivos de remolacha dulce, cítricos, girasol silvestre y haba (Metcalf & Flint, 1988). En las últimas décadas, se ha convertido en una de las plagas más importantes en los cultivos de pimiento en invernaderos del sudeste de España (Belda *et al*. 1994).

Las larvas de este insecto consumen las hojas, los tallos y, en algunos casos, las raíces y el fruto de las plantas atacadas. En ocasiones, aparece en grandes niveles poblacionales y puede afectar a grandes extensiones de cultivos (Metcalf & Flint, 1988). En los primeros estadios larvarios se alimenta de modo gregario de las hojas, dejando únicamente los nervios principales. A medida que van creciendo, las larvas se vuelven solitarias y al alimentarse dejan dan lugar a orificios irregulares en el follaje. A partir del tercer estadio es cuando más cantidad de alimento necesitan y mayores daños causan, siendo el quinto estadio el más dañino (Pérez *et al*., 2001). También son capaces de excavar galerías que llegan hasta el centro de los tallos y consumir tejidos conductores (East *et al*., 1989).

Las larvas de *S. exigua* también pueden provocar daños indirectos favoreciendo la aparición y el desarrollo de podredumbres en las plantas afectadas, bien debido a la interrupción que provocan en el flujo de savia, bien como consecuencia de los excrementos que generan, los cuales fermentan y pudren los tejidos con los que están en contacto, a la vez que se humedecen con el rocío de las mañanas.

Además, cuando las larvas afectan partes de la planta destinadas al consumo directo, éstas suelen ser desechadas (Gimeno, 2004).

1.3.4. Métodos de control utilizados contra *Spodoptera exigua*

Control cultural

El control cultural es uno de los métodos más antiguos y se basa en la alteración del ambiente con el propósito de perjudicar a la plaga. Prácticas como modificación de la fecha de siembra/plantación, elección de la densidad de plantación, manejo del agua, saneamiento del cultivo, preparación del suelo, rotación de cultivos, fertilización y empleo de cultivos mixtos, son algunos ejemplos importantes de este tipo de control (Ennis, 1979).

En el caso concreto de *S. exigua*, se pueden destacar las siguientes medidas culturales: la colocación de mallas que cubren las plantas para dificultar la llegada de los adultos y evitar, de este modo, la oviposición (Gimeno, 2004); la eliminación de las plantas atacadas; la eliminación directa de larvas en campo; la destrucción de los frutos infestados que quedan en el suelo después de la cosecha (Judd *et al.*, 1997), y el laboreo del suelo para exponer las pupas a enemigos naturales y a condiciones climáticas que pueden destruirlas (Metcalf & Flint, 1988).

Control físico

El control físico consiste en la utilización de agentes físicos, como temperatura, humedad, insolación, fotoperiodo o radiaciones electromagnéticas, a intensidades que resulten letales para la plaga. Este método se basa en el hecho de que las plagas sólo se desarrollan y sobreviven dentro de ciertos límites de intensidad de los factores físicos ambientales, de forma que, más allá de ellos, las condiciones a las que se ven expuestos resultan letales. Los límites varían según las especies y, para una misma especie, según su estado de desarrollo. Además, los límites de

cada factor varían en interacción con las intensidades de los otros factores ambientales y con el estado fisiológico de los individuos (Cisneros, 1995).

En campo, los factores físicos relativos al clima son difícilmente manipulables por el ser humano. En algunos casos, es posible hacer algunas variaciones mediante el manejo de la densidad del cultivo, la orientación de las líneas respecto al movimiento del sol o la utilización de sombra para ciertos cultivos como el café y el cacao. Algunos pueden ser incluidos dentro del control cultural, ya que son precisamente estas prácticas las que permiten dichas variaciones. El manejo de factores físicos del medio, como son la temperatura, humedad y radiaciones electromagnéticas, sólo es posible de una forma más eficiente en ambientes cerrados. Guimaraes *et al.* (1998), estudiaron la influencia de algunas condiciones ambientales sobre las larvas de *S. exigua*. Los resultados que obtuvieron mostraron que su mortalidad es mayor cuando son sometidas a temperaturas extremas, concretamente de 15 ºC y 35 ºC, y que, en condiciones favorables de temperatura (25 ºC), el insecto es menos susceptible al ataque de algunos patógenos, como el Virus de la Poliedrosis Nuclear de *Spodoptera exigua* (NPVSe).

Control etológico

La Etología es el estudio del comportamiento de los animales en relación con el ambiente. Por control etológico de plagas se entiende la utilización de métodos de represión que aprovechan las reacciones de comportamiento de las mismas. El comportamiento está determinado por la respuesta de los individuos a la presencia u ocurrencia de estímulos que son predominantemente de naturaleza química, aunque hay estímulos físicos y mecánicos. Cada especie tiene un comportamiento fijo ante un determinado estímulo. Así, una sustancia química presente en una planta puede provocar que los individuos de esa especie se sientan obligados a acercarse a ella, tratándose de una sustancia atrayente; o el efecto puede ser opuesto, tratándose de una sustancia repelente en este caso; también existen

substancias que estimulan la ingestión de alimentos y otras que disuaden de ello (Cisneros, 1995). Por otro lado, el comportamiento en el caso de los insectos está también muy determinado por sus reacciones a estímulos producidos para la comunicación entre individuos de la misma especie. Los mensajes que se envían y reciben pueden ser de atracción sexual, alarma, agregación, orientación, etc.

Desde el punto de vista práctico, las aplicaciones del control etológico incluyen la utilización de feromonas, atrayentes en trampas y cebos, repelentes, inhibidores de alimentación y substancias diversas que tienen efectos similares (Cisneros, 1995; Gimeno, 2004).

Un importante número de autores han estudiado el efecto larvicida y antialimentario de aceites esenciales sobre lepidópteros (Bathal *et al*., 1993; Isman *et al*., 2011; Larocque *et al*., 1999; Park *et al*. 1997; Romeu & Veitía, 2012), así como para retardar el desarrollo de las larvas (Marimuth *et al*., 1997) y como elemento disuasorio de la oviposición (Naumann & Isman, 1995).

Salas (2001) citó que, con el uso de trampas con agua y detergente, provistas de feromonas sexuales femeninas, para el control y seguimiento de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) en cultivo de maíz. Concluyó que los valores mayores de capturas se registran durante el periodo crítico del cultivo (segunda a séptima semana), por lo que esta técnica puede ser utilizada para la evaluación y control de las poblaciones de esta plaga.

Un ejemplo de control etológico en cultivo de cebolla frente a *S. exigua* fue el llevado a cabo por el Asian Vegetable Research and Development Center en Taiwán (AVRDC, 2001). Colocaron trampas pegajosas cebadas con feromona sexual del insecto a una distancia de 10 m del cultivo, para impedir que los adultos entraran contacto con la planta, observando una disminución de la población de la plaga en el cultivo, como consecuencia de esta práctica.

Control químico

La aplicación de insecticidas convencionales presenta ciertas ventajas en el control de plagas, especialmente para el productor: fácil acceso y uso, amplio espectro, acción rápida y, a veces, bajo costo. Sin embargo, el uso excesivo de estos compuestos acarrea también una serie de perjuicios (Bautista & Pineda, 1995). Así, la aplicación sistemática o mal programada de insecticidas induce la aparición de resistencias en los insectos y puede favorecer el aumento de sus poblaciones, de manera que sea cada vez más difícil su control. En algunos casos, las plagas secundarias pueden pasar a ser plagas clave al desaparecer sus enemigos naturales por efecto de estos productos. Además, la mayoría de los insecticidas dejan residuos tóxicos en el medio, dañando a otros organismos no objetivo de la lucha (Bautista & Pineda, 1995; Altieri & Nicholls, 2004).

Todo lo anterior ha motivado la búsqueda e integración de métodos alternativos, siendo los productos biorracionales, más selectivos, una opción aceptable (González *et al.*, 2006). Entre éstos se incluye el uso de extractos vegetales, ya que su utilización como insecticidas alternativos, supone también una forma de evitar los problemas provocados por los insecticidas sintéticos químicos (Jozivan *et al.*, 2008; Aragón & Tapia, 2009).

En España, según el Registro de Productos Fitosanitarios del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, contra las especies del género *Spodoptera* está autorizado el uso de insecticidas que incorporan las siguientes materias activas: deltametrín, metaflumizona, metomilo, metoxifenocida, lufenurón (solo en invernaderos) y tebufenocida (MAPAMA, 2017a).

Control biológico

Como se ha mencionado anteriormente, el control biológico es una forma de control natural que incluye la acción de enemigos naturales que son capaces de

disminuir la densidad poblacional de los organismos vivos a los que afectan. En el caso de *S. exigua*, se ha implementado como medida para su control el uso del parasitoide *Cotesia marginiventris* (Cresson, 1865) (Hymenoptera: Braconidae), un endoparasitoide solitario originario de América y con un amplio rango de huéspedes, capaz de parasitar, en las tres primeras semanas de su liberación, al 70% de individuos, mostrando mejores resultados que el tratamiento con la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* (Urbaneja *et al.*, 2002). Estos mismos autores, en un trabajo similar, indican un listado de los parasitoides asociados a larvas de lepidópteros que atacan los cultivos de algodón en el Valle del Guadalquivir, incluida *S. exigua*. Entre las especies encontradas se encuentran *Cotesia kazak* (Telenga, 1949) (Hymenoptera: Braconidae), *Hyposoter didymator* (Thounberg, 1824) (Hymenoptera: Braconidae) y *Habrobracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae); también encontraron algunos parasitoides ocasionales como *Dolichogenidea spp.* (Viereck, 1911) (Hymenoptera: Braconidae).

Otro agente de control biológico de *S. exigua* que ha demostrado buena eficacia en cultivos de Almería es el nucleopoliedrovirus específico de esta plaga (NPVSe; Baculoviridae), altamente persistente en el suelo de los cultivos y con una incidencia mayor en primavera y verano. En esta zona de Almería, se identificaron nueve variantes genotípicas del virus, algunas de las cuales tuvieron mayor potencial insecticida que el genotipo puro. Con la producción de cuerpos de oclusión en condiciones de laboratorio, se obtuvo una formulación que ofreció mejores resultados en campo que algunos tratamientos con insecticidas de síntesis (Caballero *et al.*, 2009).

En relación con las bacterias entomopatógenas, Torres *et al.* (2009) reportaron formulados granulares a base de algunos polímeros biodegradables usando como principio activo el complejo espora-cristal de la cepa HD-125 de *Bacillus thuringiensis*, observando un alto potencial para su uso en el control bilógico de *S. exigua*. En España, los formulados comerciales existentes contra *S. exigua*

obtenidos a partir de *B. thuringiensis* incluyen, principalmente, dos variedades: *B. thuringiensis* kurstaki y *B. thuringiensis* aizawai (MAPAMA, 2017b).

Finalmente, el orden de insectos Hemiptera, que incluye a los vulgarmente conocidos como chinches, contiene numerosas especies depredadoras de importantes plagas agrícolas, siendo las pertenecientes a las familias Anthocoridae y Miridae las más estudiadas, debido, principalmente, al éxito de su uso como agentes de CB en cultivos protegidos (Jacas *et al.*, 2008). En el presente trabajo, se busca evaluar la importancia de este grupo de depredadores como agentes de control biológico de *S. exigua*. Para ello, se han utilizado cuatro especies que actualmente se encuentran comercializadas: *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis, Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus*.

1.4. *Orius laevigatus*

1.4.1. Posición taxonómica y distribución geográfica

La ubicación taxonómica de *Orius laevigatus* (Fieber, 1860) (Hemiptera: Anthocoridae) es la siguiente (GBIF, 2017b):

PHYLLUM: Arthropoda
- CLASE: Insecta
  - ORDEN: Hemiptera
    - SUBORDEN: Heteroptera
      - SUPERFAMILIA: Cimicoidea
        - FAMILIA: Anthocoridae
          - SUBFAMILIA: Anthocorinae
            - TRIBU: Oriini
              - GENERO: *Orius*
                - ESPECIE: *Orius laevigatus* (Fieber, 1860)

Su área de distribución geográfica abarca toda la cuenca mediterránea, extendiéndose hasta las islas de la Macaronesia, la fachada atlántica de Francia y las islas Británicas (GBIF, 2017b; fig. 3). También se encuentra en el Este de Asia (Ferragut & González, 1994).

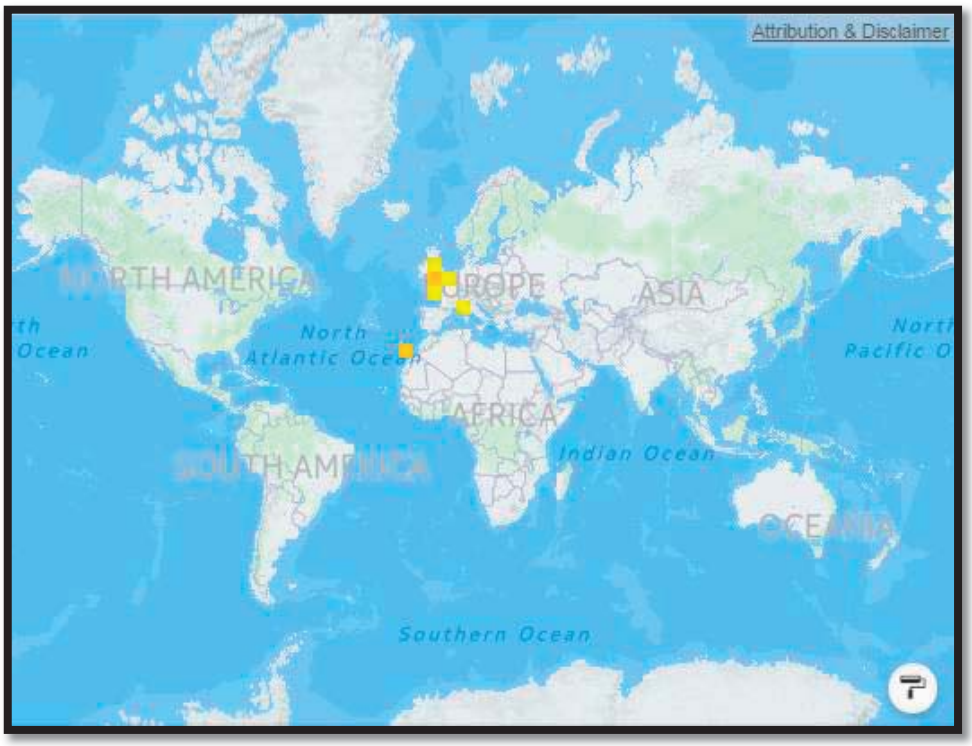

Figura 3. Distribución geográfica de *O. laevigatus* a nivel mundial (GBIF, 2017b).

1.4.2. Morfología y biología

Orius laevigatus es una especie heterometábola, por lo que solo pasa por tres estados de desarrollo: huevo (fig. 4a), ninfa (con cinco estadios ninfales, N1 a N5; fig. 4b a 4f) y adulto (fig. 4g).

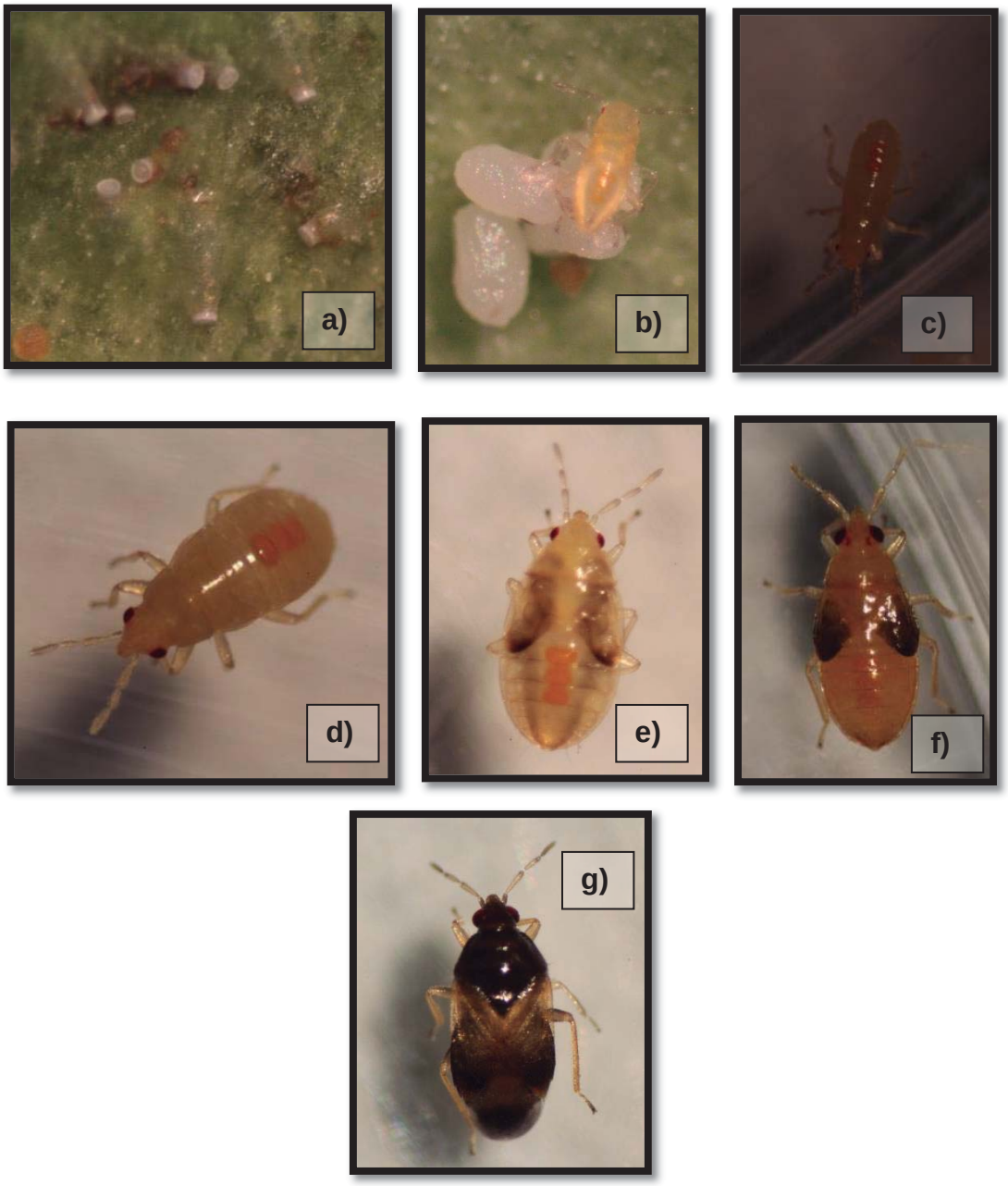

Figura 4. Desarrollo completo de *O. laevigatus*: a) huevo; b) Ninfa N1; c) Ninfa N2; d) Ninfa N3; e) Ninfa N4; f) Ninfa N5; g) Adulto.

Los huevos recién puestos son prácticamente transparentes y, a medida que se desarrollan, van adquiriendo una coloración amarillenta característica del embrión que está evolucionando en su interior. Cuando está a punto de eclosionar, se llegan a observar dos puntos rojos, que se corresponden con los ojos de la futura ninfa. Tienen forma oval alargada, miden 0,3-0,4 mm de longitud y presentan un

opérculo muy característico que es plano, ligeramente punteado y con los bordes hendidos (Ferragut & González-Zamora, 1994).

Las formas ninfales presentan, inicialmente, una coloración amarilla muy clara, que va tornándose anaranjada hasta llegar a una coloración marrón (o incluso negra en función de la temperatura a la que se produce el desarrollo) en su quinto estadio ninfal. Su aspecto es similar al de los adultos, pero de menor tamaño, y no presentan los característicos hemiélitros de los imagos de este suborden de insectos, aunque sí se observan con claridad los vestigios alares en las ninfas N4 y N5. Estos vestigios alares toman una coloración muy oscura cuando la N5 está desarrollada y a punto de mudar, hecho que es más evidente cuando la ninfa tiene una coloración clara (Ferragut & González-Zamora, 1994).

Los adultos presentan una gran plasticidad en algunos de sus caracteres morfológicos externos más visibles, como el tamaño y la coloración. El tamaño varía de 2 a 3 mm de longitud, con el cuerpo fusiforme y aplanado dorsoventralmente. El aparato bucal es de tipo picador-suctor, de manera que las piezas bucales se fusionan para formar una especie de pico o estilete largo y móvil que puede doblar bajo su cuerpo cuando no lo utiliza. El primer par de alas o hemiélitros son casi transparentes, excepto el cúneo que es muy oscuro. Toda la superficie del hemiélitro está cubierta de pequeñas quetas oscuras. La parte membranosa presenta una de las características más típicas de esta especie: la mitad basal de esta membrana es transparente, mientras que la mitad apical es oscura, siendo la separación entre ambas zonas rectilínea. De forma natural, se encuentran ejemplares de color marrón claro, marrón oscuro e incluso negro, siendo los de color marrón oscuro los más comunes (Ferragut & González-Zamora, 1994).

1.4.3. Importancia en control biológico de plagas

La familia Anthocoridae incluye algunas de las especies de depredadores más estudiadas por su aplicación práctica contra importantes plagas, sobre todo en cultivos de invernadero. Dentro de esta familia destaca el género *Orius*, con varias especies de interés, entre las que destacan *O. laevigatus, Orius insidiosus* (Say 1832)*, Orius albidipennis* (Reuter 1884), *Orius niger* (Wolff 1811) y *Orius majusculus* (Reuter 1879) *Orius tantillus* Motschulsky, *O. strigicollis* (Poppius) y *Orius minutus* L. y que, además, aparecen de forma espontánea en numerosos cultivos (Ballal & Yamada, 2016; Jacas *et al.*, 2008).

Orius laevigatus se utiliza con éxito desde hace varios años en el CB del trips de las flores, *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) en diversos cultivos protegidos hortícolas y ornamentales tales como berenjena, fresa, gerbera, melón, pimiento, pepino y rosa (Chambers *et al*., 1993; Van Lenteren, 2012). De entre todos estos cultivos destaca el pimiento, donde el uso de *O. laevigatus* ha permitido el establecimiento de programas de IPM que giran en torno al empleo de estrategias inundativas del depredador (Jacas *et al.*, 2008).

1.5. *Anthocoris nemoralis*

1.5.1. Posición taxonómica y distribución geográfica

La ubicación taxonómica de *Anthocoris nemoralis* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Anthocoridae) es la siguiente (GBIF, 2017c):

PHYLUM: Arthropoda
CLASE: Insecta
ORDEN: Hemiptera
SUBORDEN: Heteroptera
SUPERFAMILIA: Cimicoidea
FAMILIA: Anthocoridae
SUBFAMILIA: Anthocorinae
TRIBU: Anthocorini
GÉNERO: *Anthocoris*
ESPECIE: *Anthocoris nemoralis* (Fabricius, 1794)

Gómez-Menor (1956) menciona que el nombre de esta especie proviene de *Anthos*= flor y *coris*=chinche, por lo que es conocido como “chinche de las flores”. Es una especie nativa de la región Paleártica y es una de las especies del género *Anthocoris* más extendida geográficamente por Europa. El depredador se encuentra en Reino Unido, hasta el Oeste de Rusia, en la cuenca mediterránea y el Norteamérica (GBIF, 2017c; fig. 5).

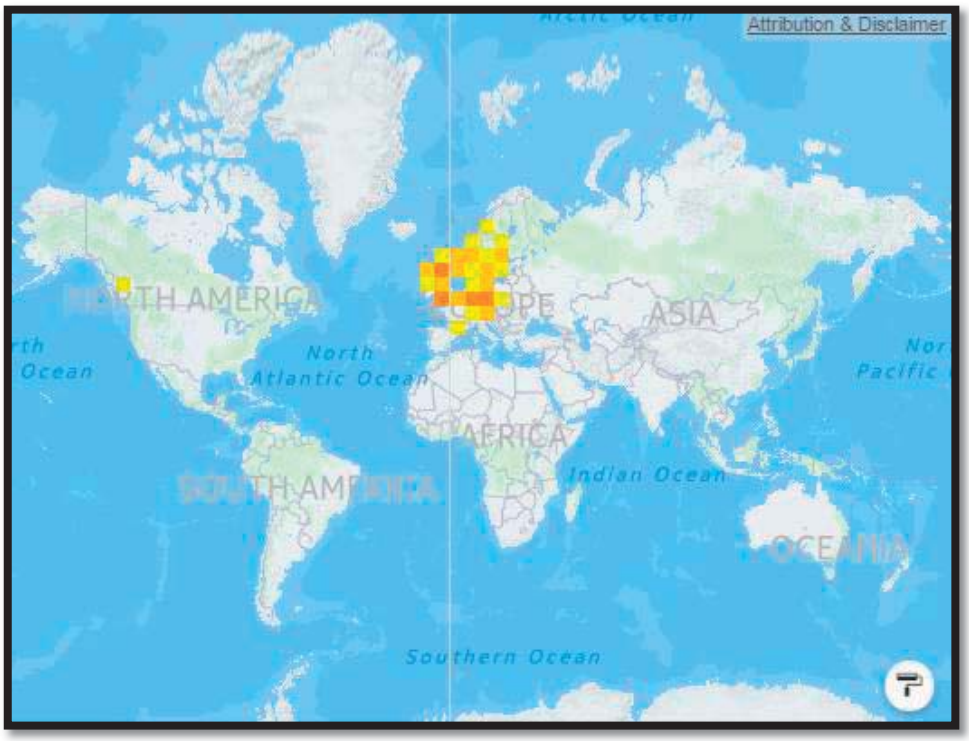

Figura 5. Distribución geográfica de *A. nemoralis* a nivel mundial (GBIF, 2017c).

1.5.2. Morfología y biología

Al igual que la especie anterior, *A. nemoralis* es una especie heterometábola, con tres estados de desarrollo: huevo (fig. 6a), ninfa (con cinco estadios ninfales; fig. 6b a 6f) y adulto (fig. 6g).

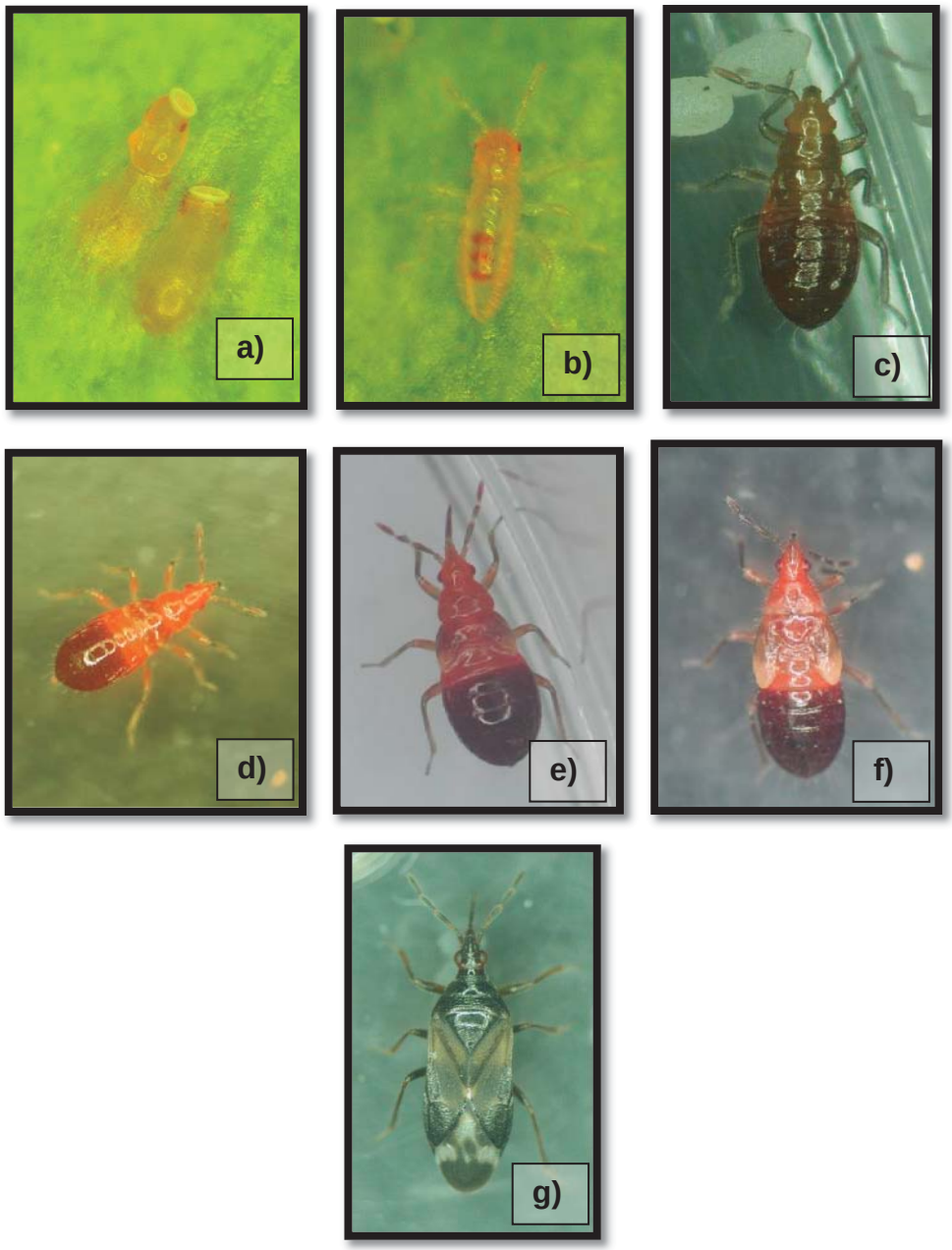

Figura 6. Desarrollo completo de *A. nemoralis*: a) huevo; b) Ninfa N1; c) Ninfa N2; d) Ninfa N3; e) Ninfa N4; f) Ninfa N5; g) Adulto.

Los huevos son, inicialmente, de color blanquecino y de tamaño inferior a 1 mm, provistos de una tapa u opérculo de color blanco, pudiendo estar ovipositados en solitario o en pequeños grupos. Conforme pasan los días y se acerca el momento de la eclosión tornan a un color más rojizo, llegándose incluso distinguir los ojos de las ninfas (Hernando, 2009).

Las fases juveniles carecen de alas, pero son sumamente móviles y activas. Son de color amarillo-anaranjado en los primeros estadios, pero se van oscureciendo según van evolucionan. Su forma es parecida a la de los adultos, pero de menor tamaño y con los vestigios alares habitualmente no evidentes hasta el tercer estadio ninfal. Otros cambios externos que experimentan las ninfas incluyen el aumento del número de los segmentos antenales y tarsales, y alteraciones de la forma del pronoto (Hernando, 2009).

Los adultos son insectos de pequeño tamaño, que alcanzan una longitud de 3,8 a 4,5 mm. Se caracterizan por poseer el aparato bucal picador-suctor en forma de pico cuyo ápice llega a las coxas anteriores (García & Ferragut, 2002). En estos insectos las alas anteriores o hemiélitros tienen los bordes paralelos y una membrana con una larga vena muy marcada, pudiendo aparecer bien visibles hasta cuatro venas originadas de la anterior (Chinery, 2005).

1.5.3. Importancia en control biológico de plagas

El género *Anthocoris* se utiliza en programas de CB mediante estrategia inundativa y estrategia de conservación, especialmente frente a una de las principales plagas del peral, *Cacopsylla pyri* L. (Hemiptera: Psyllidae) (Avilla, 2005; Urbaneja *et al*., 2005a).

Una de las características que aumentan el potencial de este depredador es que los adultos son buenos voladores, lo que les permite agregarse en las zonas donde la densidad de la presa sea más alta y dispersarse fácilmente cuando ésta escasea. Tienen una elevada capacidad de búsqueda de sus presas y de incrementar rápidamente sus poblaciones cuando éstas son abundantes (Avilla, 2005).

Al igual que otros antocóridos, *A. nemoralis* es un depredador con un elevado grado de polifagia, pudiendo depredar a un gran número de especies presa. Tanto las ninfas como los adultos se alimentan de artrópodos de tegumento blando como es el caso de numerosas especies de trips, pulgones, cochinillas y psílidos, así como de huevos y pequeñas larvas de lepidópteros y ácaros. Además, pueden alimentarse de polen, lo cual es una gran ventaja para su conservación en el cultivo en periodos de ausencia de plaga (Urbaneja *et al.*, 2005a). Tiene un elevado potencial depredador debido, entre otros motivos, a que ya los primeros estadios ninfales empiezan a desarrollarse depredando pequeños individuos.

1.6. *Nesidiocoris tenuis*

1.6.1. Posición taxonómica y distribución geográfica

La ubicación taxonómica de *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895) (Hemiptera: Miridae) es la siguiente (GBIF, 2017d):

PHYLLUM: Arthropoda
CLASE: Insecta
ORDEN: Hemiptera
SUBORDEN: Heteroptera
SUPERFAMILIA: Miroidea
FAMILIA: Miridae
SUBFAMILIA: Bryocorinae
TRIBU: Dicyphini
GENERO: *Nesidiocoris*
ESPECIE: *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895)

A pesar de que *N. tenuis* se conoce como una especie endémica de la cuenca mediterránea aunque se ha encontrado en Norteamérica y algunos del centro de América (GBIF, 2017d; fig. 7). También se ha citado en países de África, Japón,

Irán, Australia, Islas del Pacífico, (Kerzhner & Josiv, 1999; Linnavuori, 2007; Valderrama *et al*., 2007; Zappala *et al*., 2013).

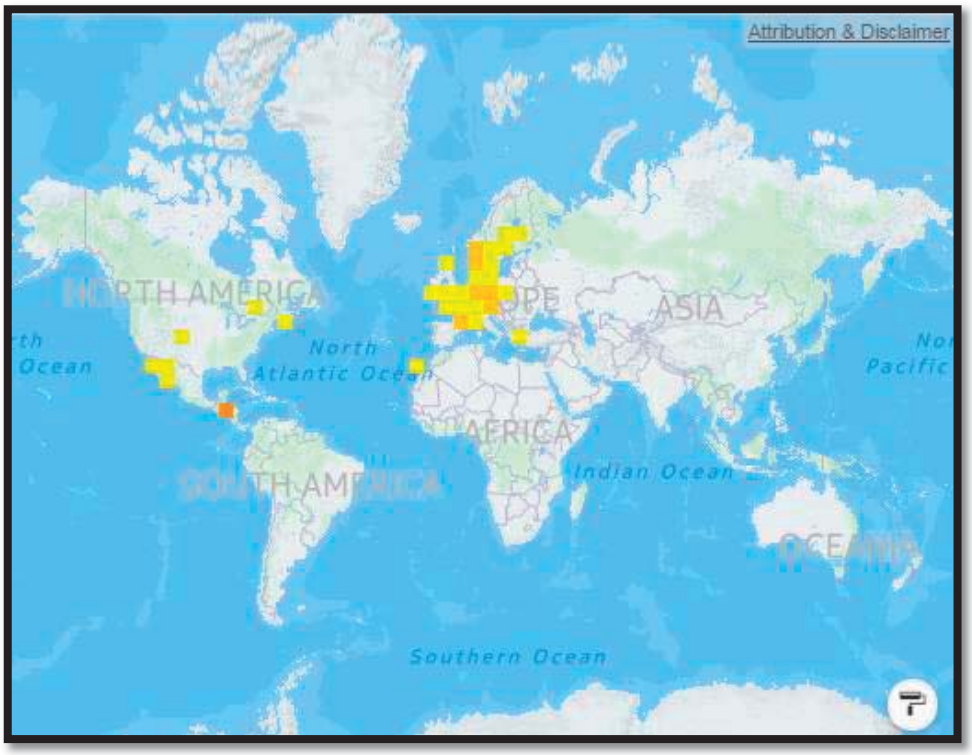

Figura 7. Distribución geográfica de *N. tenuis* a nivel mundial (GBIF, 2017d).

1.6.2. Morfología y biología

El hemíptero *N. tenuis* es una especie heterometábola, es decir, solo pasa por tres estados de desarrollo en toda su vida: huevo, ninfa (con cinco estadios ninfales, N1 a N5; fig. 8a a 8e) y adulto (fig. 8f).

Figura 8. Desarrollo de *N. tenuis*: a) Ninfa N1; b) Ninfa N2; c) Ninfa N3; d) Ninfa N4; e) Ninfa N5; f) Adulto.

Los huevos son depositados por las hembras en el interior del tejido vegetal, prefiriendo la epidermis de los tallos y nervios foliares, y llegan a medir menos de 1mm. Son muy difíciles de distinguir, ya que la hembra solo deja a la vista la lígula (apéndice respiratorio) (El Dessouki *et al*., 1976).

Las ninfas, en sus primeros dos estadios, son semitransparentes o de un color verde muy claro. En el tercer estadio los esbozos alares comienzan a ser visibles, pero en el cuarto y quinto estadio ya son muy notables y presentan un color verde brillante. Las ninfas llegan a alcanzar una longitud de 2,6 mm en su último estadio (El Dessouki *et al*., 1976).

La longitud de los adultos varía entre los 3 y los 4 mm. Son de color verde y presentan un anillo de color negro que rodea la cabeza, así como manchas o bandas negras en las alas y las antenas (a modo de anillos). Presentan dimorfismo sexual, diferenciándose los machos por un punto negro en la zona genital. Las hembras presentan una genitalia con forma de T invertida y su abdomen es más grueso, mientras que el del macho es estrecho y liso (El Dessouki *et al*., 1976).

1.6.3. Importancia en el control biológico de plagas

Las especies perteneciente a la familia Miridae están consideradas como fitófagas; sin embargo, muchas de ellas tienen realmente una dieta zoofitófaga (incluido *N. tenuis*) habiendo, por ello, aumentado su interés como agentes de control biológico (Arnó *et al*., 2010; Lucas & Alomar, 2002; Urbaneja *et al*., 2005a).

N. tenuis se utiliza en cultivos hortícolas, especialmente en tomate, para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), y de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechidae). También es considero como depredador generalista de algunas plagas secundarias, ya que se puede alimentar de trips, pulgones, araña roja, así como de huevos y larvas neonatas de lepidópteros (Calvo *et al*., 2009; Jacas & Urbaneja, 2008; Sánchez & Lucas, 2008; Urbaneja *et al*., 2009).

1.7. *Macrolophus pygmaeus*

1.7.1. Posición taxonómica y distribución geográfica

La ubicación taxonómica de *Macrolophus pygmaeus* (Reuter, 1839) (Hemiptera: Miridae) es la siguiente (GBIF, 2017e):

PHYLLUM: Arthropoda
CLASE: Insecta
ORDEN: Hemiptera
SUBORDEN: Heteroptera
SUPERFAMILIA: Miroidea
FAMILIA: Miridae
SUBFAMILIA: Bryocorinae
TRIBU: Dicyphini
GENERO: *Macrolophus*
ESPECIE: *Macrolophus pygmaeus* (Reuter, 1839)

Macrolophus. pygmaeus es una especie que se distribuye por todo el norte de Europa (GBIF, 2017e; fig. 9). Además, existen reportes que se distribuye desde Tayikistán, las islas Azores, en el Océano Atlántico, y en Finlandia (Kerzhner & Josifov, 1999; Sanchez *et. al*., 2012). Sin embargo, la distribución real de la especie podría ser menos amplia, debido a que existe mucha controversia respecto a su correcta identificación desde que se empezó a reportar su presencia en distintos lugares (Martínez-Cascales *et. al.,* 2006;).

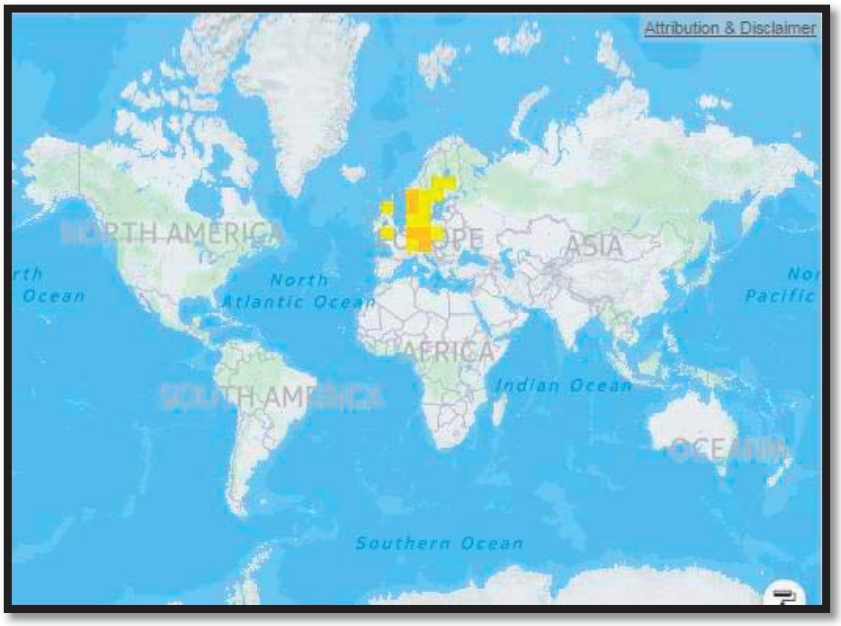

Figura 9. Distribución geográfica de *M. pygmaeus* a nivel mundial (GBIF, 2017e).

1.7.2. Morfología y biología

El desarrollo de *M. pygmaeus*, al igual que en las otras especies mencionadas, es heterometábolo, pasando por los estados de huevo, ninfa (cinco estadios ninfales, N1 a N5; fig.10a a 10e) y adulto (fig. 11).

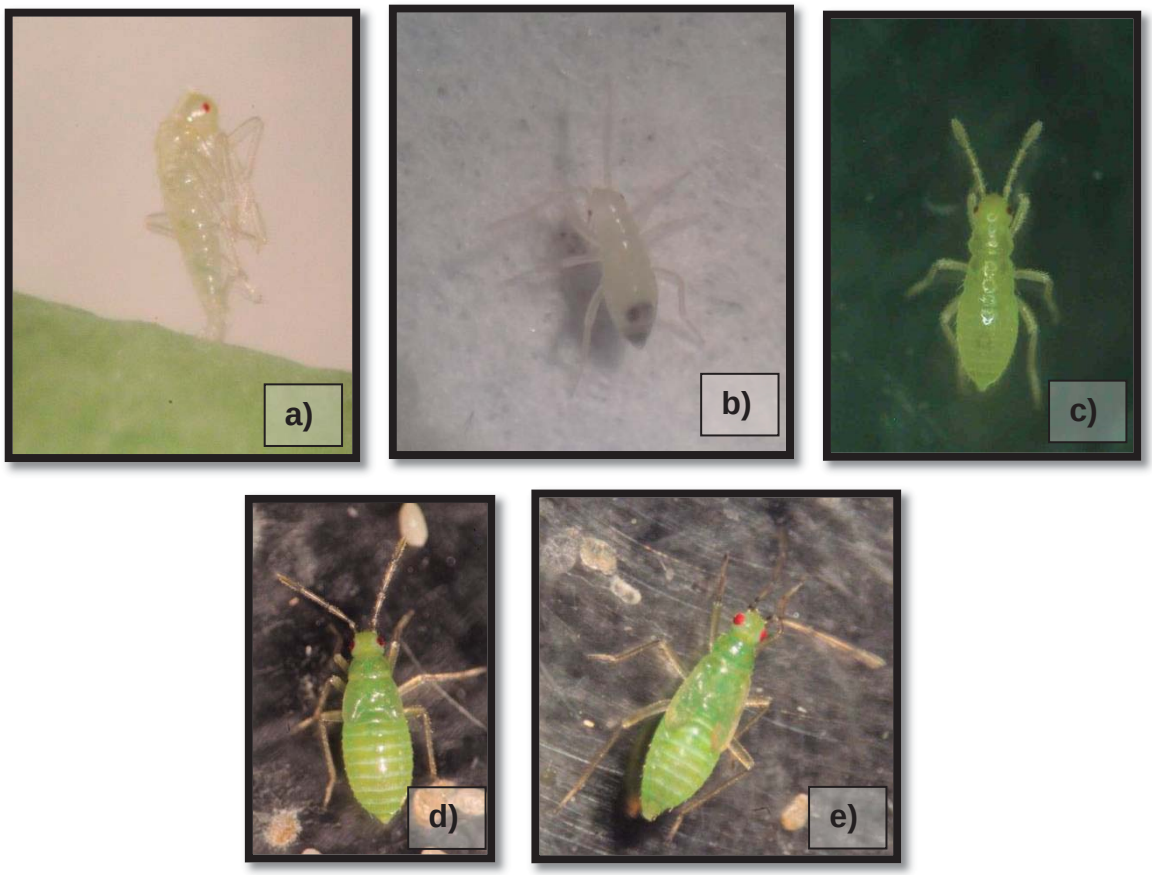

Figura 10. Desarrollo de *M. pygmaeus*: a) Ninfa N1 emergiendo del huevo; b) Ninfa N1; c) Ninfa N2; d) Ninfa N3; e) Ninfa N5.

Figura 11. Adulto de *M. pygmaeus* (Martínez-Cascales *et al*., 2006)

Los huevos son colocados por las hembras dentro del tejido vegetal, lo que, al igual que en *N. tenuis*, hace muy difícil su detección e identificación. Cuando se llegan a apreciar, se observa la lígula y su forma encorvada, con aspecto de saco. Miden entre 0,24 y 0,97 mm de longitud (Constant *et al*., 1994).

Las ninfas son muy parecidas a las de *N. tenuis*, tanto en su color como en su morfología, siendo en los primeros estadios de color semitransparente o verde muy claro, y de color verde muy brillante en los estadios tercero, cuarto y quinto, donde se denotan los esbozos alares (Martínez-Cascales *et. al.,* 2006).

Los adultos de *M. pygmaeus* son de tonos amarillentos o verdosos, tanto dorsal como ventralmente. La cabeza, vista dorsalmente, es de silueta casi pentagonal, siendo típico de este género la presencia de sedas negras longitudinales, más o menos anchas, entre el ojo y el margen anterior del pronoto (Goula & Almoran, 1994). Miden entre 3 y 4 mm de longitud. Su cuerpo es elongado y liso, de bordes

paralelos, y presenta un collar de color verde claro (Martínez-Cascales *et. al.,* 2006).

1.7.3. Importancia en control biológico de plagas

M. pygmaeus es un enemigo natural importante, liberado en los invernaderos de Europa desde 1996 para el control de pequeños artrópodos plaga (Castañé *et. al*., 2011; Van Lenteren, 2003a). Dentro de las principales presas de este mírido se encuentran moscas blancas, *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Jaeckel *et al.,* 2011; Lykouressis *et al.,* 2009; Perdikis & Lykouressis, 2000 y 2002); pulgones como *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphidae) (Van de Kererkhove *et. al.,* 2011); y lepidópteros como *T. absoluta* (Urbaneja, 2009).

En España, *M. pygmaeus* es también importante por encontrarse dentro del grupo de enemigos naturales más abundantes de *T. absoluta* (Urbaneja *et al.*, 2012); durante el invierno, *M. pygmaeus* se encuentra principalmente en el cultivo de patata y en plantas no agrícolas, de modo que cuando llega la primavera pasa a colonizar cultivos como el de tomate ejerciendo entonces su acción depredadora sobre *T. absoluta* (Gabarra *et al.,* 2008). De Backer *et al*. (2014) realizaron una revisión de las diferentes estrategias de control de *T. absoluta* que utilizan *M. pygmaeus* solo o en combinación con otros agentes de CB o con productos fitosanitarios.

Capítulo 2. Objetivos.

El Manejo Integrado de Plagas tiene en consideración todas las herramientas posibles de control. Dentro de ellas se encuentra el control biológico, al que se debe conceder un carácter prioritario. Frecuentemente, en la práctica del control biológico se utilizan enemigos naturales de naturaleza polífaga para controlar una sola plaga, de modo que, en muchas ocasiones no se tiene en cuenta su potencial utilización para el control de otros fitófagos que también pueden ser importantes. En este contexto, el objetivo general de la presente Tesis Doctoral ha sido evaluar el potencial de los depredadores polífagos *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* como agentes control biológico de *Spodoptera exigua*.

Los objetivos específicos han sido los siguientes:

- Evaluar la capacidad depredadora de los estadios ninfales y de los adultos de *O. laevigatus, A. nemoralis, N. tenuis* y *M. pygmaeus* sobre huevos y larvas de *S. exigua*.
- Determinar los parámetros biológicos y de la tabla de vida de *O. laevigatus, A. nemoralis, N. tenuis* y *M. pygmaeus* cuando se alimentan de huevos de *S. exigua*.

- Analizar el efecto de la interacción intragremial entre los depredadores *O. laevigatus, A. nemoralis* y *N. tenuis* sobre su propia mortalidad y sobre su capacidad de consumo de huevos de *S. exigua*.

- Determinar los efectos secundarios de los fungicidas kresoxim-metil y trifloxistrobin sobre la mortalidad, los parámetros biológicos y los parámetros de la tabla de vida de *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus*, en condiciones de laboratorio.

CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES.

A continuación, se describen los materiales y métodos que, de forma general, se han utilizado en la cría de insectos y en los diferentes bioensayos. La descripción más detallada de cada bioensayo se explica en el capítulo correspondiente.

3.1. Condiciones ambientales

Tanto para la cría masiva de los insectos utilizados en los bioensayos, como para el desarrollo de los propios bioensayos, se utilizaron cámaras climatizadas programadas a una temperatura constante de 24 ± 1 ºC, una humedad relativa de 60 ± 5 % y un fotoperiodo de 16:8 (L:O) (fig. 12). Todo ello se llevó a cabo en el Laboratorio de Protección de Cultivos del Departamento de Agricultura y Alimentación de la Universidad de La Rioja.

Figura 12. Cámara de climatizada. a) lado derecho; b) lado Izquierdo.

3.2. Material biológico y su manejo

3.2.1. Cría masiva de *Spodoptera exigua*

Se estableció una población de *S. exigua* a partir de 100 individuos en estado de pupa provenientes del insectario del Departamento de Producción Agraria de la Universidad Pública de Navarra (España). En el proceso de cría masiva, las pupas se depositaban en recipientes cilíndricos de plástico transparente, de 21 cm de alto y 9 cm de diámetro, forrados en su interior con papel de filtro. Una vez que los adultos habían emergido, se introducían tiras de papel de filtro y pequeños bebederos cilíndricos de plástico de 1,5 cm de alto y 3 cm de diámetro, con una solución de miel en agua al 10%. En estos recintos tenía lugar el apareamiento y la puesta de huevos sobre el papel de filtro (fig. 13a). Las zonas de papel donde se hallaban los plastones de huevos se recortaban con ayuda de unas tijeras y se depositaban en recintos de eclosión, que son recipientes prismáticos de plástico de 17,0 x 22,0 x 3,5 cm con dos orificios de ventilación de 2,2 cm de diámetro cubiertos con papel de filtro (fig. 13b). Cuando emergían las larvas, se colocaban en recipientes cilíndricos de plástico, de 5 cm de alto y 12 cm de diámetro; estos recipientes disponían de una base de papel filtro en su fondo y dos orificios de ventilación de 2,2 cm de diámetro y cubiertos con papel de filtro en la tapa; se colocaba una porción de 1 cm^3 de la dieta semisintética para noctuidos propuesta por Poitout & Bues (1970) (fig. 13c; tabla 1). Cada tres días, se renovaba el papel filtro y la dieta. Cuando las larvas alcanzaban el último estadio, se introducían en recipientes de pupación similares a los anteriormente descritos, pero provistos de vermiculita hasta dos tercios de su capacidad, y dos porciones de dieta de 1 cm^3 (fig. 13d), por si alguna larva necesitara seguir alimentándose antes de la pupación. Al cabo de cinco días, una vez que las larvas habían pasado al estado de pupa, éstas se extraían de la vermiculita y se depositaban en los recipientes utilizados para la cópula y la puesta de los adultos.

Figura 13. Cría masiva de *S. exigua*. a) Caja para el acoplamiento y la puesta por parte de los adultos; b) Puestas de huevos en el recinto de eclosión; c) Cajas para el desarrollo del estado larvario; d) Caja de pupación.

Tabla 1. Composición de la dieta artificial para noctuidos propuesta por Poitout & Bues (1974).

Ingredientes	Cantidad
Agua	779,5 ml
Agar-agar	18,3 g
Sémola de Maíz	128,4 g
Germen de trigo	32,1 g
Levadura de cerveza	34,3 g
Formaldehido (40%)	0,5 ml
Ácido ascórbico L+	4,5 g
Acido benzoico	1,3 g
Metil-hidroxi-4-benzoato (Nipagin®)	1,1 g

3.2.2. Cría masiva de las especies de la familia Anthocoridae

La población de *Orius laevigatus* fue establecida a partir de insectos comercializados por la empresa Biobest (Bélgica), mientras que la población de *Anthocoris nemoralis* se inició a partir de insectos comercializados por la empresa Bioplanet (Italia).

Para ambos depredadores se utilizó el mismo método de cría. Se realizó una modificación respecto al método propuesto por Schmidt *et al*. (1995) y Shakya *et al*. (2009). Los recipientes para la cría consistieron en cajas prismáticas de plástico transparente de 23,5 x 22,0 x 5,5 cm, provistas de 4 orificios de ventilación de 2,2 cm de diámetro, situados en la tapa y cubiertos con papel de filtro. En el interior de cada caja se colocaba un pliego de papel de filtro doblado en zig-zag, con el objeto de ofrecer refugio y minimizar el canibalismo habitual en estas especies. Tras la introducción de los adultos en las cajas de cría, se añadía polen de flores como complemento alimenticio, y un bebedero de agua consistente en un

recipiente prismático de plástico de 1 x 1 x 4,5 cm relleno de algodón sobre una placa Petri (fig. 14a). Además, se colocaban dos vainas frescas de judía verde, *Phaseolus vulgaris* L. (fig. 14b), como sustrato de oviposición, que eran sustituidas cada tres días. Cuando se deseaba obtener huevos para establecer una nueva caja de cría, las vainas de judía verde se colocaban dentro de la caja y sacaban tras un periodo de 24 horas (fig.14c), y se aislaban en la nueva caja donde se producía la eclosión de los huevos y se desarrollaban las ninfas hasta el estado adulto. Como fuente de alimento se suministraban huevos de *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) comercializados por la empresa Biobest con el nombre comercial de Nutrimac® (fig. 14d).

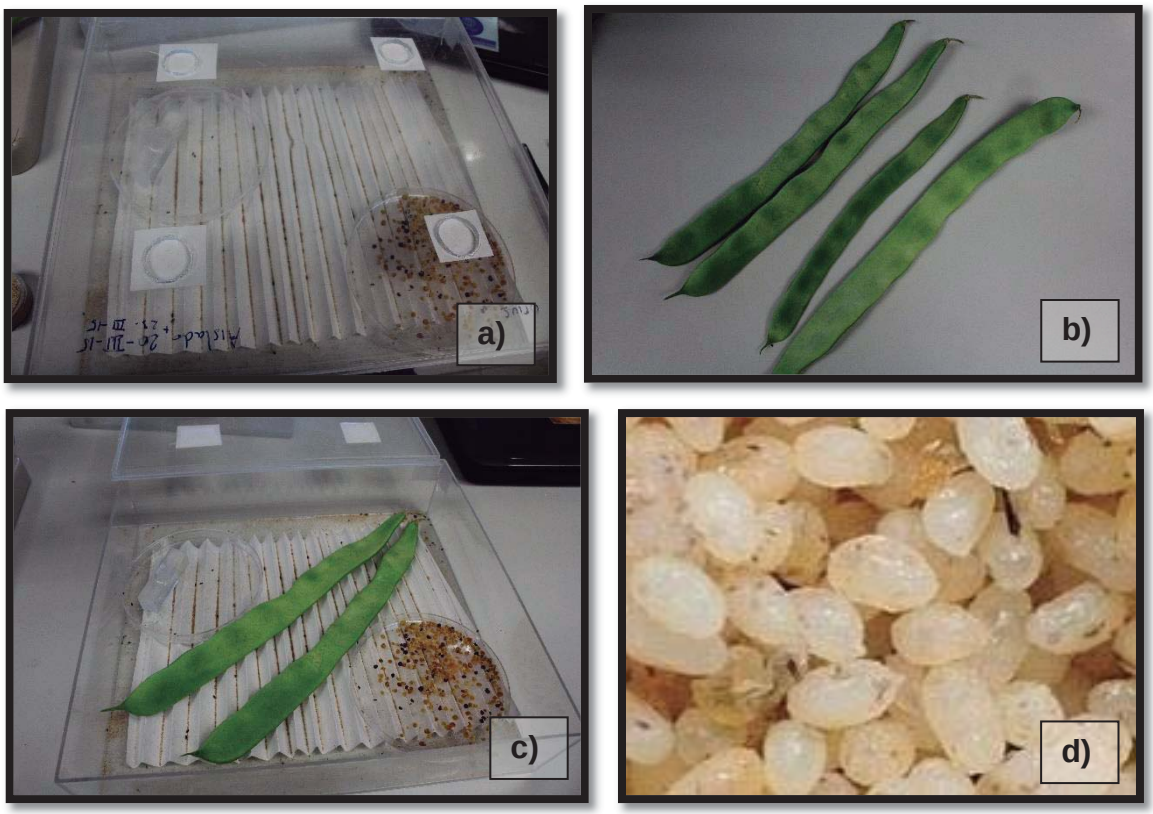

Figura 14. Cría masiva de *O. laevigatus* y *A. nemoralis*. a) Cajas de adultos con el polen y bebederos; b) Vainas frescas de judía verde; c) Caja de adultos con vainas de judía verde; d) Huevos de *E. kuehniella*.

3.2.3. Cría masiva de las especies de la familia Miridae

La población del depredador *Macrolophus pygmaeus* fue establecida a partir de insectos comercializados por la empresa Bioplanet (Italia), mientras que la de *Nesidiocoris tenuis* fue establecida a partir de insectos comercializados por la empresa Biobest (Bélgica).

El método de cría para estos depredadores fue similar al establecido anteriormente para la cría masiva de las dos especies de antocóridos, pero no se les suministró polen, ni tampoco bebederos, ya que, en este caso, ambos insectos son capaces de obtener de las vainas de judía verde el agua que necesitan. Por ello, es importante que los insectos dispongan siempre de vainas frescas (fig. 15).

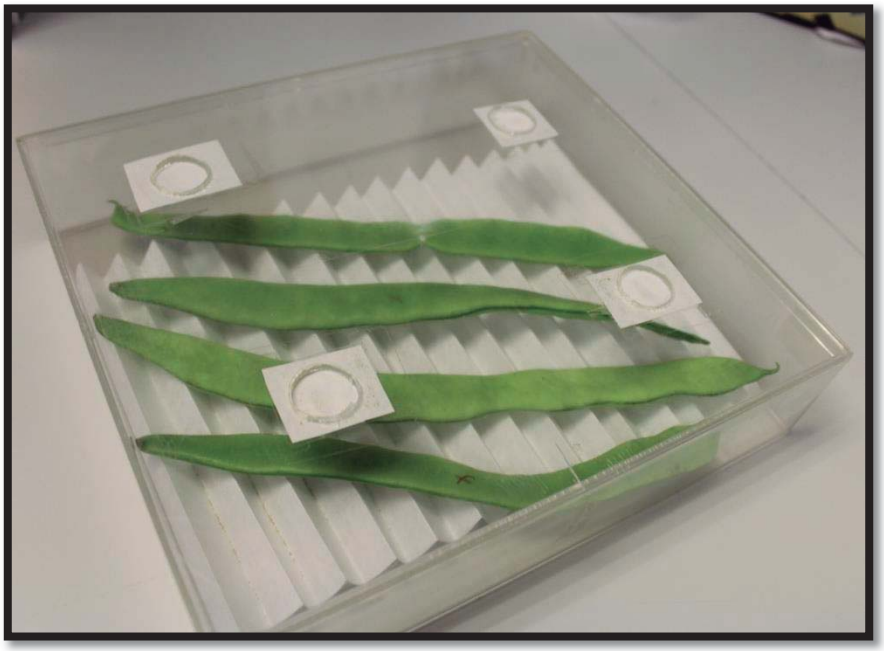

Figura 15. Caja de cría con vainas de judía para la cría masiva de *N. tenuis* y *M. pygmaeus*.

3.3. Metodología general para obtener los parámetros de las tablas de vida

3.3.1. Tablas de vida para especies de la familia Anthocoridae

Para obtener los parámetros de las tablas de vida de los dos antocóridos (fig.16), se utilizaron individuos adultos de menos de 24 horas de edad, obtenidos a partir de ninfas N5 que fueron individualizadas en recipientes cilíndricos de plástico transparente, de 1,5 cm de altura x 3 cm de diámetro, y que fueron alimentadas, bien con huevos de *E. kuehniella*, bien con huevos de *S. exigua*, en función del tratamiento. Una vez alcanzado el estado adulto, los individuos fueron sexados y se formaron 20 parejas, introduciendo cada una de ellas por separado en cajas prismáticas de plástico transparente, de 7 x 5 x 2,5 cm, provistas de un orificio de ventilación de 2 cm de diámetro, cubierto con papel filtro. Cada dos días, a cada pareja se le suministraba *ad libitum* el alimento correspondiente (huevos de *E. kuehniella* o huevos de *S. exigua*). Como sustrato de oviposición, se utilizaron fragmentos de vainas frescas de judía verde sellados con parafina por sus extremos. Cada 24 horas se contaba el número de huevos puestos y el de hembras adultas muertas, y cada 72 horas se reemplazaba el fragmento de vaina por uno nuevo.

Para cada tratamiento se calculó la mortalidad, la fecundidad y la longevidad de las hembras. También, se estimó el porcentaje de eclosión de los huevos, aislando una cohorte de ellos de menos de 24 horas de edad. Además, se estimó el tiempo de desarrollo y la supervivencia de la descendencia utilizando individuos emergidos a partir de estos huevos aislados, dependiendo de cada tratamiento de los diferentes ensayos. Para ello, tras la eclosión, las ninfas se individualizaron en cajas de plástico cilíndricas, idénticas a las antes descritas, y se alimentaron con huevos de la presa según fuera el tratamiento a evaluar, hasta que alcanzaron el estado adulto.

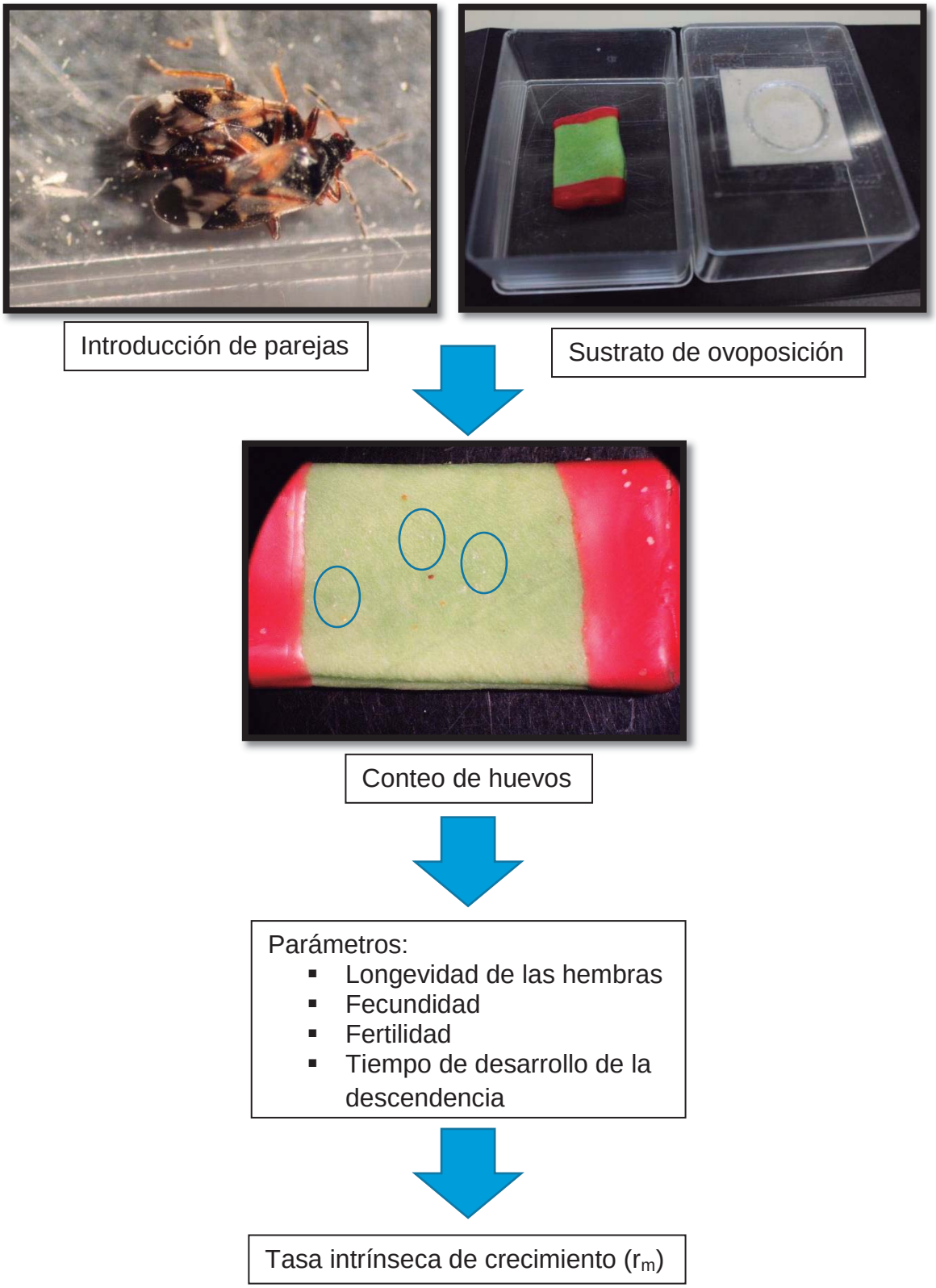

Figura 16. Diagrama de metodología de tablas de vida para *O. laevigatus* y *A. nemoralis*.

3.3.2. Tablas de vida para las especies de la familia Miridae

En este caso, se siguió una metodología similar a la establecida para los antocóridos. Así, se utilizaron individuos adultos de menos de 24 horas de edad. Para obtener los adultos, se individualizaron ninfas N5, aislándolas y alimentándolas en recipientes cilíndricos iguales a los anteriormente descritos. Alcanzado el estado adulto, los individuos fueron sexados y se tomaron 20 parejas, introduciendo cada una de ellas, por separado, en recipientes cilíndricos de plástico, de 5 cm de alto x 12 cm de diámetro, con dos orificios de ventilación cubiertos con papel filtro (fig. 17). A cada pareja se le suministraba *ad libitum*, cada dos días, el alimento correspondiente. Se utilizaron vainas completas de judía verde como sustrato de oviposición. Cada 24 horas se aislaban las vainas en vasos de plástico de 8 cm de diámetro en la parte superior, 5 cm de diámetro en la parte inferior y 11 cm de algo, cerrados con tela de visillo sujeta al vaso con goma elástica; también se tapaban con una placa de Petri de 9 cm de diámetro para evitar la desecación de la vaina de judía (fig. 18). Al cabo de 10 días para el caso de *N. tenuis* y de 15 para el de *M. pygmaeus* se anotaba el número de ninfas emergidas (con esos periodos de tiempo se tenía la seguridad de que todas las ninfas que iban a emergen lo habían hecho).

Para cada bioensayo se determinó la mortalidad y la longevidad de las hembras, así como el número de ninfas emergidas, considerando este número como fecundidad debido a que no fue posible observar y realizar el conteo de los huevos puestos por cada hembra, para calcular la fecundidad real, al número total de ninfas se le agregó la mortalidad existente en la puesta de huevos estimada por Predikis & Lykouressis (2002) y Sanchez *et al*. (2008). Además, se estimó el tiempo de desarrollo y la supervivencia de la descendencia. Para ello, se utilizó una cohorte de ninfas de menos de 24 horas de edad que fueron individualizadas en cajas cilíndricas, de 1,5 cm de altura x 3 cm de diámetro, y alimentadas con la presa correspondiente, hasta alcanzar el estado adulto (fig. 19), el número de

ninfas dependía de cada uno de los tratamientos en los diferentes ensayos realizados.

Figura 17. Recipientes para tabla de vida de *N. tenuis* y *M. pygmaeus.*

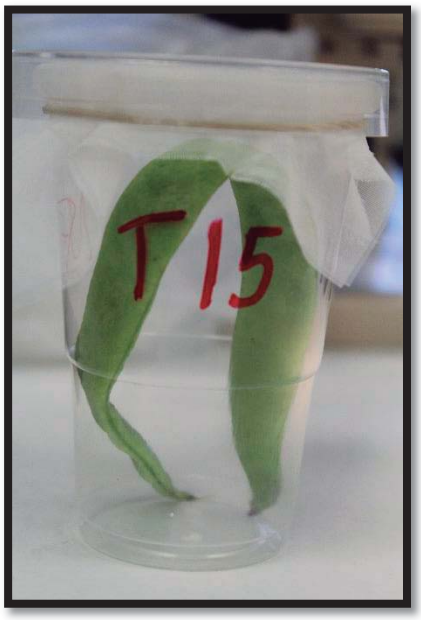

Figura 18. Vaina aislada después de 24 horas de exposición al depredador.

Figura 19. Cajas con ninfas de *N. tenuis* individualizadas.

3.4. Análisis estadísticos

Para las comparaciones de dos medias se utilizó el test t de Student para muestras pareadas, y para las comparaciones de más de dos medias se utilizó el test F de Análisis de la Varianza (ANOVA), seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey (α= 0,05), considerando la robustez respecto a las hipótesis de normalidad y de homocedasticidad. Los test se llevaron a cabo utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

Para obtener los parámetros de las tablas de vida, se utilizó el programa r_m 2.0 (Taberner *et al.*, 1993) aplicado a los datos calculados previamente y considerando una ratio sexual de 0.5, de acuerdo a la proporción de machos y hembras observada en el desarrollo de los propios bioensayos. El análisis de datos fue llevado a cabo utilizando la técnica Bootstrap, realizando 1000 repeticiones, tal como sugieren Meyer *et al.* (1987).

Para la consideración de la existencia de diferencias significativas entre tasas intrínsecas de crecimiento, se empleó el criterio de no solapamiento de sus intervalos de confianza al 95 %. A partir de las tablas de vida se estimó la supervivencia por edades (lx), la fecundidad por edades (mx), así como los parámetros siguientes:

Tasa intrínseca de crecimiento (r_m): hembras obtenidas por hembra y unidad de tiempo:

$$\sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x e^{-r_m x} = 1$$

Tasa finita de incremento (λ): veces que una población se multiplica en la unidad de tiempo (Birch, 1948).

$$\lambda = e^{r_m}$$

Tasa de reproducción neta (R_0): veces que una población se multiplica en una generación (Laughlin, 1965).

$$R_0 = \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x$$

Duración media de una generación (T): tiempo que transcurre desde que una generación nace hasta el momento medio de nacimiento de toda su progenie.

$$T = {}^{\ln R_0}/_{r_m}$$

Tiempo de duplicación de la población (DT): tiempo necesario para que una población se duplique.

$$DT = {}^{\ln 2}/_{r_m}$$

Capítulo 4. Capacidad depredadora y parámetros de las tablas de vida de *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* sobre huevos y larvas de *Spodoptera exigua.*

4.1. Introducción

Actualmente, el CB es una alternativa viable al uso de insecticidas (Van Lenteren, 2012), siendo, a menudo, la implementación de agentes de CB para controlar plagas más rentables que el uso exclusivo del control químico (Sampson *et al*., 2009; Van Lenteren, 2003a). El éxito de esta estrategia depende de la implicación de los agentes de CB (depredadores, parasitoides o patógenos) en la prevención y/o reducción de altos niveles de la población plaga. Los recientes éxitos relacionados con el CB en Europa se han producido gracias al importante desarrollo de estrategias que utiliza depredadores generalistas (Clavo *et.al.,* 2009 y 2012), algunos de ellos capaces de alimentarse de más de un nivel trófico, por lo que son llamados omnívoros (Coll & Guershon, 2002). La eficacia que alcanzan los diferentes agentes de CB depende de numerosos factores, muchos de ellos relacionados con las condiciones ambientales y la interacción entre la presa y el depredador (Coombs & Bale, 2014; Gion *et. al.,* 2016).

La eficacia que alcanzan los diferentes agentes de CB depende de numerosos factores, muchos de ellos relacionados con las condiciones ambientales y la interacción entre la presa y agente de control (Coombs & Bale, 2014; Gion *et. al.,* 2016). Según Ehler (1990), para que un enemigo natural sea eficaz como agente de control biológico debe tener los siguientes atributos:

- Capacidad de colonización, que le permita seguir el ritmo espacial y temporal del cultivo.

- Persistencia temporal, de modo que pueda mantener su población tras la colonización, incluso en ausencia de la especie plaga objetivo.
- Hábitos de alimentación oportunista, que le permitan explotar rápidamente un recurso alimenticio, incluyendo la aparición repentina de una plaga.

Sería deseable que los depredadores destinados al control de *S. exigua* tengan estos atributos, sin embargo, la lista de los depredadores capaces de asociarse a esta plaga no parece ser muy amplia (Ehler, 2004).

Las familias Anthocoridae y Miridae incluyen diferentes especies reconocidas como agentes potenciales de control biológico de plagas. De hecho, varias especies ya han sido utilizadas con éxito aplicando una estrategia aumentativa de CB (Ballal & Yamada, 2016; Castañé *et al*., 2011). Están presentes en la mayor parte de las regiones zoogeográficas del mundo y son capaces de alimentarse de una amplia variedad de presas.

Debido al alto potencial que presentan *O. laevigatus*, *A. nemoralis*, *N. tenuis* y *M. pygmaeus* como agentes de CB, utilizando una estrategia inundativa, son numerosas las investigaciones que se han llevado a cabo para optimizar su cría masiva, tanto sobre diferentes presas como sobre distintas dietas artificiales y distintos ambientes (Arnò *et al*., 2010; Bonte & De Clerq, 2008, 2009, 2010a, 2010b y 2011; Constant *et al*., 1994; El-Desouki *et al*., 1976; Nakaishi *et al*., 2011; Perdiskis & Arvaniti, 2016; Perdiskis & Lykouressis, 2000, 2002; Sigsgaard, 2010; Urbaneja *et al*., 2005a). Por otro lado, los depredadores generalistas son capaces de alimentarse de un cierto rango de presas, pero el tipo de alimento influye en diversos aspectos relacionados con su desarrollo que tienen gran importancia en su dinámica poblacional. En este contexto, parece oportuno conocer la capacidad depredadora de estas cuatro especies de hemípteros sobre presas alternativas a las habitualmente utilizadas, así como su capacidad de incremento poblacional cuando se alimentan de ellas, lo que supone el primer paso para considerar su posible utilización como agentes de CB de las mismas. La importancia de este tipo

de estudios es mayor cuando la repercusión económica de la plaga utilizada como presa es grave.

Hasta donde llega nuestro conocimiento, no se ha llevado a cabo ninguna investigación que haya evaluado la capacidad de consumo de huevos y larvas de *S. exigua* por parte de *O. laevigatus*, *A. nemoralis*, *N. tenuis* y *M. pygmaeus*, ni tampoco existen trabajos que determinen los valores de la tasa intrínseca de incremento de estos depredadores cuando se alimentan de esta presa. Los resultados de este trabajo pueden proporcionar información importante para comprender su dinámica poblacional y para estimar los efectos que, a nivel poblacional, puede tener estos depredadores sobre la presa.

4.2. Material y Métodos

4.2.1. Capacidad de consumo de huevos de *Spodoptera exigua*

Para evaluar la capacidad para consumir huevos de *S. exigua* por parte de los estadios ninfales de cada uno de los cuatro depredadores, se individualizaron veinte ninfas N1 de menos de 24 horas de edad en recipientes cilíndricos de plástico transparente, de 3 cm de diámetro y 1,5 cm de alto, provistos de un orificio de ventilación en su tapa, de 1 cm de diámetro, cubierto con papel de filtro (unidad experimental). En cada recipiente se colocó un pequeño trozo de vaina de judía con el propósito de aportar humedad (fig. 20). Cada dos días, se introdujeron 60 huevos de *S. exigua* en cada una de las unidades experimentales. Cada 24 horas se contó el número de huevos consumidos total o parcialmente por el depredador, hasta el término de su desarrollo ninfal. En cada conteo se anotaba el estadio ninfal en el que se encontraban cada individuo y la mortalidad aparecida.

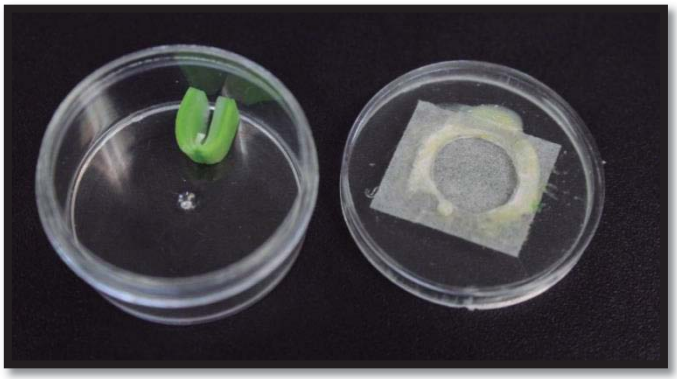

Figura 20. Unidad experimental utilizada para evaluar la capacidad de consumo de huevos de *S. exigua* por parte de las ninfas y los adultos de los depredadores.

En el caso de los adultos, se individualizaron 80 ninfas N5 en unidades experimentales idénticas a las descritas anteriormente. Cuando alcanzaron el estado adulto, fueron sexados y se seleccionaron 20 individuos de cada sexo. Cada individuo se mantuvo en ayunas durante un periodo de 24 horas. Trascurrido este tiempo, se le ofrecieron 100 huevos de *S. exigua* cada dos días. Cada 24 horas se contó el conteo del número de huevos que habían sido consumidos total o parcialmente por cada adulto. El ensayo se prolongó hasta el momento de su muerte.

4.2.2. Capacidad de consumo de larvas de *Spodoptera exigua*

De igual forma, se estimó el consumo de larvas (L1 a L5) de *S. exigua* por parte de los estadios ninfales y de los adultos de cada uno de los cuatro depredadores. Las unidades experimentales utilizadas consistieron en cajas prismáticas de plástico transparente, de 7 x 5 x 2,5 cm, provistas de un orificio de ventilación cubierto con papel de filtro. En cada unidad experimental se introducía una ninfa (N1 a N5) de menos de 24 horas de edad o un adulto, obtenidos tal y como se ha explicado en el punto anterior, así como un número suficiente y no excesivo (acorde con su tamaño) de larvas de un estadio concreto de *S. exigua*, así como una porción de dieta semisintética para noctuidos (fig. 21). Al cabo de 24 horas se

anotó el número de larvas consumidas por cada ninfa. Para cada depredador se realizaron 20 repeticiones por estadio ninfal y adulto de cada sexo.

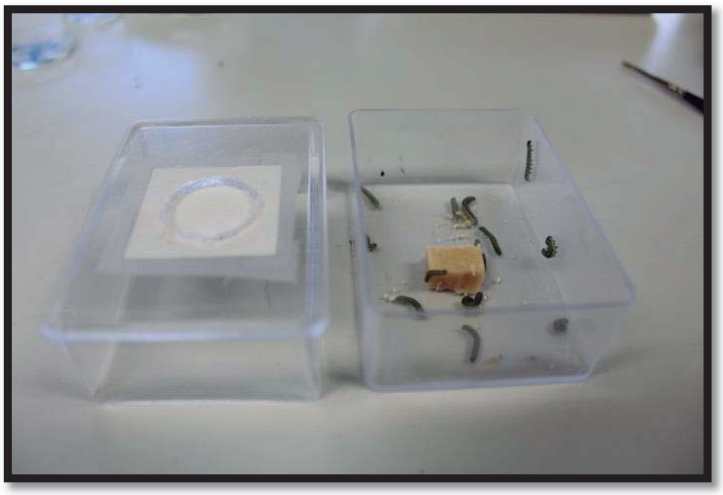

Figura 21. Unidad experimental utilizada para evaluar la capacidad de consumo de larvas de *S. exigua* por parte de las ninfas y los adultos de los depredadores.

4.2.3. Tablas de vida con huevos de *Spodoptera exigua* como presa

Para realizar los bioensayos encaminados a la obtención de los parámetros de las tablas de vida cuando los depredadores son alimentados con huevos de S*. exigua*, se utilizaron los materiales y métodos descritos en el capítulo 3 (Material y métodos generales). Concretamente, se emplearon los recogidos en los subapartados 3.3.1 y 3.3.2 para las especies pertenecientes a las familias Anthocoridae y Miridae, respectivamente.

Para cada especie depredadora se realizaron dos tratamientos: 1) tratamiento de referencia en el que los depredadores fueron alimentados exclusivamente con huevos de *E. kuehniella* (considerada como presa tipo y utilizada de forma generalizada para la cría masiva de depredadores); y 2) tratamiento en el que los depredadores fueron alimentados únicamente con huevos de *S. exigua*.

En el apartado 3.4. Análisis estadísticos del mismo capítulo 3, se detallan los métodos empleados para llevar a cabo el análisis estadísticos de los resultados obtenidos.

4.3. Resultados

4.3.1. Capacidad depredadora y tabla de vida de *Orius laevigatus*

Los datos de consumo de huevos de *S. exigua* por parte del depredador *O. laevigatus* se muestran en la tabla 2. Se puede observar cómo los estadios ninfales que presentan un consumo diario mayor son N3, N4 y N5 sin que haya diferencias significativas entre ellos. Considerando el estado ninfal completo, la media de consumo diario fue de algo más de 7 huevos por individuo. En cuanto al consumo total, se observa que los estadios N4 y N5 son los que más huevos de *S. exigua* consumieron, no habiendo diferencias significativas entre ellos. No se encontraron tampoco diferencias significativas entre las ninfas N1, N2 y N3. Una ninfa llega a consumir a lo largo de todo su desarrollo, aproximadamente, 66 huevos.

Tabla 2. Consumo diario y consumo total (media±e.t) de huevos de *S. exigua* por parte de cada uno de los estadios ninfales de *O. laevigatus*.

Fase	Consumo diario	Consumo total
N1	4,08±0,41 a	8,75±0,93 a
N2	5,18±0,33 a	10,55±0,84 a
N3	8,30±0,77 b	9,55±1,15 a
N4	10,35±0,66 b	17,45±1,59 b
N5	8,25±0,55 b	20,30±1,52 b
Total N	7,23±1,14	66,60±2,33
Estadísticos	F=20,26, df=4 ,P<0,0001	F=17,62, df=4 ,P<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

En la tabla 3 se presentan los datos de consumo de huevos de *S. exigua* por parte de los adultos de *O. laevigatus*. Se observa que, tanto para el consumo diario, como para el total, las hembras llegaron a depredar un número significativamente mayor de huevos que los machos. Sin considerar el sexo, un individuo adulto de *O. laevigatus* consumió de media más de 14 huevos diarios y más de 246 durante toda su vida.

Tabla 3. Consumo diario y consumo total (media±e.t.) de huevos de *S. exigua* por parte de los adultos de *O. laevigatus*.

	Consumo diario	Consumo total	Longevidad
Hembra	16,76±0,53 a	299,85±15,90 a	18,10±1,00 a
Macho	11,61±0,39 b	192,90±10,53 b	16,95±1,06 a
Adulto	14,19±2,29	246,37±53,47	
Estadísticos	*t*= 43,61, *df*=1, *P*<0,0001	*t*=31,45, *df*=1, *P*<0,0001	*t*=0,62, *df*=1, *P*=0,4360

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la figura 22 se representan los consumos medios diario y acumulado, de huevos de *S. exigua* por parte de *O. laevigatus* durante toda su vida. Se puede observar cómo el pico máximo de consumo medio diario es de 20,75 huevos, alcanzado días después de la emergencia del adulto. Al analizar el consumo medio acumulado se observa que un individuo de *O. laevigatus* consumió una media de casi 370 huevos a lo largo de toda su vida.

Al evaluar el consumo de larvas de *S. exigua* por parte del depredador, durante un periodo de 24 horas, se encontró que solamente los adultos y el último estadio ninfal eran capaces de depredarlas y, exclusivamente, larvas de primer estadio (tabla 4). El menor consumo lo presentaron las ninfas N5, sin que se observaran diferencias significativas entre los consumos medios de adultos machos y hembras.

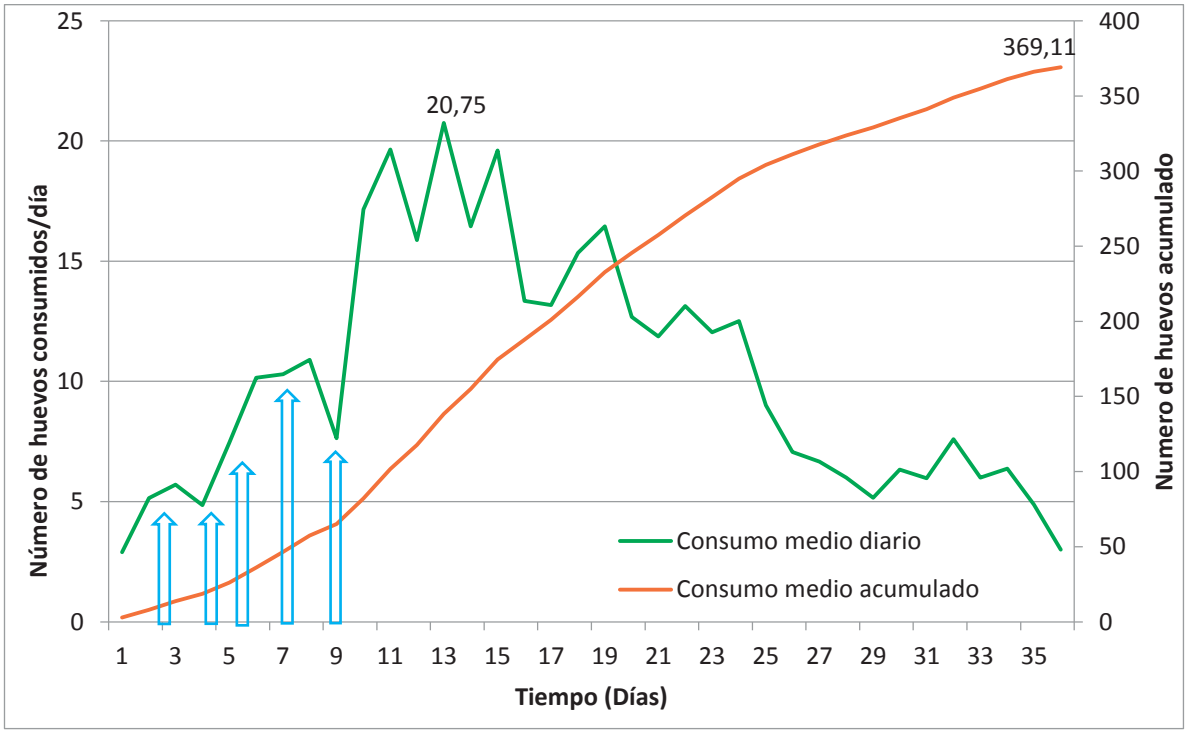

Figura 22. Consumo medio diario y medio acumulado de huevos de *S. exigua* por parte de *O. laevigatus* a lo largo de su toda su vida (las flechas azules indican los momentos medios en los que se producen las sucesivas mudas ninfales).

Tabla 4. Consumo de larvas L1 de *S. exigua* durante 24 horas por parte de ninfas N5 y adultos (machos y hembras) de *O. laevigatus* (media±e.t.).

Fase	Larvas L1 consumidas
Ninfa N5	1,15±0,21 a
Hembras	3,90±0,34 b
Machos	3,80±0,28 b
Estadísticos	*F*=30,97, *df*=2 *P*<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

En la tabla 5 se observan los valores obtenidos para el periodo de preoviposición, fecundidad, fertilidad y longevidad de las hembras de *O. laevigatus* cuando son alimentadas, exclusivamente, con huevos de *S. exigua* o de *E. kuehniella*. Para todos estos parámetros se obtuvieron diferencias significativas según el huésped.

El periodo de preoviposición y la longevidad de las hembras fue significativamente superior cuando la dieta fue a base de huevos de *S. exigua*, mientras que el número total de huevos puestos por hembra y el porcentaje de eclosión de estos huevos fue superior cuando el depredador se alimentó de huevos de *E. kuehniella*. La ratio sexual obtenida fue similar en ambos tratamientos.

Tabla 5. Parámetros biológicos de los adultos de *O. laevigatus* (media±e.t.) en función del tipo de presa: huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*.

	Tipo de presa		
Parámetro	*E. kuehniella*	*S. exigua*	Estadísticos
Periodo de preoviposición (días)	3,42±0,50 a	5,36±0,40 b	*t*= 3,21, *df*=1, *P*=0,0002
Huevos totales por hembra	108,23±7,10 a	88,57±13,60 b	*t*= 1.98, *df*=1, *P*=0,02115
Huevos eclosionados (%)	89,79±1,35 a	72,95±3,62 b	*t*= 4.21, *df*=1, *P*=0,0071
Longevidad (días)	28,8±1,29 a	30,89±3,70 b	*t*= 6,72, *df*=1, *P*=0,0125
Ratio sexual	0,54	0,56	

Dentro de la misma fila, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferente. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la tabla 6 se muestra el tiempo de desarrollo de cada estado inmaduro y la duración total de huevo a adulto, así como la mortalidad, de la progenie de *O. laevigatus* en función del tipo de presa suministrada (huevos de *E. kuehniella* o huevos de *S. exigua*). Se observa que la duración media del desarrollo de los huevos no muestra diferencias significativas entre los dos tipos de dieta. Por otra parte, las ninfas emergidas de estos huevos y alimentadas con huevos de *S. exigua* tardaron en alcanzar el estado adulto significativamente más tiempo que las alimentadas mediante huevos de *E. kuehniella*. Por este motivo, al comparar el tiempo total de desarrollo de la etapa inmadura de *O. laevigatus* se observa que la dieta basada en huevos de *S. exigua* lo prolonga en casi un día con respecto a la dieta basada en huevos de *E. kuehniella*.

Además, sobre la dieta a base de huevos de *S. exigua* se observó una mayor mortalidad del estado ninfal y, sobre todo, del estado de huevo en el que fue unas 2,6 veces superior a la registrada cuando la alimentación suministrada a los adultos progenitores consistió en huevos de *E. kuehniella*.

Tabla 6. Duración del desarrollo (media±e.t.) y mortalidad en la etapa inmadura de la descendencia de hembras de *O. laevigatus* alimentadas con una dieta a base de huevos de *S. exigua o E. kuehniella*.

	Huevo		Ninfa		Total huevo a adulto	
Presa	*E. kuehniella*	*S. exigua*	*E. kuehniella*	*S. exigua*	*E. kuehniella*	*S. exigua*
Días	3.01±0.05 a	3.51±0.06 a	10.62±0.13 a	11.15±0.15 b	13.83±0,9 a	14,61±1.13 b
Estadísticos	*t*= 19.61, *df*=1, P<0.001		*t*= 30.09, *df*=1, P=0.0375		*t*= 1.29, *df*=1, P=0.0018	
%mortalidad	10.21±0.75a	27.05±1.04b	11.45±0.98 a	13.33±1.79 b	21.66±2.15 a	40.38±3.01 b
Estadísticos	*t*= 47.82 *df*=1, P<0.001		*t*= 53.28, *df*=1, P=0.001		*t*= 42.82 *df*=1, P<0.001	

Dentro de la misma fila y fase de desarrollo, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la tabla 7 se muestran los parámetros de las tablas de vida de *O. laevigatus* obtenidos para cada tipo de presa. No se encontraron diferencias significativas en la r_m, ya que se solapan sus intervalos de confianza. Además, el resto de parámetros fue similar en ambos tratamientos, excepto para la tasa de reproducción neta, que fue inferior en el caso de huevos de *S. exigua*, y para la duración media de una generación, que fue mayor en este último caso.

Tabla 7. Parámetros de la tabla de vida de *O. laevigatus* en función del tipo de dieta: huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*.

	Tipo de presa	
Parámetro	*E. kuehniella*	*S. exigua*
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) (IC 95 %)*	0.1147±0.005 a (0.1027-0.1268)	0.1127±0.008 a (0.0977-0.1298)
Tasa de reproducción neta (Ro)	40.7368	22.9895
Duración media de generación (T) (días)	32.3202	27.8175
Tasa finita de incremento (λ)	1.1216	1.1205
Tiempo de duplicación (TD) (días)	6.0431	6.0962

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (criterio del solapamiento de los límites fiduciales de los intervalos de confianza de las r_m).
* IC: Intervalo de confianza para la r_m al 95%

4.3.2. Capacidad depredadora y tabla de vida de *Anthocoris nemoralis*

En la tabla 8 se presentan los consumos medios diario y total de las ninfas de *A. nemoralis* sobre huevos de *S. exigua*. Respecto al consumo medio diario, los

estadios N4 y N5 son los que presentan un valor significativamente mayor. Por otro lado, se observa también cómo una ninfa consume una media ligeramente superior a los 13 huevos por día desde su emergencia hasta adulto. En cuanto al consumo medio total, son de nuevo las ninfas N4 y N5 las que presentan valores significativamente mayores. A su vez, el estado ninfal consumió una media de algo más de 162 huevos durante todo su desarrollo.

Tabla 8. Consumo diario y consumo total (media±e.t) de huevos de *S. exigua* por parte de cada uno de los estadios ninfales de *A. nemoralis*.

Fase	Consumo diario	Consumo total
N1	5,55±0,51 a	12,05±1,32 a
N2	11,89±0,75 b	23,79±1,50 b
N3	13,59±1,18 b	26,21±2,63 b
N4	19,96±1,32 c	42,05±3,05 c
N5	17,91±0,67 c	58,00±3,73 c
Total N	13,78±2,52	162,58±6,79
Estadísticos	*F*=35,89, *df*=4 ,*P*<0,0001	*F*=46,70, *df*=4 ,*P*<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

No se observaron diferencias significativas entre machos y hembras adultos de *A. nemoralis* en cuanto a su consumo medio diario de huevos de *S. exigua* (tabla 9), de modo que el adulto consumió 18,45 huevos/día de media. Sin embargo, las hembras adultas se alimentaron de un número significativamente mayor de huevos del noctuido que los machos. Considerando machos y hembras juntos, un adulto de *A. nemoralis* consumió una media de 268,35 huevos de *S. exigua* durante toda su vida.

En la figura 23 se representan los consumos medios diario y acumulado de huevos de *S. exigua* por parte de *A. nemoralis* a lo largo de toda su vida. Se puede observar cómo aparecen dos picos máximos de consumo medio diario (27,11 y 27,65 huevos, por parte de ninfas N5 y adultos, respectivamente). Por otra parte, al analizar el consumo medio acumulado se observa que un individuo de *A. nemoralis* se alimentó de, aproximadamente, 531 huevos a lo largo de toda su vida.

Tabla 9. Consumo diario y consumo total (media±e.t.) de huevos de *S. exigua* por parte de los adultos de *A. nemoralis*.

	Consumo diario	Consumo total	Longevidad
Hembra	19,69±1,70 a	315,10±27,98 a	15,90±1,29 a
Macho	17,26±1,42 a	221,60±14,04 b	13,55±0,72 a
Adulto	18,45±1,21	268,35±21,13	
Estadísticos	*t*= 1,21, *df*=1, *P*=0,2783	*t*=8,92, *df*=1, *P*<0,0049	*t*=2,52, *df*=1, *P*=0,1207

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05; test t de Student para muestras independientes). (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

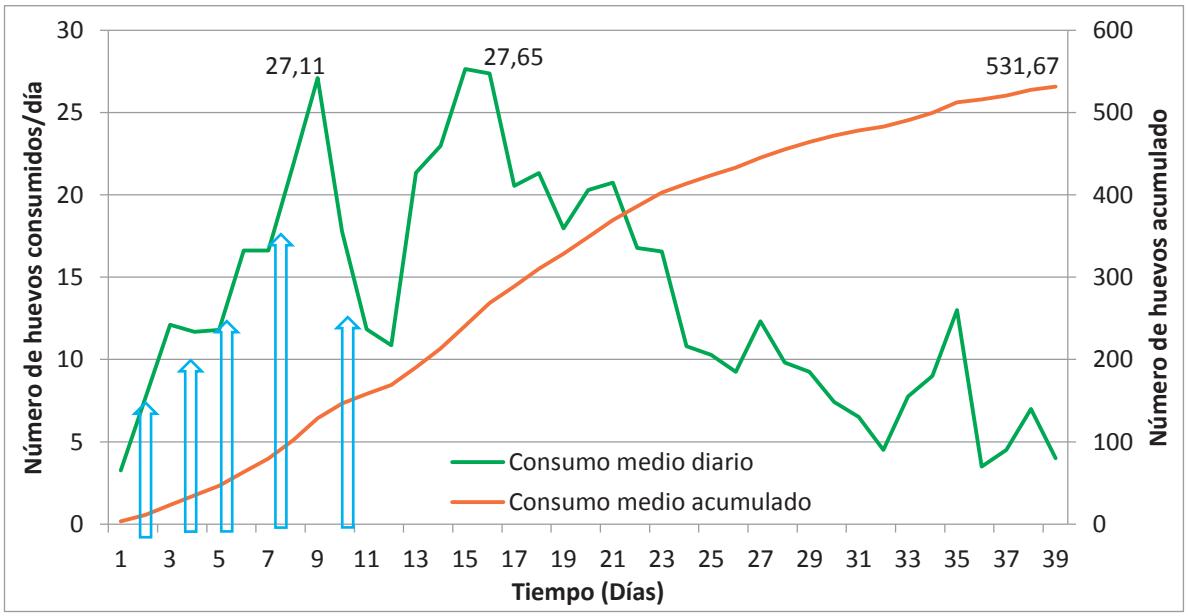

Figura 23. Consumo medio diario y medio acumulado de huevos de *S. exigua* por parte de *A. nemoralis* a lo largo de su toda su vida (las flechas azules indican los momentos medios en los que se producen las sucesivas mudas ninfales).

Con respecto al consumo de larvas de *S. exigua* por parte de *A. nemoralis*, se encontró que solamente el estadio ninfal N5 y en el estado adulto llegaron a consumir larvas y solamente las de primer estadio. En la tabla 10 se observa cómo el estadio ninfal N5 consumió significativamente menos larvas que los adultos y

que las hembras depredadron de un número significativamente mayor que los machos.

Tabla 10. Consumo de larvas de L1 de *S. exigua* durante 24 horas por parte de ninfas N5 y adultos (machos y hembras) de *A. nemoralis* (media±e.t.).

Fase	Larvas L1 consumidas
Ninfa N5	1,35±0,22 a
Hembras	4,55±0,20 c
Machos	2,15±0,25 b
Estadísticos	*F*=54,46, *df*=2 *P*<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

Los parámetros biológicos obtenidos para los adultos de *A. nemoralis* alimentados con huevos de *S. exigua* y *E. kuehniella* se presentan en la tabla 11. Se observa cómo el tipo de presa afectó significativamente a todos ellos, siendo menor el tiempo de preoviposición en el caso de la dieta basada en huevos de *E. kuehniella*. El número de huevos totales puesto por hembra, su porcentaje de eclosión y la longevidad de los adultos fueron significativamente menores cuando la presa fue *S. exigua*. La ratio sexual fue muy similar en ambos casos.

Tabla 11. Parámetros biológicos de los adultos de *A. nemoralis* (media±e.t.) en función del tipo de presa: huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*.

	Tipo de presa		
Parámetro	*E. kuehniella*	*S. exigua*	Estadísticos
Periodo de preoviposición (días)	5,50±0,50 a	7,00±0,38 b	*t*=11,11, *df*=1, *P*=0,0020
Huevos totales por hembra	85,67±13,00 a	65,80±8,97 b	*t*=1,29, *df*=1, *P*=0,0262
Huevos eclosionados (%)	93,64±0,75 a	86,25±6,80 b	*t*=7,03, *df*=1, *P*=0,0116
Longevidad (días)	27,90±1,57 a	23,75±1,02 b	*t*=4,91, *df*=1, *P*=0,0328
Ratio sexual	0,47	0,42	

Dentro de la misma fila, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

La duración del desarrollo de la progenie de *A. nemoralis* se vio afectada por el tipo de dieta consumida por los adultos progenitores (tabla 12). Así, los huevos

puestos por hembras alimentadas con huevos de *S. exigua* tardaron significativamente más tiempo en eclosionar que los puestos por hembras alimentadas con huevos de *E. kuehniella*. Del mismo modo, el porcentaje de mortalidad de los huevos fue diferente, siendo mayor en el caso de la dieta a base de huevos *S. exigua*. Sin embargo, el tiempo de desarrollo ninfal no se vio afectado significativamente por el tipo de presa, pero sí la mortalidad, que fue mayor en el caso de las que procedían de adultos alimentados con huevos de *S. exigua*. Al comparar el tiempo total de desarrollo, desde huevo hasta adulto, se observa una ligera diferencia, siendo menor en el caso de la dieta basada en huevos de *S. exigua*. La mortalidad total fue mayor en el caso de la dieta a base de huevos de *S. exigua*.

Tabla 12. Duración del desarrollo (media±e.t.) y mortalidad en la etapa inmadura de la descendencia de hembras de *A. nemoralis* alimentadas con una dieta a base de huevos de *S. exigua o E. kuehniella*.

	Huevo		Ninfa		Total huevo a adulto	
Presa	*E. kuehniella*	*S. exigua*	*E. kuehniella*	*S. exigua*	*E. kuehniella*	*S. exigua*
Días	2,60±0,06 a	3,11±0,06 b	14,56±0,09 a	14,60±0,21 a	17,14±0,08 a	16,60±0,21 b
Estadísticos	*t*=20,61, *df*=1, *P*<0,0001		*t*=0.04, *df*=1, *P*=0,8993		*t*=6,45, *df*=1, *P*=0,0126	
%mortalidad	6,36±0,39 a	13,75±0,3 b	15,00±0,91 a	26,08±0,61 b	23,27±035 a	36,25±0,63 b
Estadísticos	*t*=163,58, *df*=1, *P*=0,0002		*t*=101,81, *df*=1, *P*=0,0005		*t*= 408,44, *df*=1, *P*<0,0001	

Dentro de la misma fila y fase de desarrollo, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

Los parámetros de la tabla de vida de *A. nemoralis* en función de los dos tipos de alimentación se presentan en la tabla 13. Puede observarse cómo la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) no presenta diferencias significativas entre ambos tratamientos, resultando ser también similares el resto de parámetros, excepto en la tasa de reproducción neta, que fue inferior en el caso de huevos de *S. exigua*.

Tabla 13. Parámetros de la tabla de vida de *A. nemoralis* en función del tipo de presa: huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*.

	Tipo de presa	
Parámetro	*E. kuehniella*	*S. exigua*
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) (IC 95 %)*	0,1271±0,005 a (1,1159-0,1384)	0,1126±0.005 a (0,1009-0,1243)
Tasa de reproducción neta (R_0)	30,9382	20,9737
Duración media de generación (T) (días)	27,0022	27,0272
Tasa finita de incremento (λ)	1,1356	1,1192
Tiempo de duplicación (TD) (días)	5,4535	6,1558

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (criterio del solapamiento de los límites fiduciales de los intervalos de confianza de las r_m).
* IC: Intervalo de confianza para la r_m al 95%

4.3.3. Capacidad depredadora y tabla de vida de *Nesidiocoris tenuis*

Los consumos obtenidos para las ninfas de *N. tenuis* cuando se alimentaron con huevos de *S. exigua* se presentan en la tabla 14. Puede observarse cómo las ninfas N1 son las que presentaron un consumo significativamente menor, seguidas de las ninfas N2, ninfas N3, y por último los estadios N4 y N5, entre los que no aparecieron diferencias significativas. Considerando toda su vida, las ninfas de *N. tenuis* cosumen una media de 8,39 huevos de *S. exigua* por día. Respecto al consumo medio total, el comportamiento por estadios ninfales fue parecido al consumo diario, aunque con ligeras diferencias. El consumo medio total de una ninfa de *N. tenuis* resultó ser de 125,73 huevos de *S. exigua*.

Tabla 14. Consumo diario y consumo total (media±e.t) de huevos de *S. exigua* por parte de cada uno de los estadios ninfales de *N. tenuis*.

Fase	Consumo diario	Consumo total
N1	1,84±0,97 a	6,31±0,97 a
N2	5,33±0,50 b	14,31±1,46 b
N3	9,90±0,47 c	25,84±9,90 c
N4	11,71±0,48 d	28,21±1,61 c
N5	13,15±0,45 d	51,05±2,96 d
Total N	8,39±2,09	125,73±7,59
Estadísticos	*F*=81,32, *df*=4 ,*P*<0,0001	*F*=37,76, *df*=4 ,*P*<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

Los valores del consumo de huevos de *S. exigua* por parte de los adultos de *N. tenuis* se recogen en la tabla 15. En el caso del consumo medio diario no se observaron diferencias significativas entre machos y hembras, cosa que sí se observó cuando se tuvo en cuenta el consumo medio total, en cuyo caso las hembras se alimentaron de un número de huevos de *S. exigua* mayor que los machos. Sin hacer diferenciación entre sexos, un adulto de *N. tenuis* consumió una media de 12,18 huevos por día y de 319,82 a lo largo de toda su vida.

Tabla 15. Consumo diario y consumo total (media±e.t.) de huevos de *S. exigua* por parte de los adultos de *N. tenuis*.

	Consumo diario	Consumo total	Longevidad
Hembra	13,43±0,58 a	407,00±29,21 a	30,10±1,80 a
Macho	10,93±0,37 a	232,65±19,03 b	22.40±1,97 b
Adulto	12,18±1,24	319,82±87,17	
Estadísticos	*t*= 12,96, *df*=1, *P*=0,0901	*t*=25,01, *df*=1, *P*<0,0001	*t*=8,32, *df*=1, *P*=0,0064

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la figura 24 se representan los consumos medios diario y acumulado de huevos de *S. exigua* por parte de *N. tenuis* durante toda su vida Se puede observar cómo aparecen dos picos máximos de consumo medio diario (17,50 y 17,01, ambos en la primera etapa del estado adulto). Cuando se analiza el consumo medio acumulado, se observa cómo un individuo de *N. tenuis* consumió una media de más de 623 huevos a lo largo de toda su vida.

Como se muestra en la tabla 16, solo las ninfas N5 y los adultos de *N. tenuis* fueron capaces de consumir larvas L1 de *S. exigua*, y solo los adultos depredaron larvas L2. Puede observarse cómo las ninfas N5 del mírido consumieron significativamente menos larvas L1 que los adultos, siendo las hembras adultas las que más consumieron. Por otro lado, fueron también las hembras del depredador las que consumieron un número significativamente mayor de larvas L2 que los machos.

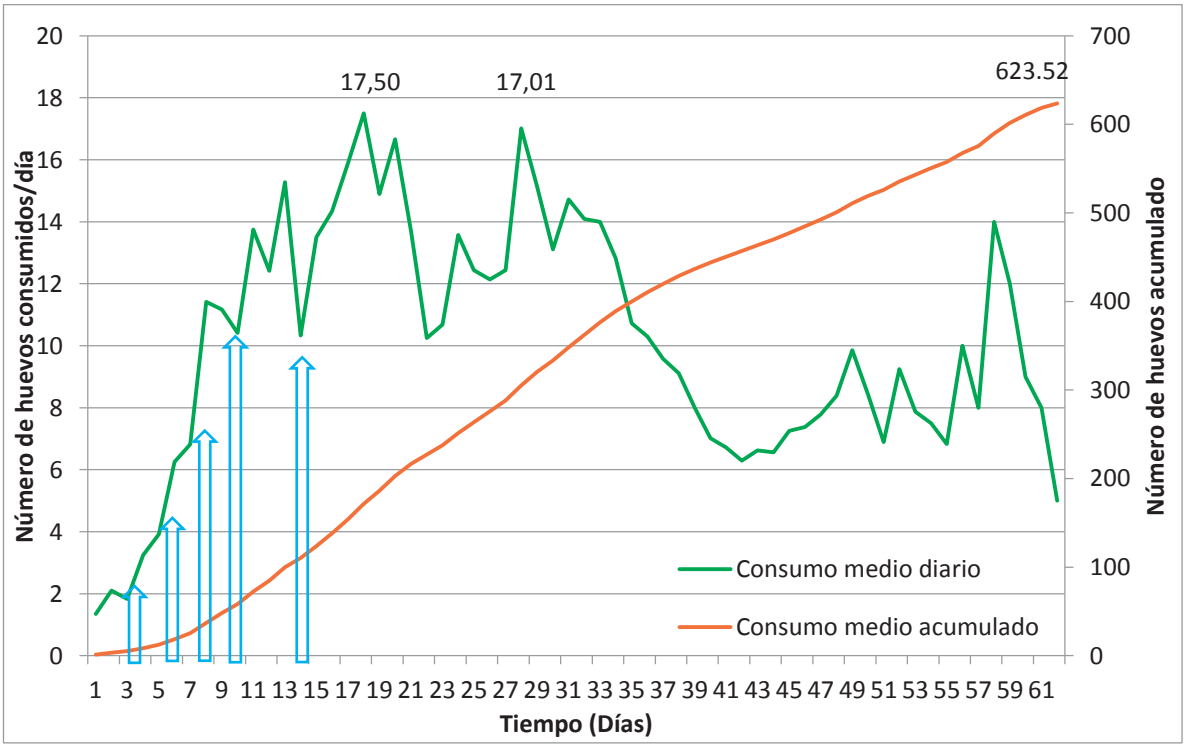

Figura 24. Consumo medio diario y medio acumulado de huevos de *S. exigua* por parte de *N. tenuis* a lo largo de su toda su vida (las flechas azules indican los momentos medios en los que se producen las sucesivas mudas ninfales).

Tabla 16. Consumo de larvas L1 y L2 de *S. exigua* durante 24 horas por parte de ninfas N5 y adultos (machos y hembras) de *N. tenuis* (media±e.t.).

Fase	Larvas consumidas L1*	Larvas consumidas L2**
Ninfa N5	1,75±0,28 a	–
Hembras	7,25±0,37 b	1,70±0,27 a
Machos	5,80±0,48 c	0,90±0,23 b
Estadísticos	*F*=54,91, *df*=2 *P*<0,0001	*t*= 15,37, *df*=1, *P*=0,0004

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes.
*(P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).
**(P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la tabla 17 aparecen los parámetros biológicos calculados para los adultos de *N. tenuis* alimentados con los dos tipos de presa. Se observa que no hubo diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros

evaluados. Hay que recordar que para este depredador no fue posible estimar el porcentaje de huevos eclosionados, tal como se justificó en el apartado de material y métodos correspondiente (capítulo 3).

Tabla 17. Parámetros biológicos de los adultos de *N. tenuis* (media±e.t.) en función del tipo de presa: huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*.

	Tipo de presa		
Parámetro	*E. kuehniella*	*S. exigua*	Estadísticos
Periodo de preoviposición (días)	5,82±0,37 a	5,44±0,48 a	*t*=0,41, *df*=1, *P*=0,5257
Ninfas totales por hembra	50,35±10,61 a	62,30±11,70 a	*t*=0,57, *df*=1, *P*=0,4541
Longevidad (días)	20,90±1,80 a	19,65±1,37 a	*t*=0,30, *df*=1, *P*=0,5842
Ratio sexual	0,47	0,47	

Dentro de la misma fila, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

Al evaluar el tiempo de desarrollo de la progenie procedente de adultos de *N. tenuis* alimentados con los dos tipos de presa (tabla 18), se observa que no hubo diferencias significativas ni para el estado de huevo, ni para el de ninfa, ni para el desarrollo total del periodo inmaduro (huevo-adulto). Por el mismo motivo antes señalado, no se pudo calcular el porcentaje de mortalidad de los huevos ni, por tanto, el porcentaje de mortalidad total desde huevo a adulto. Sin embargo, se observa que el porcentaje de mortalidad obtenido para el estado ninfal fue similar para ambos tipos de dieta.

Tabla 18. Duración del desarrollo (media±e.t.) y mortalidad en la etapa inmadura de la descendencia de hembras de *N. tenuis* alimentadas con una dieta a base de huevos de *S. exigua o E. kuehniella*.

	Huevo		Ninfa		Total huevo a adulto	
Presa	*E. kuehniella*	*S. exigua*	*E. kuehniella*	*S. exigua*	*E. kuehniella*	*S. exigua*
Días	5,60±0,07 a	5,91±0,06 a	14,56±0,09 a	14,90±0,13 a	20,14±0,08 a	20,48±0,21 a
Estadísticos	*t*=6,79, *df*=1, *P*=0,1003		*t*= 3,70, *df*=1, *P*=0,0566		*t*=3,90, *df*=1, *P*=0,0502	
%mortalidad	-	-	14,94±0,58 a	12,64±0,44 a	-	-
Estadísticos			*t*= 2,06, *df*=1, *P*=0,2244			

Dentro de la misma fila y fase de desarrollo, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

Se obtuvieron aproximaciones de los parámetros de la tabla de vida de *N. tenuis* en función de los datos que fue posible obtener en el bioensayo y haciendo estimaciones para los datos faltantes (fecundidad real, fertilidad y mortalidad de la descendencia) de acuerdo a lo señalado en material y métodos generales (capítulo 3). Para calcular la fecundidad real, al número total de ninfas emergidas se le agregó la mortalidad estimada para huevos de *N. tenuis* por Predikis & Lykouressis (2002) que fue de 10%. En la tabla 19 se recogen los parámetros calculados de la tabla de vida. Puede observarse cómo no existen diferencias significativas en la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) y cómo el resto de los parámetros calculados presentan valores muy similares para ambos tipos de presa.

Tabla 19. Parámetros de la tabla de vida de *N. tenuis* en función del tipo de presa: huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*.

	Tipo de presa	
Parámetro	*E. kuehniella*	*S. exigua*
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) (IC 95 %)*	0,1216±0,007 a (0,1052-0,1381)	0,1277±0.007 a (0,1046-0,1368)
Tasa de reproducción neta (R_0)	22,0552	27,9739
Duración media de generación (T) (días)	25,4403	26,0867
Tasa finita de incremento (λ)	1,1294	1,1283
Tiempo de duplicación (TD) (días)	5,7002	5,7427

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (criterio del solapamiento de los límites fiduciales de los intervalos de confianza de las r_m).
* IC: Intervalo de confianza para la r_m al 95%

4.3.4. Capacidad depredadora de *Macrolophus pygmaeus*

En la tabla 20 se presentan los consumos medios diario y total de huevos de *S. exigua* obtenidos para ninfas de *M. pygmaeus*. Puede observarse que N3, N4 y N5 fueron los estadios ninfales que más huevos consumiron diariamente. Lo mismo ocurrió en cuanto al consumo medio total, solo que, en este caso, las ninfas N5 presentaron el mayor consumo. Una ninfa del mírido consumió una media de 8,06 huevos de *S. exigua* por día y de 146,15 durante todo su periodo ninfal.

Tabla 20. Consumo diario y consumo total (media±e.t) de huevos de *S. exigua* por parte de cada uno de los estadios ninfales de *M. pygmaeus*.

Fase	Consumo diario	Consumo total
N1	5,20±0,33 a	19,15±1,89 a
N2	6,67±0,41 a	19,04±2,02 a
N3	9,31±0,92 b	28,50±3,36 b
N4	9,80±1,18 b	30,55±3,80 b
N5	9,92±1,11 b	48,55±5,23 c
Total N	8,06±1,00	146,15±5,35
Estadísticos	*F*=6,57, *df*=4 ,*P*=0,0001	*F*=11,78, *df*=4 ,*P*<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

Un adulto de *M. pygmaeus* consumió una media de 12,81 huevos de *S. exigua* por día y de 268,92 durante toda su etapa adulta. Al diferenciar el consumo entre machos y hembras se observa que no hubo diferencias significativas entre ambos sexos respecto al consumo medio diario, pero sí respecto al consumo medio total, siendo superior en las hembras (tabla 21).

Tabla 21. Consumo diario y consumo total (media±e.t.) de huevos de *S. exigua* por parte de los adultos de *M. pygmaeus*.

	Consumo diario	Consumo total	Longevidad
Hembra	11,70±0,42 a	297,05±14,36 a	26,00±1,35 a
Macho	13,92±2,47 a	240,80±7,53 b	22,40±1,97 a
Adulto	12,81±1,10	268,92±28,12	
Estadísticos	*t*= 0,78, *df*=1, *P*=0,3820	*t*=12,03, *df*=1, *P*=0,0013	*t*=2,08, *df*=1, *P*=0,1577

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la figura 25 se representan los consumos medios diario y acumulado de huevos de *S. exigua* durante toda la vida de un individuo de *M. pygmaeus*. Se puede observar cómo aparece un pico máximo de consumo medio diario de 18,75 huevos, alcanzado pocos días después de la emergencia del estado adulto. Al analizar el consumo medio acumulado se observa que un individuo de *M. pygmaeus* consume una media de casi 477 huevos a lo largo de toda su vida.

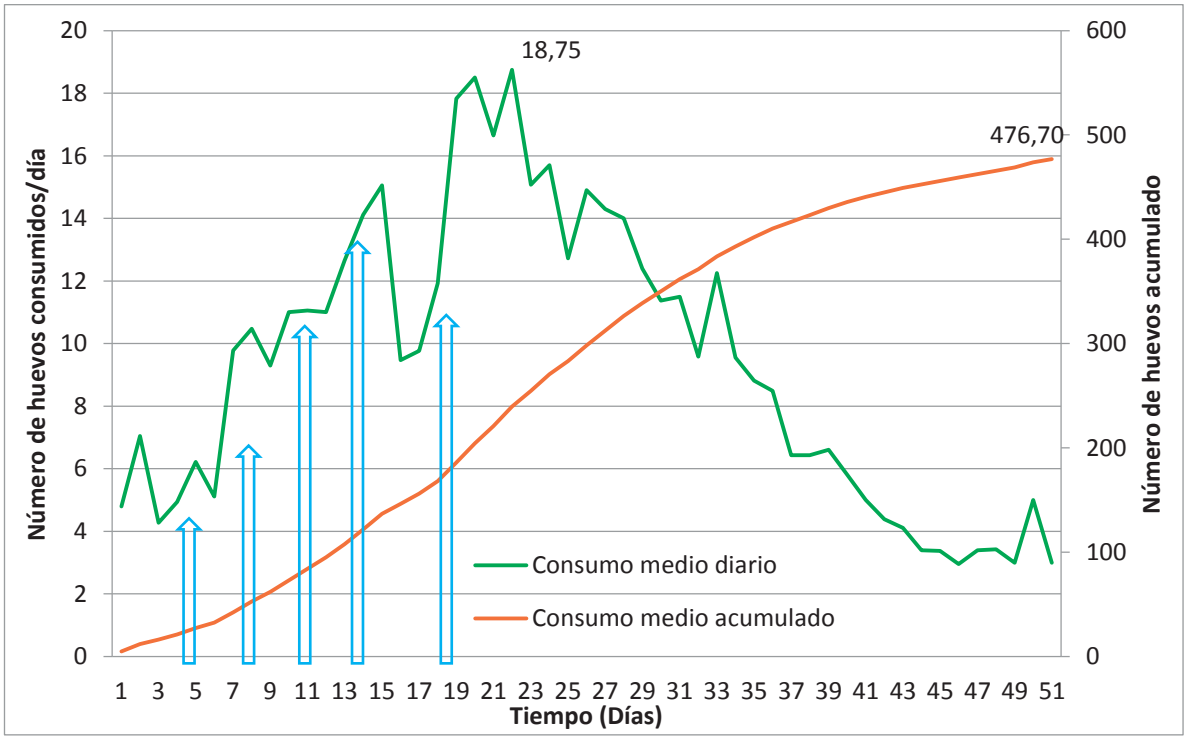

Figura 25. Consumo medio diario y medio acumulado de huevos de *S. exigua* por parte de *M. pygmaeus* a lo largo de su toda su vida (las flechas azules indican los momentos medios en los que se producen las sucesivas mudas ninfales).

Solamente las larvas de primer estadio de *S. exigua* pudieron ser depredadas por *M. pygmaeus* y, únicamente, cuando el depredador se encontraba en el estadio ninfal N5 y en el estado adulto. El consumo resultó ser significativamente mayor para los adultos respecto a las N5, sin que se observaran diferencias significativas entre machos y hembras (tabla 22).

Tabla 22. Consumo de larvas L1 de *S. exigua* durante 24 horas por parte de las ninfas N5 y los adultos (machos y hembras) de *M. pygmaeus* (media±e.t.).

Fase	Larvas L1 consumidas
Ninfa N5	2,35±0,45 a
Hembras	6,80±063 b
Machos	5,80±0,67 b
Estadísticos	*F*=13,96, *df*=2 *P*<0,0001

Dentro de la misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

La metodología utilizada para la obtención de los parámetros biológicos y poblacionales en el caso de los míridos estudiados en el presente trabajo, no funcionó correctamente con *M. pygmaeus*, por lo que no fue posible obtenerlos. Esto se debió a que esta especie presenta un largo periodo a 24º C (Martínez-García *et al.,* 2017) y la vaina de judía se deterioraba antes de que los huevos eclosionaran en las condiciones del bioensayo. Sí que fue posible calcular la longevidad de las hembras, la cual resultó ser de 29,00±1,50 días cuando se alimentaron de huevos de *S. exigua* y de 28,80±1,11 días cuando lo hicieron de huevos de *E. kuehniella*, sin que entre ambas medias hubiese diferencias significativas (t=0,01, df=1, P=9388).

4.4. Discusión

Los estadios ninfales N4 y N5 de *O. laevigatus, A. nemoralis, N. tenuis* y *M. pygmaeus* son los que consumen significativamente más presa cuando son alimentados con huevos de *S. exigua* respecto a los estadios más jóvenes, seguramente debido a su tamaño notablemente mayor, lo que exige una más alta ingesta de nutrientes. *A. nemoralis* fue la especie que depredó el mayor consumo de huevos por parte de sus ninfas, tanto diario como total, mientras *O. laevigatus* fue la especie que menos consumió. Por otra parte, en los cuatro depredadores las hembras adultas consumieron más huevos de *S. exigua* que los machos. Esta diferencia no es explicada por una mayor longevidad de las hembras en el caso de *O. laevigatus, A. nemoralis,* y *M. pygmaeus*, debido a que no se encontraron diferencias significativas respecto a este parámetro Sin embargo, en el caso de *N. tenuis* este incremento podría estar influenciado por este parámetro, ya que las hembras son más longevas que los machos. Posiblemente, las hembras tengan mayores necesidades nutricionales al tener que producir huevos. En el caso de los adultos, *N. tenuis* fue la especie que mayor cantidad total de huevos consumió (entre 50 y 73 huevos más que las otras especies).

Si analizamos el consumo total de huevos de *S. exigua* por parte de un individuo a lo largo de toda su vida, el depredador más voraz es *N. tenuis* (623 huevos) y el que menos consume es *O. laevigatus* (369 huevos). *N. tenuis* es capaz de consumir entre 92 y 254 huevos más que las otras tres especies, por lo tanto, en principio sería la especie más eficaz para controlar esta plaga.

En la bibliografía apenas existen estudios sobre la capacidad de consumo de huevos de noctuidos por parte de estos depredadores. Así, Pérez-Guerrero *et al*. (2015) estudian el consumo de adultos *O. laevigatus* sobre huevos de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) y encuentran una tasa de consumo diario inferior a la observada en este estudio sobre *S. exigua*. En el caso de *N. tenuis* y *M. pygmaeus*, los estudios sobre huevos de lepidópteros se han centrado en otras familias, como *Tuta absoluta* y *E. kueniella* (Chailleux *et al.*, 2014; Molla *et al.*, 2009; Nannini, 2009 Urbaneja *et al*., 2009 y 2012), mientras que los estudios con *A. nemoralis*, al tratarse de un depredador con un alto potencial de consumo de psílidos, se han centrado en este grupo de (Emami, 2017; Emami *et al.,* 2014; Sigsgaard. 2010; Sigsgaard *et al*., 2006; Solomon *et al*., 2000). Por otra parte, Ehler (2004) evaluó la capacidad de consumo de huevos de *S. exigua* de ninfas N5 y adultos de *Orius tristicolor* (White, 1987) y obtuvo consumos medios diarios muy próximos a los encontrados para *O. laevigatus*, *N. tenuis* y *M. pygmaeus*. Este mismo autor, encontró que otros hemípteros, como *Lygus hesperus* Knight, 1917 (Miridae) y *Nabis americoferus* Carayon, 1961 (Nabidae), son capaces de consumir una media de 40 huevos del noctuido en 48 horas, resultado casi similar al de *A. nemoralis,* pero superior al de los otros tres depredadores estudiados en este trabajo.

Con respecto al consumo de larvas de *S. exigua*, los cuatro depredadores fueron capaces de alimentarse de larvas L1, pero solo las ninfas N5 y los adultos. El adulto de *N. tenuis* también lo hizo de larvas L2. Parece lógico pensar que la diferencia de tamaño entre el depredador y la presa sea la causa de este comportamiento, ya que la mayoría de los depredadores solo pueden manejar

presas que son iguales o más pequeñas que ellos (Symondson *et al*., 2002). Fueron los dos míridos los que atacaron a un mayor número de larvas.

También son muy escasos los estudios sobre el consumo de larvas de lepidópteros que existen de estos depredadores. Por ejemplo, Rim *et al*. (2015) evaluaron el potencial depredador de *N. tenuis* sobre larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) concluyendo que, tras 24 horas de interacción, el depredador llegaba a consumir una media de 15 larvas L1 y 9 larvas L2, consumo superior al obtenido en nuestro. Por su parte, Isenhour *et al*. (1990) evaluaron la capacidad depredadora de adultos de otra especie de *Orius*, *O. insidiosus*, sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* encontrado consumos próximos a los hallados en este estudio para los dos antocóridos.

Cuando adultos *O. laevigatus*, *A. nemoralis* y *N. tenuis* fueron alimentados con una dieta basada exclusivamente en huevos de *S. exigua*, solamente los antocóridos arrojaron diferencias en sus parámetros biológicos al comparar con una dieta exclusiva de huevos de *E. kuehniella*. Así, se prolongó el periodo de preoviposición y se redujo la fecundidad y el porcentaje de eclosión de los huevos. Sin embargo, Bonte & De Clerq (2008) encontraron un periodo de preoviposición de *O. laevigatus*, cuando se alimentó con huevos de *E. kuehniella*, similar al registrado en este estudio con huevos de *S. exigua*. Por otra parte, Ferkovich *et al.* (1997) observaron que la fecundidad de las hembras de *O. insidiosus* fue mayor cuando se alimentó con huevos de *E. kuehniella*, que cuando lo hacían de huevos de *S. frugiperda*, habiendo una correlación positiva con el contenido de proteína del huevo. En cuanto al porcentaje de eclosión, Bonte y De Clerq (2008) publican valores muy similares a los aquí obtenidos utilizando como dieta huevos del pirálido, mientras que los resultados aportados por Ferkovich *et al*. (2007) son coincidentes con los nuestros, pero para la especie *O. insidiosus*. En el caso de *N. tenuis*, los resultados de obtenidos de longevidad son bastante coincidentes con los aportados por Molla *et al*. (2009).

Con respecto a la progenie procedente de los adultos sometidos a ambos tipos de dieta, se observó el mismo efecto, de modo que la dieta basada en huevos de *S. exigua* aumento el tiempo de duración total del desarrollo y la mortalidad en los dos antocóridos. Algunos autores han evaluado la duración del tiempo de desarrollo de *O. laevigatus*. En algunos casos los valores que obtienen son muy similares los registrados en este estudio (Bonte & De Clerq, 2010b; Arnó *et al*., 1998), pero en otros son relativamente diferentes (Cocuzza *et al*., 1997; Sánchez & Lacasa, 2006), lo que puede ser achacado a diferentes aspectos, como distinto tipo de dieta y/o distinto origen de las poblaciones del depredador. En relación con la duración del desarrollo de N. tenuis, los resultados obtenidos son más o menos coincidentes con los de otros autores (Urbaneja *et al*. 2005b; Martínez-García *et al*., 2016; Perdikis & Arvaniti, 2016).

Finalmente, *O. laevigatus*, *A. nemoralis* y *N. tenuis* no mostraron diferencias significativas en sus tasas intrínsecas de crecimiento (r_m) cuando fueron alimentados con huevos de *S. exigua* o huevos de *E. kuehniella*. Además, las tasas calculadas son similares entre las tres especies. No hemos encontrado, en la bibliografía, estudios relacionados con tablas de vida de *A. nemoralis*, sin embargo, sí existen estudios sobre *O. laevigatus* y *N. tenuis*. Así, en el caso de *O. laevigatus*, Tommasini *et al*. (2004) obtienen tasas inferiores a las obtenidas por nosotros cuando la presa consistió en adultos de *F. occidentalis* y en huevos de *E. kuehniella* (0,097 y 0,080, respectivamente). Por su parte, Molla *et al*. (2009) obtuvieron un valor de 0,112 cuando *N. tenuis* se alimentó de huevos *E. kuehniella*, muy similar al encontrado en este estudio, sin embargo, la r_m disminuyó hasta 0,089 cuando su dieta consistió huevos de *T. absoluta*.

De acuerdo con los datos de consumo de huevos y larvas de *S. exigua* por parte de los depredadores evaluados en este trabajo, y de las tasas intrínsecas de crecimiento de *O. laevigatus, A. nemoralis, N. tenuis* cuando se alimenta de huevos del noctuido, se puede considerar que son buenos candidatos potenciales para ser incluidos en programas de CB de *S. exigua*, especialmente *N. tenuis.* Sin

embargo, es necesario llevar a cabo más investigaciones, sobre todo de campo, para determinar con mayor precisión el potencial de cada depredador y poder implementar su uso a nivel práctico.

4.5. Conclusiones

- Todos los estadios ninfales y los adultos de *O. laevigatus, A. nemoralis, N. tenuis* y *M. pygmaeus* fueron capaces de depredar huevos de *S. exigua*.
- La especie que consume un mayor número de huevos de *S. exigua* a lo largo de toda su vida es *N. tenuis*, y la que menos *O. laevigatus*.
- Solo las ninfas N5 y los adultos de los cuatro depredadores estudiados fueron capaces de consumir larvas de primer estadio de *S. exigua*. Por otra parte, solo los adultos de *N. tenuis* fueron capaces de depredar larvas de segundo estadio del noctuido.
- Una dieta basada exclusivamente en huevos de *S. exigua* no implica una reducción de la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) de los depredadores *O. laevigatus*, *A. nemoralis* y *N. tenuis* en comparación con una dieta basada en huevos de *E. kuehniella*, a pesar de que algunos parámetros biológicos se vean ligeramente afectados.
- En términos generales, considerando la capacidad de consumo de huevos y larvas de *S. exigua*, y teniendo en cuenta su capacidad de incremento poblacional (en su caso), los cuatro depredadores, y en especial *N. tenuis*, son candidatos potenciales para actuar como agentes de control biológico de *S. exigua*.

Capítulo 5. Evaluación del efecto de la interacción intragremial entre *Nesidiocoris tenuis, Orius laevigatus y Anthocoris nemoralis* sobre el consumo de huevos de *Spodoptera exigua* puestos en plantas de pimiento.

5.1. Introducción

El pimiento es un cultivo de gran importancia económica. A nivel mundial se producen 31.167 millones de kilos en 1.914.685 hectáreas de terreno. España ocupa la sexta posición, con 1.023 millones de kilos producidos en 18.100 hectáreas, siendo Almería una de las principales regiones productoras del mundo (FAO, 2012). En lo que respecta a sus plagas, a nivel global, la más importante es el trips de las flores *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Sin embargo, existen otras también de gran interés como es el caso de algunas especies de moscas blancas y de lepidópteros (*S. exigua*, entre ellas) cuya importancia relativa depende, entre otras cosas, de la región donde se encuentre el cultivo.

Por otro lado, es importante destacar que el pimiento es el cultivo con mayor superficie en la que sus plagas son manejadas mediante control biológico. Los primeros éxitos a gran escala se obtuvieron en el año de 2005, concretamente en un área de 1700 ha en el Campo de Cartagena (Murcia), donde se aplicó esta estrategia de control en el 90% de los invernaderos de pimiento allí cultivados (Sanchez *et al*., 1997; Sanchez & Lacasa, 2006). Posteriormente, en la provincia de Almería se utilizaron enemigos naturales en la totalidad de la superficie de este cultivo (Van der Blom *et al*., 2009).

Entre los enemigos naturales más destacables asociados al cultivo del pimiento se encuentran los chinches *O. laevigatus* y *O. albidipennis*, y el ácaro fitoseido *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). También tienen mucho

interés el parasitoide *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae) y el mírido *N. tenuis* utilizados en el manejo de moscas blancas (Van der Blom, 2008).

El uso habitual de agentes de control biológico provoca, con frecuencia, interacciones en los nichos ecológicos de las especies involucradas, siendo algunas de ellas determinantes para el éxito de la estrategia de control biológico. Este es el caso de las interacciones intragremiales entre depredadores, en las que la competencia por los recursos explotados y la disminución de hábitats de los mismos juegan un importante papel a la hora de determinar la capacidad depredadora de cada especie (Evans *et al*., 2011; Roy *et al*., 2012; Were & Majerus, 2008). La configuración de cada gremio se ve influenciada por las interacciones intra e intergremiales (Lucas, 2005). Así, después de la invasión que se produce tras una liberación masiva de depredadores generalistas, se predice que la densidad de las presas disminuirá considerablemente, solo si el invasor domina la competencia por los recursos con los otros depredadores. De este modo, esa liberación puede tener efectos indirectos adversos sobre los depredadores ya establecidos, incluyendo la reducción de la fecundidad y longevidad de sus adultos y el aumento de la duración del desarrollo de sus estados y estadios inmaduros que, de este modo, tendrán una exposición más prolongada a sus propios enemigos naturales (Amarasekare, 2003; Crowder & Snyder, 2010; White *et al*., 2006).

En los últimos tiempos está aumentando el interés por analizar el papel que juegan los efectos indirectos de las interacciones que tienen lugar dentro y entre gremios, en la estructura y mantenimiento de las comunidades naturales. Así, su estudio se está abordando tanto desde perspectivas teóricas como experimentales. Gran parte de los trabajos realizados sobre estas interacciones se han centrado en analizar la evolución de las poblaciones de depredadores en función de la diversidad de presas (Kajita *et al*., 2006; Kasper *et al*., 2004; Paredes *et al*., 2015; White *et al*, 2006). Sin embargo, un tipo de efectos indirectos que ha recibido poca atención es el que se refiere a cómo las interacciones entre

poblaciones de diferentes especies de depredadores afectan a las poblaciones de presas. Por otro lado, en la mayoría de las situaciones reales, una presa (por ejemplo una plaga) se enfrenta a una serie de diferentes especies depredadoras. En estas condiciones, el riesgo de que la presa sea consumida por un depredador concreto se transforma en un riesgo más global en el que intervienen las interacciones entre todos los depredadores presentes. Así, es importante conocer cómo afectarán esas interacciones al consumo de presa para evaluar el éxito final en el control de la plaga. En el caso más simple, el riesgo global de la presa sería una suma aritmética de los riesgos particulares generados por cada depredador. Sin embargo, si éstos interactúan entre sí, la naturaleza de estas interacciones podrá tener efectos importantes en el cálculo del riesgo global para la presa (Soluk & Collins, 1988) y, por tanto, en la dinámica de sus poblaciones.

Existen tres tipos de interacciones posibles entre depredadores: neutra (donde el consumo de presa por cada depredador no se ve influido por la presencia de los otros depredadores), negativa (en la que el consumo de presa por cada depredador es inferior a la que tendría en ausencia de los otros depredadores) y positiva (en la que el consumo de presa por cada depredador es superior a la que tendría en ausencia de los otros depredadores). Lógicamente, el riesgo de mortalidad directa de las presas será mayor cuando las interacciones entre depredadores sean positivas y menor cuando sean negativas (Soluk & Collins, 1988). La eliminación de un depredador que interactúa negativamente puede tener, por tanto, un efecto de aumento de consumo de presas porque la eficacia mejorada de los depredadores restantes tenderá a ejercer un efecto compensatorio.

En el presente trabajo, se llevó a cabo un bioensayo con el objetivo de analizar la influencia de la densidad de los huevos de la presa *S. exigua* en la interacción intragremial de las tres especies depredadoras *N. tenuis*, *O. laevigatus* y *A. nemoralis* consideradas por parejas, y establecer en qué medida dicha interacción afecta a su potencial de control de la plaga.

5.2. Material y métodos

5.2.1. Material vegetal

Para el desarrollo del bioensayo, se utilizaron plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) var. Dulce Italiano. Para obtener las plantas necesarias, se sembraron semillas de pimiento en semilleros de 50 x 30 cm, que constaban de 40 alvéolos de 200 ml rellenos con sustrato especial para hortícolas libre de impurezas (Jiffy® substrates) (fig. 26). Los semilleros se mantenían en una cámara climatizada a una temperatura constante de 24 ± 1 ºC, una humedad relativa de 60 ± 5 % y un fotoperiodo de 16:8 (L:O). Cuando aparecieron las primeras hojas verdaderas, las plántulas se trasplantaron a macetas de 10 cm de diámetro mayor x 8 cm de diámetro menor x 8 cm de altura y se dejaron desarrollar hasta que alcanzaron una altura aproximada de 10 cm.

Figura 26. Semilleros con pimiento *C. annuum* var. Dulce Italiano.

5.2.2. Unidades experimentales

Cada unidad experimental consistió en una jaula formada por una planta de pimiento cubierta con un vaso cilíndrico de plástico invertido, de 12 cm de diámetro y 15 cm de alto. Cada vaso disponía, distribuidos por su superficie, de cinco orificios de 2 cm de diámetro, cubiertos con tela de visillo, para permitir la ventilación y evitar la condensación de agua. En la base del tallo de la planta, a nivel del borde de la maceta, se colocó una lámina de acetato con un orificio en su centro, de modo que el tallo de la planta encajara en el mismo. Para evitar una posible caída, el vaso se sujetó por el exterior a la lámina de acetato con cinta adhesiva. Así mismo, se utilizó cinta adhesiva para tapar cualquier abertura por donde pudieran escapar los insectos (fig.27).

Figura 27. Unidades experimentales utilizadas en el bioensayo de evaluación del efecto de la interacción intragremial entre *N. tenuis*, *O. laevigatus* y *A. nemoralis* sobre el consumo de huevos de *S. exigua* puestos en plantas de pimiento.

En cada una de las jaulas se introdujeron cuatro adultos de *S. exigua*, dos hembras y dos machos, con el propósito de que las hembras ovipositaran sobre la planta. Al cabo de 24 horas se retiraron los adultos y se contó el número de huevos puestos. Con ayuda de un pincel de retiró el exceso de huevos, en función de la densidad de presa requerida para cada tratamiento. En este sentido, se establecieron dos densidades de huevos de *S. exigua*: densidad alta (60 huevos/planta) y densidad baja (30 huevos/planta).

5.2.3. Bioensayo de interacción intragremial

Para evaluar la interacción entre poblaciones de diferentes especies de depredadores se utilizaron adultos de *N. tenuis* (N), *O. laevigatus* (O) y *A. nemoralis* (A), de más de cinco días de edad para evitar el periodo de preoviposición y, de esta forma, que los individuos estuvieran ya en la madurez reproductiva. Se individualizaron adultos de cada especie y se mantuvieron en ayunas durante 24 horas. Pasado este tiempo se introdujeron en las jaulas descritas con la planta y los huevos de la presa. Después de 24 horas se retiraron los depredadores y se procedió a realizar el conteo de huevos consumidos, así como de los individuos muertos durante este periodo. Se realizaron 15 tratamientos en total:

a) Tres tratamientos control (uno por cada especie depredadora), en los que, por cada jaula, se introdujeron dos hembras y dos machos de la especie correspondiente, sin huevos de *S. exigua*.
b) Seis tratamientos para evaluar el consumo de huevos de *S. exigua* por parte de cada uno de los tres depredadores, tanto a baja como a alta densidad de presa. También en este caso, se introdujeron dos hembras y dos machos por jaula.
c) Seis tratamientos para establecer las interacciones de las diferentes combinaciones entre los tres depredadores, es decir, interacción N-O, N-A y A-O, tanto a alta como a baja densidad de presa, y en los que se

introdujeron dos hembras y dos machos de cada una de las especies combinadas por jaula.

5.2.4. Análisis estadístico

La predicción del consumo de presa para cada una de las interacciones se analizó utilizando un modelo simple, derivado de la suma de probabilidades de consumo por parte de cada depredador y asumiendo las condiciones de espacio finito y riesgo de las presas (Soluk & Collins, 1998 Pérez-Guerrero *et al*., 2015). La ecuación matemática para dicha predicción tiene la siguiente expresión:

Predicción de consumo de presa= (*Ps* + *Po* - *PsPo*) *Np*

Dónde:

Ps: es la probabilidad de consumo de huevos por el depredador A

Po: es la probabilidad de consumo de huevos por el depredador B

Np: es el número total de huevos ofrecidos

Para estimar las probabilidades de consumo de huevos por parte de cada especie depredadora se utilizó la fórmula propuesta por Mendenhall (1979):

$$P = \frac{Pc}{Np}$$

Dónde:

P: es la probabilidad de consumo

Pc: Número de presas consumidas

Np: Número total de presas ofrecidas

Para comparar las medias de consumo real de huevos obtenido en la interacción de dos depredadores (consumo real) y el consumo de huevos estimado para la

interacción (consumo estimado) se utilizó el test t de Student para muestras pareadas.

Para comparar las medias de los consumos obtenidos para cada especie, así como las mortalidades sufridas por los depredadores en los diferentes tratamientos, se utilizó el test F de Análisis de la Varianza (ANOVA), seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey (α= 0,05), considerando la robustez respecto a las hipótesis de normalidad y de homocedasticidad. Los test se llevaron a cabo utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

5.3. Resultados

5.3.1. Consumo de huevos de *Spodoptera exigua* en la interacción entre *Nesidiocoris tenuis* y *Orius laevigatus*

En la figura 28 se observa el porcentaje de huevos de *S. exigua* consumidos por *N. tenuis* y por *O. laevigatus* en cada una de las densidades de presa ofrecidas, tanto cuando se encontraban solos como cuando interaccionan ambas especies. Al considerar el consumo de huevos de *S. exigua* en la interacción entre *N. tenuis* y *O. laevigatus* a baja densidad, se observa que el consumo de ambos depredadores es significativamente mayor respecto al consumo estimado (t=24,29, df=1, P=0,0001), lo que indica que la interacción intragremial es positiva. Sin embargo, al aumentar la densidad de presa, esta interacción se vuelve negativa, ya que el consumo observado es significativamente menor que el estimado (t=7,24, df=1, P=,0149).

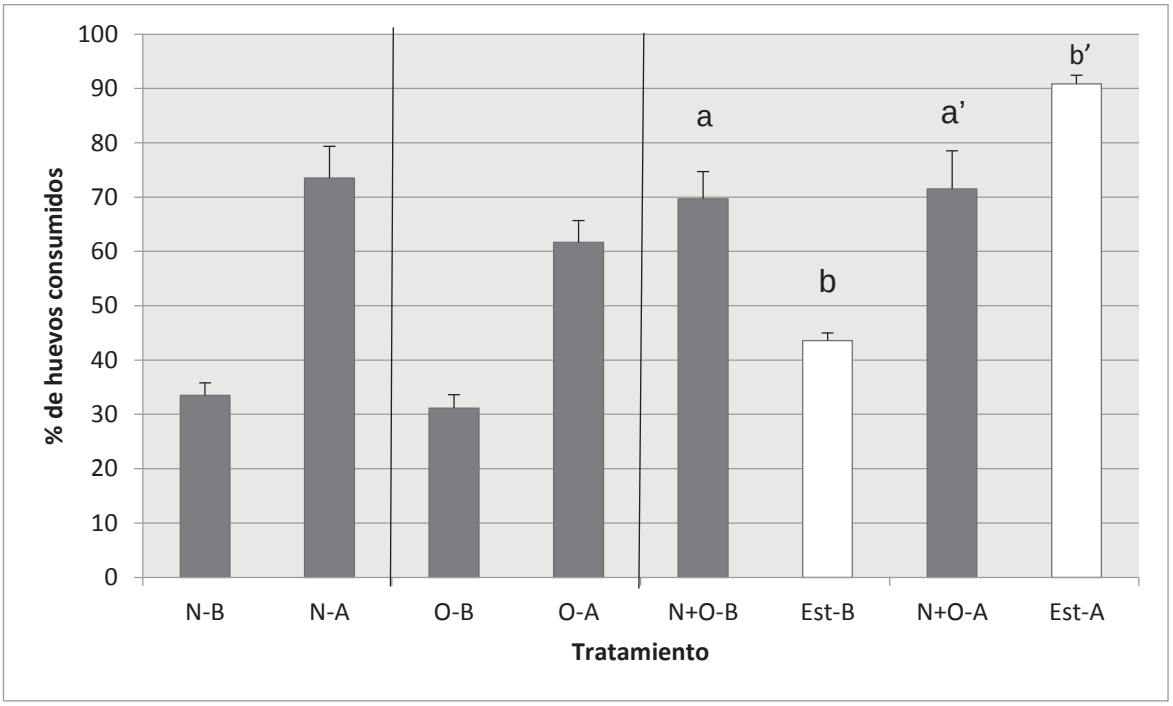

Figura 28. Porcentaje de huevos de *S. exigua* consumidos (media±et) por adultos de *N. tenuis* (N) y *O. laevigatus* (O) y en la interacción entre ambas especies (N+O). Consumo estimado para la interacción (Est); en todos los casos, tanto con alta (-A) como con baja (-B) densidad de presa. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias de los consumos reales y las medias de los consumos estimados (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

5.3.2. Consumo de huevos de *Spodoptera exigua* en la interacción entre *Nesidiocoris tenuis* y *Anthocoris nemoralis*

La figura 29 muestra el porcentaje de huevos de *S. exigua* consumidos por *N. tenuis* y por *A. nemoralis* según la densidad de presa ofrecida, así como el consumo total cuando ambas especies interaccionan. Con respecto al tipo de interacción entre ambas especies, se ha observado que, a baja densidad de presa, presenta diferencias significativas entre el consumo observado y el consumo estimado (*t*=7,98, *df*=1, *P*=0,0112), siendo mayor este último por lo que la interacción es negativa; mientras que a alta densidad de presa no existe

diferencias estadísticamente significativas (*t*=0,47, *df*=1, *P*=0,5037), lo que indica que la interacción es neutra.

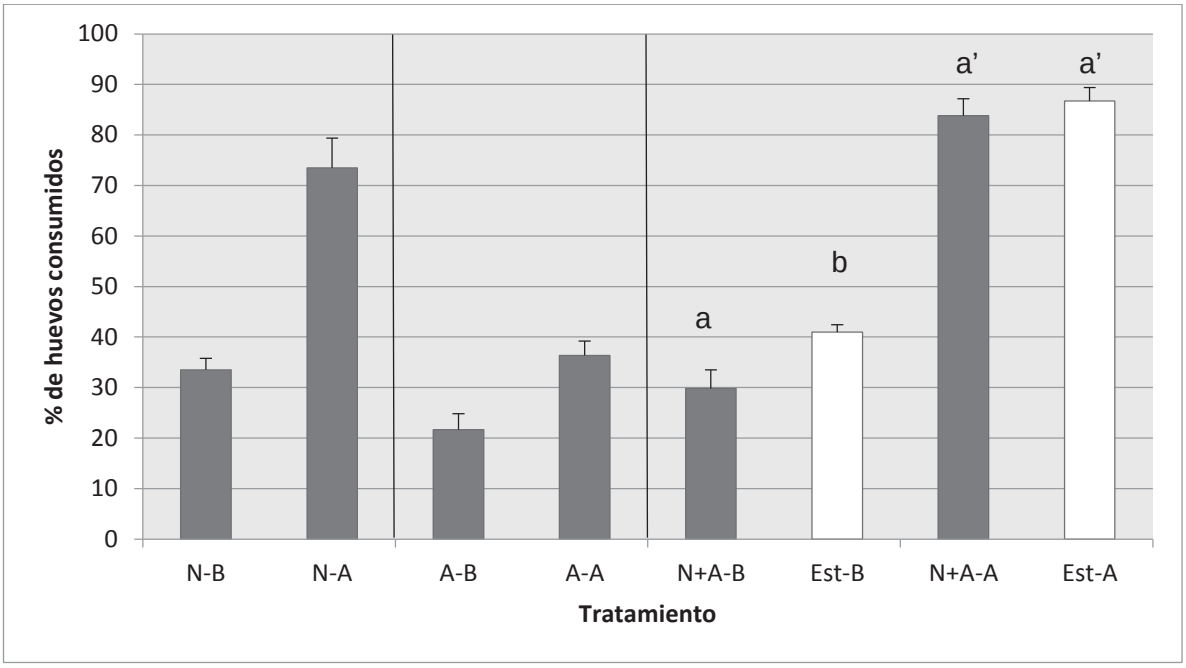

Figura 29. Porcentaje de huevos de *S. exigua* consumidos (media±et) por adultos de *N. tenuis* (N) y *A. nemoralis* (A), y en la interacción entre ambas especies (N+A). Consumo estimado para la interacción (Est); en todos los casos, tanto con alta (-A) como con baja (-B) densidad de presa. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias de los consumos reales y las medias de los consumos estimados (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

5.3.3. Consumo de huevos de *Spodoptera exigua* en la interacción entre *Anthocoris nemoralis* y *Orius laevigatus*

El porcentaje de huevos de *S. exigua* consumidos por *A. nemoralis* y por *O. laevigatus* según la densidad de presa ofrecida, así como el consumo total cuando interaccionan ambas especies, aparece reflejado en la figura 30. Se observa que no existen diferencias significativas entre el consumo observado y el estimado para ninguna de las dos densidades ensayadas (baja densidad *t*=0,04, *df*=1,

P=0,8419; alta densidad *t*=0,07, *df*=1, *P*=0,7956), lo que indica que las interacciones fueron neutras en ambos casos.

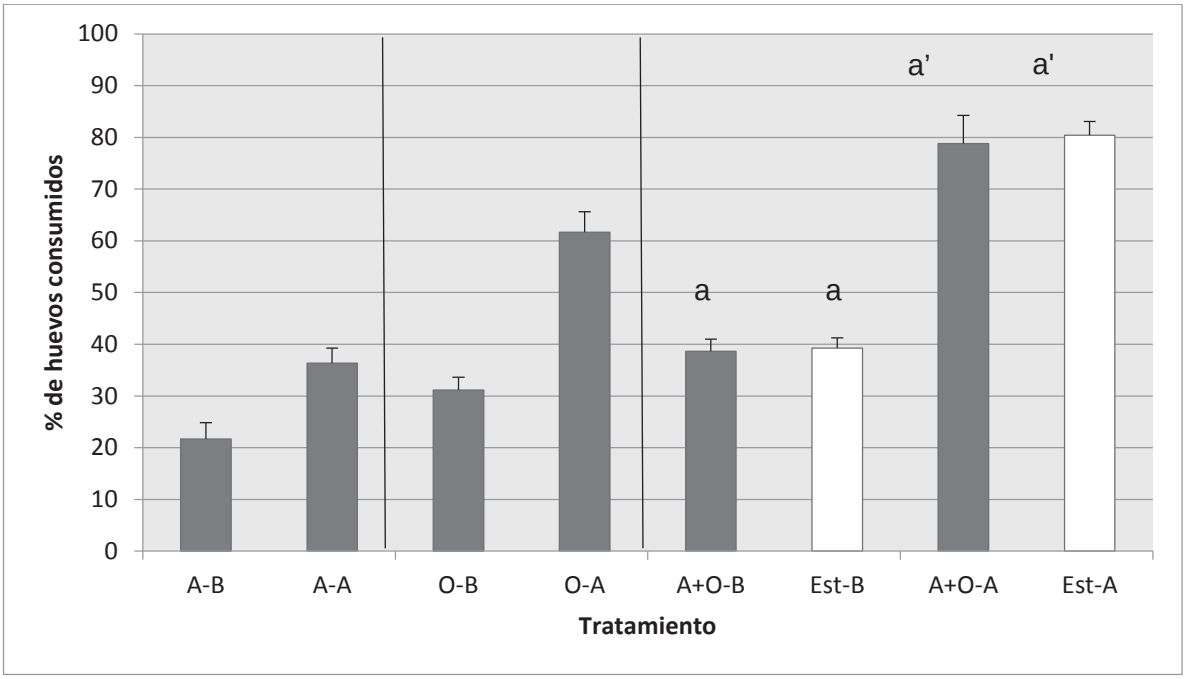

Figura 30. Porcentaje de huevos de *S. exigua* consumidos (media±et) por adultos de *A. nemoralis* (A) y *O. laevigatus* (O), y en la interacción entre ambas especies (A+O). Consumo estimado para la interacción (Est); en todos los casos, tanto con alta (-A) como con baja (-B) densidad de presa. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias de los consumos reales y las medias de los consumos estimados (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

5.3.4. Mortalidad de los depredadores *Nesidiocoris tenuis, Orius laevigatus* y *Anthocoris nemoralis* en la interacción intragremial

En la figura 31 se representa la mortalidad de *N. tenuis* registrada en los diferentes tratamientos realizados en los que aparecía dicho depredador. Se observa cómo, con la densidad alta de huevos de *S. exigua*, las medias de las mortalidades en las combinaciones de *N. tenuis* con los otros dos depredadores fueron significativamente mayores que cuando se encontraba solo. Sin embargo, en el caso de densidad baja de los huevos presa, la mortalidad de *N. tenuis* cuando

estaba solo, fue significativamente menor que cuando estaba en combinación con *A. nemoralis*, sin que hubiera diferencias significativas respecto a cuando interaccionaba con *O. laevigatus*. Además, en todos los casos se observó un mayor porcentaje de mortalidad del depredador en los tratamientos donde se disponía de una densidad baja de huevos de *S. exigua*, respecto a los tratamientos equivalentes pero con densidad era alta (*F*=2,29, *df*=5, *P*<0,0058).

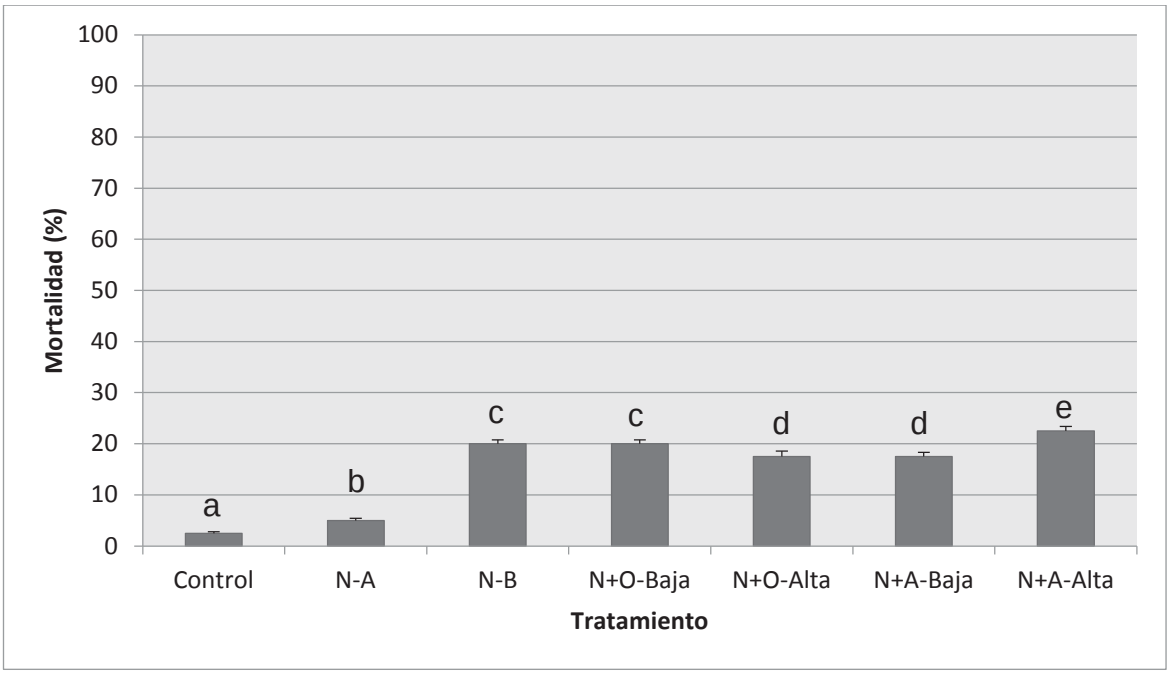

Figura 31. Mortalidad (media+et) de *N. tenuis* solo (N), en interacción con *O. laevigatus* (+O), y con *A. nemoralis* (+A), a diferentes densidades de huevos de *S. exigua*. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos correspondientes (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

En la figura 32 se observa la mortalidad de *O. laevigatus* en los diferentes tratamientos llevados a cabo en los que aparece dicho depredador. Se observa cómo, con la densidad alta de huevos de *S. exigua*, las medias de las mortalidades en las combinaciones de *O. laevigatus* con los otros dos depredadores fueron significativamente mayores que cuando se encontraba solo. Sin embargo, en el caso de densidad baja de los huevos presa, la mortalidad de *O. laevigatus* cuando estaba solo, fue significativamente menor que cuando

estaba en combinación con *A. nemoralis*, sin que hubiera diferencias significativas respecto a cuándo interaccionaba con *N. tenuis*. Además, en todos los casos, se observó un mayor porcentaje de mortalidad del depredador en los tratamientos donde se disponía de una densidad baja de huevos de *S. exigua*, respecto a los tratamientos equivalentes pero con densidad alta (*F*=4,11, *df*=6, *P*<<0,0015).

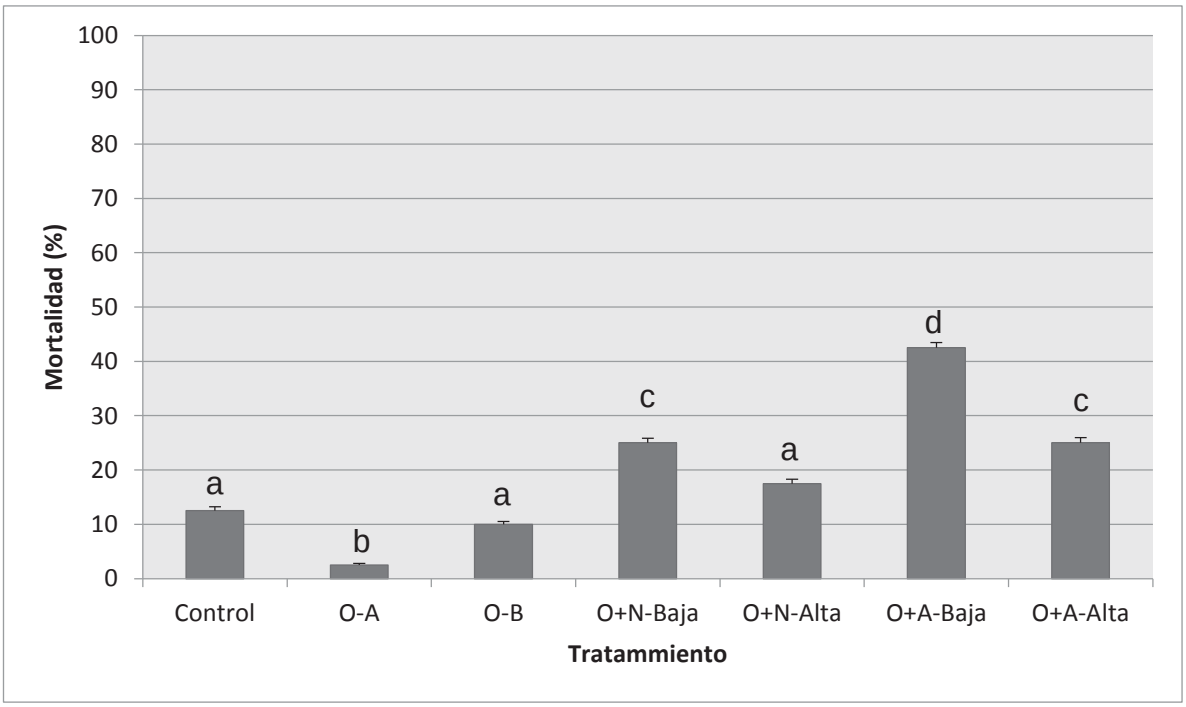

Figura 32. Mortalidad (media+et) del depredador *O. laevigatus* solo (O), en interacción con *N. tenuis* (+N), y con *A. nemoralis* (+A), a diferentes densidades de huevos de *S. exigua*. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos correspondientes (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

La mortalidad de *A. nemoralis* en los diferentes tratamientos llevados a cabo en los que aparece dicho depredador, se observan en la figura 33. Cuando la densidad de huevos de *S. exigua* fue la alta, no hubo diferencias significativas entre las medias de las mortalidades obtenidas cuando el depredador estaba solo y cuando estaba en combinación con *O. laevigatus*, mientras que la mortalidad media cuando estaba solo fue significativamente menor que cuando compartía unidades experimentales con *N. tenuis*. Sin embargo, en el caso de densidad baja de los huevos presa, las mortalidades medias de *O. laevigatus* fueron

significativamente iguales cuando estaba solo y cuando interaccionaba con los otros dos depredadores. Además, en todos los casos, se observó un mayor porcentaje de mortalidad de *O. laevigatus* en los tratamientos donde se disponía de una densidad baja de huevos de *S. exigua*, respecto a los tratamientos equivalentes pero con densidad alta (*F*=4,11, *df*=6, *P*<0,0015).

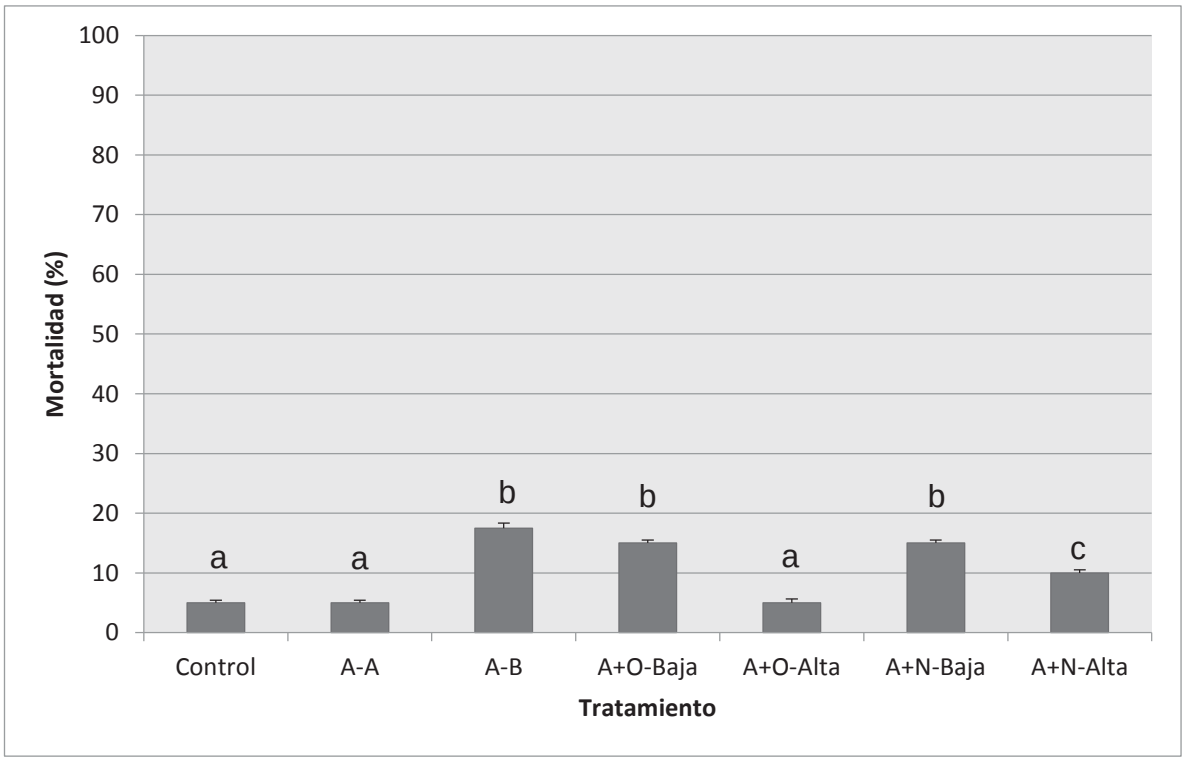

Figura 33. Mortalidad (media+et) del depredador *A. nemoralis* solo (A), en interacción con *O. laevigatus* (+O), y con *N. tenuis* (+N), tanto con alta (-A) como con baja (-B) densidad de huevos de *S. exigua*. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos correspondientes (P<0.05; test de ANOVA y de Tukey HSD).

5.4. Discusión

En los resultados obtenidos en el presente trabajo, se observa cómo la capacidad de depredación de huevos de *S. exigua* por parte de los depredadores *N. tenuis*, *O. laevigatus* y *A. nemoralis* por separado, puede verse alterada al entrar en interacción entre ellos. El que se produzca dicha alteración o no y la magnitud de

la misma dependió de las especies que entraban en interacción y de la densidad de presa suministrada.

N. tenuis manifestó una interacción positiva, solamente con *O. laevigatus* y a baja densidad de presa, mientras que la interacción fue neutra con *A. nemoralis* y alta densidad, y negativa con este mismo depredador a baja densidad y con *O. laevigatus* a alta. Son pocos los trabajos que se encuentran en la bibliografía sobre interacciones intragremiales de *N. tenuis*. Además, la mayoría de ellos se centran en el estudio de interacciones de este depredador con otros míridos tales como *M. pygmaeus* (Moreno-Ripoll *et al*., 2012; Perdikis *et al*., 2014; Sharifian *et al*., 2015) y *Dicyphus maroccanus* Wagner (Hemiptera: Miridae) (Salas-Gervassio *et al*., 2016). Estos autores encontraron que el potencial de consumo de *N. tenuis*, o no se vio afectado, o aumentó con la presencia de los otros depredadores. Concretamente, Salas-Gervassio *et al*. (2016) observaron un consumo mayor de huevos de *E. kuehniella* por parte de *N. tenuis* cuando interactuaba con *D. maroccanus*. Del mismo modo, Sharifian *et al*. (2015), reportaron que *N. tenuis* llegó a tener un alto potencial de consumo de huevos de *T. absoluta*, cuando interactuó con *M. pygmaeus.*

La capacidad depredadora de *O. laevigatus* no se vio alterada ni a altas ni a bajas densidades de huevos de *S. exigua*, cuando entró en interacción con otro depredador de su misma familia, como es *A. nemoralis*, resultando, por tanto, una interacción neutra entre ambos. Pérez-Guerrero *et al*. (2015), siguiendo una metodología similar a la utilizada en el presente trabajo, encontraron también una interacción neutra entre *O. laevigatus* y *Cheiracanthium pelasgicum* (Koch) (Araneae: Miturgidae) cuando eran alimentados con huevos de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), en condiciones de invernadero y sobre plantas de algodón. Sin embargo, conviene recordar, tal como se ha señalado más arriba, que sí se encontró interacción entre *O. laevigatus* y *N. tenuis* cuyo tipo dependió de la densidad de presa (positiva a baja y negativa a alta).

Existen trabajos realizados respecto a la interacción entre *O. laevigatus* y otros depredadores, donde se ha observado que puede establecer interacciones con otros depredadores utilizados en control biológico, como por ejemplo, *M. pygmaeus* (Misselink y Janssen, 2014), *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiide) (Hosseini *et al.*, 2010) y con algunos ácaros fitoseidos (Shakya *et al.*, 2009; Venzon *et al.*, 2001).

Algunos estudios demuestran que la abundancia de presas es un factor clave que influye en la depredación intragremial (Lampropoulos *et al*., 2013). De igual manera, en muchos de los estudios realizados para evaluar el potencial depredador de un determinado enemigo natural se observa que la presencia de otros depredadores influye sobre su potencial de consumo y su incremento poblacional (Moreno-Ripoll *et al*., 2012; Perdikis *et al*., 2009; Perdikis *et al*., 2014; Salas-Gervassio *et al.,* 2016). Este hecho puede explicar la interacción negativa encontrada a favor de *A. nemoralis* cuando se relacionó con *N. tenuis* a baja densidad de presa, a pesar de la ventaja que representa la zoofitofagia de este último. Las interacciones intragremiales de *A. nemoralis* con otros enemigos naturales han sido muy poco estudiadas. Así, Howe *et al*. (2016) observaron que la interacción entre *A. nemoralis* y *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) fue negativa para el antocórido.

En muchas ocasiones, los depredadores de menor tamaño son más propensos a ser la presa en una interacción intragremial (Polis & Holt, 1992). En el presente trabajo, la mayor diferencia de mortalidad observada en un depredador de los estudiados cuando se encontraba solo, respecto a cuando estaba en interacción con otro, se obtuvo para *O. laevigatus* y en su interacción con *A. nemoralis* a baja densidad de presa. La explicación de esta observación podría encontrarse en el hecho de que los adultos de *O. laevigatus* tienen un tamaño de prácticamente la mitad del que tienen los adultos de *A. nemoralis*: longitud de entre 2 y 3 mm (Ferragut & González-Zamora, 1994) y de entre 3,8 y 4,5 mm (García & Ferragut, 2002), respectivamente; además el que esto suceda a densidades bajas del

huésped, puede estar facilitando esa depredación intragremial que se intuye en este caso. Erbilgin *et al*. (2004) analizaron la interacción entre *A. nemoralis* y el parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) sobre la plaga *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psyllidae) en condiciones de laboratorio, obteniendo un resultado similar al descrito puesto que la mortalidad de *P. bliteus* se vio incrementada con la presencia de *A. nemoralis*. No obstante, aunque también el tamaño del parasitoide es de en torno a los 2 mm de longitud (Plascencia-González *et al.*, 2005) y, por tanto, notablemente menor que el del depredador, la interacción entre ambos no es comparable con la que puede tener lugar entre dos depredadores como *A. nemoralis* y *O. laevigatus*.

Los datos obtenidos en el presente trabajo son un ejemplo de que la presencia simultánea de más de un depredador polífago en un entorno determinado, puede afectar a la capacidad depredadora y a la supervivencia de cada uno de ellos y, por tanto, a la capacidad de reducción de las poblaciones de las plagas que son sus presas. Además, estas interacciones se ven influidas por factores del entorno, tales como la cantidad de presa disponible. Por todo ello, es importante disponer de información que permita predecir las consecuencias de dichas interacciones cuando esos depredadores estén presentes (de forma natural, o introducidos por el ser humano) en lugares donde se está utilizando el control biológico como una herramienta incorporada al manejo de las plagas correspondientes.

5.5. Conclusiones

- Considerando la capacidad de consumo de huevos de *S. exigua*, entre *N. tenuis* y *O. laevigatus* tuvo lugar un tipo de interacción intragremial que dependió de la densidad de dicha presa, de modo que fue positiva cuando la densidad fue baja y negativa cuando fue alta.

- La interacción intragremial observada entre *N. tenuis* y *A. nemoralis* fue de tipo negativo cuando la densidad de huevos de *S. exigua* fue baja y, sin embargo, pasó a ser neutra para cuando se utilizó la densidad alta.

- En cuanto al tipo de interacción intragremial establecida entre *A. nemoralis* y *O. laevigatus* resultó ser neutra para las dos densidades de huevos de *S. exigua* ensayadas.

- La presencia de *A. nemoralis* en las combinaciones entre depredadores ensayadas provocó un aumento de la mortalidad del depredador con el que interactuaba, especialmente en el caso de *N. tenuis* y a baja densidad de presa.

Capítulo 6. Efecto por contacto residual de los fungicidas kresoxim-metil y trifloxistrobin sobre *Orius laevigatus*, *Anthocoris nemoralis*, *Nesidiocoris tenuis* y *Macrolophus pygmaeus* en condiciones de laboratorio.

6.1. Introducción

La utilización de programas de Manejo Integrado de Plagas implica la compatibilización de diferentes técnicas de control, especialmente, el control biológico y el químico. En muchas ocasiones, el control biológico se ve interferido por el uso de productos fitosanitarios, ya que estos compuestos pueden provocar efectos secundarios de naturaleza variada sobre diversos organismos beneficiosos, incluidos los enemigos naturales (Medina *et al*., 2008). En este sentido, los productos fitosanitarios son capaces de provocar su muerte (efectos letales) o alterar su fisiología y/o su comportamiento (efectos subletales) pudiendo reducir de forma importante la densidad de sus poblacionales y la capacidad de incremento de las mismas.

Las principales vías por las cuales los enemigos naturales se exponen a los productos fitosanitarios son, según Croft (1990):

- Contacto directo: cuando al aplicar los productos fitosanitarios los organismos benéficos entran en contacto con el compuesto o inhalan sus vapores.
- Contacto residual: ocurre cuando los productos son aplicados previamente sobre una superficie y el enemigo natural entra en contacto con ella.
- Ingestión: como su nombre indica, en este caso, el enemigo natural se contamina tras alimentarse de presa o planta contaminadas con el producto.

Al parecer, hablando en término generales, la forma más común de exposición de los enemigos naturales a los productos fitosanitarios es por contacto (Croft, 1990).

La Organización Internacional de Lucha Biológica e Integrada (OILB) ha liderado el establecimiento de métodos para evaluar la peligrosidad de los productos fitosanitarios frente a los enemigos naturales, elaborando protocolos que tienen como objetivo identificar aquellos productos más respetuosos y que pueden ser usados en programas de Manejo Integrado de Plagas (IOBC, 2013). Estos protocolos han evolucionado a medida que han aparecido productos fitosanitarios con modos de acción diferentes. La tendencia actual busca desarrollar protocolos específicos para los distintos enemigos naturales que proporcionen resultados más concretos y den una mejor previsión del comportamiento real en campo (Viñuela & Jacas, 1993; Aragón-Sánchez *et al*., 2014; Román-Fernández *et al*., 2015).

Con el objetivo de evaluar la peligrosidad de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos, la OILB desarrolló un protocolo de actuación que sigue un esquema secuencial y que ha permitido una primera valoración de la compatibilidad entre el uso de un producto fitosanitario y determinados enemigos naturales (Viñuela & Jacas, 1993). Dicho protocolo se estructura en tres pasos:

- Evaluación en laboratorio de la incidencia de la dosis máxima recomendada del producto sobre la fase más susceptible del organismo beneficioso (condiciones más desfavorables).
- Estudios de semicampo en condiciones climáticas similares a las reales (exceptuando la precipitación).
- Estudios de campo.

Este esquema asume que aquellos productos que son inocuos en un nivel determinado, serán seguros en los siguientes, no necesitando de otros estudios

posteriores. Si por el contrario no lo son, se pasa al siguiente nivel de evaluación (Viñuela & Jacas, 1993, Van de Veire *et al.,* 2002).

De acuerdo con los criterios utilizados por la OILB, la peligrosidad de los productos fitosanitarios sobre los enemigos naturales se clasifica en cuatro categorías, en función de la reducción de la capacidad de control que provoca sobre el enemigo natural, ya sea a través de efectos directos, como la mortalidad, o indirectos, como la reducción de la capacidad reproductiva. Estas 4 categorías son (Hassan, 1994): 1 inocuo, 2 ligeramente peligroso, 3 moderadamente peligroso y 4 muy peligroso.

En España, existe un consumo elevado de fungicidas, siendo los cultivos hortícolas y herbáceos extensivos los que requieren el mayor gasto en estos productos (más del 40%), destacando el tomate, el pimiento, las cucurbitáceas y la patata. A continuación se encuentran los frutales, el olivar y el viñedo. Respecto al tipo de fungicidas vendidos, los más importantes, desde el punto de vista económico, son los productos utilizados para el control de mildius y oídios (Collar, 1998; MAPAMA, 2017c).

Las materias activas autorizadas en España se han clasificado atendiendo a su modo de acción, siguiendo los criterios establecidos por el Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Una importante clase de fungicidas de uso agrícola son las estrobilurinas, derivados naturales del ácido β-metoxiacrílico, cuyo modo de acción se basa en la inhibición de la respiración, lo que provoca la parada de las funciones básicas celulares. Este grupo de fungicidas, según la FRAC, se encuentra clasificado en el complejo C3, dentro del que se encuentra, a su vez, el grupo químico de los oximino-acetatos, conformado por dos fungicidas: kresoxim-metil y trifloxistrobin (FRAC, 2017).

El kresoxim-metil fue sintetizado en 1983, pero no fue comercializado hasta 1996. Es un fungicida de amplio espectro y actividad preventiva, curativa y erradicante sobre diversos grupos de hongos, en especial aquéllos cuyo micelio se desarrolla

más o menos superficialmente (los oídios y otros ascomicetos), royas y numerosos mildius. Entre las principales especies de hongos que controla se encuentran *Erysiphe cichoriacearum*, *Erysiphe necator*, *Podosphaera leucotricha*, *Venturia inaequalis*, *Venturia pyrina* y se utiliza en cultivos como vid, tomate, pimiento, peral y manzano (Araujo *et al*., 2012; Bartlett *et al*., 2002). En España, el uso de kresoxim-metil está autorizado en cultivos de cucurbitáceas, manzano, olivo, peral, solanáceas, vid, fresales y peral (MAPAMA, 2017d).

El trifloxistrobin apareció en el mercado en el año 1999. Puede ser utilizado para el control de las enfermedades producidas por *Erysiphe necator, Podosphaera pannosa*, *Podosphaera leucotricha*, *Phyllactinia guttat* y *Mycosphaerella fijinesis* en cultivos de manzano pepino, peral, rosal, sandía, pimiento, tomate y vid (Bartlett *et al*., 2002; Araujo, *et al*. 2012). En España, el uso del trifloxistrobín está autorizado en cultivos de calabacín, manzano, melocotón, melón, nectarino, pepino, peral, vid, albaricoquero, fresal olivo, pimiento, tomate y césped (MAPAMA, 2017e).

Al utilizarse los fungicidas para el control de hongos fitopatógenos y encotrarse éstos muy separados filogenéticamente de insectos y ácaros, podría pensarse que dichos fungicidas fueran inocuos para organismos establecidos en el agroecosistema, como depredadores y parasitoides de plagas. Sin embargo, estudios llevados a cabo en laboratorio han mostrado que diferentes fungicidas manifiestan efectos secundarios sobre enemigos naturales. Más concretamente, algunas estrobilurinas producen efectos esterilizantes sobre algunas chinches depredadoras (Angelin *et al.,* 2005; Van de Viere *et al.*,1996).

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se ha planteado el objetivo de profundizar en el conocimiento de los efectos secundarios de fungicidas sobre enemigos naturales de plagas, evaluando, en laboratorio, el efecto por contacto residual del kresoxim-metil y del trifloxistrobin sobre la mortalidad de los adultos de *O. laevigatus*, *A. nemoralis*, *N. tenuis* y *M. pygmaeus* y sobre la capacidad de

incremento poblacional de estas mismas especies (las cuatro, de heterópteros depredadores ampliamente usados en cultivos hortícolas).

6.2. Material y métodos

6.2.1. Productos fitosanitarios evaluados

En la tabla 23 se muestran los productos fitosanitarios utilizados en los bioensayos, así como sus ingredientes activos, la empresa comercializadora y las dosis máximas recomendadas en cultivos hortícolas, que son las que se emplearon en los bioensayos.

Tabla 23. Productos fitosanitarios utilizados en los bioensayos de efectos secundarios, junto con algunas informaciones adicionales.

Ingrediente Activo	Nombre comercial / Titular	Dosis máxima para cultivos hortícolas
Kresoxim-metil 50% [WG] p/p	Stroby WG / BASF	500 gr/ha
Trifloxistrobin 50% [WG] p/p	Flint / Bayer CropScience	375 gr/ha
Clorpirifos 48% [EC] p/v	Clorifos 48 EC / Probelte	200 cc/ha

Para cada especie depredadora considerada (*O. laevigatus*, *A. nemoralis*, *N. tenuis* y *M. pygmaeus*) se establecieron cuatro tratamientos: 1) kresoxim-metil; 2) trifloxistrobin; 3) clorpirifos, como control positivo; y 4) agua, como control negativo.

6.2.2. Aplicación de los productos fitosanitarios

Los tratamientos se realizaron mediante la torre para pulverizaciones de precisión en laboratorio tipo Potter de carga manual (Potter, 1952), que es un pulverizador

automático que permite la distribución homogénea de los productos fitosanitarios sobre una superficie, utilizando el tamaño de gota más pequeño posible (fig. 34).

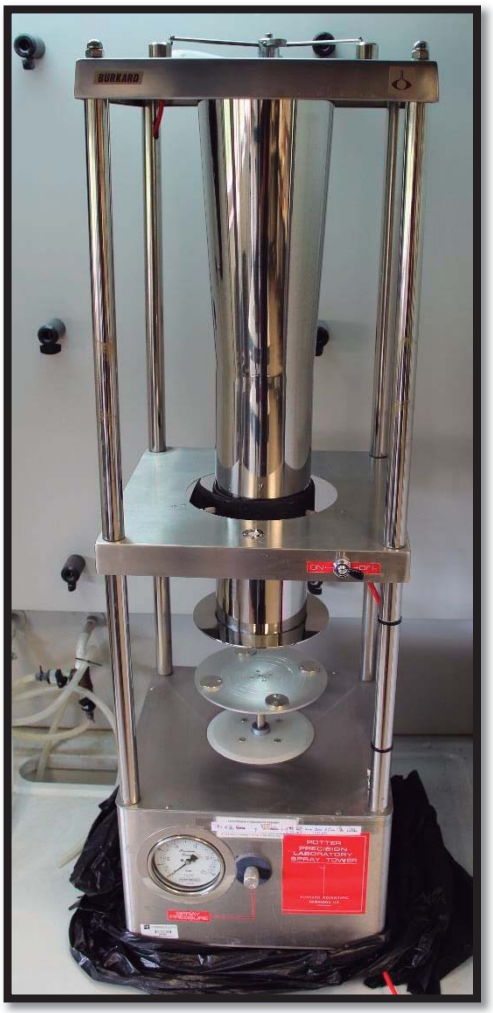

Figura 34. Torre para pulverizaciones de precisión en laboratorio tipo Potter de carga manual.

Antes de comenzar a aplicar los tratamientos, fue necesario calibrar la Torre de Potter, esto para obtener volúmenes aplicados por unidad de superficie, equivalentes a los comprendidos en el rango de 500 a 600 l/ha. Estos valores son semejantes a la cantidad de caldo utilizada en campo en tratamientos de estos productos para alcanzar la saturación máxima de materia activa. Para conseguir este nivel de aplicación, se calibró la Torre de Potter de modo que, para los

ensayos, se utilizó una presión de 0,2 bares (20 Kpascales) y una carga de depósito de 3,5 ml del caldo correspondiente. Una vez calibrada la Torre de Potter se procedió a realizar los tratamientos, estableciendo las concentraciones conforme a las especificaciones de cada producto.

6.2.3. Unidades experimentales

Para realizar los bioensayos se utilizaron unidades experimentales similares a las diseñadas por Jacas & Viñuela (1994) y que consisten en una jaula formada por un anillo de metacrilato, de 10 cm de diámetro y 3 cm de altura, cerrado por cada lado con dos placas cuadradas de vidrio de 0,5 cm de grosor y 12 cm de lado que se mantienen sujetas al anillo mediante cuatro gomas elásticas (fig. 35). Antes de montar estos recintos, las placas de vidrio recibían el tratamiento correspondiente por su cara interna mediante la torre de Potter y se dejaban secar.

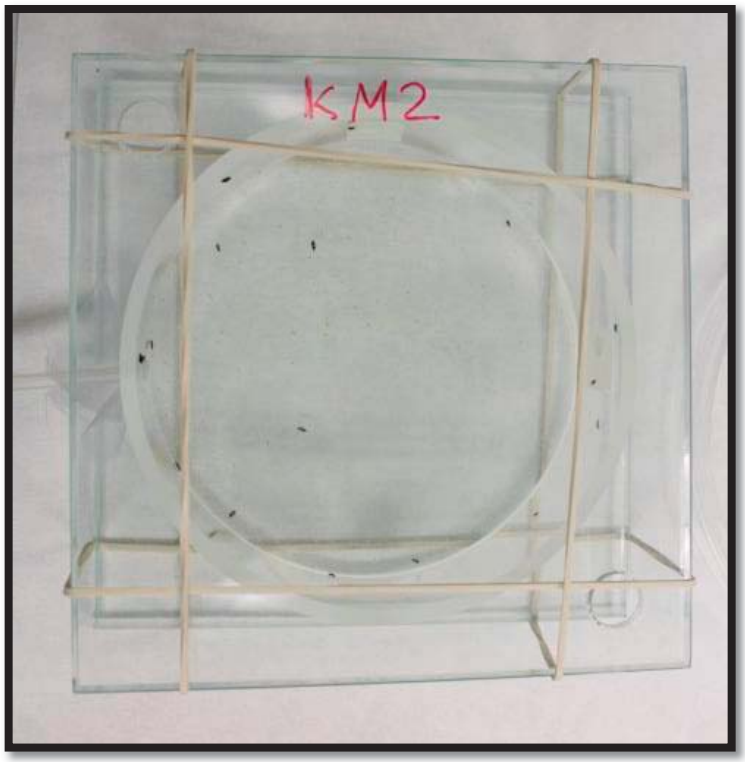

Figura 35. Unidad experimental para bioensayos de efecto por contacto residual.

Cada anillo de metacrilato disponía de cuatro orificios. Tres de ellos estaban cubiertos con tela de visillo para permitir la ventilación del recinto. El cuarto orificio conectaba con un circuito de ventilación forzada que suministraba aire húmedo a partir de un matraz con agua en el que un compresor para acuario provocaba el burbujeo del agua e impulsaba el aire húmedo al circuito de ventilación (fig. 36).

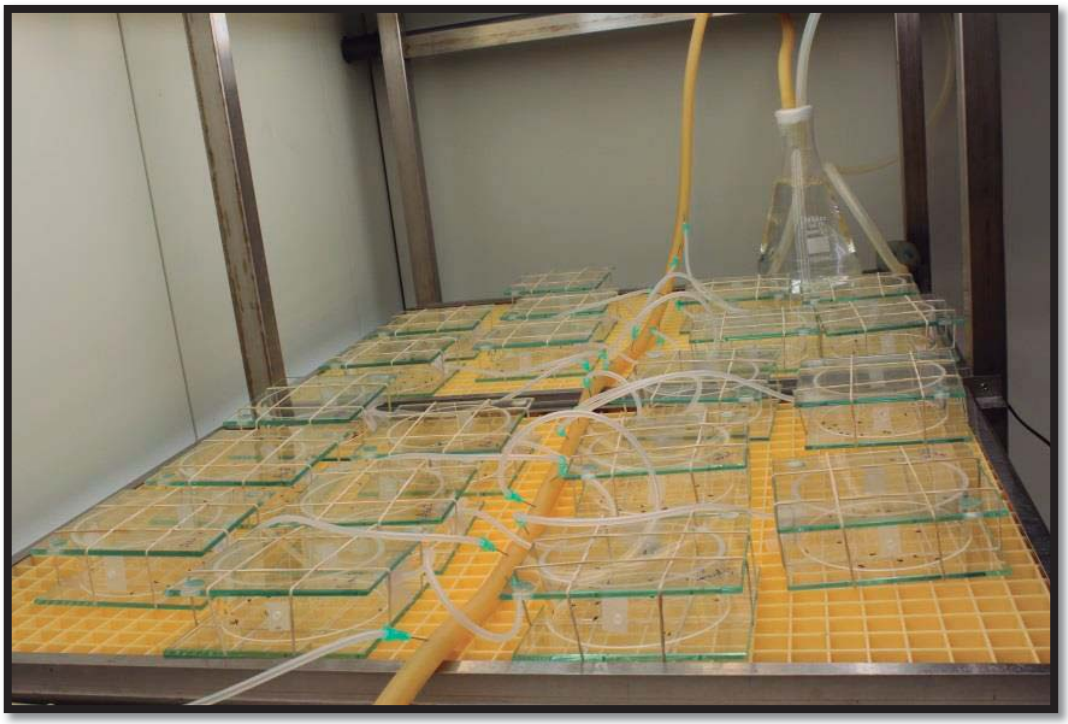

Figura 36. Montaje final del bioensayo de efecto por contacto residual.

En el interior de cada jaula se esparcieron huevos de *E. kuehniella* como fuente de alimento para los depredadores (*ad libitum*). Además, en el caso de *N. tenuis* y *M. pygmaeus*, se colocó un fragmento de 3 cm de longitud de vaina de judía verde, sellado con parafina en sus extremos, como fuente de agua para los insectos (fig. 37).

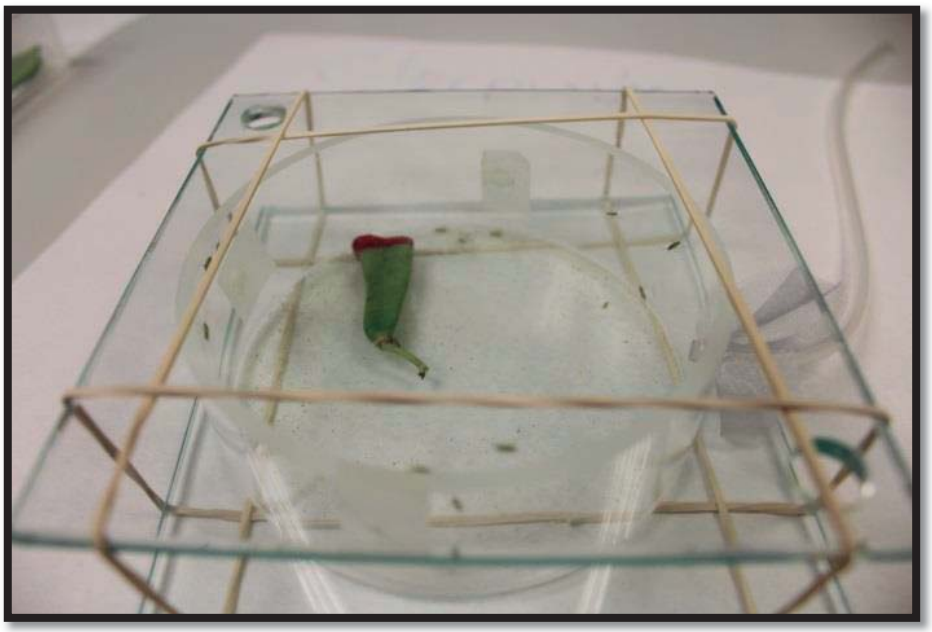

Figura 37. Unidad experimental con fragmento de vaina de judía verde.

6.2.4. Manejo de los depredadores

Para cada especie, se introdujeron 20 adultos de menos de 24 horas de edad en cada una de las jaulas y se cuantificó la mortalidad que ocurría en cada tratamiento al cabo de 24, 48 y 72 horas. Se consideró que un individuo estaba muerto si al tocarlo varias veces con un pincel fino no reaccionaba el estímulo. Para cada tratamiento y especie se realizaron 5 repeticiones.

De los individuos supervivientes tras las 72 horas de exposición, se separaron entre 10 y 20 parejas (macho y hembra) de cada tratamiento y especie, dependiendo del número de individuos que quedaron vivos. Cuando el número de supervivientes fue inferior a 10 parejas, se omitió este estudio, ya que el número de individuos se consideró insuficiente.

6.2.5. Análisis estadístico

Para calcular la categoría de peligrosidad de cada fungicida, se corrigieron los porcentajes de mortalidad obtenidos a las 72 horas de exposición, con respecto al control, utilizando la fórmula de Schneider-Orelli (Pünter, 1981):

$$\boldsymbol{M}\ corregida = \frac{\boldsymbol{M}\ tratado - \boldsymbol{M}\ control}{100 - \boldsymbol{M}\ control}\ x\ 100$$

Dónde

M *corregida*: es el porcentaje de mortalidad calculada para establecer la clasificación toxicológica de cada producto.

M *tratado:* es el porcentaje de mortalidad de cada tratamiento.

M *control:* es el porcentaje de mortalidad en el control negativo.

Los fungicidas se clasificaron según las categorías toxicológicas propuestas por la OILB (Hassan, 1994; Sterk *et al*., 1999) de acuerdo al porcentaje de mortalidad a las 72 h: 1 inocuo (<30%), 2 ligeramente toxico (30-79%), 3 moderadamente toxico (80-99%) y 4 toxico (>99%).

Con los individuos supervivientes de cada tratamiento se establecieron los parámetros de la tabla de vida. Para realizar los bioensayos encaminados a la obtención de los parámetros de las tablas de vida se utilizaron los materiales y métodos descritos en el CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES. Concretamente, se emplearon los recogidos en los subapartados 3.3.1 y 3.3.2 para las especies pertenecientes a las familias Anthocoridae (*O. laevigatus* y *A. nemoralis)* y Miridae (*N. tenuis* y *M. pygmaeus*), respectivamente.

6.3. Resultados

6.3.1. Efecto de los fungicidas krexosim-metil y trifloxistrobín sobre *Orius laevigatus*

En la tabla 23 se pueden observar los porcentajes de mortalidad ocasionados por el krexosim-metil, el trifloxistrobín y el clorpirifos sobre *O. laevigatus*, así como su categoría de peligrosidad según la OILB. El kresoxim-metil provocó una mortalidad del 97,5% a las 72 horas, lo que significa que es moderadamente tóxico (categoría 3). Esta alta mortalidad se observa ya tras 24 horas de exposición. El trifloxistrobin, sin embargo, provocó una mortalidad del 22,8% a las 72 horas, por lo que sería un producto catalogado como inocuo (categoría 1) según la OILB. Por su parte, el clorpirifos mató a todos los adultos a las 24 horas de exposición, resultando de categoría 4. Debido a la elevada mortalidad ocasionada por el krexosim-metil, fue imposible obtener el efecto de este producto sobre los parámetros de la tabla de vida de *O. laevigatus*.

Tabla 23. Mortalidad (media±e.t) de adultos de *O. laevigatus* sometidos a diferentes periodos de exposición a diferentes productos fitosanitarios, y categorías de peligrosidad según el criterio de la OILB.

	Mortalidad %			
Tratamientos	24 h	48 h	72 h	Corregida a las 72 h (Categoría OILB)
Control	1,0±0,20 a	7,0±0,92 a	17,0±1,36 a	-----
Kresoxim-metil	67,0±1,74 b	87,0±2,35 b	98,0±0,40 c	97,5 (3)
Trifloxistrobin	1,0±0,08 a	21,0±0,38 a	36,0±0,69 b	22,8 (1)
Clorpirifos	100±0,00 c	-----	-----	100 (4)
Estadísticos	*F*= 55,49, *df*=2, *P*<0,0001	*F* = 30,59, *df*=2, *P*<0,0001	*F* =48,28, *df*=2, *P*<0,0001	

Dentro de una misma columna, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

En la tabla 24 se observan los parámetros biológicos obtenidos con los adultos de *O. laevigatus* que sobrevivieron a la exposición al trifloxistrobin. El único parámetro que no mostró diferencias significativas con respecto al control negativo fue el periodo de preoviposición. Por su parte, también se obtuvieron valores muy similares de la ratio sexual. Por el contrario, la fecundidad, el porcentaje de huevos eclosionados y longevidad de las hembras disminuyeron con respecto al control negativo.

Tabla 24. Parámetros biológicos (media±e.t) de adultos de *O. laevigatus* expuestos al contacto residual de trifloxistrobín durante 72 h.

	Tratamientos		
Parámetro	Control	Trifloxistrobin	Estadísticos
Periodo de preoviposición (días)	4,67±0,14 a	5,15±1,14 a	*t*=2,40, *df*=1, *P*=0,1324
Fecundidad (huevos/hembra)	84,39±9,95 a	32,00±9,60 b	*t*=13,46, *df*=1, *P*<0,0001
Eclosión de huevos (%)	95,46±0,40 a	68,70±1,52b	*t*=13,55, *df*=1, *P*=0009
Longevidad hembra (días)	25,45±2,17 a	18,10±2,33 b	*t*=5,31, *df*=1, *P*=0,0267
Ratio sexual	0,56	0,52	

Dentro de la misma fila, medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

Al comparar la duración media del desarrollo de los huevos puestos por las hembras de *O. laevigatus* expuestas al trifloxistrobin, se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo. Sin embargo, la mortalidad de los huevos procedentes de las hembras que estuvieron en contacto con el fungicida, aumentó significativa y considerablemente respecto a dicho control negativo (tabla 25).

Con respecto a las ninfas emergidas a partir de estos huevos, la duración del desarrollo no mostró diferencias significativas entre el control negativo y el tratamiento con trifloxistrobin. Por el contrario, la mortalidad fue mayor en el caso de las ninfas procedentes de hembras expuestas al fungicida (tabla 26).

Tabla 25. Duración del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de los huevos puestos por las hembras de *O. laevigatus* expuestas a trifloxistrobín durante 72 h.

Estado de huevo		
Parámetro	Control	Trifloxistrobin
Duración desarrollo (días)	4,01±0,03 a	4,37±0,09 a
Estadísticos	*t*=7,97, *df*=1, *P*=0,0057	
Mortalidad (%)	4,54±0,32 a	31,03±1,39 b
Estadísticos	*t*=336,45, *df*=1, *P*=0,0001	

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

Tabla 26. Duración del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de las ninfas descendientes de hembras de *O. laevigatus* expuestas a trifloxistrobin durante 72 h.

Ninfa		
Parámetro	Control	Trifloxistrobin
Duración desarrollo (días)	10,61±0,05 a	10,38±0,12 a
Estadísticos	*t*=1,76, *df*=1, *P*=0,1877	
Mortalidad (%)	4,76±0,41 a	15,00±0,59 b
Estadísticos	*t*=258,92, *df*=1, *P*=0,0001	

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

En la tabla 27 se consideran conjuntamente los datos de duración total del desarrollo, desde huevo hasta adulto, y de mortalidad total de la descendencia de las hembras de *O. laevigatus* expuestas al trifloxistrobín y al agua. No se encontraron diferencias significativas en la duración del desarrollo, pero el fungicida ocasionó una mortalidad significativamente mayor en la descendencia de las hembras expuestas.

Tabla 27. Duración total del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de la descendencia (huevo-adulto) de las hembras de *O. laevigatus* expuestas a trifloxistrobín durante 72 h.

Huevo - Adulto		
Parámetro	Control	Trifloxistrobin
Duración desarrollo (días)	14,70±0,17 a	14,74±0,10 a
Estadísticos	*t*=0,04, *df*=1, *P*=0,8407	
Mortalidad (%)	9,09±0,84 a	41,37±1,05 b
Estadísticos	*t*=561,47, *df*=1, *P*<0,0001	

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test t de Student para muestras independientes).

Los parámetros de la tabla de vida de *O. laevigatus* cuando sus adultos han sido expuestos a trifloxistrobín y a agua, aparecen reflejados en la tabla 28. La exposición al fungicida provocó la disminución significativa de la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) en la población del insecto. La tasa de reproducción neta y la tasa finita de incremento disminuyeron, mientras que la duración media de una generación aumentó en 2 días aproximadamente, y el tiempo de duplicación se multiplicó por 2.

Tabla 28. Parámetros de la tabla de vida de *O. laevigatus* expuestas a trifloxistrobín durante 72 h.

	Tratamientos	
Parámetro	Control	Trifloxistrobin
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) (IC 95 %)*	0,1483±0,005 a (0,1377-0,1588)	0,0746±0,01 b (0,0447-0,1045)
Tasa de reproducción neta (Ro)	36,2471	7,1728
Duración media de generación (T) (días)	24,2101	26,4114
Tasa finita de incremento (λ)	1,1598	1,0775
Tiempo de duplicación (TD) (días)	4,6739	9,2915

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (criterio del solapamiento de los límites fiduciales de los intervalos de confianza de las r_m).
* IC: Intervalo de confianza para la r_m al 95%.

6.3.2. Efecto de los fungicidas krexosim-metil y trifloxistrobin sobre *Anthocoris nemoralis*

En la tabla 29 se observan los porcentajes de mortalidad provocados en los adultos de *A. nemoralis* por los dos fungicidas evaluados. A las 24 horas tras la exposición, ya se observó un ligero efecto letal de ambos fungicidas, que aumentó, también ligeramente, tras las 72 horas. Según la clasificación de la OILB, el krexosim-metil es ligeramente tóxico (categoría 2), mientras que el trifloxistrobin es inocuo (categoría 1) para *A. nemoralis*. El clorpirifos mató a todos los adultos a las 24 horas de exposición, resultando de categoría 4.

Tabla 29. Mortalidad (media±e.t) de *A. nemoralis* sometidos a diferentes periodos de exposición a diferentes productos fitosanitarios, y categorías de peligrosidad según el criterio de la OILB.

Tratamientos	Mortalidad %			
	24 h	48 h	72 h	Corregida a las 72 h (Categoría OILB)
Control	1,0±0,20 a	2,0±0,24 a	12,0±0,81 a	-----
Kresoxim-metil	9,0±0,73 b	27,0±2,87 b	42,0±3,35 b	34,09 (2)
Trifloxistrobin	6,0±0,37 c	17,0±1,24 b	30,0±0,89 b	20,45 (1)
Clorpirifos	100±0,00 d	-----	-----	100 (4)
Estadísticos	F =500,30, df=3, P<0,0001	F =1,92, df=2, P=0,0188	F =2,15, df=2, P=0,0159	

Dentro de la misma columna medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Los parámetros biológicos de los adultos de *A. nemoralis* expuestos al kresoxim-metil y al trifloxistrobin se presentan en la tabla 30. El periodo de preoviposición se vio significativamente prolongado por la exposición al trifloxistrobin, así como el porcentaje de eclosión de huevos disminuyo en este tratamiento. El resto de los parámetros se vieron afectados de forma negativa por ambos fungicidas, siendo el trifloxistrobín el más perjudicial de los dos.

Tabla 30. Parámetros biológicos (media±e.t) de adultos de *A. nemoralis* expuestos al contacto residual de kresoxim-metil y trifloxistrobin durante 72 h.

	Tratamientos			
Parámetro	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin	Estadísticos
Periodo de preoviposición (días)	4,28±0,11 a	4,26±0,15 a	5,10±0,41 b	*F*=4,55, *df*=2, *P*=0,0155
Fecundidad (huevos/hembra)	102,61±13,40 a	68,58±9,62 b	19,10±10,14c	*F*=10,34, *df*=2, *P*<0,0001
Eclosión de huevos (%)	95,53±0,60 a	95,09±0,47 a	80.40±1,99 b	*F*=11,44, *df*=2, *P*=0,0001
Longevidad hembra (días)	76,40±54,70 a	20,60±3,22 b	12,45±2,69 c	*F*=6,27, *df*=2, *P*=0,0031
Ratio sexual	0,44	0,51	0,51	

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

En cuanto a la duración del desarrollo de los huevos puestos por hembras de *A. nemoralis*, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los puestos por hembras tratadas con ambos fungicidas y las tratadas con agua solo. Sin embargo, el trifloxistrobín provocó un porcentaje de mortalidad en los huevos significativamente mayor que el resto de los tratamientos (tabla 31).

Tabla 31. Duración del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de los huevos puestos por las hembras de *A. nemoralis* expuestas durante 72 h a kresoxim-metil y trifloxistrobin.

	Huevo		
Presa	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Duración desarrollo (días)	3,59±0,06 a	3,67±0,06 a	3,63±0,07 a
Estadísticos	*F*=0,40, *df*=2, *P*=0,6711		
Mortalidad (%)	4,47±0,24 a	4,91±0,32 a	19,60±0,78 b
Estadísticos	*F*=228,42, *df*=2, *P*<0,0001		

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

De igual modo que en el caso de los huevos, la duración del desarrollo de las ninfas descendientes de hembras de *A. nemoralis* expuestas a ambos fungicidas

no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, pero la mortalidad sí se vio aumentada significativamente por efecto de estos productos (tabla 32).

Tabla 32. Duración del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de las ninfas descendientes de hembras de *A. nemoralis* expuestas a kresoxim-metil, trifloxistrobin y agua (testigo).

	Ninfa		
Parámetro	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Duración desarrollo (días)	12,50±0,10 a	12,65±0,19 a	12,85±0,22 a
Estadísticos	*F*=1,00, *df*=2, *P*=0,3718		
Mortalidad (%)	7,83±0,58 a	15,51±0,61 b	14,63±0,45 b
Estadísticos	*F*=59,52, *df*=2, *P*=0,0001		

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Si se considera el tiempo total del desarrollo, desde el estado de huevo hasta adulto, se observa que ambos productos provocaron un aumento significativo del mismo con respecto al control tratado con agua. Los fungicidas también causaron una mayor mortalidad en la descendencia, especialmente el trifloxistrobin (tabla 33)

Tabla 33. Duración total del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de la descendencia (huevo-adulto) de las hembras de *A. nemoralis* expuestas a kresoxim-metil y a trifloxistrobin durante 72h.

	Huevo - Adulto		
Parámetros	Testigo	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Duración desarrollo (días)	15,50±0,10 a	16,30±0,21 b	16,48±0,24 b
Estadísticos	*F*=8,61, *df*=2, *P*=0,0003		
Mortalidad (%)	11,94±0,49 a	19,67±0,47 b	31,37±0,51 c
Estadísticos	*F*=416,91, *df*=2, *P*<0,0001		

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Los parámetros de la tabla de vida de *A. nemoralis* tras su exposición durante 72 h a los dos fungicidas se presentan en la tabla 34. Ambos productos influyeron de forma negativa en mayor o menor grado, siendo el trifloxistrobin el que provocó un

efecto más desfavorable. La tasa intrínseca de crecimiento (r_m) disminuyó de forma significativa en ambos casos respecto al testigo negativo. La tasa de reproducción neta se vio reducida, mientras que la duración media de una generación y el tiempo de duplicación de la población, aumentaron sus valores con respecto al testigo con agua, lo que afecta negativamente al incremento de las poblaciones a lo largo del tiempo.

Tabla 34. Parámetros de la tabla de vida de *A. nemoralis* tras su exposición al kresoxim-metil y al trifloxistrobin durante 72h.

	Tratamientos		
Parámetros	Testigo	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) (IC 95 %)*	0,1744±0,005 a (0,1626-0,1861)	0,1233±0,004 b (0,1139-0,1326)	0,0502±0,017 c (0,0131-0,0874)
Tasa de reproducción neta (Ro)	44,1063	30,9723	3,8386
Duración media de generación (T) (días)	21,7121	27,8434	26,7949
Tasa finita de incremento (λ)	1,1905	1,1312	1,0515
Tiempo de duplicación (TD) (días)	3,9744	5,6216	13,8077

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (criterio del solapamiento de los límites fiduciales de los intervalos de confianza de las r_m).
* IC: Intervalo de confianza para la r_m al 95%

6.3.3. Efecto de los fungicidas krexosim-metil y trifloxistrobin sobre *Nesidiocoris tenuis*

Los datos de mortalidad ocasionados por los productos ensayados en los adultos de *N. tenuis* aparecen reflejados en la tabla 35. El único fungicida que provocó una mortalidad significativa con respecto al control, a las 24, 48 y 72 horas fue el kresoxim-metil. Con respecto a las categorías de peligrosidad de la OILB, el kresoxim-metil resultó ser ligeramente tóxico (categoría 2) sobre *N. tenuis*, mientras que el trifloxistrobin se catalogó como inocuo (categoría 1). Como en el caso de los depredadores anteriores, el clorpirifos mató a todos los adultos a las 24 horas de exposición, resultando de categoría 4.

Tabla 35. Mortalidad (media±e.t) sobre adultos de *N. tenuis* ocasionada por el control kresoxim-metil, trifloxistrobin y clorpirifos, tras diferentes periodos de exposición, y categorías de peligrosidad según el criterio de la OILB.

Tratamientos	Mortalidad %			
	24 h	48 h	72 h	Corregida a las 72 h (Categoría OILB)
Control	3,0±0,40 a	5,0±0,44 a	10,0±0,31 a	-----
Kresoxim-metil	28,0±0,92 b	39,0±1,28 b	51,0±0,80 b	43,46 (2)
Trifloxistrobin	7,0±0,92 a	14,0±1,20 a	27,0±0,74 a	26,15 (1)
Clorpirifos	100±0,00 d	-----	-----	100 (4)
Estadísticos	*F* =92,90, *df*=3, *P*<0,0001	*F* =11,35, *df*=2, *P*=0,0001	*F* =39,17, *df*=2, *P*<0,0001	

Dentro de la misma columna medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

En la tabla 36 se pueden observar los parámetros biológicos obtenidos a partir de los adultos de *N. tenuis* que sobrevivieron tras su exposición al kresoxim-metil y al trifloxistrobin. Como ya se ha comentado en el apartado de material y métodos, los huevos puestos por esta especie son difícilmente visibles desde el exterior, por lo que no se ha podido evaluar la fecundidad. Sin embargo, sí se ha considerado el número de ninfas emergidas. No se han encontrado diferencias significativas con respecto al control al calcular el periodo de preoviposición de las hembras expuestas a los fungicidas. Por otra parte, el número de ninfas emergidas por hembra es significativamente inferior en los tratamientos con ambos fungicidas. Curiosamente, el trifloxistrobin provocó un aumento significativo en la longevidad de las hembras.

Tabla 36. Parámetros biológicos (media±e.t) de los adultos de *N. tenuis* expuestos a kresoxim-metil, trifloxistrobin y agua (testigo).

	Tratamientos			
Parámetros	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin	Estadísticos
Periodo de preoviposición (días)	4,18±0,10 a	4,50±0,27 a	4,30±0,57 a	*F*=0,96, *df*=2, *P*=0,3924
Ninfas por hembra	61,50±11,79 a	29,62±10,17 b	39,40±6,02 b	*F*=4,00, *df*=2, *P*=0,0253
Longevidad hembra (días)	19,10±1,17 a	17,92±2,41 a	22,40±1,82 b	*F*=2,76, *df*=2, *P*=0,0728
Ratio sexual	0,40	0,65	0,56	

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Solamente el trifloxistrobin afectó a la duración del desarrollo de los huevos puestos por hembras expuestas, provocando una disminución estadísticamente significativa (tabla 37). Por la razón que ya se ha comentado, no se ha podido evaluar la mortalidad de los huevos.

Tabla 37. Duración del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de los huevos puestos por las hembras de *N. tenuis* expuestas a kresoxim-metil, trifloxistrobin y agua (testigo).

	Huevo		
Parámetros	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Duración del desarrollo (días)	7,20±0,10 a	7,17±0,05 a	6,83±0,09 b
Estadísticos	*F*=5,24, *df*=2, *P*=0,0063		
Mortalidad (%)	----------	----------	----------

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

El tiempo de desarrollo de las ninfas solo se vio afectado en el caso de individuos procedentes de hembras expuestas al kresoxim-metil, en las que se observó una disminución significativa con respecto al control (tabla 38). Ninguno de los dos

fungicidas alteró el porcentaje de mortalidad de las ninfas, es más, la mortalidad fue menor que en el control.

Tabla 38. Duración del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de las ninfas descendientes de hembras de *N. tenuis* expuestas a kresoxim-metil, trifloxistrobin y agua (testigo).

	Ninfa		
Parámetros	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobín
Duración del desarrollo (días)	14,79±0,20 a	13,37±0,16 b	14,83±0,29 a
Estadísticos	*F*=14,77, *df*=2, *P*<0,0001		
Mortalidad (%)	26,66±0,49 a	14,63±0,71 b	20,00±0,33 c
Estadísticos	*F*=81,55 *df*=2, *P*<0,0001		

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Al considerar la duración total del desarrollo, desde huevo hasta el estado adulto, (tabla 39) se observa que el único fungicida que ocasionó alguna diferencia con respecto al control, fue el kresoxim-metil, provocando una disminución de dicha duración. La mortalidad total no ha podido ser calculada debido a que no se pudieron observar los huevos puestos, como ya se ha comentado anteriormente.

Tabla 39. Duración total del desarrollo y mortalidad (media±e.t) de la descendencia (huevo-adulto) de las hembras de *N. tenuis* expuestas a kresoxim-metil, trifloxistrobin y agua (testigo).

	Huevo - Adulto		
Parámetros	Control	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Duración del desarrollo (días)	22,02±0,16 a	20,54±0,15 b	21,68±0,18 a
Estadísticos	*F*=17,96, *df*=2, *P*<0,0001		
Mortalidad (%)	----------	----------	----------

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Los parámetros de la tabla de vida se calcularon teniendo en cuenta las siguientes consideraciones: se estimó la fecundidad real teniendo en cuenta el número de ninfas emergidas y la mortalidad de huevos estimada por Predikis & Lykouressis (2002) y Sánchez *et al*. (2008); para obtener la fertilidad y la mortalidad de la

descendencia se utilizaron los parámetros descritos en Sánchez *et al.,* (2008) y Martínez-García *et al.* (2016). Ambos fungicidas ocasionaron una disminución de la tasa de reproducción neta y de la duración media de una generación; sin embargo, ninguno de ellos provocó diferencias significativas en la tasa intrínseca de crecimiento (tabla 40).

Tabla 40. Parámetros de la tabla de vida de *N. tenuis* tras su exposición al kresoxim-metil, trifloxistrobin y agua (testigo).

	Tratamientos		
Parámetro	Testigo	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m) (IC 95 %)*	0,1000±0,015 a (0,0679-0,1322)	0,0874±0.011 a (0.0618-0.1130)	0,1019±0,001 a (0,0993-0,1046)
Tasa de reproducción neta (Ro)	30,1165	14,3717	19,2061
Duración media de generación (T) (días)	34,0507	30,4949	28,9981
Tasa finita de incremento (λ)	1,1052	1,0913	1,1073
Tiempo de duplicación (TD) (días)	6,9314	7,9307	6,8022

Dentro de la misma fila medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (criterio del solapamiento de los límites fiduciales de los intervalos de confianza de las r_m).
* IC: Intervalo de confianza para la r_m al 95%

6.3.4. Efecto de los fungicidas krexosim-metil y trifloxistrobin sobre *Macrolophus pygmaeus*

En la tabla 41 se presenta el porcentaje de mortalidad que provocan los fungicidas evaluados sobre los adultos de *M. pygmaeus*. A las 48 horas de la exposición ambos fungicidas produjeron una mortalidad significativamente superior a la encontrada en el control. Tras 72 horas, la mortalidad fue del 94% en los dos productos. Con respecto a la categoría de peligrosidad, tanto el kresoxim-metil como el trifloxistrobin fueron catalogados como productos moderadamente tóxicos (categoría 3) sobre *M. pygmaeus*. Una vez más, el clorpirifos mató a todos los adultos a las 24 horas de exposición, resultando de categoría 4.

Tabla 41. Mortalidad (media±e.t) sobre adultos de *M. pygmaeus* ocasionada por el control kresoxim-metil, trifloxistrobin y clorpirifos, tras diferentes periodos de exposición, y categorías de peligrosidad según el criterio de la OILB.

Tratamiento	Mortalidad %			
	24 h	48 h	72 h	Corregida (categoría OILB)
Control	12,0±1,02 a	15,0±0,83 a	20,0±0,83 a	-----
Kresoxim-metil	26,0±2,72 a	67,0±1,63 b	94,0±0,40 c	92,50 (3)
Trifloxistrobin	5,0±0,54 b	46,0±1,65 b	94,0±0,73 c	92,50 (3)
Clorpirifos	100 c	-----	-----	100 (4)
Estadísticos	*F* =34,74, *df*=3, *P*<0,0001	*F* =49,61, *df*=2, *P*<0,0001	*F* =163,06, *df*=2, *P*<0,0001	

Dentro de la misma columna medias seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0.05; test de ANOVA, seguido de Tukey HSD).

Debido a que en los ensayos anteriores la mortalidad provocada por los fungicidas fue próxima al 100%, no se dispuso de adultos suficientes para calcular los parámetros biológicos ni poner a punto los ensayos respectivos para estimar los parámetros de tablas de vida.

6.4. Discusión

El kresoxim-metil resultó ser moderadamente tóxico (categoría 3) para los adultos del depredador *O. laevigatus*. Por otra parte, el trifloxistrobin fue catalogado como ligeramente toxico (categoría 1). Muchos resultados obtenidos por otros autores, en lo que respecta a efectos secundarios de fungicidas sobre adultos de *O. laevigatus* señalan que, en su mayoría resultan inocuos. Sin embargo, se encuentran excepciones que es muy importante conocer. Así, Van de Viere *et al.* (1996), evaluaron el efecto por contacto residual de 31 productos fitosanitarios utilizando una metodología equivalente a la seguida en el presente trabajo, solo que consideraron 13 días de exposición. Del total de productos ensayados, 9 eran fungicidas, (benomilo, captan, carbendazima, mancozeb, pirazofós, azufre,

metiltiofanato, TMTD y tolilfluanida) y todos ellos fueron clasificados en la categoría 1, excepto el pirazofós que provocó una mortalidad del 100% de los individuos, resultando así ser catalogado como tóxico (categoría 4). No hay que olvidar que, aunque fungicidas como el pirazofós, presenten un alto grado de toxicidad en laboratorio, al pasar a nivel de semicampo o campo esos efectos pueden disminuir (Van de Viere *et al*., 2002).

En la bibliografía se encuentran también trabajos muy interesantes que evalúan los efectos secundarios de fungicidas sobre *O. laevigatus*, pero en su estado ninfal. Es el caso de las investigaciones de Angelin *et al.* (2005), quienes estudiaron el efecto por contacto residual de 29 productos fitosanitarios, tres de ellos fungicidas, sobre ninfas N4 del depredador *O. laevigatus*. Los tres compuestos fungicidas (óxido de cobre, azufre coloidal y azufre mojable) resultaron ser de categoría 1 (inocuos) para las N4 del antocórido.

Por su parte, Biondi *et al.* (2012) evaluaron los efectos secundarios del azufre en polvo sobre *O. laevigatus*, a nivel de laboratorio e invernadero de tomate, observando que provocó una mortalidad del 69,2% en laboratorio (categoría 2), mientras que en invernadero la mortalidad descendió a menos del 20%, siendo así catalogado como inocuo (categoría 1). Éstos resultados demuestran una vez más, la importancia de evaluar los efectos secundarios incluso a nivel de campo para disponer de información realmente útil de cara a la compatibilización de la lucha química y biológica. En ausencia de estos conocimientos, la obtención de resultados en laboratorio que indiquen un cierto nivel de peligrosidad de algunos compuestos (caso de los fungicidas kresoxim-metil y trifloxistrobín, en el presente trabajo) alerta sobre la necesidad de llevarlos a cabo cuanto antes y, mientras tanto, sobre ser cautelosos con su empleo de forma conjunta con el enemigo natural al que ha afectado en laboratorio.

En el presente trabajo se ha observado que los míridos estudiados presentaron porcentajes de mortalidad mayores que los antocóridos, especialmente en el caso

de *M. pygmaeus,* para el que tanto el kresoxim-metil como el trifloxistrobin resultaron moderadamente tóxicos (provocando mortalidades de, en torno al 92%, en ambos casos). Se puede hipotetizar que una mayor susceptibilidad a los productos fitosanitarios por parte de los míridos respecto a los antocóridos puede estar relacionada, tanto con la talla y forma del cuerpo, como con la composición de la cutícula menos quitinizada de los primeros (Martínez-Cascales, *et al.*, 2006; Martinou *et al.*, 2014). Martinou *et al.* 2014, encontraron elevados valores de mortalidad del mírido *M. pygmaeus* (60 %) cuando evaluaron el efecto residual del hidróxido de cobre tras 72h de exposición por parte de ninfas N1 y N5 del depredador.

Los efectos secundarios del Krexosim-metil y del trifloxistrobin han sido evaluados sobre otros enemigos naturales, habiendo resultado inocuos para la mayor parte de los mismos (en su mayoría ácaros fitoseidos), con alguna excepción, caso de *Psyllobora vigintiduopunctata* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae), sobre el que provocaron una mortalidad de más del 50 % tras 42 horas de exposición (Bernard *et al.*, 2004; Cloid *et al*., 2010; Do Carmo, 2009; Laurin & Bostanian, 2007; Manzoni *et al*., 2006; Radova, 2010; Tesoreiro *et al*., 2003).

Si bien el número de trabajos que evalúan la mortalidad de los enemigos naturales por la acción de fungicidas está yendo en aumento, son todavía muy escasos los trabajos que investigan el efecto de estos compuestos sobre los parámetros que determinan la capacidad de incremento de sus poblaciones. Concretamente, los efectos de los fungicidas sobre los parámetros de la tabla de vida y, en especial, sobre la tasa intrínseca de crecimiento (r_m), no han sido evaluados todavía sobre los depredadores considerados en el presente trabajo. Sí que existen trabajos que estiman algunos efectos subletales de fungicidas como la reducción de la fecundidad de las hembras expuestas (Van de Viere *et al.*, 1996)

Los resultados presentados en este trabajo revelan la importancia de generar conocimientos sobre los efectos secundarios de los fungicidas sobre los enemigos

naturales. La tendencia lógica de evaluar, sobre todo, los efectos secundarios de los plaguicidas, no debe ser una excusa para no hacerlo con los fungicidas. Y no solamente en lo que respecta a efectos letales, sino también a efectos subletales, a través de los cuales pueden incidir de modo muy importante en la capacidad de incremento poblacional de los enemigos naturales. Solo cuando se disponga de esta información en los diferentes agroecosistemas, con los fungicidas empleados en ellos (en algunos casos con una elevada frecuencia) y sobre la comunidad de enemigos naturales presentes en los mismos, será posible articular de modo efectivo un manejo integrado de plagas en el que se puedan combinar la lucha química y el control biológico.

6.5. Conclusiones

- En condiciones de laboratorio, el kresoxim-metil fue catalogado como moderadamente tóxico (categoría 3) sobre adultos de *O. laevigatus*, mientras que el trifloxistrobín resultó ser inocuo (categoría 1). Además, el trifloxistrobín redujo significativamente la tasa intrínseca de crecimiento al ejercer diversos efectos subletales sobre los adultos expuestos durante 72 h por contacto residual.

- Sobre adultos de *A. nemoralis* y en condiciones de laboratorio, el kresoxim-metil resultó ser catalogado como un fungicida ligeramente tóxico (categoría 2). Además, provocó una reducción ligeramente significativa de la tasa intrínseca de crecimiento del depredador. El trifloxistrobín, sin embargo, resultó ser un producto inocuo sobre adultos de *A. nemoralis* (categoría 1), pero manifestó muy importantes efectos subletales que produjeron una disminución muy notable la tasa intrínseca de crecimiento.

- El kresoxim-metil fue catalogado como producto ligeramente tóxico (categoría 2) sobre adultos de *N. tenuis* en condiciones de laboratorio. Sin

embargo, a pesar de provocar una reducción significativa del número ninfas procedentes de hembras expuestas, no influyó sobre la tasa intrínseca de crecimiento del depredador. El trifloxistrobín resultó ser un producto inocuo para los adultos de *N. tenuis* (categoría 1) y no tuvo efecto sobre su tasa intrínseca de crecimiento.

- El kresoxim-metil y el trifloxistrobín se comportaron como fungicidas moderadamente tóxicos (categoría 3) sobre adultos de *M. pygmaeus* en condiciones de laboratorio.

Capítulo 7. Bibliografía.

Altieri, M. A. & Nicholls, C. I. 2004. Biodiversity and pest management in agroecosystems. 2ª. edición. Nueva York, *Food Products Press*, 225 p.

Amarasekare, P. 2003. Competitive coexistence in spatiallly structured environments: a synthesis. *Ecology Letters*. 6:1109-1122.

Angelin, G., Baldessari, M., Maines, R. & Duso, C. 2005. Side-effects of pesticides on the predatory bug *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae) in the laboratory. *Biocontrol Science and technology*. 15(7):745-754.

Aragón, G. A. & Tapia R., A. M. 2009. *Amaranto orgánico. Métodos, alternativos para el control de plagas y enfermedades*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Alternativas de Procesos de Participación Social. A. C. Puebla, Pue. 63 p.

Aragón-Sánchez, M., Martínez-García, H., Sáenz-Romo; M. G., Pérez-Moreno, I. & Marco-Mancebón, V. S. 2014. Efectos secundarios de los plaguicidas sobre enemigos naturales de las plagas. *Agricultura: Revista Agropecuaria*. 974:442-446.

Araujo, L., Sánchez, G., Cubillan, D., Mercado, J., Troconis, M. & Prieto, A. 2012. Determinación de kresoxim-metil y trifloxistrobin en muestras de agua mediante microextracción con gota suspendida y cromatografía de gases-espectrometria de masas. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. 3(2):97-106.

Arnó, J., Gabarra, R., Roig, J. & Fosch, T. 1998. Integrated pest management for processing tomatoes in the Ebro Delta (Spain). *Acta Horticulture*. 487:207-212.

Arnó, J., Castañe, C., Riudavets, J. & Gabarra, R. 2010. Risk of damage to tomato corps by the generalist zoophytophagus predator *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae). *Bulletin of entomological research*. 100(1):105-115.

Arroyo, V. M. 1995. *Nombres vulgares de insectos de interés agrícola*. MAPA, Madrid. 155 p.

Avilla, J. 2005. Agentes entomófagos de control biológicos de plagas. En: Jacas J., Caballero P., Avilla J. (eds.). *El Control Biológico de Plagas y Enfermedades*. La sostenibilidad de la agricultura mediterránea. Publicacions de la Universitat Jaume I. pp: 51-65.

AVRDC (Asian Vegetable Research and Development Center) 2001. Project 5: Integrated insect and disease management (IPM) for environment-friendly production of safe vegetables. pp: 80-81. Disponible en: http://203.64.245.61/fulltext_pdf/AR/2001.pdf. [Fecha de aacceso: 1 de abril de 2017].

Azevedo, R.F. & Romalho, F.S. 1999. Efeitos da temperatura s da defesa sa presa no consumo pelo predator *Supputius cincticeps* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae). *Pesauisa Agropecuaria Brasileira*. 34:165-171.

Bale, J.S., Van Lenteren, J.C. & Bigler, F. 2008. Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Biological Science*. 363 (1492): 761-776.

Ballal, C. R. & Yamada. K. 2016. Anthocorid predators. En: Omkar, R. (ed.). *Ecofriendly Pest Management for Food Security*. Elsevier, New York

Bathal, S., Singh, D. & Dhillon, R. 1993. Effect of Crude Root Oils of *Inula 117acemose* and *Saussurea lappa* on feeding, survival and development of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *European Journal Entomology*. 90 (2): 239-240.

Bautista, M. N. & Pineda, G. S. 1995. Control químico de plagas agrícolas. En: Aragón, G. A. (ed.) *Control de plagas con métodos alternativos al químico*. Publicación Especial de la Sociedad Mexicana de Entomología. Puebla, Pue. Mex. pp: 19-33.

Bartlett, D., Clough, J., Godwing, J., Hall, M. & Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Management Science.* 58(7): 649-662.

Belda, J., Justicia, L., Pascual, F. & Cabello, T. 1994. Distribución especial de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep.: Noctuidae) en el cultivo de pimiento en invernadero. *Boletin Sanidad Vegetal Plagas*. 20:287-301.

Bernard, M. B., Horner, P. A. & Hoffmann A. A. 2004. Developing a ecotoxicological testing standard of predatory mites in Australia: Acute and subletal effects of fungicides on *Euseius victoriensis* and *Galendromus occidentalis* (Acarina: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*. 97(3):891-899.

Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G. & Zappala, L. 2012. Using organic-certified rather that synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*. 87:803-812.

Birch, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology.* 17:15-26.

Bonte, M. & De Clercq, P. 2008 Developmental and reproductive fitness of *Orius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae) reared on factitious and artificial diets. *Journal of Economic Entomology*. 101:1127-1133.

Bonte, M. & De Clercq, P. 2009. Impact of artificial rearing systems on the developmental and reproductive fitness of the predatory bug, *Orius laevigatus*. *Journal of Insect Sciencie.* 10:104 available online: insectscience.org/10.104.

Bonte, M. & De Clercq, P. 2010a. Influence of diet on the predation rate of *Orius laevigatus* on *Frankliniella occidentalis*. *BioControl*. 55:625-629.

Bonte, M. & De Clercq, P. 2010b. Influence of Male Age and Diet on Reproductive Potential of *Orius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Annals Entomological Society of America*. 103(4):597-602.

Bonte, M. & de Clercq, P. 2011. Influence of predator density, diet and living substrate on developmental fitness of *Orius laevigatus*. *Journal of Applied Entomology*. 135:343-350

Caballero, G. C. 2004. *Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre Leptinotarsa decemlineata y Spodoptera exigua.* Memoria para optar al grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. pp: 54.

Caballero, P., Murillo, R., Muñóz, D. & Williams, T. 2009. El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) como bioplaguicida: análisis de avances recientes en España. *Revista Colombiana de Entomología.* 35(2):105-115.

Calvo, J., Bolckmans, K., Stansly, P.A. & Urbaneja, A. 2009. Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. *BioControl*. 54(2):237-246.

Clavo, J., Blockmans, K. & Belda, J. E. 2009. Development of a biological control based Integrated Pest Management method for *Bemisia tabaco* for protected sweet pepper crops. *Entomologia Experimentalis Applicata*. 133:9-18.

Clavo, J., Bolckmans, K. & Belda, J. 2012. Biological control based IPM in sweet pepper greenhouse using by *Amblyseius swiskii* (Acari: Phyytoseiidae). *Bioscience Technology*. 22:1389-1416.

Capinera, J. L. 1999. Beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). *University Of Florida IFAS Extension*. 105: 1-4.

Capinera, L. J. 2001. *Spodoptera exigua* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae) universidad de la Florida. Disponible en: http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN26200.pdf. [Fecha de acceso: 6 de marzo de 2017].

Castañé, C., Arnò, J., Gabarra, R. & Alomar, O. 2011. Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predatos. *Biological Control*. 59:22-29.

Chailleux, A., Wajnberg, E., Zhou, Y., Ameiens-Desneux, E. & Desneux, N. 2014. New parasitoid-predator associations: female parasitoids do not avoid competition with generalist predators when sharing invasive prey. *Naturwissenschaften*. 101(12):1075-1083.

Chambers, R. J., Long, S. & Helyer, N. L. 1993. Effectiveness of *Orius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae) for the control of *Frankliniella occidentalis* on cucumber and pepper in the UK. *Biocontrol Science and Technology*. 3:295-307

Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, F. & Grant, W. P. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transaction of the Royal Society B*. 366(1573):1987-1998.

Chinery, M. 2005. *Guía de campo de los insectos de España y de Europa*. Ediciones OMEGA. 402 p.

Cisneros, V. F. 1995. Control de Plagas Agrícolas. Disponible en: http://www.avocadosource.com/books/cisnerosfausto1995/cpa_toc.htm. [Fecha de acceso: 26 de febrero de 2017].

Cloid, R. A., Galle, C. L., Keith, S. R. & Kemp, K. E. 2010. Effect of fungicides and miticides with mitochondria electron transport inhibiting activity on the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranichidae). *HortSciencie*. 45(4)687-689.

Cocuzza, G. E., De Clercq, P. D., Lizzio, S., Veire, M., Tirry, L., Degheele, D. & Vacante, V. 1997. Life tables and predation activity of *Orius laevigatus* and *O. albidipennis* at three constant temperatures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 85:189-198.

Coll, M. & Guershon, M. 2002. Ovnivory in terrestrial arthropods: mixing plant and prey diets. *Annual Review Entomology*. 47:267-297.

Collar, J. 1998. El uso de los fungicidas en España. *Vida Rural*: 70:54-56.

Constant, B., Grenier, S. & Bonnot, G. 1994. Analysis of some morphological and biochemical characteristics of the eggs of the predaceous bug *Macrolophus caliginosus* (Het.:Miridae). *Biological Control*. 7(2):140-147.

Coombs, M. R. & Bale, J. S. 2014. Thermal biology of the spider mite predator *Phytoseiulus macropilis*. *Biocontrol*. 59:205-217.

Croft, B. A. 1990. *Arthropod biological control agents and pesticides*. John Wiley and Sons. New York. 703 p.

Crowder, D. W. & Snyder, W. E. 2010. Eating their way to the top? Mechanisms underliying the success of invasive insect generalist predators. *Biological Invasions*. 12:2855-2876.

DeBeach, P. 1964. *Biological Control of Insect Pests and Weeds*. Chapman and Hall LTD. London. 844 p.

De Backer, L., Megido, C., Huabruge, E. & Verheggen, F. J. 2014. *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) as an efficient predator of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Europe. *A review. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 18(4):536-547.

Delgado, M. A. 2010. El control integrado de plagas en cultivos hortícolas. *Phytoma*. 218:24-28.

Do Carmo, E. L., Bueno, A. F., Bueno, R. C., Silva, S. V., Luis, A. G. & Rodríguez, F. V. 2009. Seletividaede diferentes agrotóxicos usados na cultura da soja ao parasitoide de ovos *Telenomus remus*. *Ciencia Rural Santa Maria*. 39(8): 2293-2300.

East, D. A., Edelson, J. V. & Cartwright, B. 1989. Relative cabbage consumption by the cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae), beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), and diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 82: 1367-1369.

Ehler, L. E. 1990. Introduction strategies in biological control of insects. En: Mackauer, M., Ehler, L.E. & Roland, J. (eds.). *Critical Issues in Biological Control. Intercept*. Andover. pp: 111-134.

Ehler, L. E. 2004. An evaluation of some natural enemies of *Spodoptera exigua* on sugarbeet in northern California. *Biocontrol*. 49:121-135.

Ehler, L. E. 2007. Impact of native predators and parasites on Spodoptera exigua, an introduced pest of alfalfa hay in northern California. *Biocontrol*. 52(3):323-338.

Eilenberg, J., Hajek, A. & Lomer, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in Biological control. *BioControl*. 46:387-400.

El-Dessouki, S. A., El-Kifl A. H. & Helal, H. A. 1976. Life cycle, host plants and symptoms of damage of the tomato bug, *Nesidiocoris tenuis* Reut. (Hemiptera: Miridae), in Egypt. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/ Journal of Plant Diseases and Protection.* 83(4):204-220.

Emami, M. S. 2017. The effects of plant cover on population of pear pysilla (*Cacopsylla pyricola*) and its predators. *Acta Agriculture Slovenica*. 109(1):71-78

Emami, M. S., Shishehbor, P. & Karimzadeh, J. 2014. The influences of plant resistence on predation rate of *Anthocoris nemoralis* (Fabricius) on *Cacopsylla pyricola* (Forster). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 47(17):2043-2050.

Ennis, W. B. 1979. Introduction to Crop Protection. American Society of Agronomy, *Crop Science Society of America*, Madison, Wisconsin. (3):91-101.

Erbilgin, N., Dahlsten, D. L. & Chen, P. 2004. Intraguild interactions between generalist predators and a introduced parasitoid of *Glycaspis brimblecombie* (Homoptera: Psylloidea). *Biological Control*. 31:329-337.

Evans, E. W., Soares, A. O. & Yasuda, H. 2011. Invations by ladybugs, ladybirds, and other predatory beetles. *Biocontrol*. 56:597-611.

FAO (Food and Agricultural Organization). 2012. El cultivo protegido en clima mediterráneo. Disponible en: ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/s8630S/ s8630S00.pdf. [Fecha de acceso: 11de marzo de 2017].

Ferkovich, S. M., Venkatesan, T., Shapiro, J, P. & Carpenter, J. E. 2007. Presentation of artificial diet: effects of composition and size of prey and diet domes on egg production by *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Florida Entomologist*. 90(3):502-508.

Ferragut, F. & González-Zamora, J. E. 1994. Diagnóstico y distribución de las especies de *Orius* Wolff 1811, peninsulares (Heteroptera, Anthocoridae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas.* 20: 89-101.

FRAC (Fungicide Resistence Action Committee). 2017. FRAC Code List 2017: Fungicides sorted by mode of action (Including FRAC Code numbering). Disponible en: http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2017-final.pdf?sfvrsn=2. [Fecha de acceso: 13 de marso de 2017].

Gabarra, R., Alomar, O., Castañé, C., Goula, M. & Albajares, R. 2004. Movement of greenhouse whitefly and its predators between in and outside of Mediterranean greenhouses. *Agriculture, Ecosystems and Envitronment*. 102:341-348.

Gabarra, R., Arnó, J. & Riudavets, J. 2008. Tomate. En: Jacas, J. A. & Urbaneja, A. (eds.). *Control biológico de plagas agrícolas*. Phytoma-España, Valencia. pp: 410-422.

García, F. & Ferragut, F. 2002. *Plagas Agrícolas*. Editorial PHYTOMA-España. 399p.

Garzón, A., Medina, P., Amor, F., Viñuela, E. & Budia, F. 2015. Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysipidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere*. 132:87-93.

GBIF. (Global Biodiversity Information Facility) 2017a. Disponible en: http://www.gbif.org/species/5109890. [Fecha de acceso 1 de marzo de 2017].

GBIF. (Global Biodiversity Information Facility) 2017b. Disponible en: http://www.gbif.org/species/4487146. [Fecha de acceso 1 de marzo de 2017].

GBIF. (Global Biodiversity Information Facility) 2017c. Disponible en: http://www.gbif.org/species/2020846. [Fecha de acceso 1 de marzo de 2017].

GBIF. (Global Biodiversity Information Facility) 2017d. Disponible en: http://www.gbif.org/species/2009189. [Fecha de acceso 1 de marzo de 2017].

GBIF. (Global Biodiversity Information Facility) 2017e. Disponible en: http://www.gbif.org/species/2011308. [Fecha de acceso 1 de marzo de 2017].

Gerling, D., Alomar, O. & Arnò, J. 2001. Biological Control of Bemisia tabaci using predators and parasitoids. *Crop Protection*. 20:779-799.

Gimeno, J. 2004. Sandia ecología: *Spodoptera exigua*: lucha contra las orugas (II). *Cañamo: La revista de la cultura del cannabis*. 8:80-81.

Gion, V., Camps, C. & Le Corff, J. 2016. Biological control of *Tetranychus urticae* by *Phytoseiulus macropilis* and *Macrolophus pygmaeus* in tomato greenhouse. *Experimental Applied Acarology*. 68:55-70.

Gómez de Aizpurúa, C. 1992. *Biología y morfología de las orugas Noctuidae.* Tomo X. Boletín de Sanidad Vegetal. Fuera de serie 10. MAPA. Madrid, España. 230 p.

Gómez-Menor, J. M. 1956. *Antocóridos de España y Marruecos*. Tesis Doctoral. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España. 120 p.

González, J., Reyes, F., Salas, C., Santiago, M., Codriansky, Y., Coliheuque, N. & Silva, H. 2006. *Arabidopsis thaliana*: a model host plant to study plant-pathogen interaction using chileanfield isolates of *Botrytys cinérea*. *Biological research.* 31:221-228.

Goula, M. & Alomar, O. 1994. Miridos (Heteroptera: Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación. *Boletín de sanidad Vegetal Plagas.* 20:131-143

Guimaraes, F. R., Aldebis, H. K., Santiago-Álvarez, C. & Vargas-Osuna, E. 1998. Expresión de infecciones latentes por VPN (Baculoviridae) en larvas de *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) sometidas a diferentes condiciones ambientales. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas.* 24:997-1002.

Hassan, S. A. 1994. Activities of the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *IOBC/WPRS Bulletin*. 17(10):1-5.

Heppner, J. B. 1998. *Spodoptera armyworms in Florida (Lepidoptera: Noctuidae)*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Division of Plant Industry Entomological Circular 390. Florida, USA. 5 p.

Hernando, S. M. 2009. Supervivencia de la chinche depredador *Anthocoris nemoralis* (Fabricius) (Heteroptera: Anthocoridae) tras tratamientos con caolín y dos formulados de cobre utilizados en olivar. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España.175p

Holling, C. S. 1959. Some characteristics of simpe types of predation and parasitism. *Canadian Entomologist*. 91:385-398.

Hosseini, M., Ashouri, A., Enkegaard, A., Weisser, W. W., Goldansaz, S. H., Mahalati, M. N. & Moayeri, H. R. 2010. Plant quality effects on intraguild predation between *Orius laevigatus* and *Aphidoletes aphidimyza*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 135:208-216.

Howe, A. G., Ravn, H. P., Pipper, C. B. & Aebi, A. 2016. Potential for exploitative competition, not intraguild predation, between invasive harlequin ladybirds and flowerbugs in urban parks. *Biological Invasions*. 18:517-532.

IOBC. (International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants). 2013. Working-group: Pesticides and beneficial organism. Disponible en: http://www.iobc-wprs.org/expert_groups/01_wg_beneficial_organisms.html. [Fecha de acceso: 31 de enero de 2017].

Isenhour, D. J., Layton, R. C. & Wiseman, B. R. 1990. Potential of adult *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) as a predator of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomophaga.* 35(2): 269-275

Isman, B., Miresmailli; S. & Machial, C. 2011. Commercial Opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*. 10 (2):197-204.

Jacas, J. A. & Viñuela, E. 1994. Analysis of a laboratory method to test the effects of pesticides on adult females of *Opius concolor* (Hymn.: Braconidae), a parasitoid of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Dip.: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*. 4:147-154.

Jacas, J.A. & Urbaneja, A. 2008. Origen de las plagas e historia del control biológico. En: Jacas, J.A. & Urbaneja, A. (eds.). *Control Biológico de las plagas agrícolas*. Phytima-España. Valencia. pp: 3-14.

Jacas, J., Urbaneja A. & García-Marí, F. 2008. Artrópodos depredadores. En: Jacas, J. & Urbaneja, A. (eds.). *Control biológico de plagas agrícolas*. Phytoma-España. Valencia. pp: 39-56.

Jaeckel, B., Alt, S. & Balder, H. 2011. Influence of temperatura and light on the feeding rate of *Macrolophus pygmaeus* (Rambur, 1839) (Hemiptera: Miridae). *Biological Control*. 58:174-181.

Jozivan, N. F., Teixeira, F. E., De mezquita, L. X., Martins, O. A. & Costa, T. F. 2008. Extractos vegetales en el control de plagas. *Revista Verde* (Mossoró–RN–Brasil). 3(3):01-05.

Judd, G. J. R., Gardiner, M. G. T. & Thomson, D. R. 1997: Control of codling moth in organicaly–managed apple orchards by combining pheromone-mediated mating disruption, post harvest fruit removal and tree banding. *Entomología Experimentalis et Applicata.* 83:137-146.

Kajita, Y., Takano, F., Yasuda, H. & Evans, E. W. 2006. Interactions between introduced and native predatory ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae): Factors influencing the success of species introructions. *Ecological Entomology*. 31:58-67.

Kasper, M. L., Reeson, A. F., Cooper, S. J. B., Perry, K. D. & Austin, A. D. 2004. Assessment of prey overlap betwwen a native (Polistes humilis) and an introduced (Vespula germanica) social wasp using morphology and phylogenetic analyses of 165rDNA. *Molecular Ecology*. 13:2037-2048.

Kerzhner, I. M. & Josiv, M. 1999. Cimicomorpha II Miridae. En: Aukema, B. Rieger, C. (eds.). *Catalogue of Heteroptera of the Palearctic region*. vol 3. The Netherlands Entomological Society, Amsterdam, pp: 1-577.

Kogan, M. 1998. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review Entomology*. 43:234-270.

Kogan, M. & Shenk, M. 2002. Conceptualización del Manejo Integrado de Plagas en escalas espaciales y niveles de integración más amplios. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. 65:34-42.

Köhler, H. R. & Triebskorn, R. 2013. Wildlife ecotoxicology of pesticides: Can we track effects to the population level and beyond?. *Science*. 341(6147):759-765.

Kornosor, S. & Sertkaya, E. 1999. *Lepidopterous pests and their natural enemies on maize in Cukurova region*. Proc. XX Conf. Internaional working groups on Ostrinia and other maiz pests. pp 26-31.

Lampropoulos, P. D., Perdikis, D., Fantinou, A. A. 2013. Are multiple predator effects by prey availability?. *Basic and Applied Ecology*. 14(7):605-613.

Larocque, N., Vincent, C., Belanger, A., & Bourassa, P. 1999. Effects of tansy essential oil from *Tanacetum vulgare* on biology of obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana. Journal Chemical Ecology Alemania*. 25(6):1319-1330.

Laughlin, R. 1965. Capacity for increase: a useful population statistics. *Journal of Animal Ecology*. 34:77-91.

Laurin, M. C. & Bostanian, N. J. 2007. Short-term contact toxicity of seven fungicides on *Anystis baccarum*. *Entomology*. 35(4)380-385.

Lemos, W. P., Zanuncio, J. C. & Serrao, J. E. 2005. Attavk behavior of *Podisus rostralis* (Heteroptera: Pentatomidae) adults on caterpillars of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Brazilian Archives on Biology and Technology*. 48:975-981.

Linnavouri, R. E. 2007. Studies on the Miridae (Heteroptera) of Gilan and the adjacent provinces in norther Iran. II List of species. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*. 47:17-56.

Lucas, E. & Alomar, O. 2002. Impact of the presence of *Dicyphus tamaninnii* Wagner (Heteroptera: Miridae) on whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) predation by *Macrolophus caliginosus* (Wagner) (Heteroptera: Miridae). *Biological Control*. 25(2):123-128.

Lucas, E. 2005. Intraguild predation among aphidophageous predators. *European journal of Entomology.* 102:351-363.

Lykouressis, D. P., Giatropolus, A., Perdikis, D. & Konstantinou, D. 2009. Predation rates of *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) on different densities of eggs and nymphal instars of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporium* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Entomologia Generalis*. 32:105-112.

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017a. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/guias-gestion-plagas/default.aspx. [Fecha de acceso 7 de marzo de 2017].

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017b. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/productos/forexi.asp?e=0&plagEfecto=515 [Fecha de acceso 29 de mayo de 2015].

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017c. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/informacion-ambiental-indicadores-ambientales/BPIA_2013_Ficha_web_Agricultura_Consumo_Fitosanitarios_tcm7-341480. [Fecha de acceso 5 de julio de 2017].

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017d. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/productos/datfor.asp?IdFormulado=304&plagEfecto=194. [Fecha de acceso 13 de marzo de 2017].

MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017e. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/productos/datfor.asp?IdFormulado=1863&plagEfecto=194. [Fecha de acceso 13 de marzo de 2017].

Manzoni, C. G., Grutzmacher, A. D., Giolo, F. P., Lima, C. A. B., Nornberg, S. D., Muller C. & Harter, R. 2006. Susceptibilidade de adultos de *Ttrichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogramatidae) a fungicidas utilizados no controle doencas da macieira. *Neotropical Entomology*. 32(2):223-230.

Marimuth, S., Gurusubramanian, G., & Krishna, S. 1997. Effect of exposure of eggs to vapours from essential oils on egg mortality, development and adult emergence in *Earias vittella* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae), *Biology Agriculture Horticulture*. 14(4):303-307.

Martinez-Cascales, J. I., Cenis, J. L., Cassis, G. & Sanchez, J. A. 2006. Species identity of *Macrolophus melanotoma* (Costa 1853) and *Macrolophus pygmaeus* (Rambur 1839) (Insecta: Heteroptera: Miridae) based on morphological and molecular data and bionomic implications. *Insect Systematics and Evololution*. 37:385-404.

Martínez-García, H., Román-Fernández, L. R., Sáenz-Romo, M. G., Pérez-Moreno, I. & Marco-Mancebón, V. S. 2016. Optimizing *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) as a biological control agent: mathematical models for predicting its development as a function of temperature. *Bulletin of Entomological Research*. 106:215-224.

Martínez-García, H., Sáenz-Romo, M. G., Aragón-Sánchez, M. Román-Fernández, L. R., Sáens-de-Cabezón, E., Marco-Mancebón, V. S. & Pérez-Moreno, I. 2017. Temperature-dependent development of Macrolophus pygmaeus and its applicability to applicability to biological control. *BioControl*. In press.

Martinou, A. F., Seraphines, N. & Stavrinides, M. C. 2014. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. *Chemosphere*. 96:167-173.

Medina, P., Adán, A., Del Estal, P., Budia, F. & Viñuela, E. 2008. Integración del control biológico con otros métodos de control. En: Jacas, J.A. y Urbaneja, A. (eds.). *Control de plagas*. Phytoma-España. pp: 469-476.

Mendenhall, W. 1979. *Introduction to probability and statistics*. 5th ed. Duxbury Press. Belmont, California.744 p.

Meyer, J. S., Ingersoll, C. G. & McDonald, L. L. 1987. Sensitivity analysis of population growth rates estimated from cladoceran chronic toxicity test. *Evironmental Toxicology and Chemistry.* 6:115-126.

Metcalf, C. L. & Flint, W. P. 1988. *Insectos destructivos e insectos útiles. Sus costumbres y su control*. 4ª Ed. Continental Edit. México D.F. pp: 534, 687, 288-292, 301-302.

Misselink, G. J. & Janssen, A. 2014. Increased control of thrips and aphids in greenhouse with two species of generalist predatory bugs involved in intraguild predation. *Biological Control*. 79:1-7.

Molla, O., Montón, H., Vanaclocha, P., Beitia, F. & Urbaneja, A. 2009. Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. *IOBC/WPRS Bulletin*. 49:209-214.

Moreno-Ripoll, R., Agustí, N., Berruezo, R. & Gabarra, R. 2012. Conspecific and heterospecific interactions between two omnivorous predator on tomato. *Biological Control*. 62:189-196.

Nakaishi, K., Fukui, Y. & Arakawa, R. 2011. Reprotuction of Nesidiocoris tenuis (Rauter) on Sesame. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. 55(4):199-205.

Nannini, M. 2009. Preliminary evaluation of *Macrolophus pygmaeus* potential for control of *Tuta absoluta*. *IOBC/WPRS. Bulletin*. 49:215-218

Naumann, K. & Isman, M. 1995. Evaluation of neem *Azadirachta indica* seed extracts and oils as oviposition deterrents to Noctuid Moths. *Entomologia Experimentalis Applicata*. 76(2):115-120.

Paredes, D., Cayuela, L., Gurr, G.M. & Campos, M. 2015. Single best species or natural enemy assemblages? A correlational approach to investigationg ecosystem function. *BioControl*. 60:37-45.

Park, S., Lee, G., Shin, C., Lee, J. & Ahn, Y. 1997. Larvicidal and antifeeding activities of oriental medicinal plant extracts against four species of forest insect pests. *Applied Entomology and Zoology*. 32(4):601-608.

Perdikis, D. & Arvaniti, K. 2016. Nymphal development on plant vs. leaf with and without prey for two omnivorous predators: *Nesidiocoris tenuis* (Reuter, 1895) (Hemiptera: Miridae) and *Dicyphus errans* (Wolff, 1804) (Hemiptera: Miridae). *Entomologia Generalis.* 35(4):297-306.

Perdikis, D. & Lykouressis, D. 2000. Effects of various items, host plants, and temperatures in the development and survival of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). *Biological Control*. 17:55-60.

Perdikis, D. & Lykouressis, D. 2002. Life table and biological characteristics of *Macrolophus pygmaeus* when feeding on *Myzus persicae* and *Trialeurodes vaporium*. *Entomologia Experimentalis Applicata*. 102:261-272.

Perdikis, D., Lucas, E., Garantonakis, N., Giatropolus, A., Kitsis, A., Maselou, D., Panagakis, S., Paraskevopolus, A., Lykouressis, D. & Fantinou, A. 2009. Intraguild predation between *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *IOBC/WPRS Bulletin*. 49:301-305.

Perdikis, D., Lucas, E., Garantonakis, N., Giatropolus, A., Kitsis, A., Maselou, D., Panagakis, S., Lampropoulus, P., Paraskevopolus, A., Lykouressis, D. & Fantinou, A. 2014. Intraguild preadation and sublethal interactions between two zoophytophagus mirids, *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis. Biological Control*. 70:35-41.

Pérez, F. D., Montes de Oca, M. M., Estevez, J. R. & Carnero, A. H., 2001. *Una plaga potencial en los cultivos hortícolas de Canarias: Spodopera exigua (Lepidoptera: Noctuidae)*. Departamento de Protección Vegetal Tenerife. Centro Superior de Ciencias agrarias; Universidad de La Laguna. pp: 18-21.

Pérez-Guerrero, S., Gelan-Begna, A. & Vargas-Osuna, E. 2015. Compatibility of *Orius laevigatus* and *Cheiracanrhium pelasgicum* for predation on *Helicoverpa armiguera* eggs: effects of density and day/night activity on intraguild predation. *BioControl*. 60:783-793.

Pérez-Montesbravo, E., 2006. Control biologico de *Spodoptera frugiperda* Smith en Maíz. Disponible en: http://aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/SPODOPTE.htm. [Fecha de acceso 11 de enero de 2017].

Plascencia-González, A., Cibrián-Tovar, D., Llanderal-Cázares, C., López-Pérez, I. & Arriola-Padilla, V. 2005. Biología del parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente.* 11(1):11-17.

Poitout, S. & Bues, R. 1970. Élevage de plusieurs espèces de Lépidoptères Noctuidae sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. *Annales de Zoologie Ecologie Animale.* 2:79-91.

Polis, G. A. & Holt, R. D. 1992. Intraguild predation-the dynamics of complex trophic interactions. *Trends in Ecology and Evolution*. 7:151-154.

Price, P. W. 1975. *Insect Ecology*. Jhon Willey and Sons, New York. USA. 514 p.

Potter, C. 1952. An improved lavoratory apparatus for applying direct sprays and films, with data on the electrostatic charge on optimized spray fluids. *Annals Applied Biology*. 39:1-28.

Pünter, W. 1981. *Manual for field trials in plant protection*. 2nd ed. Syngenta International AG. Switzerland.

Radova, S. 2010. Effect of selected pesticides on the vitality and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Plant Protection Science*. 46(2):83-88.

Rim, H., Uefune, M., Ozawa, R. & Takabayashi, J. 2015. Olfactory response of the omnivorous mirid bug *Nesidiocoris tenuis* to eggplants infested by prey: Specificity in prey developmental stages and prey species. *Biological Control.* 91:47-54

Roy, H. E., Adriaens, T., Isaac, N. J. B., Kenis, M., Onkelinx, T., San Martin, G., Brow, P. M. J., Hautier, L., Poland, R., Roy, D. B., Comont, R., Eschen, R., Frost, R., Zindel, R., Van Vlaenderen, J., Nedved, O., Peter, H., Gregoire J. C., De Biseau, J. C. & Maes, D. 2012. Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds. *Diversity and Distributions.* 18:717-725.

Román-Frenández, L. R., Aragón-Sánchez, M., Martínez-García, H., Sáens-Romo, M. G., Pérez-Moreno, I. & Marco-Mancebón, V. S. 2015. Los efectos secundarios de los productos fitosanitarios sobre organismos beneficos y la gestión integrada de plagas. *Tierras de Castilla y León: Agricultura*. 233:100-106.

Romeu, C. & Veitía, M. 2012. Efecto antialimentario de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre *Heliothis virences* y *Spodoptera frugiperda*. *Fitosanidad.* 16(3):155-159.

Sharifian, I., Sabahi, Q. & Khoshabi, J. 2015. Funtional response of *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) and *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) feeding on two different prey species. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 48(17-20):910-920.

Salas, J. 2001. Captura de *Spodoptera frugiperda* en trampas con feromona. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 59:48-51.

Salas-Gervassio, N. G., Pérez-Hedo, M., Luna, M. G. & Urbaneja, A. 2016. Intraguild predation and competitive displacement between *Nesidiocoris tenuis* and *Dicyphus maroccanus*, 2 biological control agents in tomato pests. *Insect Science*. 00:1-9.

Sampson, C., Eekhoff, D., Parra, R. H. & Lewis, J. 2009. The economic benefist of adopting integrated pest management in protected pepper, chrysanthemum and strawberrye crops. *IOBC/WPRS Bulletin*. 49:15-20.

Sánchez, J. & Lacasa, A. 2006. A biological pest control story. *IOBC/WPRS Bulletin*. 29(4):17-22.

Sánchez, J. & Lucas, A. 2008. Impact of the zoophytophagus plant bug *Nesidiocoris tenuis* (Heteroptera: Miridae) on tomato yield. *Journal of Economic Entomology*. 101(6)1864-1870.

Sánchez, J., García, F., Lacasa, A., Gutierrez, L., Oncina, M., Contreras, J. & Gomez, J. 1997. Response of the Anthocorids *Orius laevigatus* and *Orius albidipennis* and the phytoseid *Amblyseius cucumeris* for the control of *Franklieniella occidentalis* in comercial crops of sweet pepper in Murcia (Spain). *IOBC/WPRS Bulletin*. 20:177-185.

Sánchez, J. A., Lacasa, A., Arnó, J., Castañe, C. & Alomar, O. 2008. Life history parameters for *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Het.: Miridae) under different temperature regimes. *Journal Applied Entomology*. 133:125-132.

Sánchez, J. A., La Spina, M. & Perera P. P. 2012. Analysis of the population structure of *Macrolophus pygmaeur* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) in the Palaearctic region using microsatellite markers. *Ecology and Evolution.* 21(12):3145-3159.

Schmidt, J. M., Richards, P. C., Nadel, H. & Ferguson, G. 1995. A rearing method for the production of large numbers of the insidiosus flower bug, *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). *Canadian Entomologist*. 127:445-447.

Shakya, S., Weintraub, P. G. & Coll, M. 2009. Effect of pollen supplement on intraguild predatory interactions between two omnivores: The importance of spatial dynamics. *Biological Control*. 50:281-287.

Sigsgaard, L. 2010. Habitat and prey preferences of the two predatory bugs *Anthocoris nemorum* (L.) and *A. nemoralis* (Fabricus) (Anthocoridae: Hemiptera-Hereroptera). *Biological Control*. 53:46-54.

Sigsgaard, L. Esbjerg, P. & Philipsen, H. 2006. Experimental releases of *Anthocoris nemoralis* F. and *Anthocoris nemorum* (L.) (Heteroptera: Anthocoridae) against the pear psyllid Cacopsylla pyri L. (Homoptera: Psyllidae) in pear. *Biological Control*. 39(1):87-95.

Silvia, C. A. D. 2000. *Microorganismos entomopatogenicos associados a insetos e acaros do algodoneiro*. Documentos Ampania Grande: EMBRAPA-CNPA 77. 45 p.

Solomon, M. G., Cross, J. V., Fitzgerald, J. D., Campbell, C. A. M., Jolly, R. L., Olszak, R. W., Niemczyk, E. & Vogt, H. 2000. Biocontrol of pest of apples and pears in Northern and Central Europe-3. *Predators. Biocontrol Science and Tecnology*. 10:91-128.

Soluk, D. A. & Collins, N. 1988. Synergistic Interactions between Fish and Stoneflies: Facilitation and Interference among Stream Predators. *Nordic Society Oikos*. 52(1):94-100.

Sterk, G., Hassan, S. A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blümel, S., Bogenschüzt, H., Boller, E., Bromand, B., Brun, J., Calis, J. N. M., Coremanspelseneer, J., Duso, C., Garrido, A., Grove, A., Heimbach, U., Hokkanen, H., Jacas, J., Lewis, G. B., Moreth, L., Polgar, L., Roversti, L., Samsøe-Petersen, L., Sauphanor, B., Schaub, A., Stäubli, A., Tuset, J. J., Vainio, A., Van de Veire, M., Viggiani, G., Viñuela, E. & Vogt, H. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *BioControl*, *44*(1): 99-117.

Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. & Greenstone, M. H. 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents?. *Annual Review Entomology.* 47:561-594.

Taberner, A., Castañera, P., Silvestre, E. & Bopazo, J. 1993. Estimation of the intrinsec rate of natural increase and its error by both algebraic and resampling approaches*. Computer Applied Biosciences.* 9:535-540.

Tesoriero, D., Maccagnani. B., Santi, F. & Celli, G. 2003.Toxicity of three pesticides on larval instars of *Osmia cornuta*: preliminary results. *Bulletin of Insectology*. 56(1):169-171.

Tommasini, M. G., Van Lenteren, J. C. & Burgio, G. 2004. Biological traits and predation capacity of four *Orius* species on tow prey species. *Bulletin of Insectology*. 57:79-93

Torres, O. J. A., Rosas-García, N., Garza-Molina, R. & Castillo-Leal, M., 2009. Diseño de una formulación insecticida biodegradable a base de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctudiae). Disponible en: www.turevista.uat.edu.mx. [Fecha de acceso 7 de marzo de 2017].

Urbaneja, A., Van Der Blom, J., Lara, L., Timmer, R. & Blackmans, K. 2002 Utilización de *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hym.: Braconidae) para el control biológico de orugas (Lep.: Noctuidae) en el manejo integrado de plagas en el pimiento bajo invernadero. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas.* 28:239-259.

Urbaneja, A., Ripollés, J. L., Abad, R., Calvo, J., Vanaclocha, P., Tortosa, D., Jacas, J. A. & Castañera, P. 2005a. Importancia de los artrópodos depredadores de -insectos y ácaros en España. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*. 31:209-223

Urbaneja, A., Tapia, G. & Stansly, P. 2005b. Influence of host plant and prey availability on developmental time and surviorship of *Nesidiocoris tenuis* (Het.: Miridae). *Biocontrol Science and Tecnology*. 15(5):513-518.

Urbaneja, A., Montón, H. & Molla, O. 2009. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrilophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis. Journal of Apllied Entomology*. 133(4):292-296.

Urbaneja, A. Gonzalez-Cabrera, J., Arnó J. & Gabarra R. 2012. Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Management Science*. 68(9): 1215-1222.

Valderrama, K., Granobles, J., Valencia, E. & Sánchez, M. 2007. *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) depredador en el cultivo de tabaco (*Nicotiana Tabacum*). *Revista colombiana de Entomología*. 33(2):144-145.

Van de Kererkhove, B., De Puysseleyr, V., Bonte, M. y De Clercq, P. 2011 Fitness and predation potential of *Macrolophus pygmaeus* reared under artificial condition. *Insect Science*. 18:682-688.

Van de Viere, M. Smagghen G. & Degheele D. 1996. Laboratory test method to evaluate the effect of 31 pesticides on the predatory bug, *Orius laevigatus* (Het.: Anthocoridae). *Enthomophaga*. 41(2):235-243.

Van de Viere, M., Sterk, G., Van der Staaij, M., Ramakers, P. M. J. & Tirry, L. 2002. Sequential testing scheme for the assessment of the side-effects of plant preotection products on the predatory bug *Orius laevigatus*. *BioControl*. 47:101-113.

Van der Blom, J. 2008. Pimiento bajo abrigo. En: Jacas, J.A. & Urbaneja, A. (eds.). *Control biológico de plagas agrícolas*. Phytoma. España. pp: 399-409.

Van der Blom, J., Robledo, A., Torres, S. & Sanchez, J. A. 2009. Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almería, Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*. 49:9-13.

Van Lenteren, J.C. 1995. Integrated pest management in protected crops. En: Dent, D. (ed.). *Integrated Pest Management*. Chapman and Hall. London. pp: 311-343.

Van Lenteren, J. C. 2003a Commercial availabilty of biological control agents. En: Van Lenteren, J.C. (ed.). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing producedires*. CABI Publishing, UK. pp: 167-179.

Van Lenteren, J. C. 2003b. Need for quality control of mass produce biological control agents. En: Van Lenteren, J.C. (ed.). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing producedires*. CABI Publishing, UK. pp: 1-18

Van Lenteren, J. C. 2012. The estate of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Biocontrol.* 55:1-20.

Venzon, M., Janssen, A. & Sabelis, M. W. 2001. Prey preference, intraguild predation and population dynamics of arthropod food web on plants. *Experimental and Applied Acarology*. 25(10-11):785-808.

Viñuela, E. 2005. La lucha biológica, pieza clave de la agricultura sostenible. En: Jacas, J., Caballero, P. & Avilla, J. (eds.). *El control biológico de las plagas y enfermedades*. Publicaciones de la Universitat Jaume I. Castelló de la Plana. pp: 15-30.

Viñuela, E. & Jacas, J. 1993. Los enemigos naturales de las plagas y los plaguicidas. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1993_02.pdf. [Fecha de acceso 13 de marzo de 2017].

Viñuela, E., Adán, A., Smagghe, G., González, M., Medina, M. P., Budia, F., Vogt, H. & Del Estal, P. 2000. Laboratory effects of ingestión of azadirachtin by two pests (*Ceratitis capitata* and *Spodoptera exigua*) and three natural enemies (*Chrysoperla carnea*, *Opius concolor* and *Podisus maculiventris*). *Biocontrol Science and Technology*. 10:165-177.

Ware, R. L. & Majerus, M. E. N. 2008. Intraguild predation of immature stages of British and Japanese coccinellids by invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Biocontrol*. 53:169-188.

White, E. M., Wilson, J. C. & Clarke, A. R. 2006. Biotic indirect effects: a neglected concept in invasion biology. *Diversity and Distributions*. 12:443-455.

Wilson J. W., 1932. Notes On the biology of *Laphygma exigua* Hübner. *Florida Entomologist.* 16:33-39.

Zalom, F. G. 2010. Pesticide use practices in Integrated Pest Management. En: Krieger, R. (ed.). *Hayes´s Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press. Londres. pp: 303-313.

Zanuncio, J. C., Domingues da Silva, C. A., Rodrigues, E., Fagudes, P. F., Ramalho, F. & Serrao, J. E. 2008 Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and withouth defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 51(1):121-125.

Zappala, L., Biondi, A., Alma, A., Al-Jboordy, I., Arnò, J., Bayram, A., Chailleux, A., El-Arnaouty, A., Gerling, D., Guenaoui, Y., Shaltiel-Harpaz, L., Siscaro, G., Stavrinides, M., Tavella, L., Vancher, R., Urbaneja, A. & Desneux, N. 2013. Natural enemies of the South America month, *Tuta absoluta*, in Europe, Nort Africa and Middle East, and their potential use in pest control strategies. *Journal of pest Science*. 86(4):635-647.