UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TESIS DOCTORAL

Título
Análisis de la interacción de acaricidas de nueva generación con los agentes de control biológico *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) y *Beauveria Bastiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) para su correcta incorporacion al Manejo Integrado de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)
Autor/es
Beatriz López Manzanares
Director/es
Ignacio Pérez Moreno y Vicente Santiago Marco Mancebón
Facultad
Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática
Titulación
Departamento
Agricultura y Alimentación
Curso Académico

Análisis de la interacción de acaricidas de nueva generación con los agentes de control biológico *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) y *Beauveria Bastiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) para su correcta incorporacion al Manejo Integrado de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), tesis doctoral de Beatriz López Manzanares, dirigida por Ignacio Pérez Moreno y Vicente Santiago Marco Mancebón (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, 2016
publicaciones.unirioja.es
E-mail: publicaciones@unirioja.es

UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

ÁREA DE PRODUCCIÓN VEGETAL

UNIDAD DE PROTECCIÓN DE CULTIVOS

Análisis de la interacción de acaricidas de nueva generación con los agentes de control biológico *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) y *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) para su correcta incorporación al Manejo Integrado de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)

Memoria presentada por **Beatriz López Manzanares** para optar al grado de Doctora por la Universidad de La Rioja.

Dirigida por el **Dr. Ignacio Pérez Moreno** y el **Dr. Vicente Santiago Marco Mancebón.**

Quien no haya experimentado la irresistible atracción
de la ciencia, no podrá comprender su tiranía.

Mary Shelley (Frankenstein)

PRESENTACIÓN

La presente tesis se ha desarrollado dentro del Grupo de Investigación en Manejo Integrado de Plagas, del Departamento de Agricultura y Alimentación de la Universidad de La Rioja, orientado a la obtención de conocimientos sobre control integrado y biológico de plagas, ecotoxicología, biología del comportamiento, biodiversidad de artrópodos en agroecosistemas y en sistemas naturales, y plaguicidas agrícolas (absorción-desorción, movilidad y biodegradación y contaminación de suelos y aguas).

Entre los muchos aspectos que aún deben de ser estudiados, este trabajo se ha centrado en la evaluación de la eficacia de plaguicidas biorracionales de nueva generación frente a plagas de interés agrícola y la interacción de estos con agentes de control biológico.

Las materias activas seleccionadas para esta investigación han sido elegidas por tratarse de acaricidas de nueva generación que presentan modos de acción, *a priori*, más selectivos.

En este estudio, se utilizaron tres organismos diferentes: el ácaro fitófago *Tetranychus urticae*, como especie plaga a controlar; el ácaro fitoseido *Typhlodromus pyri*, como depredador de este fitófago; y *Beauveria bassiana*, como hongo entomopatógeno.

Uno de los motivos por el que los ácaros tienen interés agrícola, es el efecto dañino que pueden ocasionar al actuar como plagas, tanto de cultivos como de productos almacenados o transformados. Además, pueden ser transmisores de virosis y otros patógenos de los cultivos. Como especie plaga, se ha elegido *T. urticae* por su importancia agrícola, debido a que es un fitófago polífago capaz de alimentarse de más de 1.000 especies vegetales, entre las que se incluyen más de 150 de interés agrícola de diferentes tipos de cultivos (hortícolas, frutales, ornamentales), así como vegetación espontánea (García-Marí *et al.*, 1989; Ferragut & Santonja, 1989; Arias & Nieto, 1981).

No obstante, también hay ácaros beneficiosos interesantes por su importancia como agentes de control biológico, puesto que actúan como depredadores de artrópodos plaga. Este es el caso de *T. pyri*, especie considerada de referencia para estudios ecotoxicológicos y demostradamente eficaz en el control de poblaciones de ácaros tetraníquidos y eriófidos, motivos por los cuales ha sido seleccionado para este estudio.

Por último, se ha elegido *B. bassiana* por ser un hongo entomopatógeno, de amplia distribución en la naturaleza (St. Leger *et al.*, 1992) y porque actualmente se emplea con éxito en lucha biológica contra más de 70 especies potencialmente capaces de ser consideradas como plaga (Aleshina, 1980).

Este documento está estructurado en tres capítulos. El capítulo I recoge una introducción general sobre el manejo integrado de plagas, las materias activas objeto de este estudio, los ácaros de interés agrícola y los microorganismos de control biológico. El capítulo II se centra en los ensayos realizados con el agente de control biológico, el ácaro *T. pyri*, y la explicación de los métodos de cría de los ácaros objeto de este estudio. Finalmente, el capítulo III trata sobre los ensayos de compatibilidad realizados con el hongo entomopatógeno *B. bassiana*.

Bibliografía

Aleshina, O.A. 1980. Composition and prospects for study of the entomopathogenic fungi of the USSR. The Review of Applied Entomology, 68: 83-84.

Arias, A. & Nieto, J. 1981. Observaciones sobre la biología de la "araña amarilla" (Tetranychus urticae Koch) y correlación entre síntomas y perdidas en una viña de Tierra de Barros (Badajoz) durante 1980. Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica. Comunicaciones. Serie Estudios y Experiencias. Mayo, 9 (82): 41.

Ferragut, F. & Santonja, M.C. 1989. Taxonomía y distribución de los ácaros del género *Tetranychus* Dufour 1832 (Acari: Tetranychidae) en España. Bol. San. Veg. Plagas, 15: 271-281.

García-Marí, F., Costa, J. & Ferragut, F. 1989. Plagas agrícolas I: Insectos exopterigotos y ácaros. Servicio de publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia, 313 págs.

St. Leger, R.J., Alle, L.L., May, B., Staples, R.C. & Roberts, D.W. 1992. Worldwide distribution of genetic variation among isolates of *Beauveria* spp. Mycological Research. 96: 1007-1015.

A mis padres,
porque os lo debo todo

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar las gracias a todos aquellos que han hecho posible esta tesis.

A quienes me dieron la posibilidad de iniciarme en el mundo de la investigación y a quienes confiaron en mí para poder seguir en él.

A mis directores de tesis porque sin su coordinación, su orientación, su confianza, su apoyo y sus buenos consejos, no hubiese sido posible desarrollar este trabajo. Me siento afortunada de que me hayan acompañado durante este proceso, porque juntos forman un gran equipo, y eso unido a su experiencia y sus conocimientos lo hace todo más fácil.

A mis compañeros de la Universidad de La Rioja, que han sido muchos y a cual mejor. Creo que todos ya sabéis lo que habéis significado para mi durante este tiempo y el cariño que os tengo.

A mis compañeros del ICVV, por estar conmigo en esta nueva etapa, y por apoyarme y darme todas las facilidades del mundo para cerrar la anterior.

A mi familia y amigos, por su apoyo incondicional, su comprensión y su infinita paciencia cada vez que me ausentaba porque tenía que trabajar.

Y por encima de todo a Félix por ser el escudero de todas mis batallas. Gracias por estar siempre ahí.

ÍNDICE

Resumen 16

Capítulo I. Introducción general

Gestión Integrada de Plagas 20

Productos fitosanitarios 23

Evolución y estado actual de los productos fitosanitarios en la agricultura 23

Materias activas 27

Ácaros de interés agrícola 42

Los ácaros tetraníquidos 43

Los ácaros fitoseidos 53

Microorganismos de control biológico 67

Hongos entomopatógenos 68

Bibliografía 73

Capítulo II. Efectos secundarios de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*

Introducción: *Typhlodromus pyri* Scheuten, 1857 87

Objetivos 91

Material y Métodos 92

Cría masiva de ácaros en laboratorio 92

Bioensayos: evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *T. pyri* 94

Influencia de la forma de exposición en los efectos secundarios de los acaricidas sobre *T. pyri* 94

Actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri* 100

Evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri* 103

Evaluación en campo del efecto de los acaricidas sobre *T. pyri* 106

Resultados 111

Influencia de la vía de exposición en los efectos secundarios de los acaricidas sobre *T. pyri* 111

Actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri* 118

Evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri* 124

Evaluación del efecto en campo de los acaricidas sobre *T. pyri* 126

Discusión 128

Influencia de la vía de exposición en la actividad de los acaricidas sobre *T. pyri* 128

Actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri* 130

Evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri* 131

Evaluación del efecto en campo de los acaricidas sobre *T. pyri* 132

Conclusiones 134

Bibliografía 136

Capítulo III. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* con acaricidas de nueva generación

Introducción: *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin 145

Objetivos 149

Material y Métodos 150

Sincronización de cohortes de *T. urticae* 150

Determinación de la viabilidad de esporas de *B. bassiana* 151

Bioensayos: evaluación de compatibilidad de *B. bassiana* con acaricidas de nueva generación 152

Caracterización de la toxicidad de los acaricidas y *B. bassiana* sobre huevos y larvas de *T. urticae*: análisis Probit 152

Determinación del efecto conjunto de cada acaricida con *Beauveria bassiana* 155

Efecto de los acaricidas sobre la germinación de las conidias y el crecimiento micelial de *Beauveria bassiana* 157

Resultados 159

Caracterización de la toxicidad de los acaricidas y *B. bassiana* sobre huevos y larvas de *T. urticae*: análisis Probit 159

Determinación del efecto conjunto de cada acaricida con *Beauveria bassiana* 167

Efecto de los acaricidas sobre la germinación de conidias y el crecimiento micelial de *Beauveria bassiana* 172

Discusión 175

Conclusiones 181

Bibliografía 182

Índice de ilustraciones

Figuras 191

Tablas 195

Anexos

Anexo I: Calibrado de la torre de Potter 201

Anexo II: Parámetros agroclimáticos durante el ensayo de evaluación de actividad residual al aire libre 202

Anexo III: Resultado viabilidad de esporas 205

Resumen

Resumen

Uno de los conocimientos imprescindibles de que se debe disponer para aplicar correctamente el Manejo Integrado de Plagas (MIP) es el de las interacciones que se producen entre los plaguicidas y los enemigos naturales. Esto es debido a que, en ocasiones, la incorporación de plaguicidas en los agroecosistemas puede afectar a las relaciones tróficas que se producen entre los artrópodos plaga y los organismos beneficiosos presentes en el cultivo, provocando que la especie plaga alcance niveles poblacionales, incluso más elevados que los existentes antes del tratamiento.

El uso indiscriminado de plaguicidas de amplio espectro ha provocado la pérdida de eficacia de muchas materias activas como consecuencia de la aparición de resistencias, así como la eliminación de la fauna auxiliar útil. Esto ha derivado en la necesidad de explorar nuevos modos de acción y de usar plaguicidas cada vez más selectivos, conocidos como de nueva generación. Dentro de estos plaguicidas, se encuentran los acaricidas objeto de este estudio; abamectina, acequinocyl, bifenazato, etoxazol, fenpiroximato, spirodiclofén y spiromesifén.

La nueva Directiva de uso sostenible de productos fitosanitarios, aprobada en 2010 y su transposición en el RD del mismo nombre, establece que, a partir del 2014, el sistema agrario español debe producir, únicamente, bajo criterio de gestión integrada de plagas (GIP). La inminente necesidad de coordinar la lucha biológica con la química, hace que sea necesario el conocimiento y aprovechamiento, por un lado, de los recursos ya existentes en los agroecosistemas, como es el caso del fitoseido depredador *Typhlodromus pyri*, y por otro, de los efectos debidos a las interacciones de estos agroquímicos con la aplicación de agentes entomopatógenos de control biológico, como es el hongo *Beauveria bassiana*.

T. pyri es una especie considerada de referencia para estudios ecotoxicológicos y demostradamente eficaz en el control de poblaciones de ácaros tetraníquidos y eriófidos, motivos por los cuales ha sido escogido para este estudio. Por otro lado, *B. bassiana* ha sido elegido por ser un hongo ampliamente distribuido en los suelos de todo el mundo, que ha demostrado ser eficaz como insecticida microbiológico en el control de numerosas plagas de artrópodos.

En este estudio, se ha analizado la interacción que los mencionados acaricidas pueden tener con estos agentes de control biológico. En el caso de *T. pyri*, se evaluaron sus efectos secundarios sobre diferentes parámetros biológicos, mientras que para *B. bassiana*, se determinó la compatibilidad que presentan cuando se aplican conjuntamente para el control de huevos y larvas del ácaro fitófago *Tetranychus urticae*.

En relación con *T. pyri*, se han planteado cuatro tipos de bioensayos con el fin de evaluar los efectos de estos acaricidas sobre la mortalidad y la fecundidad de las hembras adultas, sobre la fertilidad de sus huevos, y sobre su capacidad depredadora. En primer lugar, el fitoseido fue expuesto, a cada producto, a través de cuatro vías distintas que emulaban, en laboratorio, las posibles formas a través de las cuales puede entrar en contacto con el acaricida en campo. Estas vías de exposición han sido: "peor situación posible" (PSP), en la que tanto el fitoseido como las superficies y el alimento fueron tratados con el plaguicida; "alimento tratado" (AT), en la que la exposición fue únicamente a través del alimento suministrado; "contacto directo" (CD), donde solo el fitoseido fue tratado; y "superficie tratada" (ST), en las que el contacto con el producto se realizó, exclusivamente, a través del sustrato. Por otro lado, el fitoseido se ha expuesto al residuo de los acaricidas con el fin de evaluar la persistencia de sus efectos a lo largo del tiempo. Además, se estimó si la capacidad depredadora del fitoseido se podía ver modificada por contacto directo con los acaricidas y a diferentes densidades de presa, esto es, de huevos de *T. urticae*. Por último, se ensayaron en campo los efectos de estos acaricidas sobre una población silvestre de *T. pyri* en un viñedo de La Rioja.

El resultado de este estudio, a las concentraciones ensayadas en laboratorio, ha dejado patente un elevado efecto total sobre *T. pyri* en prácticamente todas las vías de exposición experimentadas por parte de los acaricidas abamectina y fenpiroximato, consecuencia de la elevada mortalidad que provocaron ambos productos sobre las hembras adultas, y de la pérdida de fertilidad de sus huevos cuando entraron en contacto con superficies tratadas con abamectina. Por otro lado, el etoxazol y el spirodiclofén provocaron una mortalidad moderada sobre los adultos de *T. pyri*, pero un elevado efecto negativo sobre la eclosión de sus huevos puestos cuando entraron en contacto con residuos de ambos acaricidas. Por su parte, el acequinocyl y el spiromesifén presentaron un reducido efecto negativo sobre *T. pyri*. No se obtuvieron diferencias significativas entre las diferentes vías de exposición en ninguno de los parámetros valorados para spirodiclofén, spiromesifén y acequinocyl. Respecto a la actividad residual, transcurridos 14 días desde el tratamiento, los posibles residuos de estos acaricidas que permanecían en la planta no provocaron ningún efecto negativo sobre el fitoseido. En lo referente a la capacidad depredadora de las hembras de *T. pyri*, puede afirmarse que la aplicación directa de acequinocyl, bifenazato, spirodiclofén y spiromesifén disminuyó el consumo de presa. En cuanto al ensayo de campo, el acequinocyl, el bifenazato y el fenpiroximato no mostraron indicios que hagan desaconsejable su uso conjunto con *T. pyri*, mientras que la abamectina, el bifenazato y el spiromesifén, mostraron un efecto moderado sobre sus poblaciones, pero que no hace desaconsejable su uso como complemento al control biológico.

En cuanto a la compatibilidad de *B. bassiana* con los acaricidas, en primer lugar se determinó la LC_{30} del hongo y de la abamectina, el etoxazol, el fenpiroximato, el spirodiclofén y el spiromesifén sobre huevos y larvas de *T. urticae*. Una vez calculadas, todos ellos se aplicaron sobre el ácaro de forma aislada y en combinación con el hongo, con el fin analizar si se producía efecto sinérgico, aditivo o antagonista. Cuando se obtuvo efecto antagonista, se comprobó si el acaricida podía afectar al crecimiento micelial o a la germinación de las conidias del hongo.

Se encontró efecto aditivo cuando el hongo se aplicó conjuntamente con spirodiclofén y con spiromesifén, efecto sinérgico en el caso de su combinación con abamectina, y efecto antagónico cuando se mezcló con etoxazol y con fenpiroximato, lo cual desaconsejaría su utilización conjunta pese a no haberse visto afectada la germinación de conidias ni el crecimiento micelial, en el caso del etoxazol, aunque sí en el caso del fenpiroximato.

Capítulo I

Introducción general

- **Gestión Integrada de Plagas**
- **Productos fitosanitarios**
- **Ácaros de interés agrícola**
- **Microorganismos de control biológico**

Capítulo I. Introducción general

La Directiva 2009/128/CE y el Real Decreto 1311/2012 de uso sostenible de productos fitosanitarios, establecen que, a partir de enero de 2014, el sistema agrario español debe producir únicamente bajo criterio de **Gestión Integrada de Plagas (GIP)**, con el fin de asegurar una agricultura social y medioambientalmente sostenible que garantice el abastecimiento de productos frescos, suficientes y saludables sin comprometer el medio ambiente. Para conseguir esto, entre otras cosas, es imprescindible una correcta integración entre el control químico y el biológico mediante el uso de prácticas agrícolas y productos fitosanitarios que preserven la armonía necesaria para el desarrollo adecuado del control biológico de los enemigos naturales de las plagas.

Gestión Integrada de Plagas

La protección de los cultivos frente a plagas y enfermedades es uno de los principales problemas a los que tiene que enfrentarse el ser humano en el mantenimiento de los agroecosistemas (Altieri, 1999).

La lucha contra las plagas ha ido evolucionando a medida que han ido aumentando las exigencias económicas, ecológicas y toxicológicas demandadas por el ser humano. En los inicios del siglo XX, se empleaban cinco métodos para el control de plagas agrícolas: control biológico, control mecánico y físico, prácticas culturales, control químico, y uso de variedades resistentes (Flint & Van den Bosch, 1981). Por aquel entonces, era necesario combinar varios de estos métodos para poder mantener las poblaciones plaga en unos niveles aceptables, puesto que los productos químicos disponibles eran muy limitados y se restringían a compuestos simples, como arsénico, antimonio, selenio, azufre, talio, zinc, cobre y alcaloides derivados de plantas (Granados, 2001).

La aparición del DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano) y de otros insecticidas orgánicos de síntesis, debido a su bajo precio, su fácil accesibilidad y a su elevada letalidad inicial, cambiaron la forma de entender el control de plagas, pasándose de asumir ciertos niveles de individuos perjudiciales a buscar su completa erradicación (Flint & Van den Bosch, 1981). Esto desembocó en el abandono de las prácticas tradicionales de control de plagas, que fueron sustituidas por el control químico, dando lugar a lo que se conoce como **lucha química indiscriminada,** que consistía, básicamente, en que el agricultor aplicaba los plaguicidas en base a un calendario preestablecido, independientemente de que existiese o no un riesgo real para el cultivo.

Posteriormente, se evolucionó a la **lucha química aconsejada,** en la que la recomendación de realizar o no los tratamientos llegaba a los agricultores por medio de estaciones de aviso que emitían alertas para una región geográfica determinada, pero sin tener en cuenta las condiciones particulares de cada parcela y, por tanto, la necesidad real de realizar o no el tratamiento. Para evitar este inconveniente, el paso siguiente fue la **lucha dirigida,** en la que un agricultor con la formación adecuada, y en ocasiones con ayuda de un técnico, valoraba las necesidades reales de realizar un tratamiento tomando como criterio umbrales de tolerancia basados en un mayor conocimiento de la biología y la ecología de las plagas a controlar. El concepto que dio lugar al paso siguiente a esta lucha dirigida fue el término **Manejo Integrada de Plagas (IPM)** definido por la *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), en 1967, como "Un sistema de manejo de las plagas que, en el contexto del ambiente en que se encuentran y de la dinámica de sus poblaciones, utiliza todas las técnicas adecuadas y apropiadas de métodos de control en la forma más compatible para mantener esas poblaciones a niveles por debajo de los cuales no causan daños económicos".

En 1977, Steiner amplió este concepto en el documento conocido como la Declaración de Ovronnaz, dando origen al término **Producción Integrada**, incorporando el manejo racional durante toda la gestión del cultivo de los restantes compontes del agroecosistema, como pueden ser el clima, el suelo, la planta, la fertilización, etc. Con esto se consigue integrar nuevamente los cinco enfoques del control de plagas de uso común, establecidos por Flint & Van den Bosch en 1981, con el fin de reducir al máximo los métodos de control químico, logrando así la solución más favorable desde el punto de vista económico, toxicológico y ambiental.

El IPM requiere, entre otras cosas, conocer las interacciones que se producen entre los plaguicidas y los enemigos naturales con el fin de armonizar la lucha química y biológica, logrando una producción agrícola más sostenible desde el punto de vista ecológico y económico.

En ocasiones, estas interacciones hacen que los plaguicidas afecten a las relaciones tróficas que se producen entre los artrópodos beneficiosos y los artrópodos plaga, lo que provoca que el fitófago alcance niveles más dañinos que los existentes antes del tratamiento (Croft, 1990). Por esta razón, se están incorporando en el mercado nuevas materias activas, más selectivas y menos perjudiciales para los organismos beneficiosos, dando lugar a lo que se conoce como **plaguicidas de nueva generación**.

Esta selectividad puede ser fisiológica, sintetizando compuestos no tóxicos para las especies no objetivo, o ecológica, cuando se logra, entre otras formas, por medio de la temporalidad, la formulación, el modo de aplicación o la distribución espacial del tratamiento (Croft, 1990). Generalmente, la elección del momento más idóneo para la aplicación suele ser la forma más efectiva de conseguir que un plaguicida sea selectivo desde el punto de vista ecológico (Newsom *et al.*, 1976). Por esta razón, es importante contar con la mayor cantidad de información posible sobre la plaga y el cultivo, para poder determinar con mayor eficacia en qué momento y de qué manera se va a realizar el tratamiento, con el fin de obtener los resultados deseados.

Productos fitosanitarios

Evolución y estado actual de los productos fitosanitarios en la agricultura

La agricultura, desde sus inicios, siempre se ha visto acompañada de organismos potencialmente capaces de constituirse como plaga. El abandono del cultivo de variedades rústicas por otras con características más apreciadas, pero peor adaptadas al medio, el abuso de abonos nitrogenados que incrementan la producción, pero que hacen la planta más susceptible a las posibles agresiones, la facilidad para el tráfico de mercancías y personas, así como de todos los organismos vivos asociados a ellas, seguido por la tendencia al monocultivo, agravan enormemente los problemas derivados de las plagas, lo que ha generado la necesidad de implementar medios más agresivos para su combate (Coscollá, 2004).

Cómo ya se ha mencionado anteriormente, a partir de la década de los 40 del pasado siglo, se generalizó la lucha química para combatir las plagas mediante el uso masivo de plaguicidas químicos (Pimentel, 1985). El modo de acción de estos productos ha ido cambiando con el tiempo. Las primeras materias activas no eran selectivas y, además, se buscaba que tuvieran alta persistencia. Los problemas acarreados por este tipo de compuestos, encaminaron los criterios de selección hacia la búsqueda de materias activas cada vez más selectivas, menos persistentes y sin efecto bioacumulativo. En los años 40, se buscaba que los productos fuesen física y químicamente estables para aumentar su eficacia, por lo que estaba extendido el uso de los organoclorados. En los años 50, se tomó conciencia del riesgo que suponía que los compuestos fuesen tan estables y de que los organoclorados tuviesen capacidad bioacumulativa, lo que hizo que los organofosforados se abriesen paso. En 1962, “La primavera silenciosa”, de Rachel Carson, generó debate en torno a la peligrosidad de los plaguicidas, especialmente de los organoclorados, por lo que en los años 60 lo habitual era el uso de organofosforados y carbamatos. Los carbamatos tienen menos persistencia ambiental, son relativamente selectivos y, además, pueden excretarse a través de la orina y las heces, por lo que no se acumulan en el organismo. En los años 70, se extendió el uso de los organofosforados, los carbamatos y los piretroides. Estos últimos tienen la ventaja, considerados de forma conjunta, de ser algo selectivos, por lo que, en términos generales, su toxicidad es menor para los organismos que no son objetivo del tratamiento. Por otro lado, tienen poca tendencia a acumularse en los tejidos, se degradan rápidamente en el medio y, además, los de síntesis química tienen la ventaja, frente a las piretrinas extraídas de la flor del crisantemo, de ser más eficaces y económicos. Finalmente, durante los años 70, 80 y 90, como consecuencia de la pérdida de eficacia y de los efectos nocivos de muchas materias activas, se

incorporó el grupo de los plaguicidas fisiológicos, también conocidos como de nueva generación (Coscollá, 2004).

Estos plaguicidas afectan a diferentes parámetros fisiológicos que permiten el control de la plaga sin implicar, necesariamente, la muerte inmediata de los organismos diana.

Aunque la tendencia en el uso de los agroquímicos va encaminada a descartar a todos aquéllos que sean más nocivos para las personas, la realidad es que ciertos organoclorados, como el endosulfán, aún son ampliamente usados en algunos países (Colborn, 1997), pese a que actúa como disruptor endocrino, es altamente tóxico y bioacumulativo y su uso ha sido prohibido en la mayor parte del mundo.

A pesar de que desde los años 40 se ha ido incrementando y generalizando el uso de plaguicidas químicos, se estima que, a nivel mundial, la incidencia negativa de las plagas de artrópodos se ha multiplicado por dos, mientras que el uso de plaguicidas se ha multiplicado por diez en el mismo periodo (Pimentel, 1985). Esta generalización del uso de plaguicidas conlleva un incremento de costes económicos en el producto, derivados del coste del plaguicida y de su aplicación. Además, también implica gastos sociales como consecuencia de las acciones formativas asociadas a su aplicación, de los costes sanitarios y medioambientales que se producen como consecuencia de accidentes, y de los costes de planes de vigilancia y experimentación para garantizar su correcto uso, entre otros (Coscollá, 2004).

El consumo de productos fitosanitarios constituye uno de los insumos económicamente más significativo del sector agrario con un notable efecto en el cálculo de los costes de producción, ya que en algunos cultivos su importe llega a ser muy importante (Cano-Manuel, 1979).

Según la Asociación Española para la Protección de las Plantas (AEPLA), actualmente la venta de los productos fitosanitarios puede considerarse como un mercado relativamente estable, especialmente si se compara con otros sectores de la industria química, aunque su demanda es estacional y está fuertemente condicionada por la meteorología. En España, según datos del informe del 2010 de la AEPLA (Figura 1) la comercialización de productos fitosanitarios mueve cifras del orden de 500 a 650 millones de euros al año, siendo el 2003 un año record como consecuencia de una climatología propicia para el desarrollo de las plagas. Algo parecido recoge la memoria de la AEPLA del 2013, puesto que en ese año se experimentó un crecimiento del 13,5% en el mercado como consecuencia de que 2012 fue un año seco e incierto económicamente, mientras que 2013 tuvo lluvias abundantes y oportunas, dando como resultado expectativas razonables a los agricultores. Esto da idea de lo condicionado que está este mercado por la climatología, pese a ser relativamente estable.

A nivel europeo, la situación no es muy diferente. Según la *European Crop Protection Association* (ECPA), este mercado mueve en Europa, en torno a los 6.000 - 7.000 millones de euros anuales (Figura 2).

Por su parte, y según datos de la AEPLA, a nivel mundial, las ventas de productos fitosanitarios aumentaron de los 27.830 millones de $, en 2010, a los 47.255, en 2012, con un incremento prácticamente sostenido en el tiempo (Figura 3).

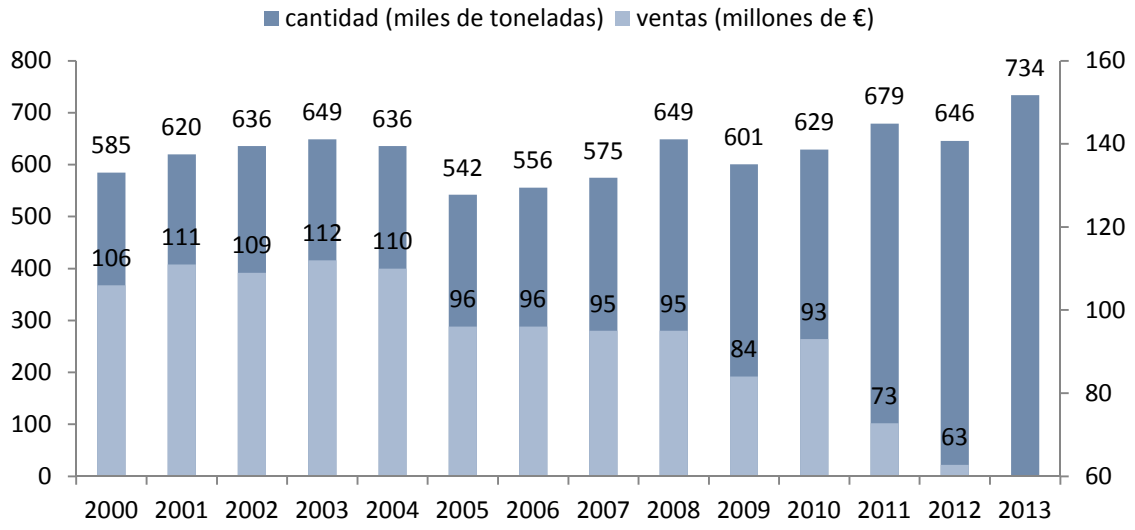

Figura 1. Evolución de las cifras del mercado español de productos fitosanitarios 2000-2013 (Fuente: AEPLA, 2010 y 2013; MAGRAMA, 2014).

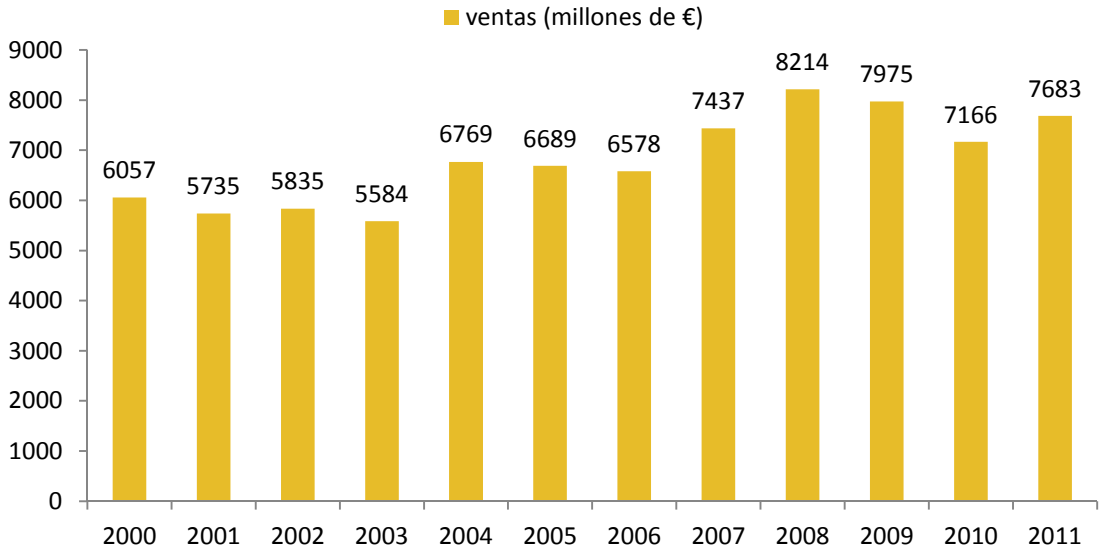

Figura 2. Evolución de las cifras del mercado europeo (EU 25+EFTA, 2000-2009 y EU 27+EFTA, 2010-2011) de productos fitosanitarios (Fuente: AEPLA, 2010 y 2013; ECPA, 2012).

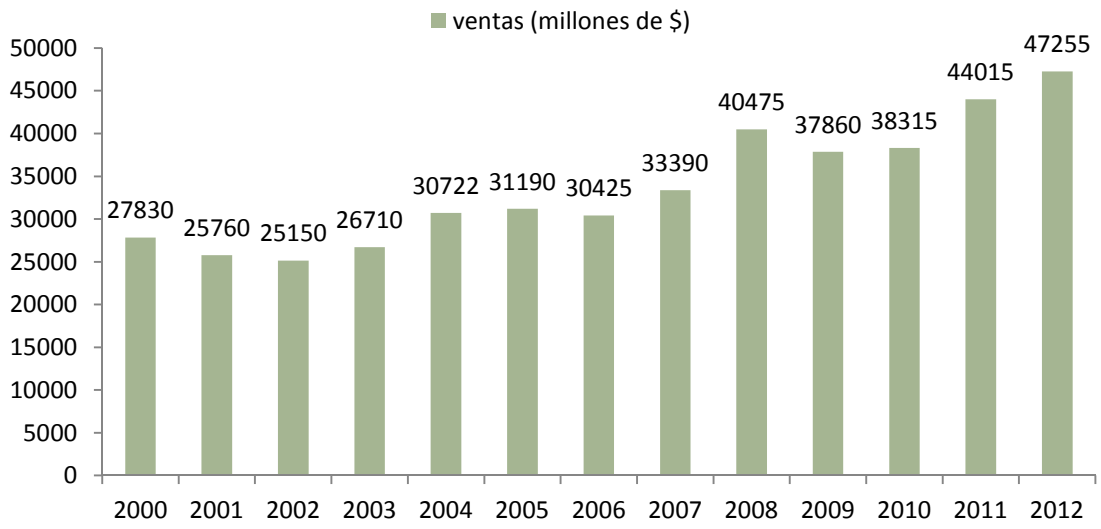

Figura 3. Evolución de las cifras de mercado mundial de productos fitosanitarios 2000-2012 (Fuente: AEPLA, 2010 y 2013).

La existencia de consumidores y agricultores cada vez más comprometidos con la sostenibilidad económica, social y medioambiental de los sistemas de producción, ha traído consigo un incremento progresivo de la superficie del territorio nacional destinada a la producción integrada, que ha pasado de 186.000 ha, en 2002, a 660.000 ha, en 2010, a 831.702 ha, en 2013 y a 832.991 en 2014 (Figura 4). Esta tendencia al alza, permite que la GIP se lleve a cabo con mayor eficiencia.

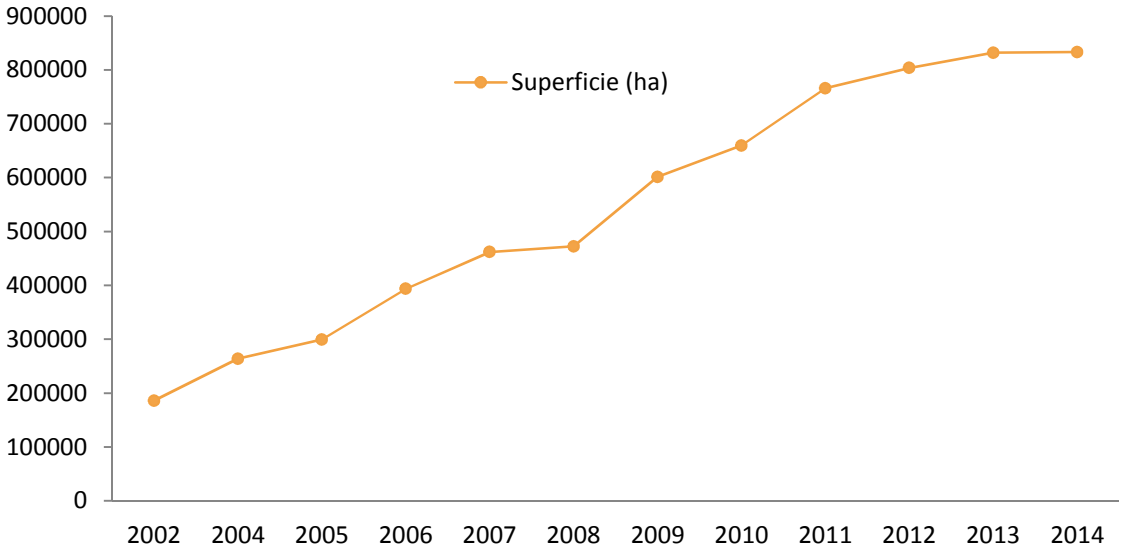

Figura 4. Evolución de la superficie cultivada de acuerdo al sistema de Producción Integrada en España 2002-2014 (Fuente MAGRAMA, 2014).

Materias activas

Puesto que todos los países no tienen la misma permisividad a la hora de autorizar y prohibir materias activas, en 1989 se puso en marcha el convenio de Rotterdam por parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y del programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). El convenio entró en vigor el 24 de febrero de 2004 para establecer una obligación jurídicamente vinculante que permitiese a los países decidir qué productos químicos potencialmente peligrosos desean comercializar.

Todas las materias activas de este estudio aparecen, actualmente, incluidas en la lista comunitaria del 17 de marzo de 2015, aunque algunas lo hayan sido recientemente, como es el caso del acequinocyl, cuyo uso todavía no está autorizado en España. Las materias activas utilizadas han sido elegidas por tratarse de acaricidas de nueva generación, con nuevos modo de acción, siendo *a priori*, más selectivos.

En la tabla 1, figuran estas materias activas, junto con su modo de acción, su objetivo fisiológico y el grupo en el que han sido clasificados en base a criterios del *Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC). Con esta clasificación, el IRAC pretende brindar una herramienta a cualquier persona o entidad que quiera seleccionar acaricidas e insecticidas teniendo en consideración la rotación de materias activas y modos de acción, con el fin de evitar la aparición de resistencias, incluida la resistencia cruzada.

Materia activa	Modo de acción	Grupo	Objetivo fisiológico
Abamectina	Activador de los canales de cloro	6	Nervios y músculos
Acequinocyl	Inhibidor transporte de electrones (III)	20B	Respiración
Bifenazato	Desconocido	UN	Desconocido
Etoxazol	Desconocido (regulador desarrollo ácaros)	10B	Crecimiento y desarrollo
Fenpiroximato	Inhibidor transporte de electrones (I)	21A	Respiración
Spirodiclofén	Inhibidor síntesis lípidos	23	Crecimiento y desarrollo
Spiromesifén	Inhibidor síntesis lípidos	23	Crecimiento y desarrollo

Tabla 1. Modo de acción, grupo y objetivo fisiológico de las materias activas utilizadas en base a criterios del *Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC).

En la tabla 2, se muestra la situación legal en la que se encuentran las materias activas utilizadas en el presente trabajo y en las tablas 3 y 4, los productos fitosanitarios que figuran en el registro del MAGRAMA y formulados a base de ellas, incluidos los usos autorizados relacionados con ácaros en diferentes cultivos.

Sustancia activa	Función	Directiva	Inclusión	Caducidad	Principios uniformes	Condiciones Anexo A
Abamectina	AC/IN	2008/107/CE	01/05/2009	30/04/2019	30/04/2013	–
Bifenazato* prórroga	IN/AC	2005/58/CE 1197/2012	1/12/2005	30/11/2015 31/07/2017	31/05/2007	–
Acequinocyl*	AC	496/2014	01/09/2014	31/08/2024	29/02/2016	–
Etoxazol* prórroga	AC	2005/35/CE 1197/2012	01/06/2005	31/05/2015 31/07/2017	30/11/2006	–
Fenpiroximato	AC	2008/107/CE	01/05/2009	30/04/2019	30/04/2013	No autorizado en cultivos altos con riesgo de deriva. SCFCAH (2-3/7/09): A revisar.
Spirodiclofén *	IN/AC	2010/25/UE	01/08/2010	31/07/2020	31/01/2012	–
Spiromesifén*	IN/AC	375/2013	01/10/2013	30/09/2023	31/03/2015	–
Beauveria bassiana Cepa: ATCC 74040 Cepa: GHA	IN	2008/113/CE	01/05/2009	30/04/2019	30/04/2014	–

Tabla 2. Situación de las materias activas utilizadas en la lista comunitaria del 17 de marzo de 2015 de sustancias activas incluidas, excluidas y en evaluación incluidas en el anexo I de la Directiva 91/414/CEE (434) trasladadas al anexo I del Reglamento (CE) Nº 1107/2009.*Sustancia activa nueva, (IN) insecticida, (AC) acaricida.

Sustancia activa	Nº registro	Nombre comercial	Titular	Formulación
	24875	Axoris insecticida polivalente AL	Compo Iberia, S.L.	Abamectina 0,0015% + tiametoxam 0,01% [AL] P/V [4]
	24878	Fazilo	Compo Iberia, S.L.	Abamectina 0,0015% + piretrinas 0,02% [AL] P/V [4]
	23042	Dauparex	Adama agricultura España, S.A.	Abamectina 1,8% [EC] P/V [1, 3, 4, 6, 8]
	23253	Cal-ex	Cheminova Agro, S.A.	
	25120	Agripa	Fitoval, S.L.	
	23242	Tina	Industrial química key, S.A.	
	21854	Apache	Industrias Afrasa, S.A.	
	24574	Laotta	Lainco, S.A.	
	21381	Bermectine	Probelte, S.A.	
Abamectina	16784	Vertimec	Syngenta España, S.A.	
	22649	Spidermec	Syngenta España, S.A.	
	24269	Abasi	Syngenta España, S.A.	
	25016	Dynamec	Syngenta España, S.A.	
	22547	Vamectin, 1,8 EC	Syngenta España, S.A.	
	22981	Marisol	Rotam Agrochemical Europe Limited	Abamectina 1,8% [EC] P/V (ESP.) [1, 3, 4, 6, 8]
	23574	Romectin	Rotam Agrochemical Europe Limited	
	24343	Safran	Rotam Agrochemical Europe Limited	
	24978	Cal-ex avance ew	Cheminova Agro, S.A.	Abamectina 1,8% [EW] P/V [4, 8]
	25016	Dynamec	Syngenta España, S.A.	
	24071	Abamectina 3,37 Lainco	Lainco, S.A.	Abamectina 3,37% [EC] P/V [1, 4, 6, 8]
	22930	Bermectine plus	Probelte, S.A.	

Tabla 3. Productos fitosanitarios que figuran en el registro del MAGRAMA y que contienen las materias activas utilizadas en el presente estudio. Usos autorizados relacionados con ácaros en diferentes cultivos: 1 (ácaro de las maravillas), 2 (ácaro del bronceado), 3 (ácaro rojo), 4 (ácaros), 5 (ácaros tetraníquidos), 6 (araña roja), 7 (araña blanca), 8 (erinosis), 9 (eriófidos). Datos a fecha del 18 de marzo de 2015.

Sustancia activa	Nº registro	Nombre comercial	Titular	Formulación
Acequinocyl				
Beauveria bassiana	20111	Naturalis-L	Agrichem, S.A.	*Beauveria bassiana* 2,3% (2,3 x 10^9 conidias viables/ml) [OD] P/V [6]
Cepa: ATCC 74040	22648	Botanigard	Futureco Bioscience, S.A.U.	*Beauveria bassiana* 10,6% (2,11 x 10^{10} conidias/ml) [SC] P/V
Cepa: GHA	23276	Bassi WP	Comercial química Massó, S.A.	*Beauveria bassiana* 22% (4,4 x 10^{10} conidias/g) [WP] P/P
Bifenazato	24243	Floramite 240 SC	Crompton (Uniroyal Chemical) Registrations LTD.	Bifenazato 24% [SC] P/V[4]
Etoxazol	23433	Borneo	Kenogard, S. A.	Etoxazol 11% [SC] P/V [5]
	25114	Doryoku	Kenogard, S. A.	
Fenpiroximato	25570	Flower tripler LU	Productos Flower, S.A.	Cipermetrin 0,0075% + fenpiroximato 0,009% + tebuconazol 0,02% [AL] P/V [4]
	25576	Triple acción Sipcam jardín	Sipcam Jardín, S.L.	
Fenpiroximato	19241	Flash	Sipcam Inagra, S.A.	Fenpiroximato 5% [SC] P/V [5, 6, 8]
	24960	Mitacid plus	Nisso Chemical Europe GMBH	Fenpiroximato 6,24% + hexitiazox 3,12% [SC] P/V [5]
	24890	Award	Syngenta España, S.A.	
Spirodiclofén	23972	Envidor	Bayer Crop Science, S.L.	Spirodiclofén 24% [SC] P/V [5,9]
Spiromesifén	24010	Oberon	Bayer Crop Science, S.L.	Spiromesifén 24% [SC] P/V [2, 6, 7]
	24011	Oberon N	Bayer Crop Science, S.L.	

Tabla 4. Productos fitosanitarios que figuran en el registro del MAGRAMA y que contienen las materias activas utilizadas en el presente estudio. Usos autorizados relacionados con ácaros en diferentes cultivos: 1 (ácaro de las maravillas), 2 (ácaro del bronceado), 3 (ácaro rojo), 4 (ácaros), 5 (ácaros tetraníquidos), 6 (araña roja), 7 (araña blanca), 8 (erinosis), 9 (eriófidos). Datos a fecha del 18 de marzo de 2015 (continuación).

En 2013, el mercado mundial de insecticidas y acaricidas (excluyendo los fumigantes biocidas) alcanzó los 17.016 millones de dólares, de los cuales el 85% provinieron de productos cuyo modo de acción estaba relacionado con el sistema nervioso o muscular. Este hecho deja muy clara la preferencia de los usuarios finales a la hora de escoger un producto fitosanitario, puesto que los acaricidas que tenían como modo de acción la regulación del crecimiento, que eran los segundos predilectos, solo supusieron un 9%, seguidos de los que tenían como diana el metabolismo energético, con un 4% (Figura 5). La facilidad con la que se amplifican los efectos sobre el sistema nervioso y muscular convierten a estas dianas en las preferidas a la hora de buscar nuevas materias activas, pero la necesidad de evitar la aparición de resistencias debe cambiar esa tendencia, proporcionando a los usuarios nuevas herramientas eficaces con las que controlar las plagas.

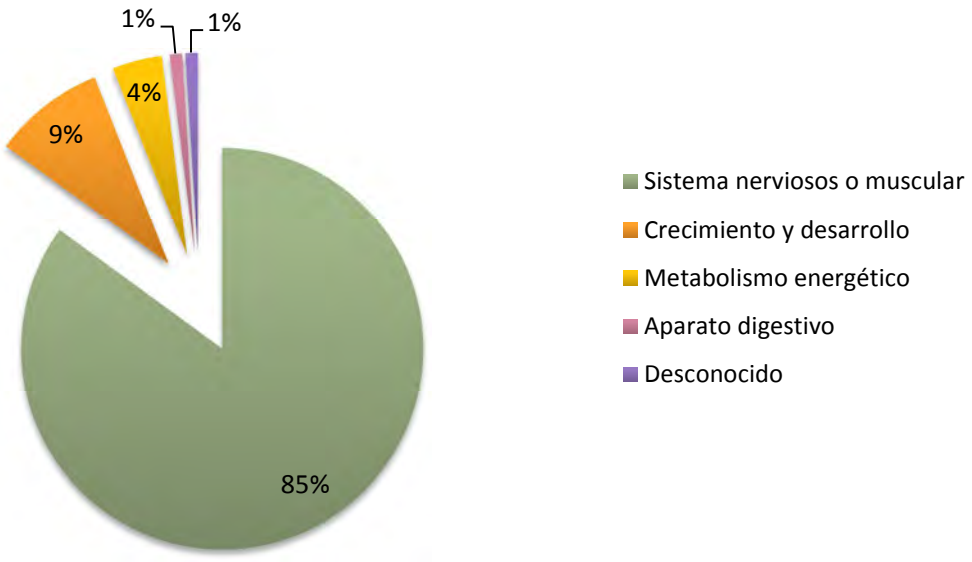

Figura 5. Distribución de las ventas mundiales de insecticidas y acaricidas en 2013 (excluyendo los fumigantes) en base a su modo de acción (Sparks & Nauen, 2015).

La Organización Internacional para la Lucha Biológica e Integrada contra las Plantas y los Animales dañinos (IOBC/WPRS) sugiere que el mejor bioensayo para comprobar el efecto de un plaguicida sobre los organismos beneficiosos es el "*worse cause situation*" (peor situación posible) (Sterk *et al.*, 1999). En cualquier caso, todas las vías de exposición deben ser comprobadas con el fin de garantizar que, efectivamente, estos compuestos son selectivos y solo actúan sobre los organismos diana (Banken & Stark, 1998; Pozzebon *et al.*, 2011) y que, por tanto, pueden ser incorporados con seguridad en programas de IPM.

Abamectina

La abamectina es uno de los acaricidas más ampliamente utilizados en el mundo para el control de *Tetranychus urticae* (Moraes & Flechtmann, 2008). Este acaricida está dentro del grupo de las lactonas macrocíclicas, derivadas del metabolismo secundario de algunos microorganismos del suelo (Dekeyser, 2005; van Leeuwen *et al.*, 2010).

Pertenece al grupo 6 (Activadores de los canales de cloro) según la clasificación de materias activas por su modo de acción del IRAC.

De los seis grupos representados en este estudio, este es el de mayor importancia económica como demuestra el hecho de que en las ventas a nivel mundial registradas en 2013, supuso 1.261 millones de dólares (Sparks & Nauen, 2015).

La abamectina está compuesta por una mezcla de avermectina B1a (>80%) y avermectina B1b (<20%) (Figura 6), procedentes de la fermentación del actinomiceto terrestre *Streptomyces avermitilis*.

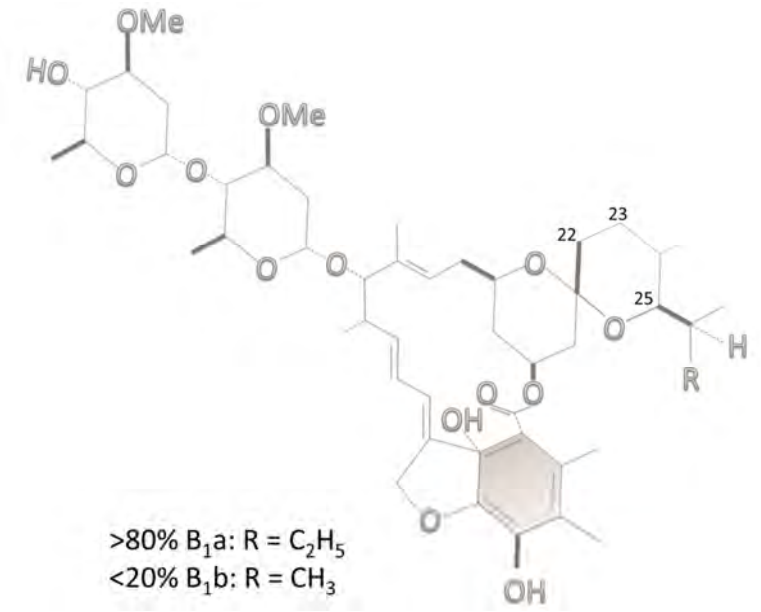

Figura 6. Estructura química de la abamectina (Krämer *et al.*, 2007).

En el año 2007, se comercializaban a nivel mundial tres compuestos del grupo 6 (abamectina, emamectina benzoato y milbemectina). En 2015, han aparecido 4 compuestos clasificados dentro de este grupo:

- Abamectina: metabolito secundario producido en fermentación líquida por *S. avermitilis*, actinomiceto aislado de suelos.
- Emamectina benzoato: compuesto obtenido por síntesis química a partir de abamectina.

- Milbemectina: metabolito secundario producido en fermentación por *Streptomyces hygroscopicus*. Fue descubierto en 1970 por Sankyo y comercializado en 1991 (Aoki *et al.*, 1973; Mishima, 1983; Aoki *et al.*, 1994). La milbemectina actúa sobre todos los estados de desarrollo de una amplia variedad de ácaros fitófagos (Dekeyser, 2005), pero ha resultado ser muy tóxica para el ácaro depredador *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, 1957 (Acari: Phytoseiidae) (Kim & Yoo, 2002), aunque es moderadamente tóxica para mamíferos y poco persistente en el medio ambiente (Dekeyser, 2005).
- Lepimectina: compuesto obtenido a partir de metabolitos secundarios de *S. hygroscopicus*. Estudios actuales pretenden desarrollar mediante ingeniería genética, líneas de *S. hygroscopicus* productoras de 5-oxomibemicina que simplifiquen la producción de lepimectina (Huang *et al*., 2015).

De estos compuestos, en España está autorizada la aplicación de abamectina, emamectina y milbemectina.

La abamectina se introdujo en el mercado en 1985, contra ácaros fitófagos e insectos, aunque algunos derivados de la abamectina se utilizan como antiparasitarios en humanos para prevenir la oncocercosis producida por el nematodo *Onchocerca volvulus*, así como en animales de granja (como antihelmíntico) y en perros (para prevenir las infecciones por el gusano del corazón).

Modo de acción

Fritz *et al.* (1997) fueron los primeros en descubrir que la abamectina actuaba provocando la apertura de los canales de cloro en las células nerviosas de los organismos diana.

En invertebrados actúa sobre los receptores del glutamato de los canales de cloro y en vertebrados y algunos invertebrados en los receptores GABA (Dekeyser, 2005; Van Leeuwen *et al.*, 2010). El glutamato (activador) y el GABA (inhibidor), regulan la permeabilidad de los canales a los iones cloro. La abamectina potencia el efecto de estos neurotransmisores, incrementando el flujo de iones cloro al interior de las células nerviosas, lo que conlleva la disrupción del impulso nervioso y de la función celular. Esto provoca que el individuo quede rápidamente paralizado.

La abamectina es efectiva en los insectos y ácaros por contacto y por ingestión. En condiciones de campo, la ingestión es la principal vía de contacto. La mortalidad máxima de los individuos afectados sucede a los 2 a 4 días después de la exposición. La alimentación se detiene muy pronto, como consecuencia de una parálisis irreversible, lo que previene el daño en el cultivo por alimentación.

Actividad acaricida e insecticida

En 1981, Putter observó la actividad de la avermectina B1 frente a muchas plagas importantes. En 1984, Fisher relacionó su actividad acaricida e insecticida con su estructura química, mostrando que la abamectina tiene más efecto sobre el ácaro *T. urticae*, el lepidóptero *Heliothis virescens* y el nematodo *Meloidogyne incognita* que la milbemycina D, por lo que se creyó que la porción disacárida de la avermectina podía ser la responsable de su actividad plaguicida. Estudios posteriores, en los que se realizaron modificaciones de la molécula, demostraron, sin embargo, que el disacárido no es determinante para el efecto acaricida e insecticida. Más adelante, en 1997, Fisher elaboró un listado completo de insectos y ácaros contra los que se puede usar la abamectina.

Hablando en términos generales, su impacto en la comunidad de enemigos naturales es más baja que sobre las especies plaga. Esto es debido a su rápida degradación en superficie, que lo hace menos disponible para el depredador, y a que parte del compuesto se introduce en los tejidos de la hoja, lo cual, acompañado de una distribución translaminar, hace que esté presente en los tejidos parenquimáticos, siendo más disponible para el fitófago y menos para el enemigo natural.

Aplicación

La abamectina es usada a nivel mundial en diversos cultivos destacando los cítricos, los frutales, las hortalizas, el algodón y los ornamentales.

Se usa contra los ácaros fitófagos de mayor interés agronómico, algunos lepidópteros y dípteros minadores.

Su persistencia en campo es baja, debido a que la fotolisis en la superficie de las hojas es rápida, a su escasa movilidad en el suelo, y a su rápida degradación por parte de los microorganismos. Además, debido a su reducida movilidad en suelo, hay un riesgo muy reducido de lixiviación y de bioacumulación. No presenta fitotoxicidad, por lo que es seguro para el cultivo a proteger.

No tiene acción sistémica, lo que hace que no tenga efecto residual sobre los insectos picadores succionadores que alcanzan a los vasos conductores, mientras que sí tiene efecto por contacto.

En mamíferos, la neurotransmisión mediada por GABA solo ocurre en el sistema nervioso central y, puesto que las lactonas macrocíclicas no atraviesan la barrera hematoencefálica, poseen un amplio margen de seguridad. En cualquier caso, una sobredosis implicaría toxicidad en cualquier especie.

Acequinocyl

El acequinocyl pertenece al grupo 20B (Inhibidores del transporte electrónico mitocondrial: Inhibidores del complejo III (MET-III)), según la clasificación de materias activas por su modo de acción del IRAC. Es la única materia activa incluida en este grupo y sus ventas en el mercado mundial supusieron, en el año 2013, 43 millones de dólares (Sparks & Nauen, 2015).

El acequinocyl (Figura 7) fue descubierto por Du Pont en 1970 y nombrado como DPX-3792. Posteriormente, a principios de los años 90, fue registrado y comercializado por Agro-Kanesho (ADK-2023).

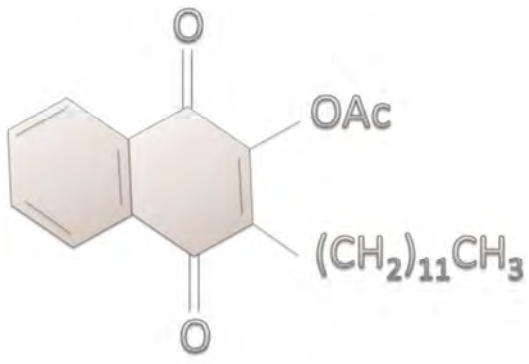

Figura 7. Estructura química del acequinocyl (Krämer *et al.*, 2007).

En los últimos años se han desarrollado nuevas moléculas insecticidas y acaricidas que actúan provocando una disrupción en el proceso respiratorio. Esta disrupción puede efectuarse interviniendo en el transporte mitocondrial de electrones (MET) o en la fosforilación oxidativa.

La cadena de MET consiste en una serie de 4 complejos de metaloproteínas (I-IV) insertadas en la membrana de la mitocondria que actúan secuencialmente transfiriendo electrones desde el NADH hasta una molécula de O_2. Hasta el momento, solo se han desarrollado materias activas que tienen como objetivo interferir en los complejos I y III (Dekeyser, 2005; Hollingworth, 2001).

El acequinocyl es un compuesto de toxicidad baja para mamíferos (LD_{50} para rata 5000 mg/kg) y corta persistencia medioambiental (DT_{50} 3 días) (Dekeyser, 2005).

Modo de acción

Los inhibidores del MET-III han sido explotados exitosamente como fungicidas. Este es el caso de las estrobilurinas, famoxadonas y fenamidonas, pero hasta hace unos años no se habían usado como acaricidas o insecticidas.

El acequinocyl es, realmente, un pro-insecticida bioactivado por desacilación del metabolito diacetilo, DHN (2 hidroxi-3-n-dodecil-1,4-naftoquinona) (Figura 8). Estudios de Koura *et al.* (1998) demostraron que el acequinocyl, vía DHN, activa el sitio de oxidación del ubiquinol (Q_O) del complejo III.

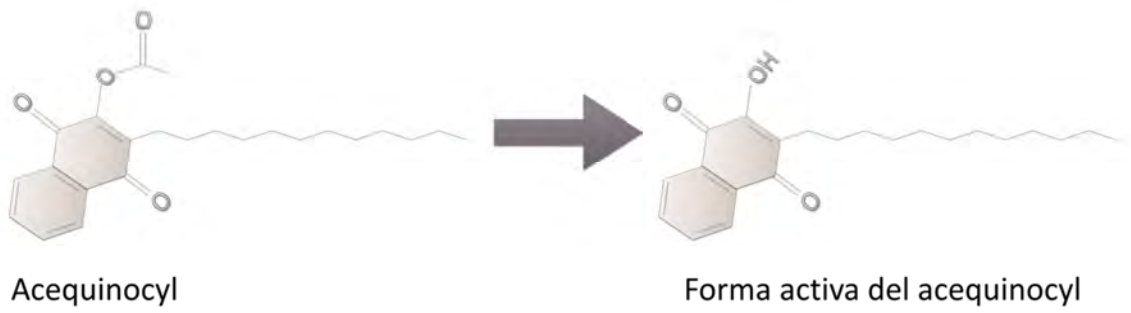

Figura 8. Transformación del pro-insecticida acequinocyl en una forma activa (Krämer *et al.*, 2007).

Aplicación

El acequinocyl es un acaricida de amplio espectro cuyo uso estaba indicado para frutales, cítricos, hortalizas y ornamentales.

Bifenazato

Pertenece al grupo de compuestos de modo de acción desconocido o no específico, según la clasificación de materias activas por su modo de acción del IRAC.

El bifenazato (Figura 9) es un compuesto descubierto en 1990 por Uniroyal Chemical (Crompton) que inició su comercialización en 1999 y que alcanzó por sí solo, en 2013, los 42 millones de dólares en ventas a nivel mundial (Sparks & Nauen, 2014).

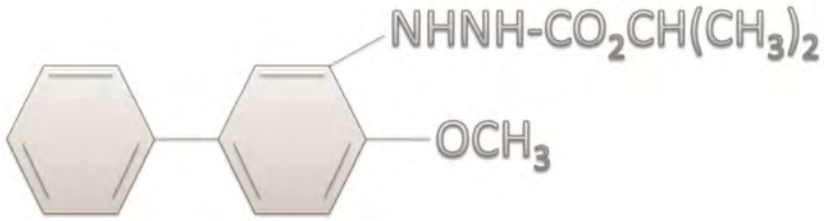

Figura 9. Estructura química del bifenazato (Krämer *et al.*, 2007)

Es un compuesto de toxicidad baja para mamíferos (LD_{50} 5000 mg/kg) y corta persistencia medioambiental (DT_{50} <1 día) (Dekeyser, 2005).

Modo de acción

Inicialmente, el bifenazato fue considerado como un compuesto neurotóxico, pero estudios más recientes han demostrado que tiene como diana el complejo III (Van Nieuwenhuyse *et al.*, 2009).

Es un pro-acaricida que se bioactiva mediante la hidrólisis de enlaces éster, por lo que los compuestos organofosforados, que actúan como inhibidores de la actividad hidrolítica esterasa, pueden ser antagonistas de este acaricida (van Leeuwen *et al.*, 2007).

Aplicación

El bifenazato fue introducido en 1999 como un compuesto de baja toxicidad para los mamíferos y de corta persistencia ambiental; es por ello por lo que se clasifica como de riesgo reducido y posible alternativa a los organofosforados (Dekeyser, 2005; EPA, 2009).

Es un carbazato eficaz a la hora de hacer descender rápidamente las poblaciones de ácaros plaga, tanto en estado adulto como en estados y estadios inmaduros (Ochiai *et al.*, 2007).

Etoxazol

El etoxazol (Figura 10) pertenece al grupo 10 B (inhibidores del crecimiento de ácaros) según la clasificación de materias activas por su modo de acción del IRAC.

En este grupo únicamente se encuentra el etoxazol y supuso, en 2013, 44 millones de dólares en ventas a nivel mundial (Sparks & Nauen, 2015).

Fue sintetizado en 1994 por Ishida *et al.* (1994) y lanzado al mercado en 1998 en Japón por Yashima bajo el nombre comercial de Baroque®.

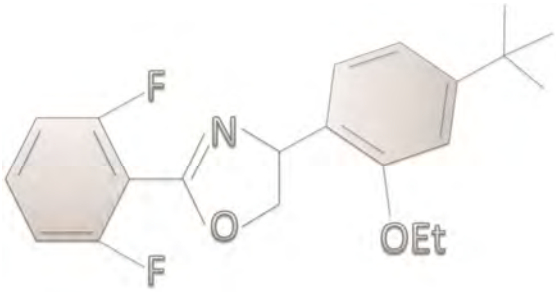

Figura 10. Estructura química del etoxazol (Krämer *et al.*, 2007)

Es un compuesto de toxicidad baja para mamíferos (LD_{50} 5000 mg/kg) y corta persistencia medioambiental (DT_{50} 19 días) (Dekeyser, 2005).

Modo de acción

Clasificado por el IRAC como inhibidor del crecimiento, es de modo de acción desconocido. En ensayos realizados sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidóptera: Noctuidae), se propuso la hipótesis de que fundamentaba su modo de acción en un efecto inhibidor de la síntesis de quitina, aunque son insuficientes los resultados experimentales que la apoyan (Nauen, 2006).

Aplicación

El etoxazol se considera efectivo, principalmente, frente a ácaros tetraníquidos, como los pertenecientes a los géneros *Panonychus* y *Tetranychus,* y sobre insectos, como pulgones, saltamontes y polillas, entre otros.

En la línea de los inhibidores de la síntesis de la quitina, actúa sobre huevos, larvas y ninfas, pero es menos eficaz sobre el estado adulto (Dekeyser, 2005).

Fenpiroximato

Pertenece al grupo 21A (Inhibidores del transporte electrónico mitocondrial: Inhibidores del complejo I (MET-I)), según la clasificación de materias activas por su modo de acción del IRAC.

Este grupo apareció en 1990 y está formado por 6 compuestos diferentes. Según los datos del 2013, este grupo generó unas ventas a nivel mundial, de 274 millones de dólares (Sparks & Nauen, 2015).

El fenpiroximato (Figura 11) es un acaricida de síntesis química descubierto por Nihon Noyaku en 1985 y comercializado por primera vez en 1991.

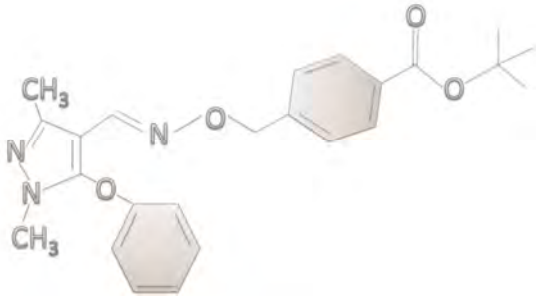

Figura 11. Estructura química del fenpiroximato (Krämer *et al.*, 2007).

Modo de acción

Los primeros inhibidores del complejo I del MET (grupo 21) fueron los rotenoides, que se descubrieron en 1848 y pertenecen al grupo 21B (Sparks & Nauen, 2014). Los rotenoides concretamente inhiben el transporte mitocondrial de electrones en la coenzima-NADH Q reductasa de dicho complejo (Motoba *et al.*, 1992).

Los acaricidas inhibidores del MET-I tienden a ser activos en todos los estados y estadios de desarrollo de los ácaros. Los inhibidores del MET-I actúan más rápido que los reguladores del crecimiento o los inhibidores de la síntesis de lípidos, sin embargo, también tienden a ser más activos contra especies acuáticas (peces y *Daphnia* LC_{50} en el rango de 0,001 a 0,1 m l^{-1}).

El fenpiroximato es un compuesto de toxicidad moderada para mamíferos (LD_{50} 480 mg/kg) y corta persistencia medioambiental (DT_{50} 26 días) (Dekeyser, 2005).

Aplicación

El fenpiroximato es activo contra una amplia variedad de especies de ácaros en diferentes cultivos, incluyendo cítricos, frutales, hortalizas, judías, vides, lúpulo y ornamentales.

Spiromesifén y spirodiclofén

El spiromesifén y el spirodiclofén pertenecen al grupo 23 (Reguladores del crecimiento, inhibidores de la síntesis de lípidos: inhibidores de la Acetyl-CoA carboxilasa), según la clasificación de materias activas por su modo de acción del IRAC.

Ambos compuestos están incluidos dentro de los ácidos tetrónicos, grupo que incluye 3 materias activas, la primera de las cuales apareció en 2002. A pesar de ser el grupo más reciente, es el segundo en ventas de los estudiados, alcanzando, en 2013, la cifra de 456 millones de dólares a nivel mundial (Sparks & Nauen, 2015).

El spirodiclofén y el spiromesifén (Figura 12) se obtuvieron por síntesis química. El proceso de descubrimiento de los ketoenoles comenzó con los ensayos para obtener un nuevo herbicida que resultó tener actividad acaricida.

El spirodiclofén fue descubierto por Bayer CropScience y comercializado en 2002 (Fischer *et al.*, 1993; Wachendorff *et al.*, 2000), y spiromesifén fue descubierto por la misma compañía a principios de los años noventa (Fischer *et al.*, 1993).

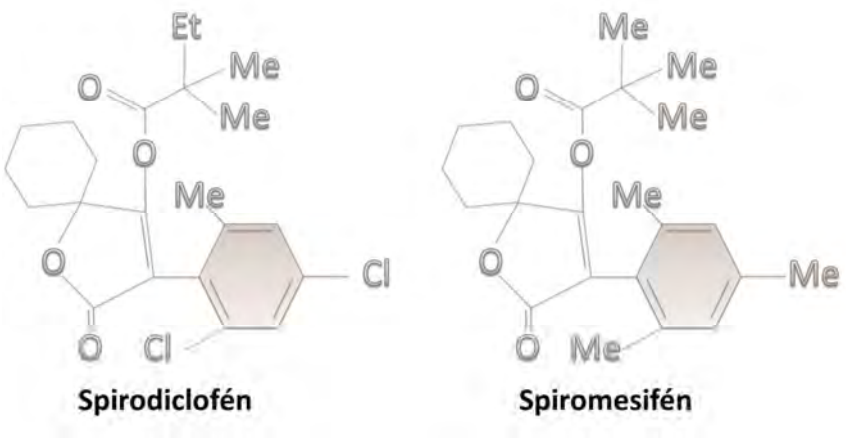

Figura 12. Estructura química del spirodiclofén y del spiromesifén (Krämer *et al.*, 2007).

Son compuestos de toxicidad baja para mamíferos (LD_{50} 2500 mg/kg) y corta persistencia medioambiental (DT_{50} 0,5 – 5,5 días y DT_{50} 5 días, respectivamente) (Dekeyser, 2005).

Modo de acción

Pertenecen al grupo de inhibidores de la síntesis de lípidos, por la inhibición de la Acetyl-CoA-carboxilasa, que juega un papel fundamental en el metabolismo y biosíntesis de los ácidos grasos en eucariotas y procariotas.

La Acetyl-CoA-carboxilasa cataliza la carboxilación del Acetyl-CoA en Malonil-CoA, que es un intermediario en la síntesis de novo de ácidos grasos primarios y sustratos en la formación de ácidos grasos de cadena larga y flavonoides en plantas.

La ventaja de estas materias activas con respecto a las anteriores existentes, es que su modo de acción es diferente a la observada hasta ahora, lo que las hace adecuadas para combatir plagas resistentes a los plaguicidas actuales y manejar el propio problema de la aparición de resistencias.

El spirodiclofén muestra actividad contra todos los estados de desarrollo, incluyendo huevos. Reduce la fecundidad de las hembras adultas, cuyos huevos, además, no son fértiles. En hembras tratadas de *T. urticae* se ha visto que el contenido lipídico es significativamente menor, lo que sugiere una interferencia en la biosíntesis de lípidos. Presenta buena compatibilidad con las plantas en condiciones de cultivo.

Por su parte, el spiromesifén es muy activo contra estadios juveniles. Afecta fuertemente a la fecundidad de ácaros y moscas blancas, debido al efecto transovárico. También tiene efecto ovicida.

Aplicación

El spirodiclofén y el spiromesifén actúan contra algunas de las plagas agrícolas más importantes que han desarrollado resistencias a muchas clases de insecticidas y acaricidas comerciales disponibles, como es el caso de las moscas blancas (por ejemplo *Bemisia tabaci*) y los ácaros fitófagos como *T. urticae*.

El spirodiclofén actúa como acaricida foliar no sistémico con una probada eficacia a largo plazo. Se ha desarrollado para ser usado contra ácaros de importancia agronómica en cultivos de frutales, cítricos, vid, almendro y nogal.

El spiromesifén actúa como insecticida-acaricida de contacto. Se ha desarrollado para su uso en hortalizas, frutales, algodón, maíz, judía, té y ornamentales. Se ha demostrado eficaz en el control de moscas blancas (*Bemisia* spp., *Trialeurodes* spp.) y ácaros (*Tetranychus* spp., tarsonémidos y eriófidos). También se ha visto que tienen una excelente eficacia sobre psílidos en tomate y pimiento.

Ácaros de interés agrícola

Los ácaros son un grupo de artrópodos relativamente homogéneo anatómicamente, pero muy diverso biológicamente, lo que les hace capaces de colonizar una importante diversidad de ambientes y de explotar gran cantidad de fuentes alimenticias.

Pueden encontrarse ácaros, prácticamente, en cualquier ambiente, tanto terrestre como acuático, siendo en su mayoría, organismos de vida libre con diferentes hábitos alimenticios (depredadores, fitófagos, saprófagos, polenófagos, micófagos o necrófagos).

Las plantas son un recurso nutritivo muy abundante en los agroecosistemas lo que permite que importantes comunidades de ácaros habiten en ellas, puesto que les proporcionan alimento y cobijo. Los ácaros que habitan las plantas cultivadas, en general, no son distintos a los que habitan las plantas silvestres, aunque su biodiversidad y composición específica sí que es diferente (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

En general, los ácaros que habitan sobre plantas cultivadas se pueden clasificar en tres grupos en función de sus hábitos alimenticios: fitófagos, depredadores, y saprófagos y micófagos (Garcia-Marí, 1994).

Uno de los aspectos en los que reside el interés agrícola de los ácaros, es el efecto dañino que pueden ocasionar, puesto que en el grupo de los fitófagos hay especies que pueden ser plagas, tanto de cultivos (siendo las familias más importantes Tetranychidae, Eriophyidae, Tenuipalpidae y Tarsonemidae, todas pertenecientes al orden Actinedida) como de productos almacenados o transformados (pertenecientes a especies dentro del orden Acaridida). Además, algunas especies pueden ser transmisoras de virosis y de otros patógenos en los cultivos. Por otro lado, también hay ácaros beneficiosos por su importante función como controladores biológicos, como es el caso de los depredadores (especialmente la familia Phytoseiidae), puesto que actúan regulando las poblaciones de artrópodos plaga.

En cuanto a los ácaros saprófagos y micófagos (principalmente pertenecientes a las familias Tydeidae, Tarsonemidae y Acaridae), aunque su interés agrícola es menor, puesto que se alimentan de restos de materia orgánica, micelio de hongos o melaza de homópteros, tienen la ventaja de poder servir de alimento alternativo para los depredadores, por lo que pueden contribuir al asentamiento de poblaciones de enemigos naturales.

En términos generales, de todas estas familias, las que tienen un mayor interés agrícola (sin restar la importancia que en diferentes ocasiones pueden tener las especies pertenecientes a familias diferentes) son Tetranychidae y Phytoseiidae. Por un lado, los tetraníquidos son causantes de plagas que originan pérdidas económicas en numerosos cultivos y, por otro, los fitoseidos debido a su capacidad depredadora, son útiles en el control biológico de plagas, especialmente de los propios ácaros tetraníquidos.

Los ácaros tetraníquidos

Taxonomía

Clasificación taxonómica extraída de la base de datos del proyecto Fauna Europaea (Bolland, 2013):

Reino Animalia

Subreino Eumetazoa

Filo Arthropoda

Subfilo Chelicerata

Clase Arachnida

Subclase Micrura

Infraclase Acari

Superorden Actinotrichida

Orden Prostigmata

Suborden Eleutherengona

Superfamilia Tetranychoidea

Familia Tetranychidae

Se han producido considerables progresos en la sistemática de la familia *Tetranychidae* desde que, en 1955, Prithchard y Baker publicaron su revisión taxonómica de esta familia (Gutiérrez, 1985). Actualmente, se considera que está compuesta por 63 géneros y alrededor de 900 especies válidas (Gutiérrez, 1985) (Figura 13). En cualquier caso, Baker estimó, en 1979, que, aproximadamente el 70% de la fauna mundial de tetraníquidos está aún por identificar, lo cual hace pensar que aún son muchas las especies que quedan por descubrir.

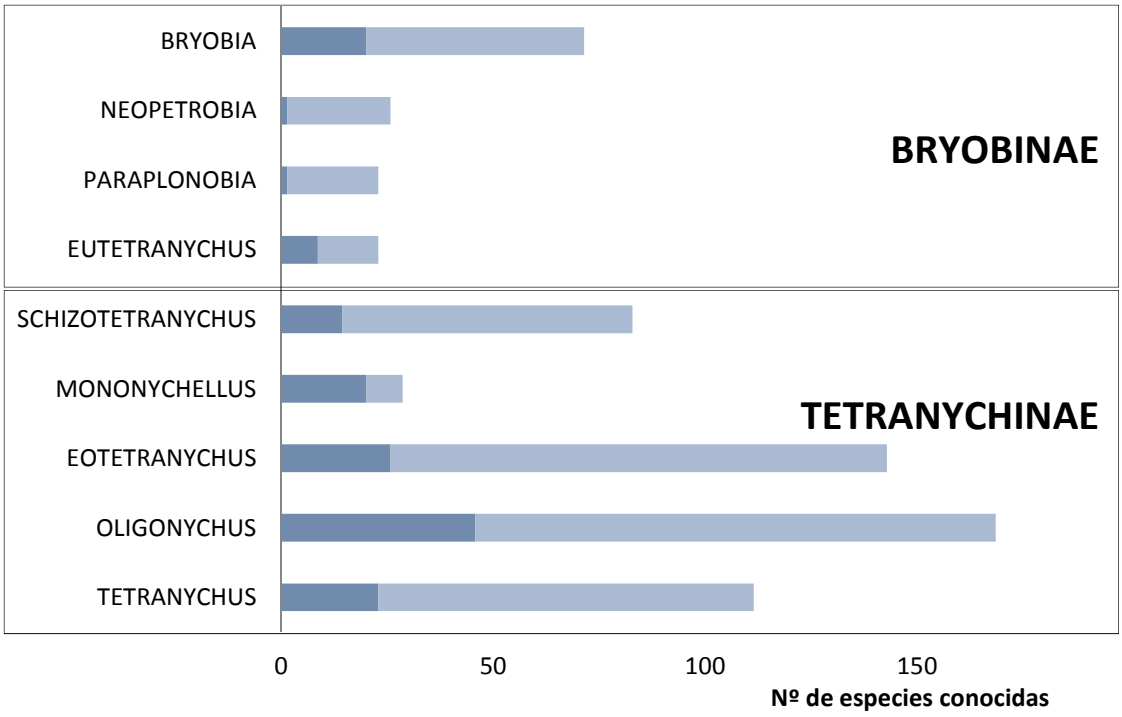

Figura 13. Número de especies descritas de los géneros de la familia Tetranychidae que contienen más de 20 taxones. El color más oscuro indica el número de especies descritas antes de 1955 (Gutiérrez, 1985).

Se considera que la familia Tetranychidae se divide en 2 subfamilias, 6 tribus y 63 géneros (Smith-Meyer, 1974; Jeppson *et al.*, 1975) (Figura 14).

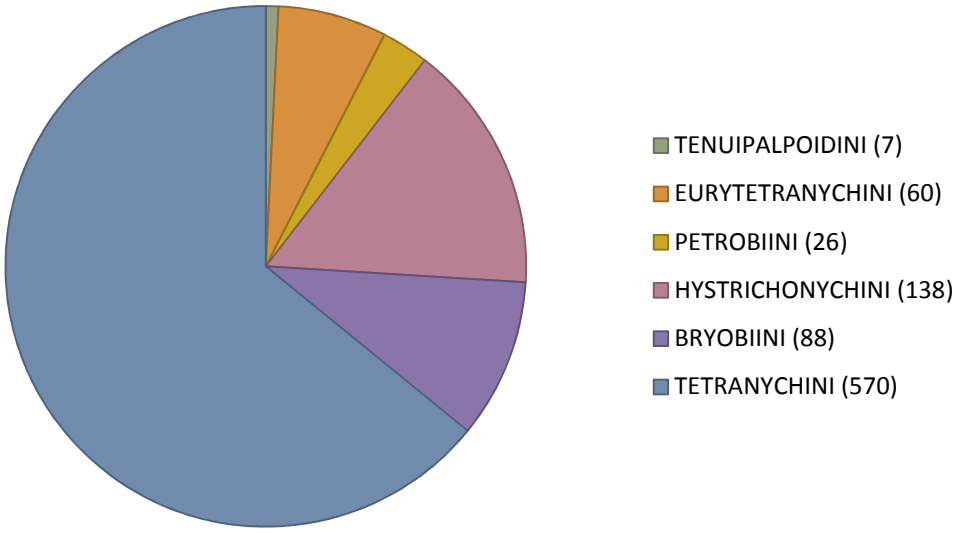

Figura 14. Distribución del número de especies en las 6 tribus de la familia Tetranychidae (Gutiérrez, 1985).

La clasificación de los tetraníquidos en las diferentes subfamilias, tribus y géneros se basa en las observaciones realizadas en hembras, principalmente en la morfología del empodio, la quetotaxia del dorso y la posición de la seta dúplex. Los dos primeros caracteres tienen una clara importancia filogenética. La forma del empodio (Figura 15) está relacionada con el estilo de vida del ácaro y la naturaleza de la superficie en la que vive. La forma, longitud y posición de las setas dorsales (Figura 16) indica cual es la relación del ácaro con los depredadores, especialmente en las especies que producen poca seda, puesto que estas setas les sirven como defensa frente a ellos. Saito y Takahashi (1980) descubrieron que existe una correlación entre la longitud de las setas y el tamaño de las redes de seda que *Schizotetranychus celarius* (Banks) confecciona en la superficie de las hojas sobre las que habita.

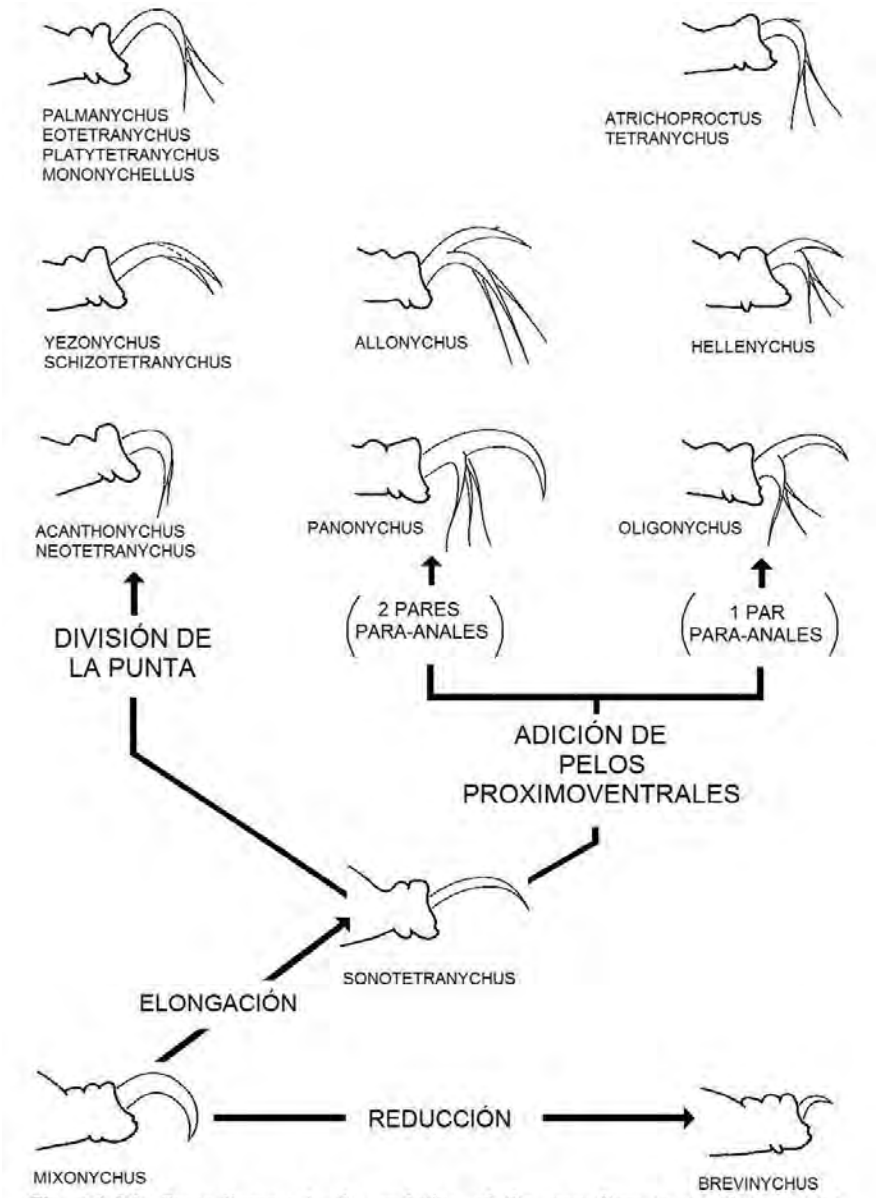

Figura 15. Diferencias entre el empódio de algunos linajes de la tribu Tetranychini. Comparación de las distintas tendencias del ambulacro I de hembras (Gutiérrez, 1985).

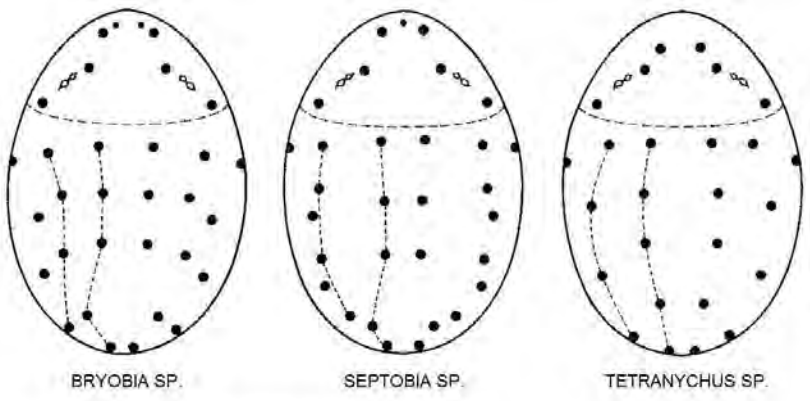

Figura 16. Ejemplo de tendencias evolutivas de la quetotaxia en tres géneros de tetraníquidos (Gutiérrez, 1985).

Los tetraníquidos son ácaros fitófagos que son habitualmente plagas de plantas, tanto herbáceas como leñosas. Se visualizan como un punteado rojizo sobre las hojas (son conocidos vulgarmente entre los agricultores como arañas rojas (Ferragut, 1989a)), a la vez que forman hilos de seda (a veces, constituyen auténticas telas de araña), cuyo fin es crear un microclima adecuado para su desarrollo, así como servir de protección frente a agentes externos, como productos tóxicos y enemigos naturales.

Morfología y biología

La coloración de los ácaros tetraníquidos es variable y está condicionada por la alimentación. Por ejemplo, *Tetranychus urticae* debe su nombre anglosajón "Two-spotted spider mite" a sus dos características manchas oscuras dorsolaterales (Evans, 1992b).

La subfamilia Tetranychinae se caracteriza por vivir, generalmente, de forma gregaria en la superficie de las hojas, en el interior de densas redes de fina seda que ellos mismos segregan y que les protege del ataque de los enemigos naturales. Esta seda también les ayuda para dispersarse a través del viento y para protegerse de las inclemencias climáticas (Gerson, 1979; Van de Vrie *et al.*, 1972)

Los tetraníquidos se alimentan clavando sus quelíceros y vaciando el contenido celular de las células epidérmicas y parenquimáticas de las hojas y otros tejidos de las plantas (Figura 17). Como consecuencia de esto, se producen decoloraciones, pérdidas de la capacidad fotosintética, alteraciones en la transpiración y marchitez, lo cual puede ocasionar perdida de vigor o incluso la muerte de la planta. Tetranychidae es una familia generalmente polífaga y de ahí su importancia agrícola (Jeppson *et al.*, 1975).

Lo habitual en esta familia es que haya machos y hembras, siendo lo más frecuente la partenogénesis arrenotoca, en la que los huevos no fecundados dan lugar a machos y los fecundados a hembras (Helle & Pijnacker, 1985).

Figura 17. Efecto de una colonia de *T. urticae* sobre *Phaseolus vulgaris*.

Ciclo de vida

El ciclo biológico de los ácaros tetraníquidos (Figura 18), incluye el estado de huevo, el de larva, dos estadios ninfales (protoninfa y deutoninfa) y el estado adulto. Estos ácaros son capaces de alimentarse en los estados de larva, ninfa y adulto, salvo en la forma intermedia de quiescencia que se produce en la transición de larva a protoninfa, de protoninfa a deutoninfa, y de deutoninfa a adulto. Estas formas reciben, respectivamente, el nombre de protocrisálida, deutocrisálida y teleocrisálida. En estos periodos de quiescencia, el ácaro está inactivo, anclado al sustrato, mientras una nueva cutícula se está formando. El ácaro se libera de la cutícula vieja rompiéndola por la parte dorsal mediante el incremento de su presión interna. Los machos alcanzan el estado adulto antes que las hembras, por lo que es habitual que permanezcan junto a ellas cuando éstas son teleocrisálidas, a la espera de que emerjan las formas adultas para poder copular con ellas cuanto antes.

El tiempo de desarrollo de huevo a adulto depende de la especie, de la temperatura, de la planta hospedadora y de la humedad, entre otros factores. Frecuentemente, oscila entre 6 y 10 días, aunque puede durar más. El principal factor que marca el desarrollo es la temperatura. Cuando las condiciones se tornan desfavorables los ácaros entran en diapausa.

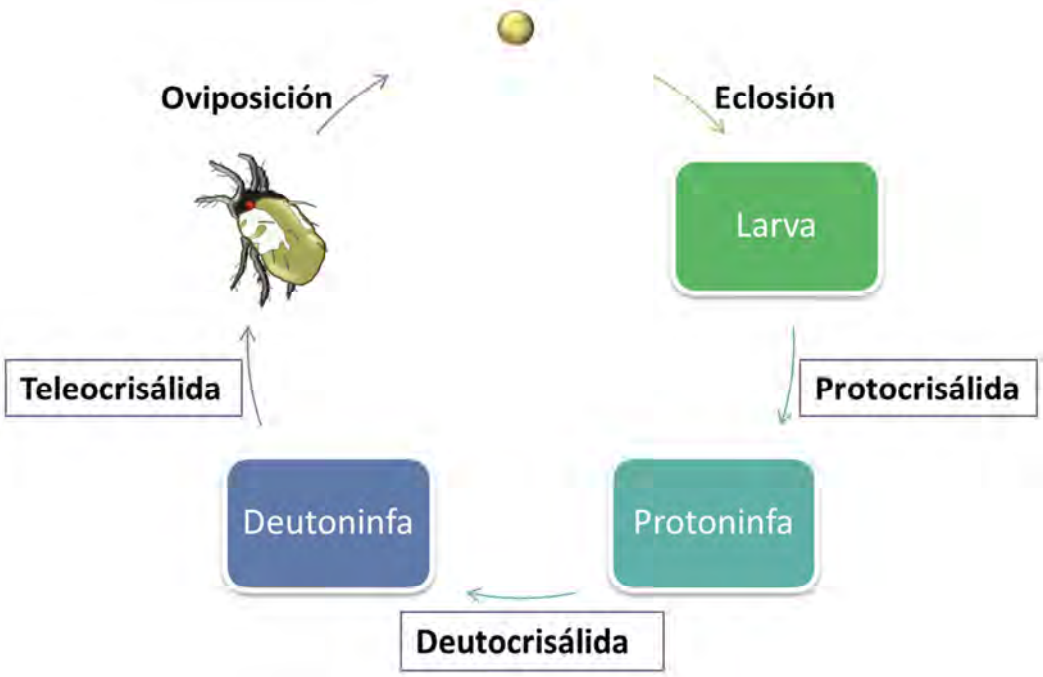

Figura 18. **Ciclo de vida de *Tetranychus urticae*.**

La tasa intrínseca de crecimiento (r_m), determina el potencial de incremento de una población (Birch, 1948). En el caso de los tetraníquidos, este parámetro está condicionado, entre otros factores, por la naturaleza de la planta hospedadora, la superficie disponible para cada individuo, la temperatura, la humedad y la procedencia geográfica de la población (Helle & Sabelis, 1985). Hablando en términos generales, su valor es alto comparado con otros animales, entre ellos, otros artrópodos.

Dispersión y distribución

La dispersión para encontrar plantas con nuevos recursos alimenticios tiene lugar, principalmente, a través del aire (Kennedy & Smitley, 1985).

Importancia en los cultivos

La reducida biodiversidad que caracteriza a muchos de los agroecosistemas actuales, como consecuencia, sobre todo, de la práctica del monocultivo, de la eliminación de plantas espontáneas y del uso indiscriminado y masivo de productos fitosanitarios, hace que las poblaciones de tetraníquidos oscilen de forma diferente a como lo hacen en ecosistemas naturales, siendo habitual que, en los cultivos, se encuentre una reducida cantidad de especies, pero con poblaciones muy elevadas (Pérez Moreno, 1997).

McMurtry (1970) y Jeppson *et al.* (1975) observaron que los daños producidos por los ácaros tetraníquidos en todo tipo de cultivos se iban incrementando, pasando de ser plagas secundarias a uno de los de los problemas más importantes de la agricultura mundial. *Tetranychus urticae* es capaz de alimentarse de más de 150 especies vegetales de interés agrícola, pertenecientes a cultivos hortícolas, leñosos, y ornamentales, así como de vegetación espontánea (García-Marí *et al.*, 1989; Ferragut & Santonja, 1989b; Arias & Nieto, 1981).

Estrategias de control

La estrategia más habitual para el control de tetraníquidos es el uso de acaricidas (Cho, 2000). Desgraciadamente, el desarrollo de resistencias por parte de estos ácaros ha dejado inservibles gran parte de las materias activas existentes (Ahn *et al.*, 1996; Kim y Paik, 1996). Esto hace que se estén poniendo a punto, entre otras, técnicas de control biológico mediante el uso de ácaros fitoseidos, como es el caso de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, que fue utilizado en cultivo de rosal por Peña, en 1985, e introducido con resultados prometedores en Corea para el control de *T. urticae* en rosa, pepino y fresa (Cho *et al.*, 1995). Debido a su importancia agrícola, también se han puesto en marcha programas de manejo integrado en los viñedos extremeños (Arias y Nieto, 1978, 1981 y 1983) y en cultivos de algodón en Andalucía (Alvarado & Limón, 1980).

En el caso de los cultivos cítricos españoles, donde *T. urticae* y *Panonychus citri* son los ácaros más perjudiciales (Abad-Moyano *et al*., 2009), el uso masivo de acaricidas como único modo de control ha derivado en la imperiosa necesidad de desarrollar sistemas de control más seguros, como la lucha biológica, que eviten los problemas actuales de resistencias a acaricidas y de residuos en las cosechas (Ansaloni *et al.*, 2008; Aucejo *et al*., 2003 y 2004), comienzan con la caracterización de los enemigos naturales presentes en el cultivo (Abad-Moyano *et al.*, 2009). En esta misma línea, en 2010 se evaluó la eficacia de *Phytoseiulus persimilis* y *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) para controlar poblaciones de *T. urticae*, encontrándose muy efectivo *P. persimilis* para proteger plantas jóvenes de clementino (Abad-Moyano *et al.*, 2010). En 2011, se obtuvieron buenos resultados en Murcia con el fitoseido argentino *Phytoseiulus longipes* (Acari: Phytoseiidae) frente a *T. urticae* y *T. evansi* en tomate, en condiciones de invernadero (Ferrero *et al.*, 2011)

La reducción actual de materias activas es una realidad patente. Así, a fecha 7 de junio de 2011, en España había registrados 71 formulados autorizados como plaguicidas para el control de ácaros tetraníquidos, siendo 19 las formulaciones permitidas, basadas en 12 materias activas: acrinatrín, azocicloestán, clofentezín, etoxazol, fenazaquín, fenbutaestán, fenpiroximato, hexitiazox, flufenoxurón, propargita, spirodiclofén y tebufenpirad. Casi cuatro años después, a fecha 1 de abril del 2015, tan solo había 14 formulados autorizados, basados en nueve materias activas: acrinatrín, clofentezín, etoxazol, fenazaquín, fenbutaestán, fenpiroximato, hexitiazox, spirodiclofén y tebufenpirad.

Tetranychus urticae

Clasificación taxonómica extraída de la base de datos del proyecto Fauna Europaea (Bolland, 2013):

Familia Tetranychidae

Subfamilia Tetranychinae

Tribu Tetranychini

Género *Tetranychus*

Especie *urticae*

La importancia económica que *T. urticae* tiene como especie plaga ha sido determinante para motivar la realización de numerosos estudios taxonómicos, aunque debido a que cada investigador limitaba su análisis a poco más que su propia zona geográfica, especies cosmopolitas, como es el caso de este ácaro, han recibido más de 50 nombres. Estas sinonimias han dificultado enormemente la sistemática de la especie. Afortunadamente, hoy en día, la integración entre disciplinas complementarias y la comunicación fluida entre investigadores está permitiendo arrojar algo de luz en la sistemática de los ácaros fitófagos (Gutiérrez, 1985).

Las primeras citas del género *Tetranychus* en España se produjeron como consecuencia de los daños que sufrieron cítricos, frutales y hortícolas por un ácaro denominado *Tetranychus telarius* (L.) (= *T. urticae*) (Gómez-Clemente, 1952; Alfaro, 1955 y 1964a). Posteriormente, se citaron daños en manzanos del valle del Jalón por *Tetranychus viennensis* Zacher (= *Amphitetranychus viennensis*) (Alfaro, 1964b).

Debido a la adaptabilidad de *T. urticae*, prácticamente no hay restricciones en cuanto a su distribución geográfica, siendo una plaga de amplia distribución mundial, asociada a un gran número de plantas hospedadoras (Regev & Cone 1980; Ferro & Southwick 1984; Bolland *et al.* 1998; Calvitti 2000). En la figura 19 se muestra su distribución en Europa (de Jong *et al*., 2014).

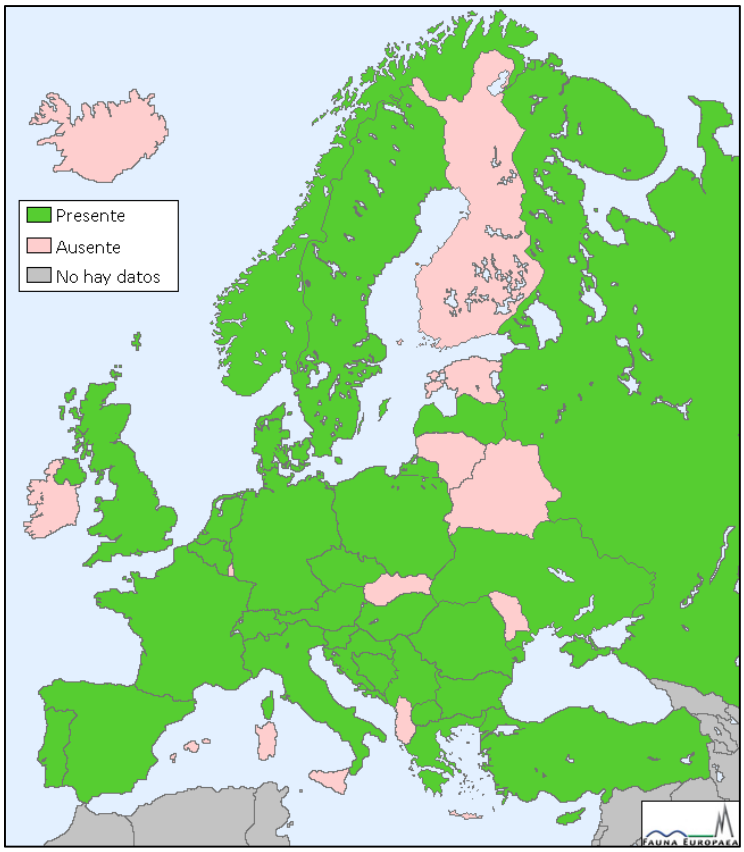

Figura 19. Distribución de *Tetranychus urticae* en Europa (de Jong *et al.*, 2014).

El tamaño de las hembras de *T. urticae* oscila entre 0,25 y 0,5 mm (Cañizo *et al.*, 1981) (Figura 20). Los machos son mucho más pequeños como consecuencia de un claro dimorfismo sexual. Además, la parte posterior del opistosoma de los machos se estrecha en forma cónica en la zona del edeago (Evans, 1992c) y la relación de la longitud de las patas respecto a la longitud del idiosoma, es mayor en machos que en hembras (García-Mari *et al.*, 1994). Los huevos tienen forma esférica y un tamaño aproximado de 0,1 mm. Inicialmente son transparentes, pero a lo largo de su desarrollo van adquiriendo tonalidades más intensas, hasta llegar al color amarillo oscuro. La oviposición se produce en la superficie de las hojas o sobre las redes de seda que tejen estos ácaros (Arias-Giralda, 1988). Las larvas son de color blanquecino y transparente y se diferencian de los adultos y de las otras formas inmaduras por su menor tamaño y porque poseen tres pares de patas en lugar de cuatro (Evans, 1992b).

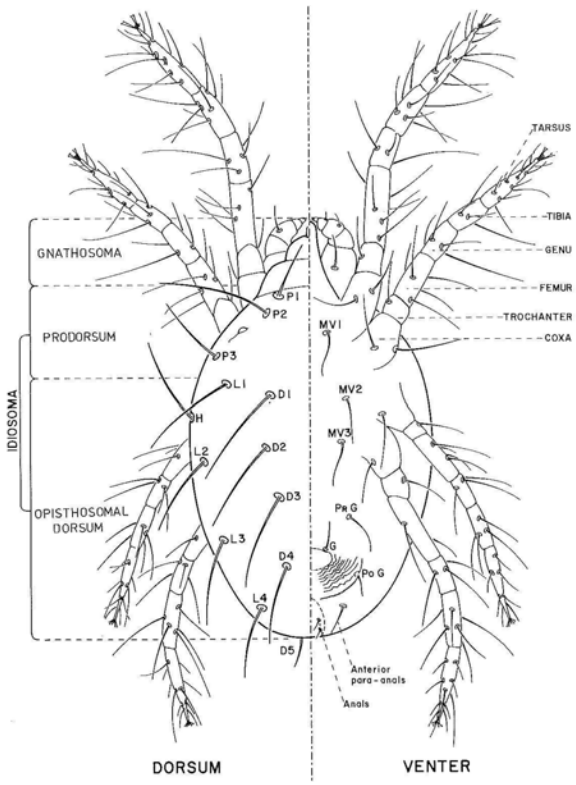

Figura 20. ***Tetranychus urticae*** **Koch: aspecto dorsal y ventral de la hembra mostrando la nomenclatura de las setas corporales (Gutiérrez, 1985)**

Los ácaros fitoseidos

El control biológico ha sido definido por la *International Organization for Biological Control* (IOBC) como la utilización por el ser humano de enemigos naturales (depredadores, parasitoides y/o patógenos) con el propósito de controlar las poblaciones de especies dañinas, manteniéndolas por debajo del umbral económico de daños. Es decir, el propósito del control biológico no es erradicar las plagas, sino reducir sus poblaciones hasta un nivel económico aceptable, que permita, además, restablecer un equilibrio duradero entre la plaga y sus enemigos naturales (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

El control biológico presenta la ventaja de permitir restaurar la biodiversidad funcional de los agroecosistemas. Dentro de esta biodiversidad, las poblaciones de ácaros suponen una parte importante de la comunidad de organismos vivos, entre otras cosas, por su amplia variedad de hábitos alimenticios (saprófagos, micófagos, fitófagos y depredadores). Dentro de los ácaros, las especies pertenecientes a la familia de los fitoseidos son los depredadores que juegan un importante papel en la regulación de plagas de ácaros y pequeños insectos (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

Taxonomía

Clasificación taxonómica extraída de la base de datos del proyecto Fauna Europaea (Lundqvist, 2013):

Reino Animalia

Subreino Eumetazoa

Filo Arthropoda

Subfilo Chelicerata

Clase Arachnida

Subclase Micrura

Infraclase Acari

Superorden Actinotrichida

Orden Mesostigmata

Suborden Dermanyssina

Superfamilia Ascoidea

Familia Phytoseiidae

La familia Phytoseiidae fue establecida en 1916 por Berlese. La primera especie de fitoseido descrita fue *Zercon obtusus,* en 1839, por C.L. Koch, actualmente incluida en el género *Amblyseius,* descrito también por Berlese en 1914. En 1951, Nesbitt realizó una revisión del grupo en la que solo figuraban 34 especies. El catálogo mundial publicado por Moraes *et al.* (2004), incluye más de 2000 especies y en la Phytoseiidae Database, elaborada por Demite *et al.* (2014), puede encontrarse la descripción de 2709 especies de esta familia. No obstante, no hay consenso entre los taxónomos respecto a la sistemática de este grupo, principalmente como consecuencia de las diferencias de criterio en lo referente a los caracteres taxonómicos válidos para diferenciar géneros. Tradicionalmente, se ha utilizado el patrón de setas de la placa dorsal como carácter principal, pero algunos investigadores consideran que el único criterio válido sería la forma de la espermateca de las hembras. Por su parte, la nomenclatura de las setas dorsales con fines taxonómicos también es objeto de controversia, puesto que existen al menos 3 sistemas diferentes (Figura 21), siendo la más aceptada la de Athias-Henriot (aprobada por Rowell, Chant y Hansell) y que propone una nomenclatura basada en los *Ascidae*. Este sistema está fundamentado en la definición de tres líneas longitudinales de setas en la placa dorsal, siendo cada fila, a su vez, dividida en una subserie anterior podonotal y una posterior opistonotal.

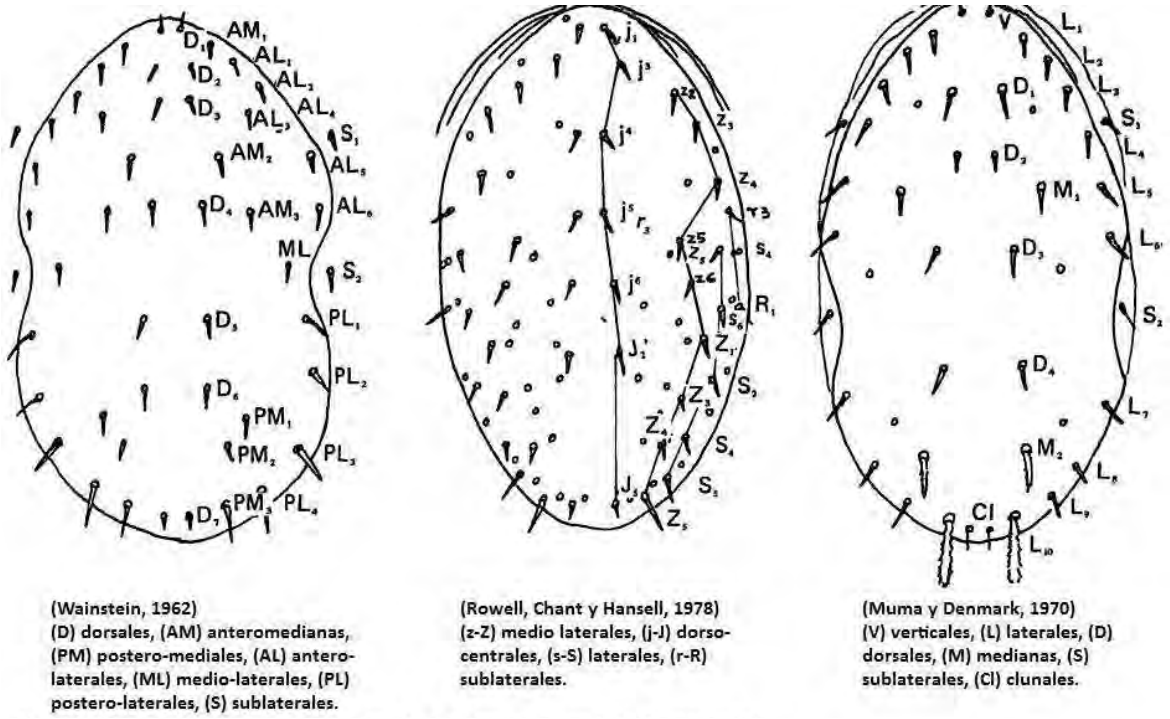

Figura 21. **Nomenclatura propuesta para la quetotaxia dorsal de Phytoseiidae (Doreste, 1988).**

Morfología y biología

La familia *Phytoseiidae* se compone de ácaros pequeños, de entre 300 a 500 micras de longitud (Ferragut *et al.*, 2010). Mumma & Denmark (1968) definieron esta familia de la siguiente manera: "Los ácaros mesostigmáticos y monoginásipdos de la familia Phytoseiidae se caracterizan por un apotele palpal de dos puntas, quelíceros quelados, setas hipostomales no diferenciadas, epistoma liso o indistintamente serrado, esterno cuadrado, con 2-5 pares de setas laterales y 1-3 pares de poros laterales, escudo dorsal entero o dividido transversalmente, provisto con menos de 24 pares de setas, 1-3 pares de setas sublaterales, peritremas extendidos anteriormente desde los estigmas mesolaterales, ano ventral, patas de tipo corredoras provistas de pretarso y ambulacro. Las hembras tienen el poro genital protegido por una membrana anterior del escudo genital; éste con un par de setas laterales y más o menos truncados posteriormente, un par de espermatecas que abren entre las coxas de las patas de los pares III y IV, un escudo ventrianal pentagonal, alargado o cuadrado provisto con 1-5 pares de setas preanales en adición a las paranales y postanales, 1-5 pares de setas ventrolaterales y un par de setas caudales. Los machos tienen espermatodáctilos quelicerales, el poro genital protegido por el margen anterior del escudo esternal, un escudo ventrianal en forma de placa provisto con 3-6 pares de setas preanales y un par de setas caudales (Figura 22 y 23)".

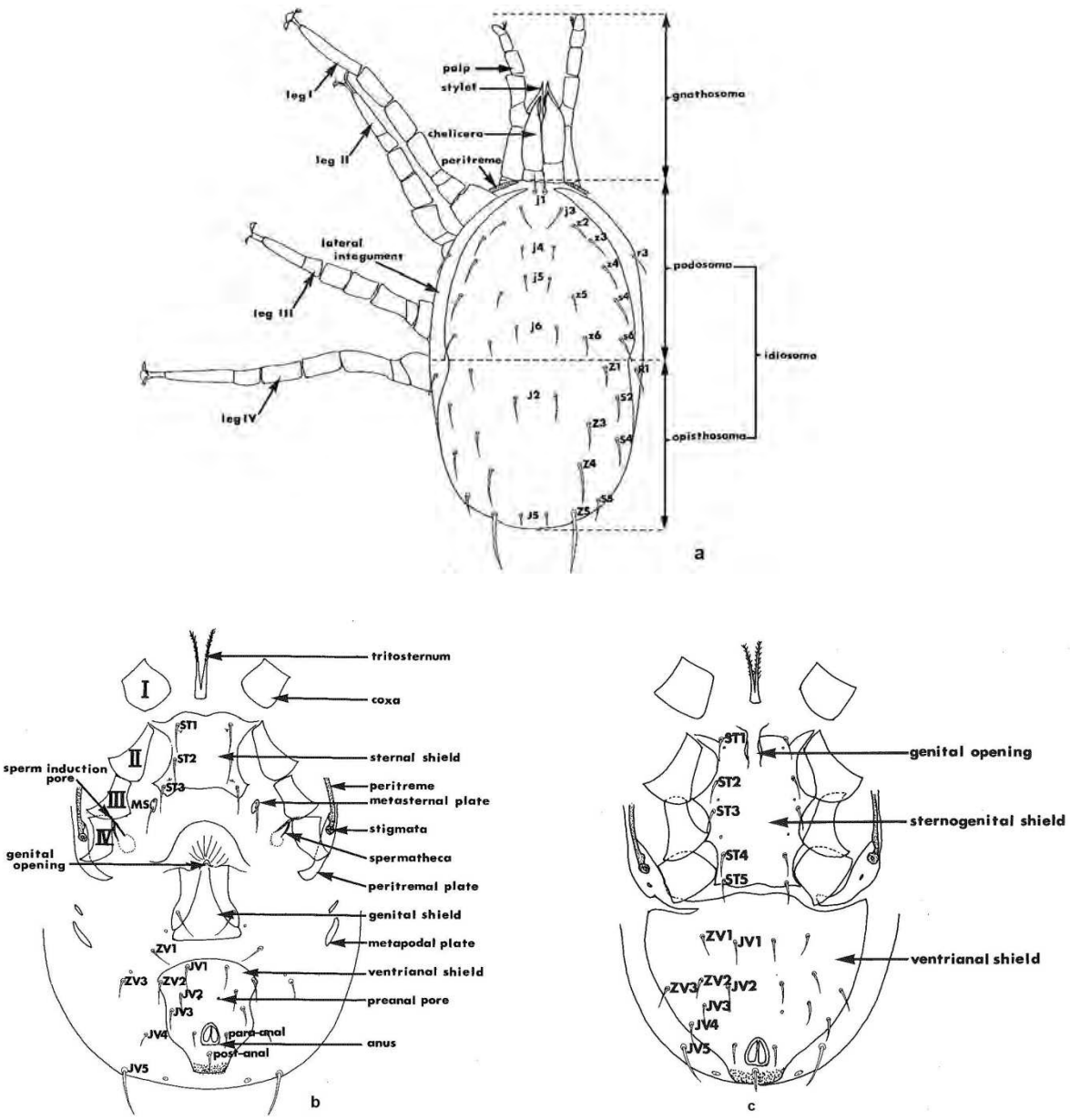

Figura 22. **(a) Aspecto dorsal de un fitoseido, incluyendo nomenclatura de las setas; (b) Aspecto ventral de una hembra adulta de fitoseido típica, incluyendo nomenclatura de las setas; (c) Aspecto ventral de un macho adulto de fitoseido típico, incluyendo nomenclatura de las setas (Helle & Sabelis, 1985)**

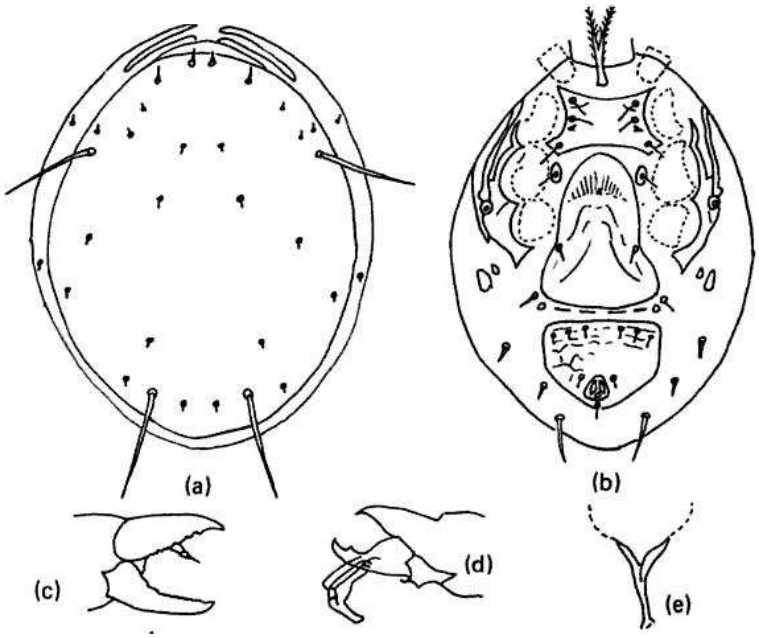

Figura 23. Ejemplo de morfología de Phytoseiidae, *Iphiseius quadripilis* (Banks): (a) hembra dorsal, (b) hembra ventral, (c) quelícero de hembra, (d) quelícero de macho, (e) espermateca (Doreste, 1988).

El rango de colores va desde el blanco al marrón o incluso al rojo. Debido a que son translúcidos, esta coloración puede adquirir tonalidades verdes e incluso negras, en función del alimento ingerido.

Los fitoseidos son ácaros cosmopolitas, de vida libre, terrestres, que habitan en el follaje, la corteza y el humus. Rara vez son parásitos o foréticos de otros organismos. La mayoría de las especies se adaptan a hábitats variados, aunque también las hay especialistas.

Su importancia agrícola se debe a que incluye muchas especies de ácaros depredadores capaces de controlar poblaciones de otros ácaros y de pequeños insectos plaga.

Los fitoseidos depredadores son habitualmente polífagos y adecúan su dieta a la disponibilidad de alimento en el medio, pudiendo depredar ácaros tetraníquidos, tenuipálpidos, eriófidos, tideidos, tarsonémidos, acarídidos, pequeños insectos, como psocópteros o trips, así como hongos y polen (Ferragut *et al.*, 2010; McMurtry & Rodríguez, 1987). Esto ha provocado que en los últimos 60 años haya crecido el interés por utilizarlos como agentes de control biológico. De hecho, son los depredadores más estudiados para el control de plagas, sobre todo, de ácaros fitófagos, respecto a los que suele mostrar preferencia a pesar de su polifagia (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

Ciclo de vida

El ciclo biológico de los fitoseidos (Figura 24) pasa desde huevo y hasta adulto, por las formas inmaduras de larva, protoninfa y deutoninfa, sin que medie entre ellas fases evidentes de quiescencia. La duración media, desde que una hembra nace de un huevo hasta que alcanza la madurez reproductiva, es de 8 a 10 días a una temperatura ambiente de 22-24°C (Helle y Sabelis, 1985), aunque este tiempo puede variar en función, sobre todo, de la calidad del alimento y de la temperatura. También es variable entre subfamilias. Por ejemplo, hablando en términos generales, *Amblyseiinae* tiene un desarrollo más rápido que *Phytoseiinae* y *Typhlodrominae* (Zhang, 1995). En general, los fitoseidos, y especialmente sus huevos, son muy sensibles a condiciones de humedad relativa baja (Bounfour & McMurtry, 1987).

Todos los estados de desarrollo móviles se alimentan y tienen ocho patas, excepto las larvas que, en todos los casos, tienen seis patas y que en algunas especies no se alimentan, como es el caso de *Phytoseiulus persimilis* y *Typhlodromus pyri*.

La reproducción en los fitoseidos es sexual. Durante la cópula, el macho extrae de su abertura genital un paquete de esperma, conocido como espermatóforo, que introduce en el poro genital de la hembra utilizando los espermatodáctilos, que son estructuras especiales presentes en sus quelíceros.

La fecundidad media oscila de 30 a 40 huevos por hembra, aunque hay excepciones, como es el caso de los fitoseidos especializados en alimentarse de tetraníquidos, que pueden llegar a fecundidades de entre 60 y 80 huevos por hembra (Popov & Khudyakova, 1989). El periodo de puesta puede variar entre 10 y 20 días, dependiendo de la especie y de factores ambientales (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

La determinación sexual en los fitoseidos se realiza por parahaploidia o pseudoarrenotoquia, de modo que, aunque machos y hembras nacen de huevos fecundados, la dotación cromosómica es haploide y diploide, respectivamente, como consecuencia de la destrucción en los machos por heterocromatización de la aportación del padre durante las primeras fases del desarrollo embrionario (Schulten, 1985). El ratio sexual varía con la especie hasta el punto de que los datos en campo sitúan la proporción de hembras entre el 66 y el 97,5% (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011). Esto es debido a que, aunque lo habitual suelen ser tres hembras por cada macho, en las poblaciones se observa una variación de esta proporción en función de sus necesidades (Ferragut *et al.*, 2010).

La r_m de los fitoseidos oscila entre 0,1 y 0,4. Este parámetro demográfico varía en función de las condiciones ambientales y nutricionales (Ferragut *et al.*, 2010), razón por la cual estos ácaros se caracterizan por experimentar importantes crecimientos poblacionales cuando las condiciones ambientales son favorables, pudiendo llegar a ser superiores en número a los ácaros tetraníquidos, lo que se considera una característica muy importante de su capacidad como agente de control biológico.

La cantidad de huevos producidos por los fitoseidos es muy pequeña si se compara con la de sus presas. Sin embargo, al tratarse de huevos de gran tamaño, ricos en vitelo, las larvas nacen suficientemente desarrolladas como para pasar rápidamente al estado ninfal, por lo que se acorta el tiempo de desarrollo, llegando, por tanto, antes a la edad adulta y a la puesta de nuevos huevos (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

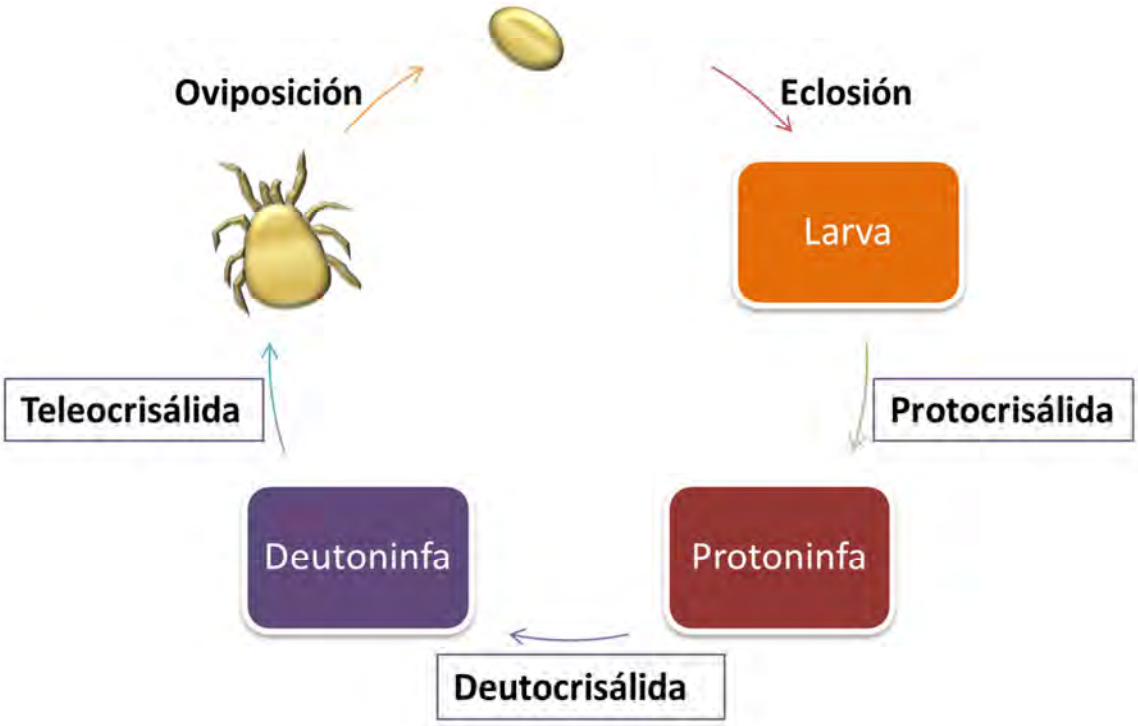

Figura 24. Ciclo de vida de los fitoseidos.

Dispersión y distribución

En climas cálidos, tropicales o subtropicales los fitoseidos son ácaros multivoltinos, es decir, cierran varios ciclos biológicos a lo largo de un mismo año. Sin embargo, cuando las condiciones ambientales no son constantes y se dan periodos de frío, las hembras fecundadas entran en diapausa y los machos mueren. La diapausa se induce por fotoperiodos cortos asociados a bajas temperaturas y, en ocasiones, a determinados tipos de alimentación. Durante este periodo, las hembras apenas se alimentan y el esperma se mantiene viable en su aparato reproductor hasta la primavera siguiente, momento en el cual salen para depositar sus huevos (Ferragut *et al.*, 2010). La hibernación la llevan a cabo en la corteza de los árboles, en el suelo e incluso en lugares aparentemente expuestos. Cuando el fotoperiodo y la temperatura aumentan se induce la salida de diapausa (Veerman, 1992).

Cuando escasea el alimento o la densidad poblacional es elevada, los fitoseidos se dispersan en busca de nuevos recursos. Generalmente, la dispersión es iniciada por las hembras fecundadas y la realizan caminando o usando el viento u otros insectos como agentes dispersores (Sabelis & Dicke, 1985).

La capacidad de colonizar los cultivos a partir de la vegetación silvestre colindante puede ser un factor muy positivo a la hora de valorar la capacidad de un depredador como agente de control biológico (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

Hábitos alimenticios de los fitoseidos

La mayoría de las especies de fitoseidos son polífagas, aunque algunas tienen gran especificidad por los tetraníquidos, hasta el punto de alimentarse de ellos prácticamente de forma exclusiva, como es el caso de *Phytoseiulus persimilis* y *Neoseiulus californicus*, razón por la cual estas especies son interesantes a nivel práctico (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

En el caso de las especies polífagas, hay que tener en cuenta que no todos los alimentos tienen el mismo valor nutricional, por lo que algunas fuentes de alimentación (Tabla 5) solo sirven para mantener a los fitoseidos vivos, pero no les permiten la reproducción (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

Fuentes de alimento	Particularidades
Ácaros tetraníquidos	Son las presas naturales de muchos fitoseidos, por lo que algunas especies han desarrollado un alto grado de especialización.
Ácaros eriófidos	A pesar de su reducido tamaño, algunas especies de fitoseidos, como *Typhlodromus phialatus* o *T. pyri*, son capaces de desarrollarse y reproducirse correctamente alimentándose, exclusivamente, de estos ácaros. Por otro lado, otras especies, como por ejemplo *Euseius hibisci*, son capaces de sobrevivir con una dieta basada en eriófidos, pero no de reproducirse.
Ácaros tideidos	Son una presa alternativa cuando otras fuentes de alimento principales escasean.
Ácaros tarsonémidos	Algunas especies plagas de tarsonémidos, como *Steneotarsonemus pallidus* y *Polyphagotarsonemus latus*, pueden ser controladas por especies de fitoseidos de los géneros *Neoseiulus* y *Euseius*.
Ácaros acarídidos	Los ácaros de la familia Acaridae son muy útiles como presa en la producción masiva de fitoseidos y son un alimento óptimo para algunas especies del género *Neoseiulus*.
Pequeños insectos	Algunas especies de fitoseidos son utilizadas en el control biológico de pequeños insectos, como tisanópteros y moscas blancas, mediante sueltas inundativas en invernaderos.
Melaza	La melaza excretada por algunos insectos, como muchos homópteros, puede ser ingerida por algunos fitoseidos como complemento nutricional mejorando su desarrollo y fecundidad.
Polen	El polen suele ser utilizado como complemento alimentario por algunas especies de fitoseidos, aunque algunas del género *Euseius* pueden alimentarse y reproducirse con una dieta basada en polen.
Néctar	El néctar de las flores o de los nectarios extraflorales puede servir como complemento en la alimentación de algunas especies de fitoseidos, mejorando su supervivencia.
Ácaros fitoseidos	Cuando el alimento escasea, el canibalismo puede ser una alternativa nutricional para garantizar la supervivencia (Schausberger, 2003). Además, el canibalismo contribuye a eliminar competidores, por lo que es una forma de regulación de las poblaciones de fitoseidos durante la escasez de alimento. En cualquier caso, hay algunas especies que son más propensas al canibalismo, como por ejemplo *Euseius finlandicus*, *E. hibisci*, *Neoseiulus cucumeris* o *N. fallacis*.

Tabla 5. Posibles fuentes de alimentación de los fitoseidos (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011).

En las distancias cortas, los fitoseidos localizan sus presas por contacto utilizando los receptores sensoriales de los tarsos del primer par de patas y rastreando las kairomonas presentes en los huevos y excretas de los tetraníquidos, siendo capaces de detectar y reconocer a su presa incluso a un metro de distancia (Sabelis & Dicke, 1985). Por otro lado, las feromonas de agregación emitidas por los propios depredadores también juegan un papel importante en esta localización (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011), así como los compuestos volátiles inducidos por herbívoros (HIPV) que producen las propias plantas al ser atacadas por la plaga y que también pueden ser detectados por los fitoseidos (Dicke *et al.*, 1990; Janssen, 1999) permitiéndoles, incluso, localizar la presa dentro de la misma planta (Onzo *et al.*, 2009 y 2012).

Para alimentarse, los fitoseidos sujetan sus presas con los quelíceros y les clavan los cornículos, inyectando saliva con enzimas digestivas que licúa el interior de la presa para que pueda ser succionada. La capacidad depredadora depende de la especie y de su estado de desarrollo. Por ejemplo, una hembra adulta de *Neoseiulus* consume 12 huevos de *Tetranychus* al día y una de *Phytoseiulus* más de 20 (McMurtry & Rodríguez, 1987).

En base a las preferencias alimenticias y a algunas características biológicas y morfológicas, McMurtry & Croft (1997) agruparon las especies de fitoseidos más estudiadas en cuatro categorías que ellos denominaron “tipos o estilos de vida” (Tabla 6).

Géneros	Alimentación	Hábitat y características
Tipo I: Especializados en alimentarse de ácaros del género *Tetranychus*		
Phytoseiulus	Ácaros tetraníquidos productores de seda, especialmente del género *Tetranychus*.	Cohabitan con los ácaros que les sirven de presa y responden a la emisión de kairomonas. Poseen setas dorsales largas. Grupo con capacidad de consumir presa y tasa intrínseca de crecimiento más elevada.
Tipo II: Depredadores selectivos de tetraníquidos		
Galendromus *Neoseiulus* *Typhlodromus*	Prefieren los ácaros productores de seda, pero pueden desarrollarse sobre otros ácaros o sobre polen.	Cohabitan con los ácaros que les sirven de presa. Tasa intrínseca de crecimiento elevada.
Tipo III: Depredadores generalistas		
Amblyseius *Typhlodromus* *Kampimodromus* *Neoseiulus*	Pueden alimentarse tanto de ácaros como de pequeños insectos, nematodos, polen o exudados vegetales.	Poseen setas dorsales cortas. La tasa intrínseca de crecimiento dependerá del fitoseido y del alimento, entre otros factores. Por ejemplo *Euseius hibisci* (Chant) es incapaz de reproducirse alimentándose únicamente de eriófidos (McMurtry *et al.*, 1970), mientras que *Typhlodromus occidentalis* sí se alimenta y reproduce sobre *Aculus schechtendali* (Nalepa) en manzano (Hoyt, 1969).
Tipo IV: Depredadores generalistas especializados en comer polen		
Euseius	Pueden alimentarse de ácaros y pequeños insectos, pero su potencial máximo lo alcanzan sobre polen.	Poseen setas dorsales cortas. Tasa intrínseca de crecimiento media.

Tabla 6. Clasificación de McMurtry & Croft (1997) de los principales géneros de fitoseidos en base a su tipo de vida.

Los fitoseidos como agente de control de plagas

El primer ácaro reconocido por su capacidad de reducir poblaciones plaga fue *Hemisarcoptes malus* (Acari: Hemisarcoptidae) (Shimer, 1868), que se alimentaba de *Lepidosaphes ulmi* Linneo (Hemiptera: *Diaspididae*) (Shimer, 1868).

Riley (1874), a consecuencia del éxito logrado con *H. malus*, trató de usar sin éxito *Tyroglyphus phylloxerae* para combatir la plaga de filoxera que en aquel momento asolaba los viñedos franceses (Howard, 1930).

Cien años después, Rack & Rilling (1978) descubrieron que *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank, 1781) (Acari: Acaridae) invadía las agallas de las hojas de filoxera, alimentándose de individuos vivos y muertos de cualquier estadio incluyendo huevos.

El género *Pyemotes* (Acari: Pyemotidae) fue reconocido en 1880 como enemigo natural de muchos insectos plaga (Webster, 1910). *Pyemotes* sp. fue criado y utilizado contra el picudo del algodonero, *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae), en México (Rangel, 1901), en lo que pudo ser la primera producción en masa de ácaros como agente de control biológico.

El interés por los miembros de la familia Phytoseiidae como agentes de control biológico comenzó al observar cómo las poblaciones del eriófido *Eriophyes pyri* Pagenstecher eran reducidas por la depredación de *Seius pomi* Parrot, 1906, actualmente incluido dentro del género *Metaseiulus*.

La utilización de fitoseidos para el control de plagas agrícolas se inició en el Centro de Europa a principios de los años 60, como consecuencia de una serie de estudios realizados durante esa época, entre otros, por Huffaker y McMurtry en California. Bravenboer, en 1960, evidenció los fallos existentes en el control químico de *T. urticae* y la existencia de insectos y ácaros depredadores capaces de reducir las poblaciones de este ácaro plaga. Dosse desencadenó una serie de estudios alrededor de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, que demostraron, en 1966, su eficacia en sueltas masivas para el control de la plaga en invernaderos de pepino cercanos a Londres. Todo esto motivó, finalmente, la producción masiva de este depredador, lo cual suscitó el interés, en 1969, de un productor holandés de pepino llamado Koppert, que incorporó, a través de su empresa, una serie de mejoras en la cría de *P. persimilis*, lo que definitivamente impulsó su comercialización. Las principales empresas que tienen mercado actualmente en España son Koppert Biological Systems, Biobest y Syngenta Bioline (Tabla 7). Estas empresas producen fitoseidos destinados a la liberación en campo mediante sueltas, principalmente de tipo inundativo inoculativo, preferentemente en invernaderos (Ferragut *et al.*, 2010).

PLAGA	EMPRESAS DISTRIBUIDORAS		
	biobest BIOLOGICAL SYSTEMS	KOPPERT BIOLOGICAL SYSTEMS	syngenta
Araña roja (*Tetranychus* spp.)	*Amblyseius andersoni* *Neoseiulus californicus* *Phytoseiulus persimilis* *Amblyseius fallacis*	*Phytoseiulus persimilis* *Neoseiulus californicus*	*Phytoseiulus persimilis* *Neoseiulus californicus* *Amblyseius andersoni* *Neoseiulus cucumeris*
Trips (principalmente *Frankliniella occidentalis*)	*Neoseiulus cucumeris* *Amblyseius swirskii* *Amblyseius degenerans* *Stratiolaelaps scimitus*	*Neoseiulus cucumeris* *Amblyseius swirskii* *Macrocheles robustulus*	*Neoseiulus cucumeris* *Amblyseius swirskii* *Hypoaspis miles*
Moscas blancas (principalmente *Bemisia tabaci*)	*Amblyseius swirskii*	*Amblyseius swirskii*	*Amblyseius swirskii*
Araña blanca de los invernaderos (Polyphagotarsonemus latus)		*Neoseiulus cucumeris*	*Neoseiulus cucumeris*
Ácaro rojo de frutales (*Panonychus ulmi*)	*Amblyseius andersoni*	*Neoseiulus californicus*	*Amblyseius andersoni*
Raoiella indica (ácaro rojo de las palmáceas), *Tarsonemus pallides* (araña del ciclamen), *Brevipalpus* sp. (falsas arañas rojas)		*Neoseiulus californicus*	
Eotetranychus sp., *Neotetranychus* sp., *Olygonychus* sp.			*Amblyseius andersoni*
Panonychus citri (Acaro rojo de los cítricos)		*Neoseiulus californicus*	*Amblyseius andersoni*
Eriófidos (*Aculus schlechtendali*, *Eriophyes canestrinii*)	*Amblyseius andersoni*		*Neoseiulus cucumeris* *Amblyseius andersoni*
Moscas esciáridas	*Stratiolaelaps scimitus*	*Stratiolaelaps scimitus* *Macrocheles robustulus*	*Hypoaspis miles*
Scatella sp.			*Hypoaspis miles*
Orugas	*Stratiolaelaps scimitus*		

Tabla 7. Fitoseidos comercializados por las principales empresas distribuidoras de enemigos naturales en España y principales plagas contra las que van dirigidos.

Otra forma de utilizar los fitoseidos para el control biológico de plagas consiste en preservar la fauna ya existente en el cultivo, según el denominado control biológico por conservación. Por ejemplo, en Estados Unidos se pusieron en práctica técnicas de conservación para permitir la acción de *Galendromus occidentalis* (Nesbitt) y *Neoseiulus fallacis* (Garman), en frutales, sobre *Tetranychus macdanieli* McGregor, *T. pacificus* McGregor y *Panonychus ulmi* (Koch).

Otra alternativa, es la introducción de especies exóticas en el caso del control biológico inoculativo o clásico, pero esto no siempre tiene éxito debido, muchas veces, a la escasa adaptabilidad de estos depredadores a condiciones distintas de las nativas. En cualquier caso, en 1975 se introdujo con éxito *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) en California a partir de ejemplares procedentes de cítricos valencianos para el control de *Panonychus citri* (McGregor) en cítricos y aguacates, hasta el punto de llegar, incluso, a desplazar a las especies autóctonas como *Euseius hibisci* (Chant) y *E. tularensis* Congdon. Otro ejemplo exitoso fue el ocurrido en África para controlar el ácaro verde de la yuca, *Mononychellus tanajoa* (Bondar), con los fitoseidos sudamericanos *Neoseiulus idaeus* Denmark & Muma y *Typhlodromus aripo* De Leon. El ejemplo extremo de introducción estaría representado por la naturalización de *Phytoseiulus persimilis*, que ha pasado de una distribución natural que abarcaba la cuenca mediterránea, las islas macaronésicas y algunas zonas de Chile y Argentina (Escudero, 1996), a encontrarse ampliamente distribuido y comercializado en regiones de clima mediterráneo, Europa, Sudamérica, Sudáfrica, Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda (Ferragut *et al.*, 2010).

La demostrada capacidad como agentes de control biológico por parte de los fitoseidos, es lo que ha suscitado el interés para el desarrollo del presente trabajo de investigación, de modo que contribuya a mejorar su incorporación en el IPM, en combinación con materias activas que no dañen sus poblaciones ni reduzcan sus capacidades depredadoras.

Microorganismos de control biológico

Los organismos entomopatógenos son aquellos capaces de provocar enfermedades en los artrópodos. Dentro de ellos se encuentran, principalmente, especies de hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoos. En la naturaleza pueden encontrarse numerosos de estos organismos capaces de limitar el crecimiento de poblaciones de artrópodos potencialmente dañinos para los cultivos agrícolas (Carruters & Hural, 1990; Van der Geest *et al.*, 2000).

No obstante, los primeros estudios sobre organismos entomopatógenos no se llevaron a cabo en sanidad vegetal, sino para salvaguardar las poblaciones de un insecto de interés industrial como es el gusano de seda, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae).

Las enfermedades que afectaban a *B. mori* comenzaron a estudiarse en el siglo XIX (Kirby & Spence, 1815) y ya, en 1835, Bassi demostró la capacidad infecciosa del hongo *Beauveria bassiana* responsable de la muscardinia blanca de los gusanos de seda, planteando, un año más tarde, que los individuos enfermos muertos podían ser mezclados con agua y aplicados sobre la vegetación para combatir insectos no deseables.

El primero en poner a prueba esta idea en campo fue Metchnikoff, que en 1884 produjo y aplicó *Metarhizium anisopliae* contra el picudo de la remolacha, *Cleonus punctiventris*, obteniendo una elevada mortalidad sobre esta plaga por la acción del hongo entomopatógeno.

En 2004, en la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) había registrados 117 productos basados en 19 patógenos distintos. Dentro de los patógenos registrados se encontraban seis especies de hongos, cinco de bacterias y siete de baculovirus. A pesar de existir esta variedad de organismos disponibles, 57 de estos productos estaban formulados con *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Kabaluk & Gazdik, 2004). Esta predilección por las bacterias está cambiando, puesto que los hongos, gracias a su biodiversidad y a su amplio rango de hospedadores, están suscitado un gran interés como agente de control biológico. Además, algunos tienen la posibilidad de sobrevivir de forma parásita sobre insectos y de forma saprófita sobre materia vegetal en descomposición, lo que permite producirlos fácil y masivamente con un coste económico bajo.

Hongos entomopatógenos

Los principales hongos utilizados como entomopatógenos pertenecen a los géneros *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*. Estos hongos tienen la ventaja de no contaminar el medio ambiente ni afectar a los organismos vertebrados. De hecho, algunas cepas presentan cierto grado de especificidad, incluso a nivel de especie, lo que las haría inocuas para la fauna útil. Otra de sus ventajas es que, si encuentran las condiciones óptimas, pueden seguir reproduciéndose en el medio en el que se han liberado, por lo que no sería necesario inocularlos con regularidad para mantenerlos presentes en el agroecosistema. Además, en ocasiones estos hongos pueden ser aplicados conjuntamente con dosis subletales de acaricidas, dando como resultado un efecto sinérgico que potencia el efecto que estos agentes de control tendrían por separado. Un ejemplo de esto es el efecto sinérgico que se obtiene sobre *T. urticae* al mezclar *B. bassiana* con flufenoxurón (Hernández *et al.*, 2012).

No obstante, la utilización de hongos como insecticidas microbiológicos tiene algunos inconvenientes, como por ejemplo, que su efectividad está muy influenciada por las condiciones ambientales (humedad, temperatura, etc.) (Benz, 1987; Furlong & Pell, 1997) y por la presencia de productos fitosanitarios (Alves & Leucona 1998; Anderson & Roberts, 1983; Loria *et al.*, 1983; de Oliveira & Neves, 2004; Todorova *et al.*, 1998), siendo numerosos los estudios encaminados a determinar los efectos que algunos plaguicidas pueden tener sobre el crecimiento vegetativo, la esporulación (Olmert & Kenneth, 1974; Gardner & Storey, 1985) y la germinación de sus conidias (Neves *et al.*, 2001). Además, para no perder efectividad, su almacenamiento requiere condiciones más exigentes que el de los fitosanitarios convencionales y su acción no suele provocar la muerte inmediata del organismo plaga, aunque lo cierto es que, desde el momento en que este es infectado, su vitalidad suele verse mermada y su efecto dañino sobre el cultivo reducido progresivamente hasta que se produce la muerte del animal.

Clasificación y biodiversidad de los hongos entomopatógenos

Según Ainsworth (1973) los hongos se clasifican en dos divisiones: Myxomycota, si forman plasmodios, y Eumycota, si no los forman.

Los hongos entomopatógenos pertenecen a la división Eumycota, que incluye cinco subdivisiones: Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina. Las especies entomopatógenas más importantes pertenecen a las clases Zygomycetes e Hyphomycetes, dentro de las subdivisiones Zygomycotina y Deuteromycotina, respectivamente (Tanada & Kaya, 1993) (Figura 25).

Myxomycota
Forman plasmodios

Eumycota
No forman plasmodios y son frecuentemente micelianos

Mastigomycotina	Zygomycotina	Ascomycotina	Basidiomycotina	Deuteromycotina
Forman zoosporas, oosporas y presentan estado perfecto	No forman zoosporas, forman zygosporas y presentan estado perfecto	Forman ascosporas y presentan estado perfecto	Forman basidiosporas y presentan estado perfecto	No forman zoosporas, forman conidias y no presentan estado perfecto
Coelomycidium *Myiophagus* *Coelomomyces* *Lagenidium* *Leptolegnia* *Couchia*	*Sporodiniella* *Conidiobolus* *Entomophaga* *Entomophthora* *Erynia* *Massospora* *Meristacrum* *Neozygites*	*Beauveria* *Blastodendrion* *Metschnikowia* *Mycoderma* *Saccharomyces* *Ascosphaera* *Cordyceps* *Torrubiella* *Nectria* *Hypocrella* *Calonectria* *Filariomyces* *Hesperomyces* *Trenomyces* *Myriangiales* *Myriangium* *Podonectria*	*Filobasidiella* *Septobasidium* *Uredinella*	*Akanthomyces* *Aschersonia* *Aspergillus* *Culicinomyces* *Engyodontium* *Fusarium* *Gibellula* *Hirsutella* *Hymenostilbe* *Metarhizium* *Nomuraea* *Paecilomyces* *Paraisaria* *Pleurodesmospora* *Polycephalomuces* *Pseudogibellula* *Sorosporella* *Sporothrix* *Stilbella* *Tetranacrium* *Tilachlidium* *Tolypocladium* *Verticillium*

Figura 25. Clasificación taxonómica de los principales géneros de hongos entomopatógenos (Tanada & Kaya, 1993).

Dentro del amplio abanico de hongos entomopatógenos existente, tan solo unos pocos están ampliamente desarrollados y estudiados como agente de control biológico (Tabla 8). De estos, solo dos especies están autorizadas actualmente en España para el control de artrópodos: *Beauveria bassiana* y *Verticillium lecanii*. Además, esta autorización es sobre artrópodos y cultivos muy concretos.

Hongo	**Artrópodos a controlar**	**Uso autorizado en España a 15 de junio de 2015**
Beauveria bassiana	Mosca blanca Pulgones Trips Langostas Saltamontes Plagas del algodón Escarabajo de la patata	Mosca blanca en algodonero, cucurbitáceas, pimiento, berenjena, judías verdes y tomate, araña roja en fresales y manzano, trips en pimiento, berenjena, fresales, melocotonero y pepino, mosca en cerezo y olivo, *Ceratitis* en cítricos y melocotonero y *Psila* en peral.
Beauveria brongniartii	*Melolontha* (Coleoptera:Scarabaeidae)	
Lagenidium giganteum	Larvas de mosquito	
Paecilomyces fumosoroseus	Mosca blanca	
Metarhizium anisopliae	Gorgojo negro de las viñas Larvas de escarabajo Cigarrillas espumadoras Cucarachas Termitas Langostas Saltamontes	
Metarhizium flavoviride		
Nomuraea rileyi	Coleópteros Lepidópteros Ortópteros	
Verticillium lecanii	Mosca blanca Trips Pulgón	Mosca blanca en tomate y pimiento.

Tabla 8. Hongos entomopatógenos desarrollados o en desarrollo para el control de plagas de artrópodos y algunos ejemplos para los que están indicados (Burges, 1998; Butt *et al.*, 1999; Butt y Copping, 2000; Butt *et al.*, 2001a y b)

Patogénesis de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de producir enfermedades en los artrópodos conocidas como micosis. Las micosis se desarrollan en tres etapas (Tanada & Kaya, 1993):

1. **Adhesión y germinación de la espora en la cutícula del artrópodo:** La adhesión de la espora a su huésped puede ser específica o inespecífica. Cuando la espora germina, puede emitir una estructura conocida como apresorio que ayuda a la adhesión de la espora a la cutícula, o bien uno o varios tubos germinativos que se desarrollaran dando lugar a las hifas. El desarrollo de las hifas se ve influido por las condiciones ambientales y en el éxito de la micosis no importa tanto el número de esporas germinadas como el tipo y susceptibilidad de la espora, la susceptibilidad del hospedante, la agresividad del hongo, y la duración y el modo de germinación (Samson *et al.*, 1988). Los artrópodos pueden ser infectados a través de las aberturas corporales, como la boca, los espiráculos o cualquier otra abertura externa. Estas cavidades, al ser ambientes húmedos, permiten que la germinación sea más rápida, pero si la hifa germinativa entra en contacto con los fluidos digestivos puede ser digerida, lo que hará que el huésped no muera como consecuencia de una micosis, aunque sí pueda morir como consecuencia de las toxinas producidas por el hongo.
2. **Penetración en el hemocele:** El proceso de penetración del hongo en el animal está condicionado por las propiedades de la cutícula y la presencia o ausencia de sustancias nutritivas o antifúngicas (Charnley, 1984). Se produce como consecuencia de la degradación enzimática de la cutícula mediante aminopeptidasas, esterasas, lipasas, proteasas y quitinasas, y de la presión mecánica de la hifa que se abre paso a través de los tejidos reblandecidos por las enzimas (Monzón, 2001). Una vez dentro del animal, el sistema inmunológico del artrópodo pondrá en marcha diferentes reacciones de defensa que el hongo deberá vencer. Estos mecanismos de defensa pueden consistir en fagocitosis, encapsulación o formación de compuestos antimicrobianos (Cañedo & Ames, 2004).
3. **Desarrollo del hongo hasta la muerte del insecto:** Si el hongo vence al sistema inmunitario del animal, la hifa se engrosará y ramificará ocupando la cavidad corporal y generando micotoxinas (Tanada & Kaya, 1993) y unos cuerpos hifales conocidos como blastosporas, que permiten la multiplicación y colonización rápida, desarrollando protoplastos que no son reconocibles por los hemocitos del huésped (Pérez, 2004). No obstante, el mayor crecimiento del hongo se producirá tras la muerte del artrópodo (Giraldo, 2009).

Los hongos que aparentemente carecen de toxinas son capaces de matar al huésped al consumir sus nutrientes o al destruirlo físicamente (Bustillo, 2001). No obstante, en general, los hongos considerados como productores de toxinas provocan la muerte de sus huéspedes más rápidamente que aquellos que aparentemente no las producen. En cualquier caso los síntomas de la micosis empiezan a manifestarse tras la colonización del hemocele por parte del hongo. Estos síntomas pueden ser diversos: debilidad, letargia, anorexia, convulsiones, modificaciones en el comportamiento y en la coloración (Alean Carreño, 2003; Cañedo & Ames, 2004; Giraldo, 2009). Finalmente, con la muerte del huésped, que puede llegar rápidamente o en unos pocos días, acaba la fase parásita del hongo y comienza la fase saprófita, en la que se forman grandes masas de micelio dentro del animal que salen al exterior por las aberturas naturales del cuerpo y por las regiones intersegmentales. Una vez fuera, si la humedad es superior al 90%, se producirá la esporulación y la germinación, lo que permitirá que otros artrópodos se vean infectados.

Por su modo de acción, los hongos entomopatógenos se podrían considerar como un método de control lento, puesto que puede tardar varios días en matar al huésped o en inhibir su alimentación, pero si se realiza adecuadamente y se tiene en cuenta que las condiciones ambientales sean las óptimas, son una opción muy interesante por su bajo impacto medioambiental y por su reducida peligrosidad para el aplicador, además de por la posibilidad de mantenerse en el medio continuando su actividad sin ser necesario volver a inocular.

La inclusión, dentro del manejo integrado de plagas, de hongos entomopatógenos para llevar acabo estrategias de control biológico, puede ser una buena alternativa para minimizar la dependencia actual que existe de los acaricidas de síntesis química (Wekesa *et al.*, 2006). Dentro de los hongos entomopatógenos, la utilización de *Beauveria bassiana* podría jugar un papel importante en el control biológico de *Tetranychus urticae* (Irigaray *et al.,* 2003; Maniania *et al.*, 2008; Seiedy *et al.*, 2010; Wekesa *et al.*, 2006), pero en ocasiones puede ser necesario combinar su uso con acaricidas de síntesis química, por lo que es conveniente conocer las interacciones que puedan producirse (Maniania *et al.*, 2008). El uso combinado de hongos entomopatógenos y plaguicidas de síntesis química puede tener como resultado efectos sinérgicos permitan reducir la cantidad de plaguicida que es necesario aplicar. Además, con esta estrategia se reduce el riesgo de aparición de resistencias (Boman, 1980).

Bibliografía

Abad-Moyano, R., Pina, T., Dembilio, O., Ferragut, F. & Urbaneja, A. 2009. Survey of natural enemies of spider mites (Acari: Tetranychidae) in citrus orchards in eastern Spain. Exp. Appl. Acarol., 47 (1):49–61.

Abad-Moyano, R., Pina, T., Perez-Panades, J., Carbonell, E.A. & Urbaneja, A. 2010. Efficacy of *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus persimilis* in suppression of *Tetranychus urticae* in young clementine plants. Exp. Appl. Acarol., 50: 317–328.

AEPLA. 2010. Memoria de la Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas (AEPLA) 2000–2010: Construyendo el futuro de la agricultura, 48 págs.

AEPLA. 2013. Memoria de la Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas (AEPLA) 2013, 16 págs.

Ahn, Y.J., Yoo, J.K., Cho, J.R., Lee, J.O. & Moon, S.C. 1996. Evaluation of effectiveness of AC 303630 and flucycloxuron mixtures against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) under laboratory and field conditions. Appl. Entomol. Zool., 31: 67–73.

Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K. & Sussman, A.S. 1973. The Fungi. An advanced treatise. Vol. IV B. A taxonomic review with keys: Basidiomycetes and lower fungi, 504 págs.

Alean-Carreño, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura en Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia, 116 págs.

Alfaro, A. 1955. La "arañuela roja" y su tratamiento. Bol. Pat. Veg. Ent. Agríc., 21: 71–84.

Alfaro, A. 1964a. Los ácaros de los frutales. Bol. Pat. Veg. Ent. Agríc., 27: 201–221.

Alfaro, A. 1964b. Las invasiones de ácaros en los manzanos. Com. Col. Plagas y Enferm. Arb. Frut., 149–160.

Altieri, M.A. 1999. Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. Editorial Nordan-Comunidad. Montevideo, 338 págs.

Alvarado, M. & Limon, F. 1980. Lutte intégreé en culture cotoniére en Espagne. Symp. Integr. Crop. Protection Valence, Francia.

Alves, S.B. & Lecuona, R.E. 1998. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos, p. 97–170. En: S.B. Alves. (Eds.). Controle microbiano de insetos. São Paulo, Fealq, 1163 págs.

Anderson, T.E. & Roberts, D.W. 1983. Compatibility of *Beauveria bassiana* isolate with insecticide formulations used in Colorado Potato Beetle (Coleotera: Crysomelidae) Control. J. Econ. Entomol., 76: 1437–1441.

Ansaloni, T., Pascual-Ruiz, S., Hurtado, M.A. & Jacas, J.A. 2008. Can summer and fall vegetative growth regulate the incidence of *Tetranychus urticae* Koch on clementine fruit? Crop Protection, 27: 459–464.

Aoki, A., Fukuda, R., Nakayabu, T., Ishibashi, K., Takeichi, C. & Ishida, M. 1973. Acaricidal and insecticidal antibiotic mixture B-41, German Patent DE, 2: 329 486.

Aoki, A., Nishida, A., Ando, M. & Yoshikawa, H. 1994. Development of a new acaricide, milbemectin. Nihon Noyaku Gakkaishi. J. Pestic. Sci., 19: 245–247.

Arias, A. & Nieto, J. 1978. Observaciones sobre la biología de la "araña amarilla" (*Tetranychus urticae* Koch) en las viñas de "Tierra de Barros" Badajoz, durante 1976 y 1977. Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica. Comunicaciones. Serie Estudios y Experiencias, 311 (78): 46 págs.

Arias, A. & Nieto, J. 1980. Observaciones sobre la biología de la "araña amarilla" (*Tetranychus urticae* Koch) en los viñedos de "Tierra de Barros" Badajoz, durante 1978 y 1979. Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica. Comunicaciones. Serie Estudios y Experiencias, 4 (80): 39 págs.

Arias, A. & Nieto, J. 1981. Observaciones sobre la biología de la "araña amarilla" (*Tetranychus urticae* Koch) y correlación entre síntomas y perdidas en una viña de "Tierra de Barros" Badajoz durante 1980. Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica. Comunicaciones. Serie Estudios y Experiencias, 9 (81): 41 págs.

Arias, A. & Nieto, J. 1983. Estimación de las pérdidas producidas por la "araña amarilla común" (*Tetranychus urticae* Koch) en "Tierra de Barros" Badajoz y propuesta de un umbral de tolerancia económica. Bol. Serv. Plagas, 9: 227–252.

Arias, A. 1992. Araña amarilla común (*Tetranychus urticae* Koch). Los parásitos de la vid. Estrategias de protección razonada. M.A.P.A. Mundi-Prensa, 114–120.

Arias-Giralda, A. 1988. Los Parásitos de la vid. Estrategia de lucha. 2ª Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca, y Alimentación, 95–103.

Aucejo, S., Foo, M., Gimeno, E., Gómez-Cadenas, A., Monfort, R., Obiol, F., Prades, E., Ramis, M., Ripollés, J.L., Tirado, V., Zaragoza, L., Jacas, J.A. & Martínez-Ferrer, M.T. 2003. Management of *Tetranychus urticae* in citrus in Spain: acarofauna associated to weeds. Integrated Control in Citrus Fruit Crops. OILB/SROP Bull., 26: 213–220.

Aucejo-Romero, S., Gómez-Cadenas, A. & Jacas-Miret. 2004. Effects of NaCl-stressed citrus plants on lifehistory parameters of *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology, 33: 55–68.

Baillod, M., Bassino, J.P. & Piganeau, P. 1979. L'estimation du risque provoqué par l' acarien rouge (*Panonychus ulmi* Koch) et l'acarien des charmilles (*Eotetranychus carpini* Oud.) en viticulture. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic., 11 (3): 123–130.

Baker, E.W. 1979. Spider mites revisited. Recent Advances in Acarology, Vol. 2. Academic Press, New York, 387–394.

Banken, J.A.O. & Stark, J.D. 1998. Multiple routes of pesticide exposure and the risk of pesticides to biological controls: A study of neem and the seven-spot lady beetle, *Coccinella septempunctata* L. Journal of Economic Entomology, 91: 1–6.

Benz, G. 1987. Environment, p. 177–214. En: R. Fuxa & Y. Tanada. (Eds.). Epizootiology of insect diseases. New York, Wiley, 960 págs.

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

Bolland, H.R. 2013. Fauna Europaea: Tetranychidae. En: Magowski, W. (Eds.). Fauna Europaea: Acari, Actinotrichida. Fauna Europaea versión 2.6.2 http://www.faunaeur.org

Bolland, H.R., Gutiérrez, J. & Fletchmann, C.H.W. 1998. World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Koninklijke Brill NV, Leiden, NE, 392 págs.

Boman, H.G. 1980. Insect responses for microbial infections. En: H.D. Burges. (Eds.). Microbial control of pest and plant diseases. New York, NY: Academic Press, 744–769.

Bounfour, M. & McMurtry, J.A. 1987: Biology and Ecology of *Euseius scutalis* (Athias-Henriot), (Acarina: Phytoseiidae). Hilgardia, 55(5): 1–23.

Bravenboer, L. 1960. De chemische en biologische bestrijding van de Spintmijt *Tetranychus urticae* Koch. Publikatie Proefstn Groenten-en Fruiteelt onder Glas te Naaldwijk, 75: 85.

Burges, H.D. 1998. Formulation of microbial pesticides. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands, 131–185.

Butt, T. M., Jackson, C. & Magan, N. 2001a. Fungi as biocontrol agents. Cabi, 390 págs.

Butt, T.M. & Copping, L. 2000. Fungal biological control agents. Pesticide Outlook, 11: 186–191.

Butt, T.M., Goettel, M.S. & Papierok, B. 1999. Directory of specialists involved in the development of fungi as biocontrol agents. Colin Butt Design & Print, Warley, West Midlands.

Butt, T.M., Jackson, C.W. & Magan, N. 2001b. Fungal biological control agents: Progress, Problems and Potential. En: T.M., Butt, C.W. Jackson & N. Magan. (Eds.). Fungi as biocontrol agents. CABI International, Wallingford, Oxon, U.K., 377-390 págs.

Calvitti, M. 2000. Caratterizzazione biologica ed ecologica di due acari (*Tetranychus urticae* e *Phytoseiulus persimilis*) interagenti in alcuni ecosistemi agrari. Inn-Bioagr- Eco. Italia, 44 págs.

Cano-Manuel, J.R.M. 1979. Evolución del consumo de productos fitosanitarios en España. Bol. Serv. Plagas, 5: 203–213.

Cañedo, V. & Ames, T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Lima, Perú; Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, 62 págs.

Cañizo, J.A., Moreno, R. & Garijo, C. 1981. Guía práctica de plagas. Ed. Mundi-Prensa, 19–20 y 279–280.

Carruthers, R.I. & Hural, K. 1990. Fungi as naturally occurring entomopathogens. UCLA Symp. Mol. Cell. Biol. (USA), 112: 115–138.

Carson, R.L. 2014. La primavera silenciosa. Editorial Booket, 370 págs.

Charnley, A.K. 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis by fungi. En: J.M. Anderson, A.D.M. Rayner & D.W.A. Walton. (Eds). Invertebrate-Microbial Interactions. Cambridge University Press, 229–270.

Cho, J.R., Hong, K.J., Choi, B.R., Lee, S.G., Lee, G.S., Yoo, J.K. & Lee, J.O. 1995. The inhibition effect of the twospotted spider mite population density by using the introduced predacious mite (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot) and effect of several pesticides to the predacious mites. RDA. J. Agri. Sci., 37: 340–347.

Cho, Y.S. 2000. Population dynamics of spider mites and their natural enemies in pear orchard. Ph.D. Thesis, Department of Agrobiology, Chonnam National University, Korea, 75 págs.

Colborn, T., Dumanoski, D. & Meyers, J.P. 1997. Our Stolen Future: How We Are Threatening Our Fertility, Intelligence and Survival. Plume, 336 págs.

Coscollá Ramón, R. 2004. Introducción a la protección integrada. Phytoma-España, 356 págs.

Croft, B.A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. New York: J. Wiley & Sons, 723 págs.

de Jong, Y. et al. 2014. Fauna Europaea - all European animal species on the web. Biodiversity Data Journal 2: e4034. doi: 10.3897/BDJ.2.e4034.

de Oliveira, R.C. & Neves, P.M.O.J. 2004. Compatibility of *Beauveria bassiana* with acaricides [Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com Acaricidas]. Neotropical Entomology, 33 (3):353–358.

Dekeyser, M.A. 2005. Acaricide mode of action. Pest Management Science, 61 (2): 103-110.

Demite, P.R., McMurtry, J.A. & Moraes, G.J. 2014. Phytoseiidae Database: a website for taxonomic and distributional information on phytoseiid mites (Acari). Zootaxa, 3795 (5): 571–577.

Demite, P.R., Moraes, G.J. de, McMurtry, J.A., Denmark, H.A. & Castilho, R.C. 2015 Phytoseiidae Database. Disponible desde: www.lea.esalq.usp.br/phytoseiidae.

Dicke, M., Van Beck, T.A., Posthumus, M.A., Ben Dom, N., Van Bokhoven, H. & De Groot, A.E. 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predatory prey interactions. Involvement of host plant in its production. J. Chem. Ecol., 16: 381–396.

Doreste, E.S. 1988. Acarología. Inst. Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica, 410 págs.

Duso, C., Mazzaro, S. & Girolami, V. 1987. Influence du soufre et du dinocap sur *Eotetranychus carpini* Oud. (Acarina: Tetranychidae) et *Kampinodromus aberrans* (Acarina: Phytoseiidae) en viticulture. Proceedings International.

ECPA. 2012. Annual review 2011-2012, 20 págs.

EPA. 2009. Reduced Risk/Organophosphate Alternative Decisions for Conventional Pesticides. Disponible desde: www.epa.gov/opprd001/workplan/completionsportrait.pdf

Escudero, A. & Ferragut, F. 1996. Comportamiento de *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot y *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) ante diferentes densidades de presa. Bol. San. Veg. Plagas, 22: 115–124.

España. Real Decreto 1311/2012, de 15 de Septiembre de 2012, por el que se establece el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios. BOE, 16 de Septiembre de 2012, núm. 223, pp. 65.127-65.171.

Evans, G.O. 1992a. Classification of the Acari. Principles of acarology. CAB International. University Press, Cambridge, 377–473.

Evans, G.O. 1992b. Developmental and dispersal. Principles of acarology. CAB International. University Press, Cambridge, 334–376.

Evans, G.O. 1992c. Reproductive Systems. Principles of acarology. CAB International. University Press, Cambridge, 263–98.

FAO. 1967. Informe de la Primera Reunión de Expertos de la FAO en Lucha Integrada Contra las Plagas, Sep. Roma, Italia.

Ferragut, F. & Santonja, M.C. 1989a. Especies del género *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae): Contribución al conocimiento de la araña roja en los cultivos españoles. Agricola Vergel, 4: 193–197.

Ferragut, F. & Santonja, M.C. 1989b. Taxonomía y distribución de los ácaros del género *Tetranychus* Dufour 1832 (Acari: Tetranychidae) en España. Bol. San. Veg. Plagas, 15: 271–281.

Ferragut, F., Perez-Moreno, I., Iraola, V. & Escudero, L.A. 2010. Ácaros depredadores en las plantas cultivadas. Familia Phytoseiidae. Ediciones Agrotécnicas, 202 págs.

Ferrero, M., Calvo, F.J., Atuahiva, T., Tixier, M.S. & Kreiter, A. 2011. Biological control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard and *Tetranychus urticae* Koch by *Phytoseiulus longipes* Evans in tomato greenhouses in Spain [Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae]. Biological Control, 58 (1): 30-35.

Ferro, D.N. & Southwick, E.E. 1984. Microclimates of small arthropods: Estimating humidity within the leaf boundary layer. Journal of Environmental Entomology. 13: 926–929.

Fischer, R., Bretschneider, T., Krueger, B.W., Bachmann, J., Erdelen, C., Wachendorff-Neumann, U., Santel, H.J., Luerssen, K. & Schmidt, R.R. 1993. Preparation and insecticidal, acaricidal, herbicidal and fungicidal activities of 3-aryl-4-hydroxy-3-dihydrofuranone and thiophenone derivatives, German Patent DE 4216814.

Fisher, M.H. 1984. The Avermectins. En: N.F. Janes. (Eds.). The Royal Society of Chemistry, Special Publication, 53: 53–72.

Fisher, M.H. 1997. Structure–Activity Relationships of the Avermectins and Milbemycins. ACS Symposium Series Nº 658, American Chemical Society, Washington DC, 221–238.

Flint, M.L. & Van den Bosch, R. 1981. Introduction to integrated pest management. New York, NY, USA, Plenum Press. 240 págs.

Fritz, L.C., Wang, C.C. & Gorio, A.A. 1997. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 76: 2062–2066.

Furlong, M.J. & Pell, J.K. 1997. The influence of environmental factors on the persistence of Zoophthora radicans conidia. J. Invertebr. Pathol., 69: 223–233.

Galet, P. 1982. Les maladies et les parasites de la vigne. Tome II. Les parasites animaux. Imprimerie du “Paysan du Mid”. Montpellier, 1867 págs.

García-Marí, F., Costa, J. & Ferragut, F. 1989. Plagas agrícolas I: Insectos exopterigotos y ácaros. Servicio de publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia, 313 págs.

García-Marí, F., Costa-Comelles, J. & Ferragut, F. 1994. Las plagas agrícolas. Agropubli, S.L.Valencia, 376 págs.

Gardner, W. & Storey, G.W. 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. J. Econ. Entomol., 78: 1275–1279.

Gerson, U. 1979. Silk production in *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae). Recent Advances in Acarology. Vol. 1. Academic Press, New York, 177–188.

Giraldo, J. 2009. Uso de hongos entomopatógenos en el control de ectoparásitos. Universidad del Tolima. Artículo de divulgación, Revista Ganadero. Tolima, Colombia.

Girolami, V. 1981. Danni, soglie di intervento, controllo degli acari della vite. 3 incontro su la difesa integrata della vite. 3-4 dicembre. Regione Lazio. Assessorato Agricoltura e Foreste, 111–143.

Gómez-Clemente, F. 1952. Insectos y ácaros parásitos de los "citrus" en las comarcas españolas del Mediterráneo. Bol. Pat. Veg. Ent. Agric., 19: 197–220.

Granados, G. 2001. Manejo integrado de plagas. En: R.L. Paliwal, G. Granados, H.R. Lafitte e A.D. Violic. (Eds.). El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. FAO. Roma.

Gutiérrez, J. & Helle, W. 1985. Evolutionary Changes in the Tetranychidae. En: W. Helle & M.W. Sabelis. (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elsevier. Amsterdam, 91–106.

Gutiérrez, J. 1985. Systematics. En: W. Helle & M.W. Sabelis (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elsevier. Amsterdam, 75–90.

Helle, W. & Pijnacker, L.P. 1985. Parthenogenesis, chromosomes and sex. En: W. Helle & M.W. Sabelis. (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elsevier. Amsterdam, 129–139.

Helle, W. & Sabelis, M.W. 1985. World crop pests. Spider mites. Their biology, natural enemies and control. Vols. 1A y 1B. Elsevier. The Netherlands.

Hernández, M.M., Martínez-Villar, E., Peace, C., Pérez-Moreno, I. & Marco, V. 2012. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with flufenoxuron and azadirachtin against *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology, 58 (4): 395–405.

Hluchy, M. & Pospísil, Z. 1992. Damage and economic injury levels of eriophyid and *Tetranychus* mites on grape in Czechoslovakia. Experimental & Applied Acarology, 14: 95–106.

Hollingworth, R.M. 2001. Handbook of Pesticide Toxicology, Vol. 2. Chapter 57. Academic Press. San Diego, CA.

Howard, L.O. 1930. A History of Applied Entomology (Somewhat Anecdotal). Smithsonian Misc. Coll. Publ. Nº 3065.

Hoyt, S.C. 1969. Integrated chemical control of insects and biological control of mites on apple in Washington. J. Econ. Entomol., 62: 74–86.

Huang, J., Lin, J., Zhou, M. & Bai, H. 2015. Construction of Genetically Engineered Strain Producing 5- Oxomilbemycin by Knocking Out milF in *Steptomyces hygroscopicus* HS023. Wei Sheng Wu Xue Bao Acta Microbiologica Sinica, 55 (1): 107–113.

Irigaray, F.J.S.C., Marco-Mancebón, V. & Pérez Moreno, I. 2003. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron: effects on the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Biological Control, 26 (2): 168–173.

Ishida, T., Suzuki, J., Tsukidate, Y. & Mori, Y. 1994. YI-5301, a novel oxazoline acaricide. Proceedings, Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases, BCPC; Farnham, Surrey, 37–44.

Janssen, A. 1999. Plants with spider-mite prey attract more predatory mites than clean plants under greenhouse conditions. Entomologia Experimentalis et Applicata, 90 (2): 191–198.

Jeppson, L.R., Keifer, H.H. & Baker, E.W. 1975. Mites injurious to economic plants. Univ. California Press. Berkeley, 614 págs.

Kabaluk, T. & Gazdik, K. 2004. Directory of Microbial Pesticides for Agricultural Crops in the OECD Countries. Agriculture and Agri-Food Canada.

Kennedy, G.G. & Smitley, D.R. 1985. Dispersal. En: W. Helle & M.W. Sabelis. (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Vol. 1A. Elsevier. Amsterdam, 233–242.

Kim, S.S. & Paik, C.H. 1996. Comparative toxicity of abamectin to the spider mites, *Tetranychus urticae* Koch and T. kanzawai Kishida (Acarina: Tetranychidae) and the predatory mite, *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acarina: Phytoseiidae). Korean J. Appl. Entomol., 35: 164–172.

Kim, S.S. & Yoo, S.S. 2002. Comparative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. BioControl, 47 (5): 563–573.

Kirby, W. & Spence, W. 1815. An Introduction to Entomology. Longman, Brown, Green and Longmans, London, 607 págs.

Koura, Y., Kinoshita, S., Takasuka, K., Koura, S., Osaki, N., Matsumoto, S. & Miyoshi, H.J. 1998. Respiratory inhibition of acaricide AKD-2023 and its deacetyl metabolite. Nihon Noyaku Gakkaishi. J. Pestic. Sci., 23: 18–21.

Krämer, W. & Schirmer, U. 2007. Modern Crop Protection Compounds. WILEY-VCH. Weinheim, 1302 págs.

Loria, R., Galaini S. & Roberts, D.W. 1983. Survival of inoculum of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* as influenced by fungicides. Environ. Entomol., 12: 1724–1726.

Lozzia, G.C. & Rota, P. 1988. Mites wintering on grapevines in Valtellina, North Italy. En: Commisino European Communities. (Eds.). Plant protection problems and prospects of integrated-control in viticulture. International Symposium. Lisboa, 219–223.

Lundqvist, L. 2013. Fauna Europaea: Phytoseiidae. Acari, Mesostigmata. Fauna Europaea versión 2.6.2 http://www.faunaeur.org.

MAGRAMA. 2013. Boletín mensual de Estadística. Junio, 34–35.

MAGRAMA. 2014. Anuario de estadística 2013. Madrid, 1095 págs.

MAGRAMA. 2014. Boletín mensual de Estadística. Marzo, 23–25.

Maniania, N., Bugeme, D., Wekesa, V., Delailibera, I., & Knapp, M. 2008. Role of entomopathogenic fungi in the control of *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), pests of horticultural crops. Experimental and Applied Acarology, 46: 259–274.

McMurtry, J.A. & Croft, B.A. 1997. Life-styles of phytoseiid mites and their role in biological control. Annu. Rev. Entomol., 42: 291–321.

McMurtry, J.A., & Rodríguez, J.G. 1987. Nutritional ecology of phytoseiid mites. En: F. Slasnky & J.G. Rodriguez. (Eds.). Nutritional ecology of insects, mites spiders and related invertebrates. New York: John Wiley & Sons, 609–644.

McMurtry, J.A., Huffaker, C.B. & Van de Vrie, M. 1970. Ecology of Tetranychid Mites and Their Natural Enemies: A review. Tetranychid enemies: Their Biological characters and the impact of spray practices. Hilgardia, 40 (11): 331–390.

Mishima, H. 1983. Milbemycin: a family of macrolide antibiotics with insecticidal activity, En: J. Miyamoto & P.C. Kearney. (Eds.). Pesticide Chemistry: Human Welfare and Environment, Proc. Int. Congr. Pestic. Chem. Vol 2, Pergamon Press, Oxford, U.K., 129–134.

Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 63: 95–103.

Moraes, G.J. & Flechtmann C.H.W. 2008. Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Editora Holos, Ribeirao Preto, 306 págs.

Moraes, G.J., McMurtry, J.A., Denmark, H.A. & Campos, C.B. 2004. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. Zootaxa, 434: 1–494.

Motoba, K., Suzuki, T. & Uchida, M. 1992. Effect of a new acaricide, fenpyroximate, on energy metabolism and mitochondrial morphology in adult female *Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite). Pesticide Biochemistry and Physiology, 43 (1): 37–44.

Muma, M.H. & Denmark, H.A. 1968. Some generic descriptions and name changes in the family Phytoseiidae (Acarina: Mesostigmata). Florida Entomologist, 51: 229–240.

Nauen, R. & Smagghe, G. 2006. Mode of action of etoxazole. Pest Management Science, 62: 379–382.

Nesbitt, H.H.J. 1951. A taxonomic study of the Phytoseiinae (family Laelaptidae) predaceous upon Tetranychidae of economic importance. Zoologische Verhandel ingen, 12: 1–64.

Neves, P.M.O.J., Hirose, E., Tchujo, P.T. & Moino, Jr.A. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. Neotrop. Entomol., 30: 263–268.

Newsom, L.D., Smith, R.F. & Whitcomb, W.H. 1976. Selective pesticides and selective use of pesticides. En: C.B. Huffaker & P.S. Messenger (Eds.). Theory and practice of biological control. New York: Academic Press, 565–591.

Ochiai, N., Mizuno, M., Mimori, N., Miyake, T., Dekeyser, M., Canlas, L.J. & Takeda, M. 2007. Toxicity of bifenazate and its principal active metabolite, diazene, to *Tetranychus urticae* and *Panonychus citri* and their relative toxicity to the predaceous mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*. Experimental and Applied Acarology, 43 (3): 181–197.

Olmert, I. & Kenneth, R.G. 1974. Sensitivity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. Environ. Entomol., 3: 33–38.

Onzo, A., Hanna, R. & Sabelis, M.W. 2012. The predatory mite *Typhlodromalus aripo* prefers green-mite induced plant odours from pubescent cassava varieties. Experimental & Applied Acarology, 58: 359–370.

Onzo, A., Hanna, R., & Sabelis, M.W. 2009. Within-plant migration of the predatory mite *Typhlodromalus aripo* from the apex to the leaves of cassava: response to day–night cycle, prey location and prey density. J. Insect. Behav., 22: 186–195.

Parrot, P.J., Hodgkiss, H.E. & Schoene, W.J. 1906. The Apple and pear mites. New York Agr. Exp. St. Bull., 283: 281–318.

Peña, M.A. 1985. Resultados preliminares de la lucha biológica con *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acariña: Phytoseiidae) contra *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en las Islas Canarias. Actas II Congreso Ibérico de Entomología. Lisboa, 2: 203–211.

Pérez Moreno, I. & Marco Mancebón, V.M. 2011. Importancia y uso de los ácaros fitoseidos (Acari, Phytoseiidae) en el manejo agroecológico de plagas. En: G.A. Aragón, D.G. Jiménez & M.L. Huerta. (Eds.). Manejo Agroecológico de sistemas. Vol. II. Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México, 69–92.

Pérez, C.N. 2004. Manejo Ecológico de Plagas. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. CEDAR, 296 págs.

Pérez-Moreno, I. 1997. Bioecologia de los ácaros en la vid. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, 187 págs.

Pimentel, D. 1985. Insect Pest Management. Antenn., 9: 168–171.

Popov, N.A. & Khudyakova, O.A. 1989. Development of *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae) fed on *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae) on various food plants. Acta. Entomol. Fenn., 53: 43–46.

Pozzebon, A. Duso, C., Tirello, P. & Bermudez Ortiz, P. 2011. Toxicity of thiamethoxam to *Tetranychus urticae* Koch and *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Tetranychidae,

Phytoseiidae) through different routes of exposure. Pest Management Science, 67(3): 352–359.

Putter, I., MacConnell, J.G., Preiser, F.A., Haidri, A.A., Ristich, S.S. &. Dybas, R.A. 1981. Avermectins: novel insecticides, acaricides, and nematocides from a soil microorganism. Experientia, 37: 963–964.

Rack, G. & Rilling, G. 1978. Über das Vorkommen der Modermilbe, *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) in Blatgallen der Reblaus, *Dactylosphaera vitifoli* Shimer. Vitis, 17: 54–66.

Rangel, A.F. 1901. Cuarto informe acerca del picudo del algodon (*Anthonomus grandis* I.C.Cu.). Bol. Comis. Parasitol. Agric., 1: 245–261.

Regev, S. & Cone, W.W. 1980. The monoterpene citronellol, as a male sex attractant of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae). Journal of Environmental Entomology, 9: 50–52.

Riley, C.V. 1874. Sixth Annual Report on the Noxious, Beneficial and Other Insects of the State of Missouri. Regan & Carter, Missouri.

Sabelis, M.W. & Dicke, M. 1985. Long-range dispersal and searching behaviour. En: W. Helle & M.W. Sabelis. (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier. Amsterdam. Vol. IB, 141–160.

Saito, Y. & Takahashi, K. 1980. Study on variation of *Schizotetranychus celarius* (Banks). Preliminary description of morphological and life type variation. Jap. J. Appl. Entomol. Zool., 24: 62–70.

Samson, R.A., Evans, H.C. & Latgé, J.P. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer, Verlag, Berlín, 187 págs.

Schausberger, P. 2003. Cannibalism among phytoseiid mites: a review. Experimental and Applied Acarology, 29: 173–191.

Schruft, G. 1985. Grape. En: W. Helle & M.W. Sabelis. (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier. Amsterdam. Vol. IB, 359– 366.

Schulten, G.G.M. 1985. Pseudo-arrhenotoky. En: W. Helle & M.W. Sabelis. (Eds.). World Crop Pests. Spider Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier. Amsterdam. Vol. IB, 67–71.

Seiedy, M., Saboori, A., Allahyari, H., Talaei-Hassanloui, R. & Torka, M. 2010. Laboratory investigation on the virulence of two isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the twospotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). International Journal of Acarology, 36 (6): 527–532.

Smith-Meyer, M.K.P. 1974. A revision of Tetranychidae (Acari) of Africa with a key to the genera of the world. Repub. S. Afr., Dep. Agric. Tech. Serv., Entomol. Mem., 36: 1–291.

Sparks, T. C. & Nauen, R. 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management, Pesticide Biochemistry and Physiology, 121: 122–128.

St. Leger, R.J., Alle, L.L., May, B. & Roberts, D.W. 1992. Worldwide distribution of genetic variation among isolates of *Beauveria* spp. Mycological Research, 96: 1007– 1015.

Sterk, G., Hassan, S.A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blümel, S., Bogenschutz, H., Boller, E., Bromand, B., Brun, J., Calis, J.N.M., Coremans Pelseneer, J., Duso, C., Garrido, A., Grove, A., Heimbach, U., Hokkanen, H., Jacas, J., Lewis, G., Moreth, L., Polgar, L., Roversti, L., Samsoe Petersen, L., Sauphanor, B., Schaub, L. & Staubli, A. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group ''Pesticides and Beneficial Organisms''. BioControl, 44: 99–117.

Tanada, Y. & Kaya, H.K. 1993. Insect Pathology. Academic Press, Inc. New York, 666 págs.

Todorova, S.I., Coderre, D., Duchesne, R.M. & Côté, J.C. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. Environ. Entomol., 27: 427–433.

Unión Europea. Directiva 2009/128/CE, de 21 de Octubre de 2009, por el que se establece el marco de la actuación comunitaria para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas. DOUE, 24 de noviembre de 2009, núm. 309, pp. 71 a 86.

Unión Europea. Reglamento 1107/2009/CE, de 21 de octubre de 2009, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios y por el que se derogan las Directivas 79/117/CEE y 91/414/CEE del Consejo. DOUE, 24 de noviembre de 2009, núm. 309, pp. 1 a 50.

Valentin, G. & Moncomble, D. 1988. Iteraction entre le desherbage du liseron et les migrations de l'acarien *Tetranychus urticae*. Le vigneron champenois, 5: 300–309.

Van de Vrie, M., McMurtry, J.A. & Huffaker, C.B. 1972. Ecology of Tetranychid mites and their natural enemies: a review. III. Biology, ecology and pest status, and host plant relations of Tetranychids. Hilgardia, 41: 343–432.

Van der Geest, L.P.S., Elliot, S.L., Breeuwer, J.A.J. & Beerling, E.A.M. 2000. Diseases of mites. Exp. Appl. Acarol., 24: 497–560.

Van Leeuwen, T., Van Pottelberge, S. & Tirry, L. 2007. Organophosphate insecticides and acaricides antagonise bifenazate toxicity through esterase inhibition in *Tetranychus urticae*. Pest Management Science, 63 (12): 1172–1177.

Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W. & Tirry, L. 2010. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. Insect Biochem. Mol. Biol., 40: 563–572.

Van Nieuwenhuyse, P., Van Leeuwen, T., Khajehali, J., Vanholme, B. & Tirry, L. 2009. Mutations in the mitochondrial cytochrome b of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) confer cross-resistance between bifenazate and acequinocyl. Pest Management Science, 65 (4): 404–412.

Vargas, R.M, Olivares, N.P., Natalia, & Cardemil A.O. 2005. Postembryonic Development and Life Table Parameters of *Typhlodromus pyri* Scheuten, *Cydnodromus californicus* (McGregor) (Acarina: Phytoseiidae) and *Brevipalpus chilensis* Baker (Acarina: Tenuipalpidae). Agricultura Técnica, 65 (2): 147–156.

Veerman, A. 1992. Diapause in phytoseiid mites: a review. Exp. & Appl. Acarol., 14: 1–60.

Wachendorff, U., Bruck, E., Elbert, A., Fischer, R., Nauen, R., Stumpf, N. & Tiemann, R. 2000. BAJ2740, a novel broad spectrum acaricide. Proc. Brighton Crop Pro.t Conf. Pests Dis., BCPC, Farnham, Surrey, UK, 53–58.

Weber, M. 1991. Acariens: les «bons» et les «ménschants». Viti., 160: 31–35

Webster, F.M. 1910. A predaceous and supposedly beneficial mite, Pediculoides, becomes noxious to man. Ann. Entomol. Soc. Am., 3: 15–39.

Wekesa, V.W., Knapp, M., Maniania, N.K. & Boga, H.I. 2006. Effects of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on mortalitiy, fecundity and egg fertility of *Tetranychus evanse*. Journal of Applied Entomology, 130: 155–190.

Zhang, Z.Q. 1995. Variance and covariance of ovipositional rates and developmental rates in the Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata): A phylogenetic consideration. Exp. & App. Acarol., 22: 139–155.

Capítulo II

Efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*

- **Introducción**
- **Objetivos**
- **Material y métodos**
- **Resultados**
- **Discusión**

Capítulo II. Efectos secundarios de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*

Introducción: *Typhlodromus pyri* Scheuten, 1857

Taxonomía, biología y morfología

A continuación se indica la clasificación taxonómica extraída de la base de datos Fauna Europaea (Lundqvist, 2013):

Familia Phytoseiidae

Genero *Typhlodromus*

Especie *pyri*

El motivo por el que se eligió *T. pyri* para el presente trabajo fue el hecho de ser la especie de fitoseido considerada internacionalmente como de referencia para estudios ecotoxicológicos y por su demostrado efecto en el control de ácaros tetraníquidos y eriófidos en diferentes cultivos, como es el caso de la vid (Pérez Moreno & Moraza, 1997).

T. pyri es una especie bastante polífaga, que prefiere ambientes frescos y que se alimenta, fundamentalmente, de tetraníquidos, eriófidos, tideidos, polen y secreciones vegetales, pudiendo habitar sobre frutales, otras leñosas, hortícolas y otras herbáceas (Ferragut *et al.*, 2010).

Los primeros éxitos con este depredador se obtuvieron en cultivo de manzano para el control de *P. ulmi*. Evidentemente, la integración de plaguicidas selectivos con el ácaro depredador, es clave para el éxito de estos programas. Otra de las características que favorecen su uso en el control biológico, es el rápido desarrollo de resistencias por parte de *T. pyri*, cualidad que ha hecho también de *G. occidentalis* un referente en el control de ácaros en almendros de California. En vid, algunos estudios han demostrado el potencial de este ácaro para el control de *P. ulmi* y *Eotetranychus carpini* (Duso & Pasqualetto, 1993; Delbac *et al.*, 1996).

T. pyri ha sido citado en cultivos de las provincias de Lleida, Girona, Barcelona, Tarragona, Valencia, Granada, Pontevedra, Orense, Lugo y La Rioja (Ferragut *et al.*, 2010). Se caracteriza por disponer de una placa dorsal completamente reticulada, de 310-332 µm de longitud por 160-170 µm de anchura, con 17 pares de setas dorsales finas y agudas, excepto Z4 y Z5, que son serradas, siendo Z5 la de mayor longitud. Las setas r3 y R1 son similares. Posee 3 pares de solenostomas dorsales: gd2, gd6 y gd9.

El peritremo alcanza la seta j3 o entre j3-z2. La placa esternal es, aproximadamente, tan larga como ancha y con el margen posterior sinuoso o lobulado, presentando dos pares de setas. La placa genital es más estrecha que la ventroanal (69-72µm). Esta última tiene forma de escudo, de 94-109 µm de longitud por 85-96 µm de anchura, con el margen superior ligeramente convexo y los laterales cóncavos, superficie reticulada, con cuatro pares de setas preanales y sin solenostomas. Alrededor de la placa hay cuatro pares de setas. El cáliz de la espermateca tiene forma de copa alargada y un cuello estrecho entre cáliz y atrio. Sobre la pata IV hay una macroseta en el tarso de 35-40 µm (Ferragut *et al.*, 2010) (Figura 26).

Figura 26. Fotografías tomadas al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de una hembra de *Typhlodromus pyri* en posición dorsal y ventral, procedente de la colonia utilizada en los bioensayos.

Typhlodromus pyri y los acaricidas

Durante los últimos 30 años, ha sido habitual buscar líneas de fitoseidos resistentes a los fitosanitarios de uso más frecuente (Wearing, 2014; Wearing *et al.*, 2014a; Wearing *et al.*, 2014b).

Hasta el año 2000 se describieron numerosas resistencias de *T. pyri* a diferentes plaguicidas: metil-azinfos, carbaril, clorpirifos, DDT, demetón-S-metil, dinocap, fenitrotión, fenvalerato, paratión, metil-paratión, fosalone, propoxur, vamidotión (Kreiter *et al.*, 1998; Vidal & Kreiter, 1995; Cranham *et al.*, 1983; Hoyt, 1972; Kapetanakis & Cranham, 1983; Markwick, 1993; Van de Baan *et al.*, 1985; Watve & Lienk, 1976; Wearing & Ashley, 1978; Gruys, 1980).

Las líneas más estudiadas han sido aquellas que han mostrado resistencia a piretroides (Bowie *et al.*, 2001; Hardman *et al.*, 2007; Hardman *et al.*, 2000; Pogoda *et al.*, 2001), a organofosforados (Fitzgerald *et al.*, 2000), a organofosforados y piretroides conjuntamente (Hardman *et al.*, 1997; Marshall *et al.*, 2001), y a mancozeb, un fungicida cuyo uso está muy extendido en viñedos (Auger *et al.*, 2004, Pozzebon *et al.*, 2002).

En cualquier caso, la aparición de materias activas cada vez más selectivas ha cambiado la tendencia anterior de buscar líneas de *T. pyri* resistentes a los acaricidas por la de buscar productos y prácticas agrícolas compatibles con estos depredadores (Berrie & Cross, 2000; Bostanian *et al.*, 2006; Easterbrook *et al.*, 1985; Easterbrook, 1992; Hu, 1996; Mercier *et al.*, 2000; Otto *et al.*, 2009; Solomon *et al.*, 1993a; Solomon *et al.*, 1993b; Thwaite *et al.*, 1996).

Dentro de las investigaciones existentes en esa línea, no hay muchos estudios destinados a evaluar la compatibilidad de los acaricidas utilizados en este estudio y *T. pyri*. De hecho, respecto a bifenazato, etoxazol, fenpiroximato y spiromesifén, hasta donde llega nuestro conocimiento, no se ha generado información relevante que involucre a *T. pyri* con alguno de estos cuatro acaricidas.

Por otro lado, el acequinocyl fue evaluado por Wearing (2014) en Nueva Zelanda en cultivo de manzano, obteniendo como resultado, que era un acaricida selectivo puesto que su efecto tóxico era menor al obtenido para *Panonychus ulmi*.

El spirodiclofén está clasificado por la IOBC como clase 2 (ligeramente perjudicial) para *T. pyri* y, en base a ensayos realizados en Bélgica sobre manzanos, parece ser compatible con el fitoseido en IPM (De Maeyer & Geerink, 2009).

Por su parte lado, Hardman *et al*. (2003), también sobre manzanos, pero esta vez en Canadá, encontró que a dosis de 180 y 240 g/ha la toxicidad de spirodiclofén era idéntica para *T. pyri* y para el ácaro fitófago *P. ulmi*, mientras que la abamectina resultó ser más tóxica para el fitófago que para el fitoseido, por lo que se la consideró favorablemente selectiva.

Cuatro años más tarde, Hardman *et al*. (2007) realizó un ensayo en tres cultivos de manzanos con antecedentes de problemas provocados por *T. urticae*, que fueron inoculados con una línea de *T. pyri* resistente a los piretroides, corroborando que la aplicación de acaricidas respetuosos con *T. pyri,* como la abamectina, aportaba mejor control sobre *T. urticae* que el uso de piretroides, aún con poblaciones resistentes. También constató que la presencia de presa era otro factor que condicionaba sus poblaciones y que en ausencia de esta, no solo competía con otros fitoseidos especialistas, sino que se alimentaba de sus estados juveniles, lo que hace que sea difícil que exista abundancia de un fitoseido especialista, como *Neoseiulus fallacis*, cuando escasean las presas y abunda un fitoseido generalista como *T. pyri*.

Objetivos

En este capítulo, el objetivo general ha sido evaluar la idoneidad de varios acaricidas de nueva generación para ser incorporados a estrategias de IPM en las que *Typhlodromus pyri* sea uno de los enemigos naturales a respetar.

En concreto, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Analizar la influencia de la forma de exposición de los acaricidas abamectina, acequinocyl, bifenazato, etoxazol, fenpiroximato, spirodiclofén y spiromesifén en sus efectos secundarios sobre *T. pyri*.

2. Evaluar el efecto residual a lo largo del tiempo de estos acaricidas sobre *T. pyri*, cuando el ácaro se expone a superficies tratadas.

3. Estudiar el efecto de los acaricidas mencionados sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*.

4. Determinar de efecto en campo de los acaricidas anteriores sobre las poblaciones de *T. pyri*.

Material y Métodos

Para evaluar los efectos secundarios de los acaricidas de nueva generación sobre *T. pyri* fue necesaria su cría masiva en laboratorio y la realización de una serie de bioensayos cuya metodología se describe a continuación. Tanto la cría como los bioensayos se llevaron a cabo en una cámara climatizada, a una temperatura de 24 ± 1 ^{o}C, una humedad relativa de 60 ± 5 % y un fotoperiodo de 16:8 (L:O).

Cría masiva de ácaros en laboratorio

Para la disposición de los individuos necesarios en los bioensayos fue necesaria la cría masiva de *T. pyri* y de *T. urticae,* este último utilizado como alimento del fitoseido.

Cría masiva de *Typhlodromus pyri*

La población criada en el laboratorio se inició a partir de hembras recolectadas en un viñedo de la variedad Glera de la zona montañosa de Treviso (Italia) y facilitadas por Alberto Pozzebon (*Università degli Studi di Padova*). Este viñedo recibía anualmente uno o dos tratamientos de insecticidas (principalmente, organofosforados, benzoylureas y/o neonicotinoides) y en torno a 10 tratamientos por campaña de fungicidas (mayoritariamente formulaciones basadas en cobre y fungicidas EBDC (etilen-bisditiocarbamatos)).

El método de cría utilizado no solo debía permitir tener una cantidad elevada de individuos viables, sino que además debía evitar su huida. Las técnicas convencionales para criar ácaros en recintos descritos como los descritos por McMurtry & Scriven (1965 y 1975) implican el uso de una superficie impermeable, preferentemente de color negro para favorecer la visibilidad de los ácaros, un recinto que los mantenga confinados, pero que permita que el ambiente este ventilado, y un aporte de humedad y de alimento constante. Para ello, se utilizaron discos de cartulina negra, de 11,5 cm de diámetro, impermeabilizados con parafina, en cuya superficie endurecida se realizaron estrías que sirvieran como refugio para los ácaros. Estos discos, se rodearon de algodón empapado en agua para aportar humedad y dificultar la huida de los fitoseidos, y se introdujeron en cajas prismáticas de plástico de 14,5 x 14,5 x 4,5 cm, en cuya tapa se practicó una abertura de 1 dm^2 para favorecer la aireación, que fue posteriormente cubierta con tela de visillo para dificultar la salida de los ácaros (Figura 27).

Figura 27. Recintos utilizados para cría de *Typhlodromus pyri*.

La alimentación de la colonia se llevó a cabo añadiendo regularmente individuos de *T. urticae,* de cualquier estado de desarrollo, y polen fresco multifloral. Para introducir los individuos de *T. urticae* en la colonia, se usaron discos de hoja de alubia (*Phaseolus vulgaris*) de 1,5 cm de diámetro, o foliolos enteros totalmente colonizados por el ácaro fitófago. Este material vegetal, además, servía a *T. pyri* como refugio y lugar de puesta de sus huevos.

Cría masiva de *Tetranychus urticae*

Los individuos de *T. urticae* utilizados como alimento para la cría de *T. pyri*, así como para el desarrollo de los ensayos con el fitoseido, procedían de una colonia mantenida en el laboratorio de Protección de Cultivos de La Universidad de La Rioja.

La cría de *T. urticae* (Figura 28) se llevó a cabo sobre plantas de alubia de la variedad Garrafal, cultivadas en ausencia de plaguicidas, en cajas prismáticas de plástico transparente, de 34 x 29 x 35 cm, cubiertas con tela de visillo y precintadas con cinta velcro. Las cajas se mantuvieron en el laboratorio a temperatura ambiente y un fotoperiodo 16:8 (L:O). Las plantas de alubia infestadas se sustituían periódicamente por plantas nuevas con el fin de garantizar la disponibilidad constante de alimento para los fitófagos.

Figura 28. Recintos utilizados para la cría masiva de *Tetranychus urticae*.

Bioensayos: evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *T. pyri*

En este apartado, se describe la metodología de los bioensayos realizados para evaluar diferentes efectos secundarios de los acaricidas objeto de este estudio sobre *T. pyri*.

Se evaluó el efecto de estos compuestos en función de su forma de exposición, de su actividad residual, de su repercusión sobre la capacidad depredadora, y de su toxicidad en condiciones de campo sobre poblaciones naturales.

Influencia de la forma de exposición en los efectos secundarios de los acaricidas sobre *T. pyri*

Se ensayaron cuatro vías diferentes de exposición (Figura 29): 1) peor situación posible (PSP); 2) ingestión de alimento tratado (AT); 3) contacto directo (CD); y 4) superficie tratada (ST). En PSP se trataron las hembras de *T. pyri*, el alimento (polen y los individuos de *T. urticae* suministrados) y los discos de hoja de judía utilizados como sustrato; en AT únicamente se trató el alimento; en CD tan solo las hembras de *T. pyri*; y en ST solo el disco de hoja de judía.

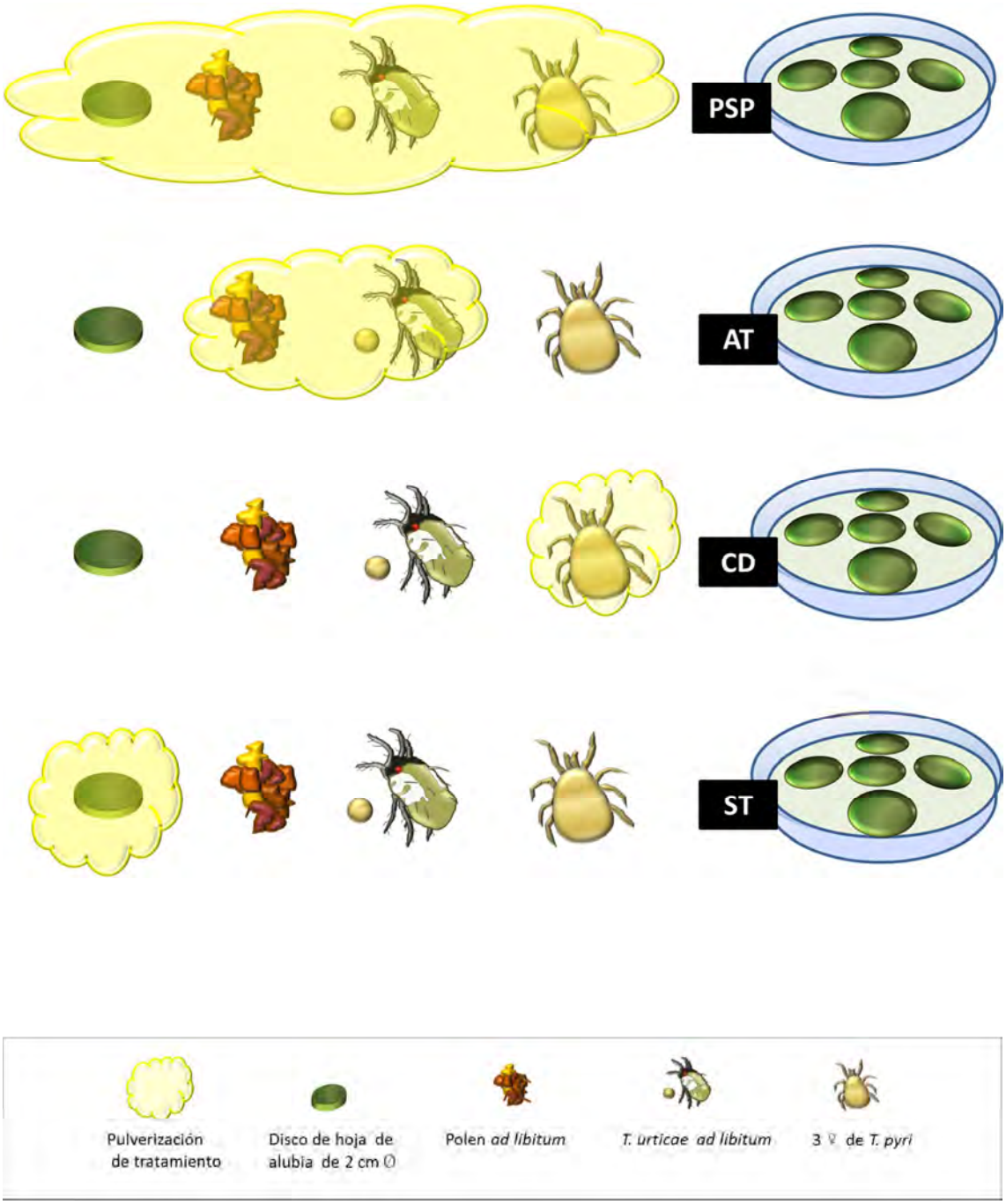

Figura 29. Diferentes formas de exposición a los tratamientos acaricidas, por parte de *Typhlodromus pyri*: peor situación posible (PSP), alimento tratado (AT), contacto directo (CD) y superficie tratada (ST).

Materiales

Los productos comerciales y las concentraciones utilizadas para la evaluación de los efectos secundarios de los acaricidas sobre *T. pyri*, en función de la forma de exposición, se recogen en la tabla 9.

Ingrediente activo	Nombre comercial	% riqueza y tipo de formulación	Concentración de materia activa (ppm)	Concentración de producto (ml/l o g/l)
Abamectina	[a] Vertimec®	1,8 SC	27,00	1,50
Acequinocyl	[b] Kanamite®	15,8 SC	158,00	1,00
Etoxazol	[c] Borneo®	11 SC	35,20	0,32
Fenpiroximato	[d] Fujimite®	5 EC	20,00	0,40
Spirodiclofén	[e] Envidor®	22,3 SC	71,36	0,32
Spiromesifén	[e] Oberon®	22,9 SC	458,00	2,00

[a]Syngenta Agro S.A. Madrid España, [b]Arysta LifeScience S.A. Valdostia EEUU, [c]Kenogard S.A. Barcelona España, [d]Nichino America Inc. Delaware EEUU, [e]Bayer CropScience S.L. Valencia España.

Tabla 9. Características de los acaricidas y concentraciones utilizados en los bioensayos.

Los individuos de *T. urticae* utilizados como alimento y las hembras de *T. pyri* empleados en esto bioensayo, procedían de las colonias permanentes, mencionadas en este mismo capítulo.

Las plantas de alubia de las que se extrajeron las hojas para realizar el bioensayo fueron cultivadas en una cámara de crecimiento visitable, en condiciones controladas de temperatura 24 ± 1°C, humedad relativa 60 ± 5 %, y fotoperiodo 16:8 (L:O), en ausencia de productos fitosanitarios.

El polen utilizado como alimento fue polen fresco multifloral, utilizado habitualmente como alimento para abejorros. Este polen fue conservado congelado y se iba descongelando a medida que iba siendo necesario.

Recintos experimentales

Cada recinto experimental consistió en una placa de Petri de 90 mm de diámetro, con tres capas de papel de filtro humedecido en su base sobre la que se colocaron cinco discos de hoja de judía, de 20 mm de diámetro (cortados con la ayuda de un sacabocados) (Figura 30).

Sobre cada disco de hoja se colocaron tres hembras adultas de *T. pyri*, de edades heterogéneas, junto con alimento *ad libitum* en forma de polen y de diferentes estados y estadios de desarrollo de *T. urticae*.

Tanto el polen como los ácaros fueron transferidos a los discos de hoja con la ayuda de un pincel de pelo de camello.

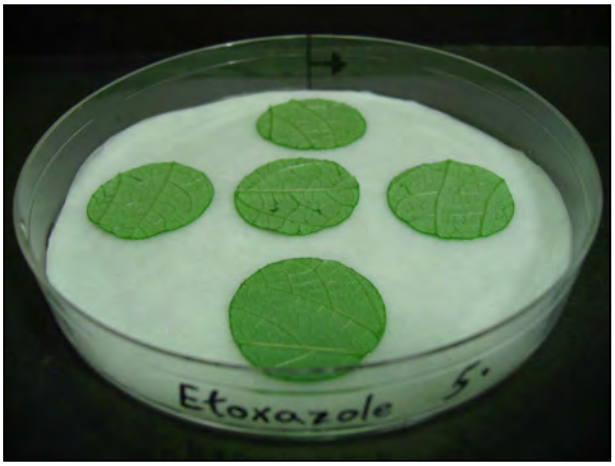

Figura 30. Recinto experimental y disposición de los discos de hoja en el bioensayo de evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*.

Tratamientos

Puesto que el objetivo de este bioensayo era el de evaluar el efecto de las diferentes vías de exposición del fitoseido a los acaricidas, en la tabla 10 se muestran los elementos que fueron tratados en cada situación y sus particularidades correspondientes.

Peor situación posible (PSP)	Se colocaron los ácaros y el polen en los discos de hoja, y se trató todo el conjunto.
Alimento tratado (AT)	Se trató el alimento que iba a ofrecerse a *T. pyri* y, una vez seco, se trasladó a los recintos libres del producto, en los que se introdujeron las hembras de *T. pyri.*
Contacto directo (CD)	Se trataron las hembras de *T. pyri* y una vez secas se transfirieron a los discos de hoja con alimento, ambos sin tratar.
Superficie tratada (ST)	Se trataron los discos de hoja y una vez secos se trasladaron las hembras adultas de *T. pyri* y el alimento, ambos sin tratar.

Tabla 10. Tratamientos y particularidades de cada uno de ellos en el bioensayo de evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*.

Los tratamientos con los caldos correspondientes y con agua destilada, en el caso del control, se realizaron mediante torre para pulverizaciones de presión en laboratorio de tipo Potter, de carga manual, llenando el depósito con 5,5 ml de caldo y regulando la presión a 20 kPascales, lo que produjo un depósito de 0,005 ± 0,0004 ml de caldo/cm^2, que equivale a una aplicación de 520 l/ha (resultado de calibración de Torre de Potter en anexo I).

Tras los tratamientos, se añadió agua suficiente en los recintos experimentales como para hacer flotar los discos y evitar la huida de los ácaros. Posteriormente, se colocó una tira de bayeta absorbente, de 5 x 1 cm, sujeta al borde del recinto con un clip y cada recinto se introdujo en una caja cilíndrica de plástico, de 11,5 cm de diámetro y 5 cm de altura, provista de agua con el fin de mantener la humedad (Figura 31).

Para cada tratamiento se utilizaron, al menos, 10 repeticiones (2 placas de Petri con 5 discos de hoja de alubia cada una).

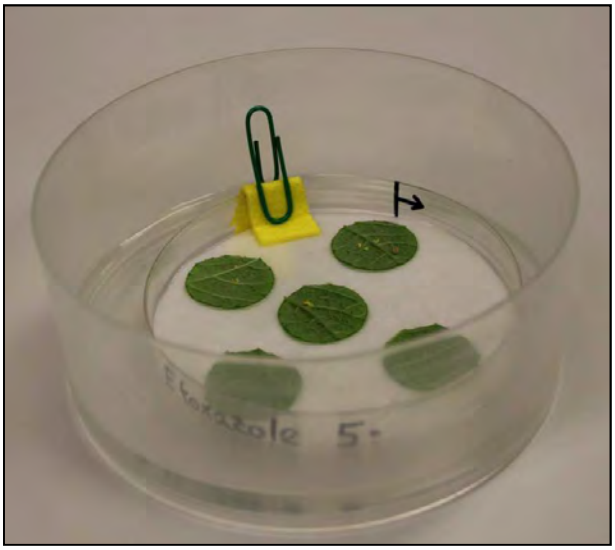

Figura 31. Recinto experimental tratado y colocado en el interior de una caja provista de agua, utilizado en el bioensayo de evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*.

Toma de datos

Cada 24 horas y durante tres días, se anotó el número de individuos muertos y el de huevos ovipositados. Además, se calculó la fertilidad de los huevos mediante los datos de eclosión obtenidos al cabo de una semana tras su puesta.

Análisis estadístico

Las medias de los resultados de mortalidad, fecundidad y fertilidad obtenidas para los adultos de *T. pyri* en el control y en los diferentes tratamientos fueron comparadas mediante el test F de Análisis de Varianza (ANOVA), seguido del test de comparaciones múltiples LSD. Se consideró un nivel de significación del 5% (α = 0,05).

También se calculó el índice de efecto total de cada producto (E) mediante la fórmula desarrollada por Overmeer & Van Zon (1982):

$$\mathrm{E}(\%) = 100 - (100 - \mathrm{M}) \times \mathrm{R}$$

Siendo:

M = Mortalidad corregida Abbott (Abbott 1925):

$$\mathrm{M} = \frac{\mathrm{M}_{\mathrm{Tr}}(\%) - \mathrm{M}_{\mathrm{Te}}(\%)}{100 - \mathrm{M}_{\mathrm{Te}}(\%)} \times 100$$

Donde:

M_{Tr} = Porcentaje de mortalidad en el tratamiento.

M_{Te}= Porcentaje de mortalidad en control.

R = reproducción hembra tratada/ reproducción hembra control.

Donde: Reproducción de la hembra = (huevos/hembra) x eclosión(%).

Actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri*

Para medir la actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri*, se trataron plantas de alubia verde y se expusieron hembras del fitoseido a los residuos presentes en sus hojas transcurridos diferentes intervalos de tiempo (Figura 32).

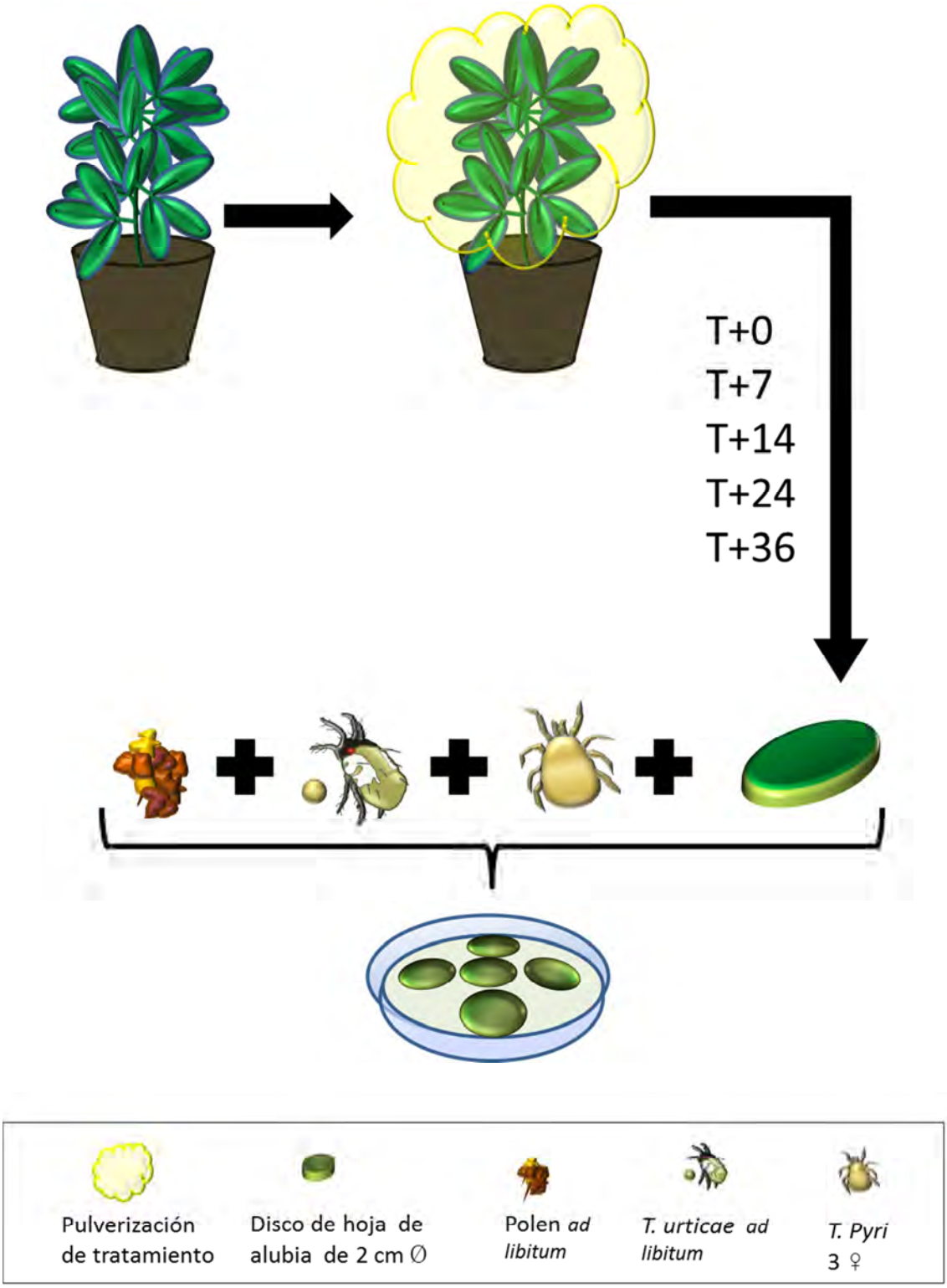

Figura 32. Desarrollo del bioensayo sobre la actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri* y composición de cada recinto experimental.

Los productos comerciales y las concentraciones utilizadas para la evaluación del efecto residual de los acaricidas ensayados sobre *T. pyri* se recogen en la tabla 11.

Ingrediente activo	Nombre comercial	% riqueza y tipo de formulación	Concentración de materia activa (ppm)	Concentración de producto (ml/l o g/l)
Abamectina	[a] Vertimec®	1,8 SC	27,00	1,50
Acequinocyl	[b] Kanamite®	15,8 SC	158,00	1,00
Etoxazol	[c] Borneo®	11 SC	35,20	0,32
Fenpiroximato	[d] Fujimite®	5 EC	20,00	0,40
Spiromesifén	[e] Oberon®	22,9 SC	458,00	2,00

[a]Syngenta Agro S.A. Madrid España, [b]Arysta LifeScience S.A. Valdostia EEUU, [c]Kenogard S.A. Barcelona España, [d]Nichino America Inc. Delaware EEUU, [e]Bayer CropScience S.L. Valencia España.

Tabla 11. Características de los acaricidas y concentraciones utilizadas para valorar su efecto residual sobre *Typhlodromus pyri*.

El origen del polen y de los individuos de *T. urticae* utilizados como alimento, y de las hembras de *T. pyri* objeto del estudio, fue el mismo que en el bioensayo anterior.

Las plantas de alubia utilizadas en este ensayo fueron cultivadas al aire libre durante los meses de agosto, septiembre y octubre (condiciones agroclimáticas del ensayo en el anexo II) y tratadas con los productos acaricidas objeto de este estudio y con agua destilada en el caso del control.

Tratamientos

Para cada producto acaricida se trató una maceta con cinco plantas de alubia con, al menos, doce hojas verdaderas, utilizando un pulverizador de mano, de 200 ml de capacidad, con 100 ml de caldo, hasta alcanzar el punto de goteo. Para el control se trató con agua destilada.

Las mezclas de los diferentes tratamientos se realizaron con agua destilada como excipiente.

Recintos experimentales

En este caso, se utilizaron los mismos recintos experimentales que en el bioensayo anterior, pero los discos de hoja de alubia procedían de las plantas previamente tratadas (Figura 33). Las hojas utilizadas se tomaron en los siguientes momentos: inmediatamente después del tratamiento, cuando las hojas estuvieron secas (T+0), y tras 7 (T+7), 14 (T+14), 24 (T+24) y 36 (T+36) días.

En cada disco de hoja se colocó, con ayuda de un pincel de pelo camello, alimento *ad libitum* (polen e individuos en diferentes estados y estadios de *T. urticae*) y tres hembras adultas de edades heterogéneas de *T. pyri*.

Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento y momento tras la aplicación.

Toma de datos

Durante los 36 días que se prolongó el bioensayo se determinó, para cada momento de tiempo seleccionado, la mortalidad de las hembras de *T. pyri* a los tres días, el número de huevos puestos y su porcentaje de eclosión.

Análisis estadístico

Las medias de los resultados de mortalidad, fecundidad y fertilidad obtenidas para los adultos de *T. pyri* en el control y en los diferentes tratamientos fueron comparadas mediante el test F de Análisis de Varianza (ANOVA), seguido del test de comparaciones múltiples LSD. Se consideró un nivel de significación del 5% (α = 0,05).

Evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*

Se evaluó el efecto de los acaricidas sobre la capacidad de consumo de huevos de *T. urticae* por parte de *T. pyri.* Para ello, hembras adultas del fitoseido tratadas con cada uno de los acaricidas fueron transferidas a discos de hoja de alubia y que presentaban diferentes densidades de huevos de *T. urticae* (Figura 33).

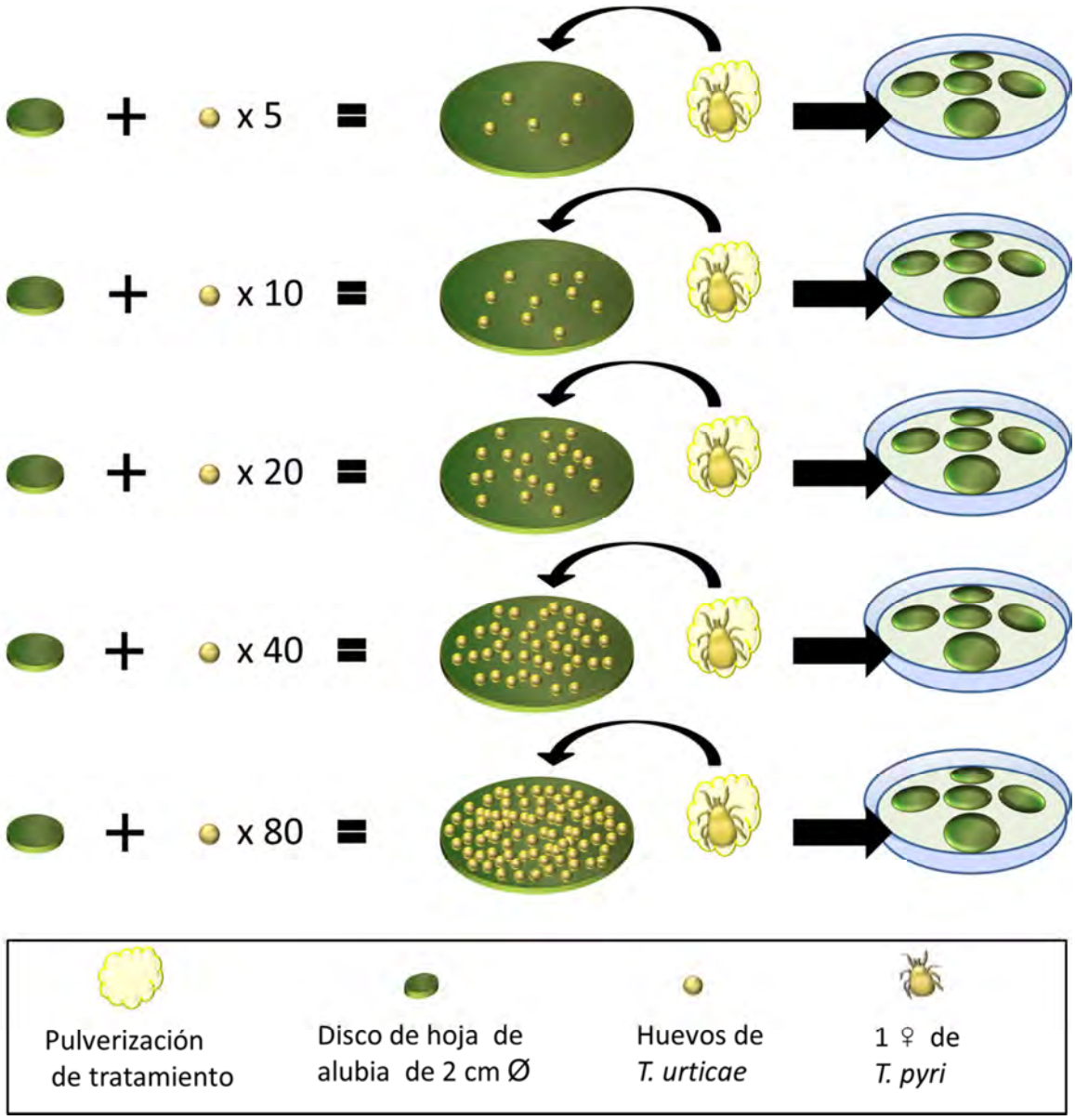

Figura 33. Desarrollo del ensayo sobre la evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*.

Los productos comerciales, los ingredientes activos y las concentraciones utilizadas para cada acaricida en este bioensayo se recogen en la tabla 12.

Ingrediente activo	Nombre comercial	% riqueza y tipo de formulación	Concentración de materia activa (ppm)	Concentración de producto (ml/l o g/l)
Acequinocyl	[b] Kanamite®	15,8 SC	158,00	1,00
Bifenazato	[c] Acramite®	50 WS	830,00	1,66
Etoxazol	[c] Borneo®	11 SC	35,20	0,32
Fenpiroximato	[d] Fujimite®	5 EC	20,00	0,40
Spirodiclofén	[e] Envidor®	22,3 SC	71,36	0,32
Spiromesifén	[e] Oberon®	22,9 SC	458,00	2,00

[a]Syngenta Agro S.A. Madrid España, [b]Arysta LifeScience S.A. Valdostia EEUU, [c]Kenogard S.A. Barcelona España, [d]Nichino America Inc. Delaware EEUU, [e]Bayer CropScience S.L. Valencia España.

Tabla 12. Características de los acaricidas y concentraciones utilizados para valorar su efecto sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*.

Recintos experimentales

Sobre cada disco de hoja se colocó una hembra adulta de *T. pyri* tratada directamente con acaricida o con agua destilada, en el caso del control. A cada hembra se le ofreció, como alimento, una de las cinco densidades de huevos de *T. urticae* ensayadas: 5, 10, 20, 40 u 80 huevos.

Para obtener estas densidades, en las 24 horas previas al inicio del ensayo se transfirieron hembras de *T. urticae* a cada disco de hoja de alubia y fueron retiradas cuando habían puesto el número suficiente de huevos, en cada caso.

Todos los ácaros fueron manejados con la ayuda de un pincel de pelo de camello.

Tratamiento

Las hembras adultas de *T. pyri* utilizadas en el ensayo fueron mantenidas en estarvación durante 12 horas para estimular su apetito. En todos los tratamientos se utilizó agua destilada como excipiente y el caldo se aplicó directamente sobre las hembras mediante una torre para pulverizaciones de precisión en laboratorio tipo Potter, de forma idéntica a la ya descrita. El control fue tratado solo con agua destilada.

Toma de datos

El ensayo se prolongó durante 24 horas, tras las cuales se anotó el número de huevos consumidos por cada hembra.

Se realizaron 10 repeticiones por cada tratamiento y el control.

Análisis estadístico

Se compararon las medias de huevos consumidos en los diferentes tratamientos y el control mediante el test F de Análisis de la Varianza (ANOVA), seguido por el test de comparaciones múltiples LSD. Se consideró un nivel de significación del 5% ($\alpha = 0,05$). Para calcular la eficacia se utilizó la fórmula de Abbot (Abbot, 1925).

Evaluación en campo del efecto de los acaricidas sobre *T. pyri*

Los productos comerciales, los ingredientes activos y las concentraciones utilizadas para evaluar el efecto de los acaricidas ensayados sobre poblaciones de campo de *T. pyri*, se recogen en la tabla 13.

Ingrediente activo	Nombre comercial	% riqueza y tipo de formulación	Concentración de materia activa (ppm)	Concentración de producto (ml/l o g/l)
Abamectina	[a] Vertimec®	1,8 SC	27,00	1,50
Acequinocyl	[b] Kanamite®	15,8 SC	158,00	1,00
Bifenazato	[c] Acramite®	50 WS	830,00	1,66
Etoxazol	[c] Borneo®	11 SC	35,20	0,32
Fenpiroximato	[d] Fujimite®	5 EC	20,00	0,40
Spiromesifén	[e] Oberon®	22,9 SC	458,00	2,00

[a]Syngenta Agro S.A. Madrid España, [b]Arysta LifeScience S.A. Valdostia EEUU, [c]Kenogard S.A. Barcelona España, [d]Nichino America Inc. Delaware EEUU, [e]Bayer CropScience S.L. Valencia España.

Tabla 13. Características de los acaricidas y concentraciones utilizados para evaluar el efecto sobre poblaciones naturales de *T. pyri*.

El ensayo se realizó en un viñedo de la variedad tempranillo, con sistema de conducción en vaso y situado en la localidad riojana de Cenicero (Figura 34).

Figura 34. Imagen de la parcela.

Previo al ensayo, se realizaron tres muestreos para constatar la presencia de *T. pyri* (Figura 35) en la parcela y, por tanto, su idoneidad llevar a cabo el bioensayo. Estos muestreos se realizaron durante los días 19 y 31 de julio, y 12 de agosto de 2010. Para llevarlos a cabo se seleccionaron nueve filas de la parcela y se tomaron cinco hojas de cada fila. El procesamiento de las hojas muestreadas se realizó como se describe más adelante.

Figura 35. Imagen de una hembra de fitoseido sobre el envés de una hoja de vid de la variedad Tempranillo.

Diseño experimental

Una vez comprobado, mediante identificación al microscopio de los ejemplares capturados, que la especie de fitoseido dominante en la parcela era *T. pyri*, se definieron los bloques en los que se llevarían a cabo los diferentes tratamientos, realizando un diseño experimental en bloques incompletos al azar, quedando la distribución en la parcela tal y como se muestra en la figura 36.

Cada bloque estuvo formado por cinco cepas y se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento lo que dio lugar a un total de 24 bloques.

Cepas						
36						
35						
34					3.2	
33					3.2	
32					3.2	5.1
31				2.3	3.2	5.1
30		5.4		2.3	3.2	5.1
29		5.4		2.3	2.2	5.1
28		5.4		2.3	2.2	5.1
27		5.4		2.3	2.2	4.1
26		5.4	7.3	1.3	2.2	4.1
25		—	7.3	1.3	2.2	4.1
24		—	7.3	1.3	2.2	4.1
23		—	7.3	1.3	—	4.1
22		4.4	7.3	1.3	—	3.1
21		4.4	6.3	7.2	—	3.1
20		4.4	6.3	7.2	—	3.1
19		4.4	6.3	7.2	1.2	3.1
18		4.4	6.3	—	1.2	3.1
17		3.4	6.3	7.2	1.2	—
16		3.4	5.3	7.2	1.2	—
15		3.4	5.3	6.2	1.2	—
14		3.4	5.3	6.2	7.1	—
13		3.4	5.3	6.2	7.1	2.1
12		—	5.3	6.2	7.1	2.1
11	7.4	—	4.3	6.2	7.1	2.1
10	7.4	2.4	4.3	5.2	7.1	2.1
9	7.4	2.4	4.3	5.2	—	2.1
8	7.4	2.4	4.3	5.2	—	1.1
7	7.4	2.4	4.3	5.2	—	1.1
6	6.4	2.4	4.3	5.2	6.1	1.1
5	6.4	1.4	3.3	4.2	6.1	1.1
4	6.4	1.4	3.3	4.2	6.1	1.1
3	6.4	1.4	3.3	4.2	6.1	—
2	6.4	1.4	3.3	4.2	6.1	
1	—	1.4	3.3	4.2	—	—
Fila	6	5	4	3	2	1

1	Control	
2	Abamectina	
3	Fenpiroximato	
4	Etoxazol	
5	Spiromesifén	
6	Acequinocyl	
7	Bifenazato	

Repetición

Tratamiento

Figura 36. Distribución de los bloques de cada tratamiento, con sus correspondientes repeticiones en la parcela experimental.

Tratamiento

Dado que algunos fungicidas pueden limitar la presencia de ácaros, tanto depredadores como fitófagos, los tratamientos se realizaron el día 19 de agosto, una vez cesadas las aplicaciones con dichos fungicidas por parte del agricultor.

Los tratamientos se realizaron con un pulverizador hidráulico de mochila Matabi®, distribuyendo, para cada uno de ellos, diez litros de caldo repartidos entre las cepas de las cuatro repeticiones, mojando totalmente cada una hasta alcanzar el punto de goteo.

Toma de muestras

El primer muestreo se realizó previamente al tratamiento, el mismo día en el que éste fue realizado. El siguiente muestreo se llevó a cabo una semana después.

Posteriormente, solo en aquellos tratamientos en los que se observó efecto negativo sobre la población del fitoseido, se continuó muestreando durante dos semanas más, hasta el 9 de septiembre.

Cada muestra consistió en seis hojas procedentes de las tres cepas centrales de cada bloque.

Las hojas se tomaron de la región central del sarmiento y sin peciolo. Estas hojas se introdujeron en bolsas de papel de estraza y se trasladaron al laboratorio donde se conservaron en frigorífico hasta su procesamiento.

Procesamiento de muestras y toma de datos

El procesado de las muestras consistió en el cepillado de las hojas utilizando una máquina cepilladora de hojas *Mite Brushing Machine* de Bioquip®, que utiliza dos cepillos paralelos que rotan simultáneamente, pero en sentido contrario, para extraer los ácaros depositándolos en un disco de cristal que previamente había sido impregnado con aceite para facilitar su adhesión y evitar su huida durante el conteo.

Se anotó el número total de ácaros encontrados, aunque para este estudio solo se ha tenido en cuenta el número de fitoseidos.

Análisis estadístico

El cálculo de la eficacia para determinar el efecto de los acaricidas sobre la población de fitoseidos, se realizó utilizando la fórmula de Henderson-Tilton. Esta fórmula permite obtener porcentajes de eficacia (EHT) frente al control cuando las poblaciones de partida de las unidades experimentales son heterogéneas:

$$\mathrm{EHT}\ (\%) = \left(1 - \frac{\mathrm{N}_t \times \mathrm{N'}_o}{\mathrm{N}_o \times \mathrm{N'}_t}\right) \times 100$$

Siendo:

N’ = número de fitoseidos por hoja en el control.

N = número de fitoseidos por hoja en el tratamiento.

Los subíndices “o” y “t”, hacen referencia a la situación inicial y a la situación a los “t” días del tratamiento, respectivamente.

Resultados

Influencia de la vía de exposición en los efectos secundarios de los acaricidas sobre *T. pyri*

Efecto total

En la figura 37 y en la tabla 14 se muestra el índice de efecto total de cada acaricida ensayado sobre las hembras de *T. pyri*, en función de la forma en la que estas fueron expuestas a los mismos. En una observación conjunta puede comprobarse cómo el mayor efecto total se obtuvo con abamectina y fenpiroximato, siendo en ambos casos el contacto con alimento tratado la forma de exposición más inocua.

Por su parte, el menor efecto total se obtuvo con acequinocyl y spiromesifén, pudiéndose considerar prácticamente inocua la exposición al acequinocyl a través de superficies tratadas.

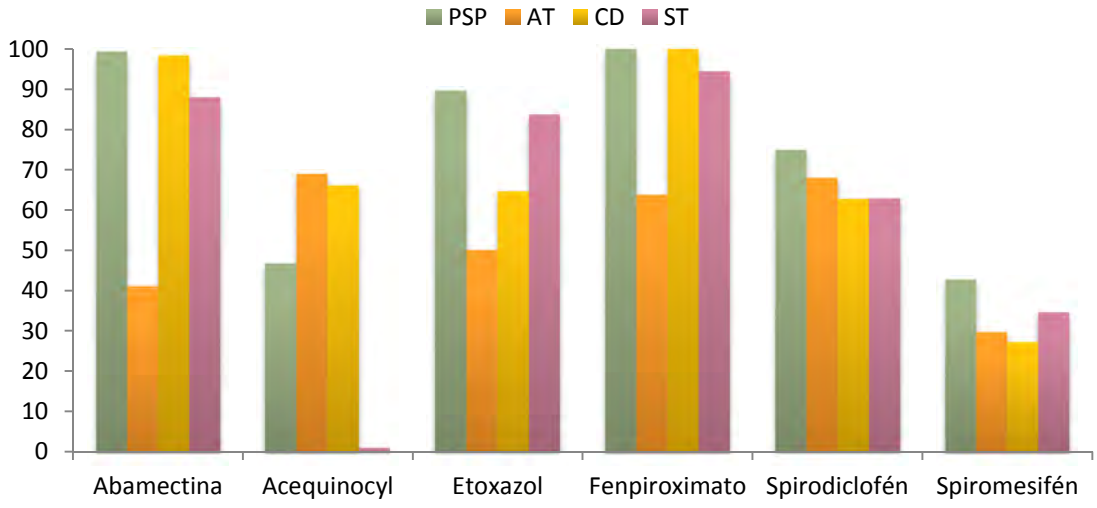

Figura 37. Índice de efecto total (%) de los acaricidas ensayados sobre hembras adultas de *T. pyri* según la vía de exposición (peor situación posible (PSP), alimento tratado (AT), contacto directo (CD) y superficie tratada (ST).

Acaricida	PSP	AT	CD	ST
Control	0,00	0,00	0,00	0,00
Abamectina	99,49	41,23	98,56	88,13
Acequinocyl	46,84	69,16	66,26	1,19
Etoxazol	89,62	50,13	64,71	83,71
Fenpiroximato	100	63,82	100	94,45
Spirodiclofén	74,95	68,05	62,75	62,94
Spiromesifén	42,78	29,77	27,28	34,68

Tabla 14. Índice de efecto total (%) de los acaricidas ensayados sobre hembras adultas de *T. pyri* según la vía de exposición (peor situación posible (PSP), alimento tratado (AT), contacto directo (CD) y superficie tratada (ST).

Efecto sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad

Abamectina

En las aplicaciones de abamectina se han obtenido diferencias significativas en la mortalidad, existiendo tres grupos homogéneos: valores superiores al 90 %, cuando la hembra es pulverizada directamente (PSP y CD); próxima al 67 %, cuando es expuesta al residuo seco (ST); y mortalidad nula, cuando se trataba el alimento (AT).

En el caso de la puesta de huevos, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos que implicaron la pulverización directa sobre el ácaro (PSP y CD), para los que se obtuvieron los mayores valores de reducción de la puesta, y los tratamientos que no incluían pulverización directa, incluido el testigo. Sin embargo, en el caso de la fertilidad, las diferencias aparecieron únicamente en los tratamientos en los que hubo contacto de los huevos con superficies tratadas, concretamente PSP, con valores de en torno al 46 %, y ST, con un porcentaje de eclosión próximo al 66 % (tabla 15).

	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	0,00±0,00 a	5,88±0,29 a	93,26±5,75 a
PSP	93,33±4,44 c	0,90±0,23 c	45,48±10,07 c
AT	0,00±0,00 a	3,70±0,70 b	91,57±5,16 a
CD	93,33±4,44 c	1,20±0,29 c	100±0,00 a
ST	66,67±8,61 b	3,00±0,39 b	65,56±10,02 b
	$F_{4, 73}$ = 243,50; p = 0,0000	$F_{4, 85}$ = 27,78; p = 0,0000	$F_{4, 78}$ = 18,72; p = 0,0000

Tabla 15. Efecto de la vía de exposición a la abamectina sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Acequinocyl

En el caso del acequinocyl, solo se obtuvieron diferencias significativas entre todos los tratamientos, respecto al testigo, para la variable mortalidad. Por su parte, también hubo diferencias significativas entre el control y las vías de exposición AT y CD, para el caso de la fertilidad. Sin embargo, respecto al número de huevos puestos no se encontraron diferencias significativas entre el testigo y ninguna de las vías de exposición ensayadas (tabla 16).

	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	0,00±0,00 a	5,88±0,29 ab	93,26±5,75 a
PSP	33,33±8,61 b	5,00±0,86 ac	84,78±3,97 ab
AT	23,33±7,11 b	3,70±0,54 b	62,67±9,87 c
CD	31,11±8,27 b	3,87±0,31 b	70,56±7,01 bc
ST	16,67±5,56 b	7,10±0,72 a	92,11±3,25 a
	$F_{4, 79}$ = 11,63; p = 0,0000	$F_{4, 90}$ = 6,52; p = 0,0001	$F_{4, 90}$ = 9,65; p = 0,0000

Tabla 16. Efecto de la vía de exposición al acequinocyl sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Etoxazol

La tabla 17 muestra los resultados obtenidos en los tratamientos realizados con etoxazol. En ella se observa que se encontraron diferencias significativas en la mortalidad entre el control y las diferentes vías de exposición, sin que existiesen diferencias dentro de éstas.

Respecto al número de huevos puesto por disco, solo hubo diferencias significativas entre el control y PSP.

En referencia a la fertilidad, sí se obtuvieron diferencias significativas pudiéndose agrupar los tratamientos en tres grupos homogéneos: vías de exposición que implican superficies tratadas (PSP y ST), que redujeron de forma importante esta variable; contacto directo (CD); y alimento tratado (AT), para el que no se observaron diferencias con respecto al control.

	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	0,00±0,00 a	5,88±0,29 a	93,26±5,75 a
PSP	43,33±10,00 b	4,40±0,65 b	22,12±7,18 c
AT	33,33±7,03 b	4,50±0,83 ab	95,56±3,39 a
CD	43,33±11,17 b	4,80±0,66 ab	72,33±8,20 b
ST	40,00±12,96 b	4,80±0,66 ab	31,25±10,57 c
	$F_{4, 74}$ = 15,00; p = 0,000	$F_{4, 85}$ = 1,99; p = 0,1033	$F_{4, 85}$ = 51,07; p = 0,0000

Tabla 17. Efecto de la vía de exposición al etoxazol sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Fenpiroximato

En el caso del fenpiroximato, se han obtenido diferencias significativas para la mortalidad, pudiéndose observar tres grupos homogéneos: vías de exposición que pulverizan a las hembras tratadas directamente (CD y PSP) y que ocasionaron un 100% de mortalidad; superficie tratada (ST), donde el ácaro entra en contacto con el residuo seco del producto; y alimento tratado (AT), que produjo escasa mortalidad, aunque significativamente diferente a la observada en el control.

En los casos en los que las hembras entraron en contacto con el acaricida, la mortalidad fue del 100%, por lo que no hubo puesta de huevos y, no se pudo estimar la fertilidad.

El único tratamiento en el que se pudo disponer de un número razonable de huevos como para estimar la fertilidad fue en AT, en cuyo caso descendió a valores de en torno al 50 % (tabla 18).

	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	0,00±0,00 a	5,88±0,29 a	93,26±5,75 a
PSP	100,00±0,00 d	0,00±0,00 c	–
AT	13,33±5,44 b	4,50±0,34 b	53,33±7,97 b
CD	100,00±0,00 d	0,00±0,00 c	–
ST	66,67±12,17 c	1,00±0,26 c	92,86±7,14 a
	$F_{4, 74}$ = 169,95; p = 0,0000	$F_{4, 85}$ = 55,82; p = 0,0000	$F_{2, 64}$ = 30,19; p = 0,0000

Tabla 18. Efecto de la vía de exposición al fenpiroximato sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Spirodiclofén

En los tratamientos realizados con spirodiclofén se encontraron diferencias significativas en la mortalidad entre el control y las diferentes vías de exposición, pero no entre las diferentes vías entre sí.

Respecto al número de huevos puestos, en todas las vías de exposición ensayadas hubo diferencias significativas con respecto al control, salvo en el caso de ST.

Por su parte, respecto al efecto sobre la fertilidad, se encontraron dos grupos homogéneos. Por un lado, AT y CD, tratamientos en los que no se encontraron diferencias significativas respecto al control; y por otro, las vías de exposición que implicaron superficies tratadas (ST y PSP), que sí provocaron una reducción significativa de la fertilidad respecto a las superficies no tratadas, incluido el control (tabla 19).

	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	0,00±0,00 a	5,88±0,29 a	93,26±5,75 a
PSP	41,67±8,33 b	3,67±0,83 b	62,50±11,79 b
AT	41,67±10,45 b	3,70±0,37 b	85,33±8,48 a
CD	45,83±10,80 b	4,25±0,96 b	90,00±6,55 a
ST	33,33±8,61 b	4,70±0,47 ab	65,19±7,23 b
	$F_{4,68}$ = 22,06; p = 0,0000	$F_{4,82}$ = 4,56; p = 0,0022	$F_{4,82}$ = 8,23; p = 0,0000

Tabla 19. Efecto de la vía de exposición al spirodiclofén sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Spiromesifén

La tabla 20 muestra los efectos del spiromesifén sobre las variables analizadas. Puede observarse cómo la mortalidad fue significativamente diferente respecto al control, para todas las vías de exposición ensayadas, salvo ST (tabla 20).

En cuanto al número de huevos puestos, sólo hubo diferencias significativas entre el control y las vías de exposición que implicaron contacto con superficies tratadas (PSP y ST), mientras que en el caso de la fertilidad no se observaron diferencias significativas entre el control y ninguna de las vías de exposición.

	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	0,00±0,00 a	5,88±0,29 a	93,26±5,75 ab
PSP	20,00±5,44 b	3,80±0,44 b	100±0,00 b
AT	16,67±7,45 b	5,10±0,41 ab	95,00±3,56 ab
CD	23,33±8,68 b	6,10±0,59 a	86,83±5,20 a
ST	0,00±0,00 a	3,90±0,35 b	92,50±5,34 ab
	$F_{4,73}$ = 9,61; p = 0,0000	$F_{4,85}$ = 4,93; p = 0,0013	$F_{4,85}$ = 1,52; p = 0,2035

Tabla 20. Efecto de la vía de exposición al spiromesifén sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri*

Actividad residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad, según el momento de la exposición

Para todos los acaricidas estudiados, se analizó el efecto de sus residuos tras el tratamiento (una vez secos los discos de hoja de alubia), y a los 7, 14, 24 y 36 días, excepto en los casos de abamectina y fenpiroximato en los que, debido a las condiciones externas en las que se encontraron las plantas durante el ensayo, el número de hojas disponible fue insuficiente para poder realizar los bioensayos en esos cinco momentos. En estos casos, se optó por suprimir la evaluación a los 14 días, con el fin de poder alargar el estudio en el tiempo. No obstante, en ambos casos el efecto que se apreció a T+0 desapareció a T+7 y no se apreciaron diferencias significativas entre T+7 y T+24 para ninguno de los tres parámetros ensayados, por lo que se deduce que el momento T+14 no hubiese aportado ningún resultado nuevo al bioensayo.

Momento T+0

Los datos reflejados en la tabla 21 muestran que la abamectina fue el único acaricida que mostró efectos significativos negativos sobre la mortalidad (en este caso, junto con el fenpiroximato) y sobre la puesta de huevos, cuando el ácaro entró en contacto con el producto inmediatamente después del tratamiento. Además, todos los acaricidas, excepto el spiromesifén, ocasionaron pérdida de fertilidad con respecto al control, obteniéndose porcentajes de eclosión inferiores al 46%. La cuantificación del efecto total mostró que la abamectina fue el producto más agresivo para *T. pyri*.
Curiosamente, el tratamiento con acequinocyl ocasionó un aumento significativo del número de huevos puestos por el depredador.

Tratamiento	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)	E (%)
Control	6,67±6,67 a	4,00±0,32 a	91,00±5,57 a	0,00
Abamectina	100±0,00 c	1,40±0,40 b	37,50±12,50 b	100
Acequinocyl	20,00±13,33 ab	7,00±1,00 c	31,52±11,06 b	48,04
Etoxazol	0,00±0,00 a	3,00±0,95 ab	30,83±10,83 b	72,77
Fenpiroximato	33,33±14,91 b	1,80±0,58 ab	45,83±20,83 b	83,81
Spiromesifén	6,67±6,67 a	3,20±0,97 ab	56,67±17,16 ab	53,29
	$F_{5, 24}$ = 17,11; p = 0,0000	$F_{5, 24}$ = 7,00; p = 0,0004	$F_{5, 21}$ = 3,01; p = 0,0335	

Tabla 21. Efecto total (E) y efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* por parte de los acaricidas ensayados, inmediatamente después del tratamiento (T+0). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Momento T+7

A los 7 días del tratamiento, solamente el acequinocyl seguía manteniendo algún efecto significativo sobre *T. pyri*, concretamente un efecto de reducción de la fertilidad, aunque inferior al presentado una semana antes (tabla 22).

Tratamiento	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	6,67±6,67 a	4,00±0,71 a	100±0,00 a
Abamectina	13,33±8,16 a	5,40±1,03 a	100±0,00 a
Acequinocyl	20,00±8,16 a	4,40±1,03 a	65,00±15,00 b
Etoxazol	13,33±13,33 a	4,00±0,45 a	93,33±6,67 a
Fenpiroximato	0,00±0,00 a	5,60±0,51 a	85,24±11,08 ab
Spiromesifén	0,00±0,00 a	5,20±0,37 a	100±0,00 a
	$F_{5, 24} = 1,10$; $p = 0,3862$	$F_{5, 24} = 0,97$; $p = 0,4578$	$F_{5, 24} = 2,93$; $p = 0,0335$

Tabla 22. Efecto residual de los acaricidas sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* por parte de los acaricidas ensayados, a los 7 días del tratamiento (T+7). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Momento T+14, T+24 y T+36

A partir de la segunda semana tras el tratamiento, los potenciales residuos de los acaricidas ensayados no provocaron diferencias significativas para ninguna de las variables consideradas (tablas, 23, 24 y 25), excepto en la fertilidad del acequinocyl, que se vio ligeramente reducida a los 14 días del tratamiento.

Tratamiento	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	13,33±8,16 a	3,40±0,60 a	100±0,00 a
Acequinocyl	6,67±6,67 a	3,60±0,98 a	85,48±6,65 b
Etoxazol	22,22±22,22 a	3,67±0,88 a	100±0,00 a
Spiromesifén	13,33±8,16 a	2,00±0,71 a	100±0,00 a
	$F_{3,14} = 0,33$; $p = 0,8059$	$F_{3, 14} = 0,99$; $p = 0,4260$	$F_{3, 13} = 3,64$; $p = 0,0418$

Tabla 23. Efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* de los acaricidas ensayados, a los 14 días del tratamiento (T+14). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Tratamiento	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	6,67±6,67 a	7,40±1,03 a	96,36±3,64 a
Abamectina	13,33±8,16 a	8,40±1,21 bc	87,14±6,19 a
Acequinocyl	0,00±0,00 a	6,60±1,17 abc	97,14±2,86 a
Etoxazol	6,67±6,67 a	7,00±0,55 bc	87,62±6,14 a
Fenpiroximato	0,00±0,00 a	8,40±1,21 c	85,36±6,26 b
Spiromesifén	6,67±6,67 a	5,00±1,38 ab	100±0,00 a
	$F_{5,24}$ = 0,76; p = 0,5904	$F_{5,24}$ = 0,95; p = 0,4653	$F_{5,24}$ = 1,72; p = 0,1681

Tabla 24. Efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* de los acaricidas ensayados, a los 24 días del tratamiento (T+24). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Tratamiento	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
Control	6,67±6,67 a	3,80±0,37 a	100±0,00 a
Abamectina	0,00±0,00 a	4,20±0,97 a	100±0,00 a
Acequinocyl	6,67±6,67 a	5,60±0,75 a	97,14±2,86 a
Etoxazol	6,67±6,67 a	4,00±1,10 a	97,14±2,86 a
Fenpiroximato	13,33±0,00 a	6,00±1,05 a	100±0,00 a
Spiromesifén	6,67±6,67 a	5,80±0,20 a	100±0,00 a
	$F_{5,24}$ = 0,44; p = 0,8187	$F_{5,24}$ = 1,51; p = 0,2229	$F_{5,24}$ = 0,80; p = 0,5606

Tabla 25. Efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* de los acaricidas ensayados, a los 36 días del tratamiento (T+36). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Actividad residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad, según el acaricida

Abamectina

A partir del día 7 tras el tratamiento, el efecto negativo de la abamectina sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad, se redujo de forma significativa en comparación con el causado inmediatamente después de la aplicación (tabla 26).

Periodo	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
T+0	100,00±0,00 b	1,40±0,40 a	37,50±12,50 a
T+7	13,33±8,16 a	5,40±1,03 b	100,00±0,00 b
T+24	13,33±8,16 a	8,40±1,21 b	87,14±6,19 b
T+36	0,00±0,00 a	4,20±0,97 b	100±0,00 b
	$F_{3, 16}$ = 25,73; p = 0,0000	$F_{3, 16}$ =6,11; p = 0,0057	$F_{3, 16}$ = 13,41; p = 0,0001

Tabla 26. Actividad residual de la abamectina sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 7, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Acequinocyl

La actividad residual del acequinocyl provocó diferencias significativas en el caso de la fertilidad. El efecto negativo del acaricida sobre esta variable fue disminuyendo a partir del día 7, para desaparecer el día 24 tras del tratamiento (tabla 27).

Periodo	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
T+0	20,00±13,33 a	7,00±1,00 a	31,52±11,06 a
T+7	20,00±8,16 a	4,40±1,03 a	65,00±15,00 b
T+14	6,67±6,67 a	3,60±0,98 a	85,48±6,65 bc
T+24	0,00±0,00 a	6,60±1,17 a	97,14±2,86 c
T+36	6,67±6,67 a	5,60±0,75 a	97,14±2,86 c
	$F_{4, 20}$ = 1,77; p = 0,1747	$F_{4, 20}$ = 2,05; p = 0,1265	$F_{4, 20}$ = 7,81; p = 0,0006

Tabla 27. Actividad residual del acequinocyl sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 14, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Etoxazol

En el caso del etoxazol, aparecieron diferencias significativas para la fertilidad, que se vio reducida a valores próximos al 30% al inicio del ensayo, para volver a la normalidad a partir de la primera semana (tabla 28). En el momento T+24 se apreciaron diferencias significativas con respecto al número de huevos puesto, pero seguramente es achacable a la elevada variabilidad intrínseca de esta variable.

Periodo	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
T+0	0,00±0,00 a	3,00±0,95 a	30,83±10,83 a
T+7	13,33±13,33 a	4,00±0,45 a	93,33±6,67 b
T+14	22,22±22,22 a	3,67±0,88 a	100±0,00 b
T+24	6,67± 6,67 a	7,00±0,55 b	87,62±6,14 b
T+36	6,67± 6,67 a	4,00±1,10 a	97,14±2,86 b
	$F_{4, 18}$ = 0,58; p = 0,6786	$F_{4, 18}$ = 3,72; p = 0,0225	$F_{4, 18}$ = 11,69 p = 0,0001

Tabla 28. Actividad residual del etoxazol sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 14, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Fenpiroximato

El efecto residual de este acaricida provocó diferencias significativas en los tres parámetros estudiados. El efecto negativo sobre la mortalidad, número de huevos y fertilidad desapareció a partir del día 7 tras el tratamiento (tabla 29).

Periodo	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
T+0	33,33±14,91 a	1,80±0,58 a	45,83±20,83 a
T+7	0,00±0,00 b	5,60±0,51 b	85,24±11,08 b
T+24	0,00±0,00 b	8,40±1,21 b	85,36±6,26 b
T+36	13,33±0,00 b	6,00±1,05 b	100±0,00 b
	$F_{3, 16}$ = 5,50; p = 0,0086	$F_{3, 16}$ =11,10; p = 0,0003	$F_{3, 16}$ = 3,22; p = 0,0510

Tabla 29. Actividad residual del fenpiroximato sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Spiromesifén

En el caso del spiromesifén, se encontraron diferencias significativas para la fertilidad, la cual se recuperó a partir de la primera semana después del tratamiento (tabla 30). En el caso del número de huevos puestos, las diferencias observadas probablemente son debidas a la variabilidad intrínseca de esta variable.

Periodo	Mortalidad (%)	Huevos/disco	Fertilidad (%)
T+0	6,67±6,67 a	3,00±0,97 ab	56,67±17,16 a
T+7	0,00±0,00 a	5,20±0,37 bc	100± 0,00 b
T+14	13,33±8,16 a	2,00±0,71 a	100± 0,00 b
T+24	6,67±6,67 a	5,00±1,38 bc	100± 0,00 b
T+36	6,67±6,67 a	5,80±0,20 c	100± 0,00 b
	$F_{4, 20} = 0,56$; $p = 0,6974$	$F_{4, 20} = 3,56$; $p = 0,0238$	$F_{4, 19} = 7,12$; $p = 0,0011$

Tabla 30. Actividad residual del spiromesifén sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 14, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005).

Evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*

En la tabla 31 se especifican los datos de consumo medio de huevos de *T. urticae* por cada hembra del depredador, para cada densidad de presa ofrecida y cada uno de los tratamientos acaricidas a los que fueron expuestas las hembras de *T. pyri*. Estos mismos datos, aparecen representados gráficamente en la figura 38.

	Nº de huevos ofrecidos				
Tratamiento	5	10	20	40	80
Control	3,15±0,37 a	5,45±0,81 a	11,65±1,00 c	20,00±2,22 c	23,20±2,85 c
Acequinocyl	2,50±0,58 a	3,80±1,04 a	5,00±1,45 ab	8,88±0,95 a	17,10±2,88 abc
Bifenazato	2,78±0,46 a	6,00±0,97 a	10,00±1,84 c	11,80±2,10 ab	13,33±2,14 ab
Etoxazol	2,78±0,60 a	6,90±0,89 a	9,33±1,69 bc	20,30±2,37 c	22,00±4,02 bc
Spirodiclofén	3,20±0,57 a	4,60±1,11 a	3,60±1,50 a	11,70±1,53 ab	12,20±3,23 a
Spiromesifén	3,70±0,37 a	6,10±0,71 a	9,50±1,56 bc	15,70±1,17 bc	8,80±3,34 a
	$F_{5, 62}$ = 0,67; p = 0,6452	$F_{5, 64}$ = 1,22; p = 0,3109	$F_{5, 60}$ = 4,75; p = 0,0010	$F_{5, 62}$ = 4,98; p = 0,0007	$F_{5, 63}$ = 3,40; p = 0,0088

Tabla 31. Número de huevos de *Tetranychus urticae* depredados por hembra de *Typhlodromus pyri* (media ± error estándar) en función de la densidad de presa ofrecida y del tratamiento acaricida al que fue expuesto el depredador. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas para LSD de Fisher (p = 0,005).

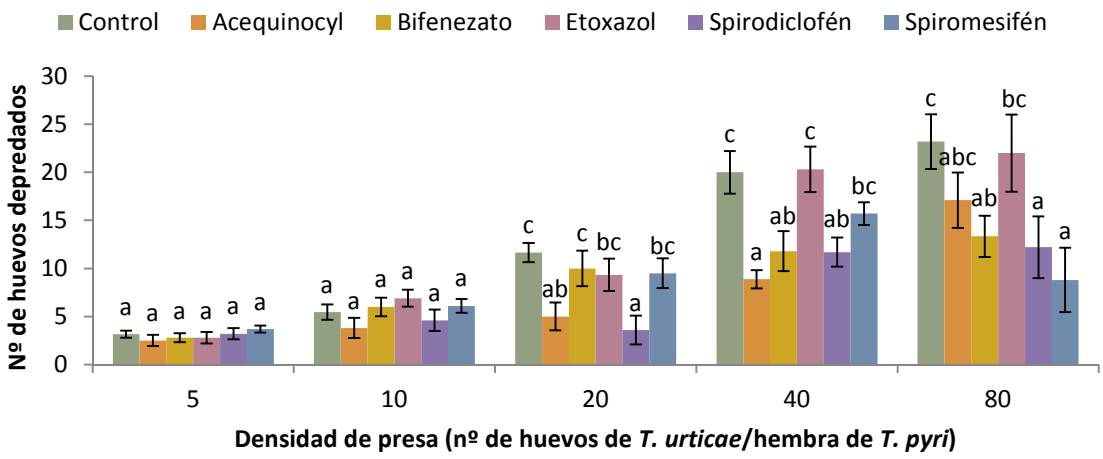

Figura 38. Número de huevos de *Tetranychus urticae* depredados por hembra de *Typhlodromus pyri* en función de la densidad de presa ofrecida y del tratamiento acaricida al que fue expuesto el depredador. Letras iguales dentro de una misma densidad de presa indican que no hay diferencias significativas para LSD de Fisher (α = 0,005).

Cuando la presa se ofreció al depredador a la densidad de 5 y 10 huevos/hembra, los acaricidas no produjeron ningún efecto sobre su consumo por parte de *T. pyri* en comparación con el control (tabla 32).

Cuando la densidad de presa ofrecida fue de 20 huevos/hembra, se observó una disminución del consumo de presa provocado por el acequinocyl y el spirodiclofén.

Al aumentar la densidad de presa a 40 huevos/hembra, además de los dos acaricidas anteriores, también el bifenazato redujo la actividad depredadora de *T. pyri*.

Por último, cuando la densidad de presa aumentó a 80 huevos/hembra, acequinocyl, bifenazato, spirodiclofén y spiromesifén provocaron una disminución del consumo de alimento en *T. pyri* (tabla 33).

Evaluación del efecto en campo de los acaricidas sobre *T. pyri*

En la tabla 31 se muestra el número medio de fitoseidos encontrados para cada tratamiento en cada uno de los muestreos realizados así como el valor de EHT estimado.

Una semana después de realizar los tratamientos, solo se encontró efecto en el caso de los acaricidas abamectina, bifenazato y spiromesifén, por lo que se continuó su muestreo hasta la tercera semana después del tratamiento, en la que tan solo en caso del spiromesifén se siguió observando algún efecto.

	19/08/2010	26/08/2010		02/09/2010		09/09/2010	
	Nº de fitoseidos/ muestra	Nº de fitoseidos/ muestra	EHT %	Nº de fitoseidos/ muestra	EHT %	Nº de fitoseidos/ muestra	EHT %
Control	43,75 ± 4,77	18,25 ± 1,93		9,75 ± 1,60		4,25 ± 2,29	
Abamectina	51,75 ± 10,99	17,25 ± 5,19	20,09	6,50 ± 1,85	43,64	8,25 ± 4,03	-64,11
Acequinocyl	28,25 ± 7,49	13,50 ± 2,25	-14,56	–	–	–	–
Bifenazato	26,00 ± 4,51	7,50 ± 0,87	30,85	4,00 ± 1,08	30,97	4,75 ± 1,80	-88,07
Etoxazol	44,00 ± 9,65	20,25 ± 2,75	-10,33	–	–	–	–
Fenpiroximato	36,00 ± 11,32	16,75 ± 2,78	-11,54	–	–	–	–
Spiromesifén	33,75 ± 9,92	9,75 ± 1,89	30,75	3,50 ± 1,71	53,47	2,75 ± 2,10	16,12

Tabla 32. Número de fitoseidos/muestra (media ± error estándar) y EHT en cada tratamiento para cada fecha de muestreo.

Discusión

Influencia de la vía de exposición en la actividad de los acaricidas sobre *T. pyri*

Los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman que la vía de exposición y, por tanto, el modo en el que entra en contacto el fitoseido con el plaguicida, condiciona la toxicidad de éste, siendo en general PSP la vía que ocasiona mayor efecto y AT la que menor. Es decir, *T. pyri* no se ve tan afectado por ingerir alimento con residuos de los acaricidas ensayados, como por entrar en contacto con los residuos directamente o a través de superficies contaminadas.

El mayor valor de E lo produjeron el fenpiroximato y la abamectina, un inhibidor del transporte de electrones y un activador de los canales de cloro, respectivamente. Las vías de exposición más dañinas para estos dos productos, con valores de E superiores al 90 %, fueron PSP, CD y ST, siendo la elevada mortalidad ocasionada el efecto más destacable. Este efecto ya fue observado por Sáenz de Cabezón & Zalom (2006 y 2007) en el caso del fenpiroximato y sobre hembras del fitoseido *Galendromus occidentalis* expuestas a concentraciones de 62,5 ppm.

La susceptibilidad al fenpiroximato varía considerablemente de unas especies de ácaros a otras. En 2010, Hamedi *et al.*, estimaron que la LC_{50} de este compuesto para el ácaro ectoparásito *Pimeliaphilus plumifer* Newell & Ryckman, 1966 (Acari: Pterygosomatidae) fue de 20,2 ppm y que, a la LC_{30}, reducía en 32 días su longevidad, respecto del control. Por otro lado, Sato *et al.* (2002) apreciaron una baja susceptibilidad al fenpiroximato por parte de *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) (Acari: Phytoseiidae), estimando la LC_{50} en 69,6 ppm, un valor muy superior a las 24,0 ppm obtenidas *para T. urticae*. En el presente trabajo, para la población de *T. pyri* y la concentración ensayadas (20 ppm), la mortalidad obtenida fue del 100% en aquellos casos en los que la hembra fue pulverizada directamente con el acaricida (PSP y CD). Cuando el contacto se produjo a través del residuo depositado en una superficie tratada, la mortalidad provocada fue algo inferior. Sin embargo, la exposición al acaricida a través del alimento, apenas ocasionó mortalidad. En los tratamientos en los que la mortalidad fue muy elevada, no se pudo determinar si la reducción percibida en el número de huevos puestos se debe a una disminución real de la fecundidad, dado que este parámetro es intrínsecamente muy variable. Sin embargo, sí se pudo observar que el fenpiroximato afectó de algún modo a la fertilidad de los huevos, puesto que la ingesta de alimento tratado ocasionó un porcentaje de eclosión de tan solo el 53,33% frente al 93,26% en el caso del control.

Curiosamente, varios autores coinciden en señalar el reducido efecto que, sobre la mortalidad del fitoseido *Phytoseiulus persimilis*, tiene la abamectina (Cote *et al.*, 2002;

Malezieux *et al.*, 1992; Shipp *et al.*, 2000). No obstante, Zhang & Sanderson (1990) observaron que este compuesto, a concentraciones de 0,08 a 16 ppm, no afectó significativamente la supervivencia y la movilidad de *P. persimilis*, aunque a concentraciones de 8 a 16 ppm sí afectó de forma significativa a la reproducción. Su estudio reveló que el consumo de individuos de *T. urticae* no afecto a la supervivencia pero sí a la reproducción que se redujo hasta en un 50%. Ibrahim & Yee (2000) estudiaron el efecto de la abamectina sobre *Neoseiulus longispinosus* Evans, 1952 (Acari: Phytoseiidae), observando diferencias en el potencial reproductor entre hembras tratadas y no tratadas. En el presente estudio se encontró que la abamectina, a la concentración ensayada (27 ppm), tenía un efecto sobre la mortalidad semejante al que se observó con el fenpiroximato, es decir, elevado cuando el ácaro fue pulverizado directamente, algo inferior por contacto con la superficie tratada y nulo a través del alimento. Se obtuvieron diferencias significativas en el número de huevos puestos, pero esto puede ser más una consecuencia de la elevada mortalidad en los tratamientos PSP y CD, que un efecto real sobre la propia fecundidad. Por otro lado, se observó que el porcentaje de huevos eclosionados fue menor en aquellos casos en los que la oviposición se produjo sobre superficies tratadas (PSP y ST) y muy alto cuando no (CD y AT).

Después del fenpiroximato y la abamectina, el etoxazol fue el acaricida que produjo un mayor valor de E, especialmente cuando el fitoseido estuvo en contacto con superficies tratadas. Para este producto, la importancia del efecto total fue consecuencia de una reducción del porcentaje de huevos eclosionados, puesto que entre las cuatro vías de exposición no hubo diferencias significativas ni para la mortalidad, ni para la fecundidad, pero sí las hubo para la fertilidad. Kim & Seo (2001), Kim & Yoo (2002) y Sáenz de Cabezón & Zalom (2006), coinciden en afirmar que el etoxazol no afecta a la fecundidad, que aumenta algo la mortalidad y que el mayor efecto se produce como consecuencia de su fuerte acción ovicida, en sus estudios sobre los fitoseidos *Amblyseius womersleyi* Schicha, 1795 (Acari: Phytoseiidae), *P. persimilis* y *G. occidentalis*, respectivamente.

Los tres acaricidas restantes presentaron, en general, menores valores de E. El efecto del acequinocyl, ha sido estudiado sobre *P. persimilis* (Kim & Yoo, 2002) y *A. womersleyi* (Kim & Seo, 2001), habiéndose comprobado que afecta poco a la supervivencia, puesta de huevos y fertilidad de las hembras tratadas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo, además de corroborar estos efectos sobre *T. pyri*, determinaron que no hay diferencias significativas entre las diferentes vías de exposición al acaricida.

Por su parte, los derivados del ácido tetrónico, spiromesifén y spirodiclofén, tampoco produjeron diferencias significativas para ninguno de los parámetros valorados entre las diferentes vías de exposición ensayadas. Estudios previos realizados sobre *G. occidentalis* (Sáenz de Cabezón & Zalom, 2006 y 2007), constataron que el spiromesifén redujo la fertilidad de las hembras, efecto que no se ha observado sobre *T. pyri* en el presente estudio.

Actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri*

Los acaricidas que mostraron un mayor efecto total sobre *T. pyri* inmediatamente después del tratamiento (T+0) fueron el fenpiroximato y la abamectina, lo que coincide con los resultados obtenidos en los ensayos realizados para determinar la influencia de la vía de exposición en la actividad de los acaricidas.

En T+0 se produjeron los efectos más importantes de cada acaricida, excepto en el caso del spiromesifén, para el que no se encontraron diferencias significativas con el control. Sin embargo, una semana después (T+7), la actividad residual de estos compuestos se había reducido o, incluso, había desaparecido. Aunque no era un objetivo estimar directamente el efecto sobre *T. urticae*, vale la pena comentar que la actividad residual de los acaricidas siguió afectando a los ejemplares de este fitófago ofrecidos como alimento. En el caso de la abamectina, esta observación se manifestó incluso en T+36, provocando la muerte o paralización de todos los individuos en tan solo 24 horas.

La abamectina provocó diferencias significativas en la mortalidad, el número de huevos puestos y la fertilidad de *T. pyri* entre T+0 y el resto de los momentos posteriores evaluados. Así, el acaricida afectó negativamente en el momento del tratamiento, pero una semana después, esta capacidad acaricida había desaparecido. Los resultados obtenidos para este producto pueden explicarse por su capacidad para penetrar en el tejido foliar, formando una reserva dentro de la hoja que es la responsable de su acción residual (De Liñán, 2003), mientras que los residuos de la superficie son degradados rápidamente por fotólisis en 2 a 4 días (Pitterna, 2007).

El acequinocyl solo provocó diferencias significativas sobre la fertilidad. Así, en T+0 se obtuvo el menor porcentaje de eclosión (31,52 %) que fue aumentando gradualmente a lo largo del tiempo hasta alcanzar valores próximos al 100% a partir de T+24. Fue el único producto cuyo efecto negativo se prolongó hasta la segunda semana tras el tratamiento.

El etoxazol provocó diferencias significativas en la fertilidad, puesto que en T+0 el porcentaje de eclosión fue del 30,83 %, mientras que en el resto de momentos su valor supero el 87%.

Por su parte, el fenpiroximato provocó diferencias significativas entre T+0 y el resto de momentos evaluados, para la mortalidad y en el número de huevos puesto por las hembras de *T. pyri*.

Por último, el spiromesifén no afectó ni a la mortalidad, ni al número de huevos puesto por las hembras del fitoseido. Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas para la fertilidad, de modo que, en T+0 se obtuvo un 56,67% de eclosión de los huevos, frente al 100% en el resto de los momentos.

En resumen, la abamectina y el fenpiroximato provocaron efectos negativos sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad en los días inmediatamente posteriores al tratamiento, pero estos parámetros ya no se veían afectados una semana después. Por su parte, el etoxazol, el spiromesifén y el acequinocyl, solo ocasionaron efectos negativos sobre la fertilidad, que dejaron de manifestarse a la siguiente semana del tratamiento, en el caso de los dos primeros productos, y tras dos semanas, en el caso del tercero. En conclusión, la degradación a lo largo del tiempo de los residuos de los acaricidas originó la desaparición de sus efectos negativos sobre *T. pyri* al cabo de una semana en todos los casos, excepto para el acequinocyl, cuyo efecto sobre la fertilidad se mantuvo durante dos.

Evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*

Acequinocyl, spirodiclofén, bifenazato y spiromesifén provocaron una disminución en el consumo de huevos de *T. urticae* por parte de las hembras adultas de *T. pyri,* con respecto al control. Estos efectos, fueron dependientes de la densidad de presa suministrada. Así, cuando dicha densidad fue baja (5-10 huevos/hembra), ninguno de los acaricidas empleados afectó a la capacidad depredadora. Sin embargo, a medida que dicha densidad fue aumentando, sí se observaron algunos efectos. Así, con una densidad de 20 huevos/hembra, el acequinocyl y el spirodiclofén redujeron significativamente el número de huevos consumidos. Cuando la densidad de presa aumentó hasta 40 huevos/hembra, a estos dos acaricidas se sumó el bifenazato como producto que redujo el consumo de forma significativa. Finalmente, cuando se ofrecieron 80 huevos/hembra, el spiromesifén se incorporó a esta lista de los productos que afectaron negativamente a la capacidad depredadora de las hembras de fitoseido.

En resumen, los acaricidas acequinocyl, spirodiclofén, bifenazato y spiromesifén afectaron a la capacidad depredadora del fitoseido, reduciendo el consumo de presa cuando aumentó la densidad de plaga.

Existen algunos estudios sobre la respuesta funcional de este depredador. Así Lorenzon *et al*. (2015) observaron en laboratorio que el número de presas consumidas por *T. pyri* aumenta en función de su densidad, lo que coincidiría con los datos obtenidos en nuestro estudio. Por otra parte, no se ha encontrado bibliografía relacionada con estos acaricidas y este tipo de efectos sobre *T. pyri*. Sin embargo, sí hay algunos estudios con respecto a otros fitoseidos y pesticidas. Poletti *et al*. (2007) encuentran que algunos insecticidas nicotinoides provocan una reducción en el consumo medio de huevos de *T. urticae* por parte de los fitoseidos *Neoseiulus californicus* y *Phytoseiulus macropilis* cuando la densidad de presa aumenta. Por su parte, Lima *et al*. (2015) observaron una alteración de la capacidad depredadora de *Neoseiulus baraki* cuando se sometió a dosis subletales de abamectina. Estos autores, aportan diferentes motivos para justificar este efecto, como irritación, alteración de la locomoción y perturbaciones en el comportamiento depredador.

Evaluación del efecto en campo de los acaricidas sobre *T. pyri*

Es preciso puntualizar que la densidad de tetraníquidos en las muestras analizadas fue casi anecdótica, pero no se ha considerado necesario incorporar este dato, ya que *T. pyri* es un depredador generalista (Eichhorn & Hoos, 1990; Bakker & Klein, 1992; Duso, 1992; Walde *et al.*, 1992), que se desenvuelve perfectamente utilizando fuentes de alimento alternativas a los tetraníquidos (Overmeer, 1985; McMurtry & Croft, 1997), como puede ser polen (McMurtry & Johnson, 1965; Kennet *et al*., 1979; Engel & Ohnesorge, 1994; Duso *et a*l. 1997; Addison *et al*., 2000; Duso *et al*., 2004) o, en el caso en viñedo, los hongos fitopatógenos *Eyrsiphe necator* y *Plasmopara viticola* (oídio y mildiu del viñedo, respectivamente) (Pozzebon & Duso, 2008; Pozzebon *et al.*, 2009).

Por tanto, la ausencia de tetraníquidos en este estudio no es un factor determinante a la hora de evaluar el efecto de los acaricidas, puesto que la fuente de alimento no debería verse significativamente afectada por la aplicación de los mismos.

Una semana después del tratamiento, solo se encontró efecto negativo sobre la población de *T. pyri* en el caso de la abamectina, el bifenazato y el spiromesifén, por lo que se decidió prolongar los muestreos durante dos semanas más para estos productos. En el caso de la abamectina y el bifenazato, el efecto se prolongó hasta la segunda semana tras el tratamiento, y en el caso del spiromesifén, al menos hasta la tercera semana.

Hardman *et al*. (2003), para valorar el efecto de acaricidas sobre fitoseidos en sus ensayos de campo, utilizaron una clasificación similar a la propuesta por el grupo de trabajo de "Plaguicidas y organismos beneficiosos" de la *International Organization of Biological Control* (IOBC), que está basada en la mortalidad y la reducción de población, y que clasifica los productos como: 1 = no tóxico (<25%); 2 = ligeramente tóxico (25-50%); 3 = moderadamente tóxico (51-75%) y 4 = muy tóxico (>75%). En base a esta clasificación y en el caso de este estudio, utilizando el resultado de efectividad obtenido mediante la fórmula de Henderson-Tilton, una semana después de la aplicación del tratamiento todos los productos fueron "no tóxicos" para *T. pyri*, excepto bifenazato y spiromesifén, que fueron "ligeramente tóxicos". Dos semanas después del tratamiento, abamectina y bifenazato se mantienen como "ligeramente tóxicos", mientras que spiromesifén pasa a ser "moderadamente tóxico". Finalmente, tres semanas después todos los productos serían considerados como "no tóxicos".

El resultado para el acequinocyl guarda relación con el obtenido en el bioensayo sobre la "influencia de la forma de exposición en los efectos secundarios de los acaricidas sobre *T. pyri*" en el que el compuesto resultó ser uno de los acaricias con menor efecto total, lo que avalaría su uso como complemento al control biológico con *T. pyri.* Con esta afirmación coinciden Wearing *et a*l. (2014). Por otro lado Blümel *et al*. (2000), afirman que, aunque no es una característica atribuible a todos los fitoseidos, en el caso de *T. pyri* los productos de uso habitual que han resultado ser inofensivos en laboratorio suelen serlo también en campo, hecho que reafirmaría el resultado obtenido con el acequinocyl en el presente trabajo. Curiosamente, el spiromesifén se encontró entre los acaricidas menos perjudiciales de los ensayados en laboratorio, pero en campo se valoró como "moderadamente tóxico".

Respecto a la abamectina, el etoxazol y el fenpiroximato, el efecto dañino que produjeron en laboratorio no coincide con el escaso o nulo efecto observado en campo. Existen múltiples factores que pueden justificar esta diferencia, puesto que los ensayos de campo están sometidos a muchas variables no controladas que sí lo están en los de laboratorio (Jepson, 1989; Duso, 1994; Bakker & Jacas, 1995; Stark *et al.*, 1995; Pozzebon *et al*., 2010). Esta observación coincidiría con la realizada por Duso (1994), quien encontró que solo en dos de cada diez ensayos, la toxicidad observada en campo para los fitoseidos coincidía con la observada en laboratorio, mientras que en esos ocho ensayos restantes, los resultados observados en laboratorio eran más severos que los registrados en campo. En cualquier caso, los resultados del presente trabajo coinciden con Hardman *et al*. (2003) y Botha *et al*. (1993) en la apreciación de que, a pesar de considerar moderadamente tóxica a la abamectina, puede ser utilizada como complemento al control biológico por parte de *T. pyri*. Existen otros autores que coinciden con esa opinión, aunque con otras especies de fitoseidos (Chiara et al., 1993; Grafton-Cardwell & Hoy, 1983; Hardman et al., 2003; Shipp et al., 2000; Yoo & Kim, 2000).

Conclusiones

A la vista de estos resultados, se puede concluir que:

1. La abamectina y el fenpiroximato presentan un elevado efecto total negativo sobre *Typhlodromus pyri* en prácticamente todas las formas de exposición ensayadas.

2. El etoxazol y el spirodiclofén provocan una mortalidad moderada sobre adultos de *T. pyri*. Además, el etoxazol muestra un elevado efecto negativo sobre la eclosión de sus huevos cuando entran en contacto con sus residuos.

3. El acequinocyl y el spiromesifén presentan un reducido efecto total negativo sobre hembras adultas *T. pyri*.

4. El efecto negativo de la abamectina se debe, principalmente, a la mortalidad que provoca por contacto directo con los adultos de *T. pyri* y a la reducción de la eclosión de sus huevos en contacto con superficies tratadas.

5. El efecto negativo del fenpiroximato sobre hembras adultas de *T. pyri* es principalmente atribuible a la mortalidad que ocasiona por contacto directo con el ácaro.

6. El spiromesifén y el spirodiclofén no provocaron diferencias significativas entre las diferentes vías de exposición en ninguna de las variables analizadas.

7. Transcurridos 14 días desde el tratamiento, los residuos de los acaricidas evaluados que pudieran permanecer en la planta no provocan ningún efecto negativo sobre *T. pyri*.

8. La aplicación directa de acequinocyl, bifenazato, spirodiclofén y spiromesifén sobre hembras de *T. pyri* merma su capacidad depredadora, mientras que no se ve afectada cuando son tratadas con etoxazol.

9. En condiciones de campo, la abamectina, el bifenazato y el spiromesifén mostraron un efecto moderado sobre las poblaciones de *T. pyri*, lo que demuestra que no es desaconsejable su uso integración a los programas de MIP, junto al control biológico con el fitoseido.

10. El acequinocyl, el etoxazol y el fenpiroximato no mostraron indicios, en condiciones de campo, que hagan desaconsejable su uso conjunto con *T. pyri*.

Bibliografía

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol., 18: 265–267.

Addison, J.A., Hardman, J.M. & Walde, S.J. 2000. Pollen availability for predaceous mites on apple: spatial and temporal heterogeneity. Exp. Appl. Acarol., 24: 1–18.

Auger, P., Bonafos, R. & Kreiter, S. 2004. Mancozeb resistance patterns among *Kampimodromus aberrans* and *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) strains from French vineyards. Canadian Entomologist, 136 (5): 663–673.

Bakker, F.M. & Jacas, J.A. 1995. Pesticides and Phytoseiid Mites: Strategies for Risk Assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 32 (1): 58–67.

Bakker, F.M. & Klein, M.E. 1992. Transtrophic interactions in cassava. Exp. Appl. Acarol., 14: 293–311.

Berrie, A.M. & Cross, J.V. 2000. Evaluation of integrated pest and disease management strategies for apple using disease resistant versus susceptible cultivars. Acta horticulturae. Vol, 525.

Blümel, S., Pertl, C. & Bakker, F.M. 2000. Comparative trials on the effects of two fungicides on a predatory mite in the laboratory and in the field. Entomol. Exp. Appl., 97: 321–330.

Bostanian, N.J., Hardman, J.M., Racette, G., Franklin J. & Lasnier, J. 2006. Inventory of predacious mites in Quebec commercial apple orchards where integrated pest management programs are implemented. Annals of the Entomological Society of America, 99 (3): 536–544.

Botha, J.H., Plessis, D., DuLevings, K.J. & DuPlessis, D. 1993. Spray strategies against the European red mite *Panonychus ulmi* in apple orchards. Deciduous Fruit Grower, 43: 425–427.

Bowie, M.H., Worner, S.P., Krips, O.E. & Penman, D.R. 2001. Sublethal effects of esfenvalerate residues on pyrethroid resistant *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) and its prey *Panonychus ulmi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology, 25 (4): 311–319.

Chiara, S.R.D., Tsolakis, H. & Ciulla, A.M. 1993. Effects of abamectin, buprofezin and fenoxycarb on postembryonic development and fecundity of the predacious mite *Typhlodromus rhenanoides* Athias-Henriot (Parasitiformes: Phytoseiidae) in laboratory trials. Bull OILB-SROP, 16: 120–124.

Cote, K.W., Lewis, E.E. & Schultz, P.B. 2002. Compatibility of acaricide residues with *Phytoseiulus persimilis* and their effects on *Tetranychus urticae*. Hortscience, 37: 906–909.

Cranham, J.E., Kapeatanakis, E.G. & Fisher, A.J. 1983. Resistance to insecticides in the predatory mite, *Typhlodromus pyri* and its spider mite prey. 10th Intern. Cong. Of Plant Protec., 2: 638–39.

De Liñan, C. 2003. Farmacología vegetal. Ed. Agrotécnicas, 1236 págs.

De Maeyer, L. & Geerinck, R. 2009. The multiple target use of spirodiclofén (envidor 240 SC) in IPM pomefruit in Belgium. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 74 (1): 225–232.

Delbac, L., Lecharpentier, P., Fos, A. & Stockel, J. 1996. La confusión sexuelle contre l'Eudémis vers un équilibre biologique de l'acarofaune du vignoble. Phytoma, 484: 43–7.

Duso, C., 1992. Role of *Amblyseius aberrans* (Oud.), *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari, Phytoseiidae) in vineyards. J. Appl. Entomol., 114: 455–462.

Duso, C., 1994. Comparison between field and laboratory testing methods to evaluate the pesticide side-effects on the predatory mites *Amblyseius andersoni* and *Typhlodromus pyri*. IOBC/WPRS Bull, 17 (10): 7–19.

Duso, C., Malagnini, V. & Paganelli, A. 1997. Indagini preliminari sul rapporto tra polline e *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) su *Vitis vinifera* L. Allionia, 35: 229–239.

Duso, C., Malagnini, V., Paganelli, A., Aldegheri, L., Bottini, M. & Otto, S. 2004. Pollen availability and abundance of predatory phytoseiid mites on natural and secondary hedgerows. BioControl, 49: 397–415.

Duso, C., Mazzaro, S. & Girolami, V. 1987. Influence du soufre et du dinocap sur *Eotetranychus carpini* Oud. (Acarina: Tetranychidae) et *Kampinodromus aberrans* (Acarina: Phytoseiidae) en viticulture. Proceedings International.

Duso, C., Pasqualetto, C. & Camporese, P. 1991. Role of the predatory mites *Amblyseius aberrans* (Oud.), *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari, Phytoseiidae) in vineyards. II. Minimum releases of *A. aberrans* and *T. pyri* to control spider mite populations (Acari: Tetranychidae). J. Appl. Ent., 112: 298–308.

Easterbrook, M.A. 1992. The possibilities for control of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on field-grown strawberries in the UK by predatory mites. Biocontrol Science & Technology, 2 (3): 235–245.

Easterbrook, M.A., Solomon, M.G., Cranham, J.E. & Souter E.F. 1985. Trials of an integrated pest management programme based on selective pesticides in english apple orchards. Crop Protection, 4 (2): 215–230.

Eichhorn, K.W. & Hoos, D. 1990. Investigations in population dynamics of *Typhlodromus pyri* in vineyards of Palatina, F.R. Germany. IOBC/WPRS Bull, 13 (7): 120–123.

Engel, R. & Ohnesorge, B. 1994. Die Rolle von Ersatznahrung und Mikroklima im System *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae)—*Panonychus ulmi* Koch (Acari: Tetranychidae) auf Weinreben II. Freilandversuche. J. Appl. Entomol., 118: 224–238.

Ferragut, F., Perez-Moreno, I., Iraola, V. & Escudero, L.A. 2010. Ácaros depredadores en las plantas cultivadas. Familia Phytoseiidae. Ediciones Agrotécnicas, 202 págs.

Fitzgerald, J.D. & Solomon, M.G. 2000. Differences in biological characteristics in organophosphorus-resistant strains of the phytoseiid mite *Typhlodromus pyri*. Experimental and Applied Acarology, 24 (9): 735–746.

Grafton-Cardwell, E.E. & Hoy, M.A. 1983. Comparative toxicity of avermectin B1 to the predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae) and the spider mites *Tetranychus urticae* Koch and *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae). Journal Of Economic Entomology, 76 (6): 1216–1220.

Gruys, P. 1980. Significance and practical application of selective pesticides. Proceedings International symposium of IOBC/WPRS on integrated control in agriculture and forestry Vienna, 107–112.

Hamedi, N., Fathipour, Y. & Saber, M. 2010. Sublethal effects of fenpyroximate on life table parameters of the predatory mite *Phytoseius plumifer*. BioControl, 55: 271–278.

Hardman, J.M., Franklin, J.L., Beaulieu, F., Bostanian, N.J. 2007. Effects of acaricides, pyrethroids and predator distributions on populations of *Tetranychus urticae* in apple orchards. Experimental and Applied Acarology, 43 (4): 235–253.

Hardman, J.M., Franklin, J.L., Moreau, D.L. & Bostanian, N.J. 2003. An index for selective toxicity of miticides to phytophagous mites and their predators based on orchard trials. Pest Management Science, 59 (12): 1321–1332.

Hardman, J.M., Moreau, D.L., Snyder, M., Gaul, S.O. & Bent, E.D. 2000. Performance of a pyrethroid-resistant strain of the predator mite *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) under different insecticide regimes. Journal of Economic Entomology, 93 (3): 590–604.

Hardman, J.M., Rogers, M.L., Gaul, S.O. & Bent, E.D. 1997. Insectary Rearing and Initial Testing in Canada of an Organophosphate/Pyrethroid-Resistant Strain of the Predator Mite *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) from New Zealand. Environmental Entomology, 26 (6): 1424–1436.

Henderson, C.F. & Tilton, E.W. 1955. Tests with acaricides against the Brown wheat mite. J. Econ. Entomol., 48: 157–161.

Hoyt, S.C. 1972. Resistance to azinphos-methyl of *Typhlodromus pyri* (Acarina: Phytoseiidae) from New Zealand. N. Z. J. Sci., 15: 16–21.

Hu, X. 1996. Populations of predatory and pest mites in first-level and second-level commercial apple orchard blocks in massachusetts. Journal of Applied Entomology, 120 (1): 47–51.

Ibrahim, Y.B. & Yee, T.S. 2000. Influence of sublethal exposure to abamectin on the biological performance of *Neoseiulus longispinosus* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 93: 1085–1089.

Jepson, P.C. & Thacker, J.R.M. 1990. Analysis of the Spatial Component of Pesticide Side-Effects on Non-Target Invertebrate Populations and Its Relevance to Hazard Analysis. Functional Ecology, 4 (3): 349–355.

Kapetanakis, E.G. & Cranham, J.E. 1983. Laboratory evaluation of resistance to pesticides in the phytoseiid predator, *Typhlodromus pyri*, from English apple orchards. Ann. Appl. Biol., 103: 179–81.

Kennett, C.E., Flaherty, D.L. & Hoffmann, R.W. 1979. Effect of wind-borne pollens on the population dynamics of *Amblyseius hibisci* (Acarina: Phytoseiidae). Entomophaga, 24: 83–98.

Kim, S.S. & Seo, S.G. 2001. Relative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Amblyseius womersleyi* and the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Appl. Entomol. Zool. 36: 509–514.

Kim, S.S. & Yoo, S.S. 2002. Comparative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. BioControl, 47 (5): 563–573.

Kreiter, S., Sentenac, G., Barthes, D. & Auger, P. 1998. Toxicity of four fungicides to the predaceous mite *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology, 91(4): 802–811.

Lima, D.B., Melo, J.W.S., Gondim Jr. M.G.C., Guedes, R.N.C.J., Oliveira, E.M. & Pallini, A. 2015. Acaricide-impaired functional predation response of the phytoseiid mite *Neoseiulus baraki* to the coconut mite *Aceria guerreronis*. Ecotoxicology, 24: 1124–1130.

Lorenzon, M., Pozzebon, A. & Duso, C. 2015. Feeding habits of overwintered predatory mites inhabiting European vineyards. BioControl, 60 (5): 605–615.

Lorenzon, M., Pozzebon, A. & Duso, C. 2015. Effects of potential food sources on biological and demographic parameters of the predatory mites *Kampimodromus aberrans*, *Typhlodromus pyri* and *Amblyseius andersoni*. BioControl, 60 (5): 605–615.

Lundqvist, L. 2013. Fauna Europaea: Phytoseiidae. Acari, Mesostigmata. Fauna Europaea versión 2.6.2 http://www.faunaeur.org.

Malezieux, S., Lapchin, L., Pralavorio, M., Moulin, J.C. & Fournier, D. 1992. Toxicity of pesticide residues to a beneficial arthropod, *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol, 85: 2077–2081.

Markwick, N.P. 1993. Genetic analysis of the resistance of two strains of *Typhlodromus pyri* to synthetic pyrethroid insecticides. En: S.K. Narang, A.C. Bartlett, R.M. Faust. (Eds.). Applications of Genetics to Arthropods of Biological Control Significance, CRC Press, FL, USA, 107–120.

Marshall, D.B., Thistlewood, H.M.A. & Lester, P.J. 2001. Release, establishment, and movement of the predator *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) on apple. Canadian Entomologist, 133 (2): 279–292.

McMurtry J.A. & Johnson H.G. 1965. Some factors influencing the abundance of the predaceous mites *Amblyseius hibisci* in southern California (Acarina: Phytoseiidae). Ann. Entomol. Soc. Am., 58: 49–56.7.

McMurtry, J.A. & Croft, B.A. 1997. Life-styles of phytoseiid mites and their role in biological control. Annu. Rev. Entomol., 42: 291–321.

McMurtry, J.A. & Scriven, G.T. 1965. Insectary production of phytoseeid mites. J. Econ. Entomol., 58: 282–284.

McMurtry, J.A. & Scriven, G.T. 1975. Population increase of *Phytoseiulus persimilis* on differente insectary feeding programs. J. Econ. Entomol., 68 (3): 319–321.

Mercier, V., Combe, F., Fauvel, G., Marboutie, G. & Lespinasse, Y. 2000. A four year experiment on the development of mite populations on scab resistant apples. Acta horticulturae. Vol, 525.

Otto, S., Lazzaro, L., Finizio, A. & Zanin, G. 2009. Estimating ecotoxicological effects of pesticide drift on nontarget arthropods in field hedgerows. Environmental Toxicology and Chemistry, 28 (4): 853–863.

Overmeer, W.P.J. & Van Zon A.Q. 1982. A standarized method for testing the side effects of pesticides on the predacious mite *Amblyseius potentiallae* (Acarina: Phytoseiidae). Entomophaga, 27: 357–364.

Overmeer, W.P.J. 1985. Alternative prey and other food resources. En: Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam, 131–140.

Pérez-Moreno, I. & Moraza, M.L. 1997. Study of *Typhlodromus pyri* Scheuten in relationship with Calepitrimerus vitis (Nalepa) in Rioja vineyards. Bulletin de L'O.I.V., 70 (801/802): 832–845.

Pérez-Moreno, I. 1997. Bioecologia de los ácaros en la vid. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, 187 págs.

Pitterna, T. 2007. Chloride channel activators/New natural products (Avermectins and Milbemycins). En: W. Krämer & U. Schirmer. (Eds.). Modern crop protection compounds. Vol 3. Wiley, Weinheim, 1069–1088.

Pogoda, M.K., Pree, D.J. & Marshall, D.B. 2001. Effects of encapsulation on the toxicity of insecticides to the Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) and the predator *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). Canadian Entomologist, 133 (6): 819–826.

Poletti, M., Maia, A.H.N. & Omoto, C. 2007. Toxicity of neonicotinoid insecticides to *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) and their impact on functional response to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Biological Control, 40: 30–36.

Pozzebon, A. & Duso, C., 2008. Grape downy mildew Plasmopara viticola, an alternative food for generalist predatory mites occurring in vineyards. Biol. Control, 45: 441–449.

Pozzebon, A., Borgo, M. & Duso, C. 2010. The effects of fungicides on non-target mites can be mediated by plant pathogens. Chemosphere, 79 (1): 8–17.

Pozzebon, A., Duso, C. & Pavanetto, E. 2002. Side effects of some fungicides on phytoseiid mites (Acari, Phytoseiidae) in north-Italian vineyards. Anzeiger fur Schadlingskunde, 75 (5): 132–136.

Pozzebon, A., Loeb, G.M. & Duso, C., 2009. Grape powdery mildew as a food source for generalist predatory mites occurring in vineyards: effects on life-history traits. Ann. Appl. Biol., 155: 81–89.

Sáenz-de-Cabezón-Irigaray, F.J. & Zalom, F.G. 2006. Side effects of five new acaricides on the predator *Galendromus occidentalis* (Acari, Phytoseiidae). Exp. Appl. Acarol., 38: 299–305.

Sáenz-de-Cabezón-Irigaray, F.J. & Zalom, F.G. 2007. Selectivity of acaricide exposure on *Galendromus occidentalis* reproductive potential. Biocontrol Sci. Tech., 17: 541–546.

Sato, M.A., Da Silva, M., Gonçalves, L.R., De Souza, M.F. & Raga, A. 2002. Differential toxicity of pesticides to *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) and *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on strawberry. Neotrop. Entomol., 31: 449–456.

Shipp, J.L., Wang, K. & Ferguson, G. 2000. Residual toxicity of avermectin b1 and pyridaben to eight commercially produced beneficial arthropod species used for control of greenhouse pests. Biol. Control, 17: 125–131.

Solomon, M.G., Easterbrook, M.A. & Fitzgerald, J.D. 1993a. Mite-management programmes based on organophosphate-resistant *Typhlodromus pyri* in UK apple orchards. Crop Protection, 12 (4): 249–254.

Solomon, M.G., Fitzgerald, J.D. & Ridout M.S. 1993b. Fenazaquin, a selective acaricide for use in IPM in apple in the UK. Crop Protection, 12 (4): 255–258.

Stark, J.D., Jepson, P.C. & Mayer, D.F. 1995. Limitations to Use of Topical Toxicity Data for Predictions of Pesticide Side Effects in the Field. Journal of Economic Entomology, 1081–1088.

Thwaite, W.G., Bower, C.C., Hately, A.M. & Swist-Swirski, D. 1996. Tebufenpyrad: Compatibility with integrated mite control on apples. Experimental and Applied Acarology, 20 (4): 177–191.

Van de Baan, H.E., Kuijpers, L.A.M., Overmeer, W.P.J. & Oppenoorth, F.J. 1985. Organophosphours and carbamate resistance in the predaceous mite *Typhlodromus pyri* die to insensitive acetylcholinesterase. Exp. Appl. Acarol., 1: 3–10.

Vidal, C. & Kreiter, S. 1995. Resistance to a range of Insecticides in the predaceous Mite *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae): Inheritance and Physiological Mechanisms. Journal of Economic Entomology, 88 (4): 1097–1105.

Walde, S.J., Nyrop, J.P. & Hardman, J.M. 1992. Dynamics of *Panonychus ulmi* and *Typhlodromus pyri*: factors contributing to persistence. Exp. Appl. Acarol., 14: 261–291.

Watve, C.M. & Lienk, S.E. 1976. Resistance to carbaryl and six organophosphorus insecticides of *Amblyseius fallacis* and *Typhlodromus pyri* from New York apple orchards. Environ. Entomol., 5: 368–70.

Wearing, C.H. & Ashley, E. 1978. A recommended spray programme for integrated control of European red mite on apples. The Orchadist of New Zealand, 51: 355–57.

Wearing, C.H. 2014. Historical tests of the toxicity of pesticides to *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) and their relevance to current pest management in New Zealand apple orchards 1. Laboratory tests with eggs and larvae. Biocontrol Science and Technology, 24 (7): 780–809.

Wearing, C.H., Charles, J.G. & Batchelor, T.A. 2014a. Historical tests of the toxicity of pesticides to *Typhlodromus pyri* (acari: Phytoseiidae) and their relevance to current pest management in New Zealand apple orchards 2. short-term field tests. Biocontrol Science and Technology, 24 (7): 810–838.

Wearing, C.H., Marshall, R.R., Colhoun, C. & Attfield, B.A. 2014b. Phytophagous mites and their predators during the establishment of apple orchards under biological and integrated fruit production in Central Otago, New Zealand. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 42 (2): 127–144.

Yoo, S.S. & Kim, S.S. 2000. Comparative toxicity of some pesticides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: phytoseii-dae) and the tow spotted spider mites, *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae). Korean. J. Appl. Entomol., 30: 235–241.

Zhang, Z. & Sanderson, J.P. 1990. Relative toxicity of abamectin to the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) and two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol., 83: 1783–1790.

Capítulo III

Compatibilidad de *Beauveria bassiana* con acaricidas de nueva generación

- **Introducción**
- **Objetivos**
- **Material y métodos**
- **Resultado**
- **Discusión**
- **Conclusión**

Capítulo III. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* con acaricidas de nueva generación

Introducción: *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin

Clasificación taxonómica:

Reino Fungi

Filo Deuteromycota

División Deuteromycotina

Clase Hyphomycetes

Orden Moniliales

Familia Moniliaceae

Genero *Beauveria*

Se conocen varias especies dentro del género *Beauveria,* siendo las más estudiadas *B. bassiana* y *B. brongniartii* (Alean Carreño, 2003).

B. bassiana es un hongo ampliamente distribuido en la naturaleza (St. Leger *et al.*, 1992), capaz de actuar sobre más de 200 especies de artrópodos diferentes (Monzón, 2001). Es potencialmente apto para el control de unas 70 especies de insectos plaga (Aleshina, 1980) y ha sido ampliamente testado, tanto en campo como en laboratorio, sobre trips, moscas blancas y pulgones (Legaspi *et al.*, 2000). Presenta la ventaja de ser inocuo para numerosos organismos no diana (Goettel *et al.*, 1990).

En cuanto a su aspecto, cuando este hongo crece en medio de cultivo PDA (patata, dextrosa y agar) lo hace en forma de colonias blancas algodonosas que van virando a tonos amarillentos y cremas a medida que va pasando el tiempo (Cañedo & Ames, 2004).

B. bassiana y los ácaros

Los ácaros pueden criarse fácilmente en grandes cantidades, lo que facilita los estudios epizootiológicos (Van der Geest *et al.*, 2000). A pesar de ellos, pueden encontrarse más de mil artículos científicos en los que están implicados insectos con *B. bassiana*, y menos de cien en los que se realizan estudios con ácaros.

Son escasos los estudios en los que se ven implicados fitoseidos y *B. bassiana*. Jacobson *et al.* (2001) evaluó la compatibilidad, para el control de *Frankliniella occidentalis* entre *B. bassiana* y *Amblyseius cucumeris*. Ludwig (2001) también comprobó si este hongo entomopatógeno era compatible con *Phytoseiulus persimilis* y con *Amblyseius degenerans,* otro fitoseido habitual en el control de este trips. Posteriormente, Wu *et al.* (2014 y 2015) estudió esta compatibilidad con *Neoseiulus barkeri*, también para el control de *F. occidentalis*. Por otra parte, Shipp *et al.* (2012) evaluó la capacidad que las abejas podrían tener para actuar como vectores de *B. bassiana* y el impacto que esta acción podría tener sobre uno de los fitoseidos más habituales en el control biológico en invernaderos, *Amblyseius swirskii*. Los fitoseidos que han sido objeto de más estudios, hasta el momento, han sido *Neoseiulus californicus* (Castagnoli *et al.*, 2005; Kurubal & Ay, 2015 y Numa Vergel *et al.*, 2011) y *Phytoseiulus persimilis* (Duso *et al.*, 2008; Kurubal & Ay, 2015; Ludwig & Oetting, 2001; Numa Vergel *et al.*, 2011 y Seiedy *et al.*, 2013, 2012a y 2012b).

En cuanto a los ácaros perjudiciales, los principales protagonistas de estos estudios son los tetraníquidos, aunque cabe mencionar que algunos ectoparásitos, como *Varroa* sp., responsable de la varroasis de las abejas melíferas, también son objeto de numerosas investigaciones en esta línea.

Los ensayos con tetraníquidos y *B. bassiana* han implicado a especies como *Olygonychus yothersi* (de Oliveira & Neves, 2004), *Panonychus citri* (Shi & Feng, 2006), *Tetranychus cinnabarinus* (Erler *et al.*, 2013; Shi & Feng, 2004a y 2004b; Shi *et al.*, 2005 y Shi *et al.*, 2008), *T. evansi* (Bugeme *et al.*, 2008; Bugeme *et al.*, 2009 y Wekesa *et al.*, 2005 y 2006), *T. truncatus* o *T. turkestani* (Shi *et al.*, 2008), siendo *T. urticae* la especie que ha acaparado la mayor parte de estos estudios.

Beauveria bassiana y *Tetranychus urticae*

La efectividad de *B. bassiana* sobre *T. urticae* está condicionada, además de por la concentración de conidias, por la humedad ambiental relativa, la temperatura (Maniania *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2008; Shipp *et al.*, 2003; y Ullah & Lim, 2014), el estado de desarrollo del ácaro (Bugeme *et al.*, 2015), el cultivo sobre el que se alimenta, (Seyed-Talebi *et al.*, 2014), y por la cepa del hongo, aunque cabe destacar que Saranya *et al.* (2013), estudiando la patogenicidad de varías cepas de *B. bassiana*, encontraron que *T. urticae* era sensible a todas ellas en mayor o menor medida.

Seyed-Talebi *et al.* (2012) observaron que la duración de los estados inmaduros de *T. urticae* no se veía condicionada por la infección del hongo, aunque sí apreciaron que la fase larvaria era más larga en judía que en pepino, y que la longevidad, el periodo de

oviposición y la fecundidad eran menores cuando se producía la infección por el hongo, independientemente de la planta huésped.

En cuanto a la eficacia de *B. bassiana* para el control de *T. urticae*, Abdallah *et al.* (2014) compararon la capacidad para reducir las poblaciones de este ácaro fitófago por parte del fitoseido *Phytoseiulus persimilis*, del acaricida spirodiclofén y de tres hongos entomopatógenos (*B. bassiana*, *Cladosporium herbarium* y *Trichoderma harzianum*) y observaron que el fitoseido era el más eficaz, reduciendo las poblaciones en un 97,15%, seguido muy de cerca del acaricida, de *B. bassiana* y de *C. herbarium*, que no mostraron diferencias significativas entre sí, siendo el menos eficaz *T. harzianum*.

Aprovechar conjuntamente la capacidad depredadora de *P. persimilis* y la patogenicidad de *B. bassiana* para controlar *T. urticae* podría parecer factible, puesto que según un estudio publicado por Seiedy (2013), *P. persimilis* es capaz de detectar a los individuos infectados por el hongo y, por tanto, evitar el contacto con el patógeno. Por otro lado, la capacidad de *T. urticae* para incrementar sus poblaciones se ve afectada por *B. bassiana*, lo cual repercute indirectamente sobre la longevidad de *P. persimilis*, y por tanto, sobre su tasa intrínseca de crecimiento (Seiedy *et al.*, 2012a). Además, la detección del hongo en el cuerpo del fitófago hace que aumente el tiempo de manipulación por parte del fitoseido, disminuyendo de este modo su capacidad depredadora (Seiedy *et al.*, 2012b). Ensayos realizados por Numa *et al.* (2011) dejaron patente que, para el control de *T. urticae*, lo más eficaz era dejar que *P. persimilis* actuase por sí solo, sin ayuda de *B. bassiana*, lo que hace pensar que las estrategias de IPM más interesantes para el control de *T. urticae* que impliquen a *B. bassiana* son aquellas que contemplen el uso de fitosanitarios compatibles con el hongo y no enemigos naturales, ya que se pueden ver afectados por la escasez de alimento cuando la plaga se ve mermada.

B. bassiana y los acaricidas

Algunos acaricidas pueden ver potenciado su efecto al ser combinados con *B. bassiana,* como es el caso del flufenoxuron, o simplemente tener un efecto aditivo, como sucede con la azadiractina (Hernández *et al.*, 2012).

A las concentraciones ensayadas por de Oliveira & Neves (2004), el fenpiroximato producía una reducción de la germinación de las conidias y de la esporulación, así como un ligero detrimento en el crecimiento micelial, mientras que el efecto ocasionado por la abamectina era mucho menor, lo que vendría a avalar la afirmación de Halley *et al.* (1993) de que la abamectina no tiene efecto antifúngico y podría ser factible su uso en mezclas con *B. bassiana* (Cuthbertson *et al.*, 2012). De hecho, Nada

& Gaffar (2012) encontraron que la mezcla de la LC_{25} de *B. bassiana* y abamectina tenía un efecto sinérgico frente al pulgón *Aphis craccivora*, mientras que el resultado fue antagónico para otras concentraciones.

En cuanto al spiromesifén, Cuthbertson *et al.* (2012) detectaron una merma en la germinación de *B. bassiana,* por lo que desaconsejan su uso en mezclas a las concentraciones ensayadas.

Por su parte, Seyed-Talebi *et al.* (2014) combinaron la LC_{25} de spirodiclofén y la LC_{50} de una línea iraní de *B. bassiana* y obtuvieron que la mezcla producía un efecto sinérgico interesante para el control de *T. urticae*.

En el caso del etoxazol, no hay estudios previos que evalúen el efecto de su mezcla con *B. bassiana*.

Objetivos

Puesto que el empleo de microorganismos entomopatógenos como agentes de control biológico puede ser una herramienta muy útil para combatir algunas plagas de los cultivos, el objetivo general de este capítulo ha sido analizar la compatibilidad del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con diversos acaricidas de nueva generación.

Para ello, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar la mortalidad provocada por un insecticida microbiológico a base de esporas de *B. bassiana*, y por los acaricidas de nueva generación abamectina, etoxazol, fenpiroximato, spirodiclofén y spiromesifén, sobre huevos y larvas de *T. urticae*.

2. Analizar el efecto de la aplicación conjunta del insecticida microbiológico con cada uno de los anteriores acaricidas, sobre huevos y larvas de *T. urticae*.

Material y Métodos

Para evaluar la compatibilidad de *Beauveria bassiana* con acaricidas de nueva generación, fue necesaria la cría masiva de *T. urticae* en laboratorio, tal y como se describe en el capítulo II, la sincronización de cohortes para obtener individuos de la misma edad, la determinación de la viabilidad de esporas presentes en el producto comercial utilizado, y la realización de una serie de bioensayos, cuya metodología se describe a continuación.

Sincronización de cohortes de *T. urticae*

Para los bioensayos se utilizaron huevos de menos de 24 horas de edad y larvas recién emergidas, para garantizar que los resultados fuesen lo más homogéneos posibles y minimizar el efecto que pueda tener la diferencia de edad dentro del mismo estado de desarrollo.

Para obtener huevos de menos de 24 horas, se realizaron cohortes colocando hembras adultas de *T. urticae* directamente en los mismos discos de hoja de judía que se utilizaron posteriormente en cada bioensayo y se les mantuvo en ellos realizando la puesta durante un periodo inferior a 24 horas, tras el cual fueron retiradas junto con los huevos sobrantes, si ese era el caso.

Para poder obtener larvas recién emergidas, se realizaron cohortes tomando hembras adultas de la colonia y depositándolas durante menos de 24 horas en hojas de judía colocadas en placas de Petri que contenían papel de filtro húmedo, para evitar la desecación de las hojas y la fuga del ácaro. Transcurrido este tiempo de oviposición, se retiraron las hembras dejando únicamente los huevos. Estas placas se mantuvieron en cámaras de crecimiento a 24 ± 1 ^{o}C, durante cinco días, tras los cuales emergieron las larvas, que con la ayuda de un pincel se transfirieron a los discos de hoja judía utilizados en los bioensayos.

Determinación de la viabilidad de esporas de *B. bassiana*

Previo a la realización de los ensayos, se comprobó la viabilidad de las conidias presentes en el producto comercial utilizado (Butt & Goettel, 2000).

Para ello, se dispensó 500 ml de medio PDA (patata, dextrosa y agar) en 30 placas de Petri estériles de 9 cm de diámetro, que se inocularon, una vez se hubo solidificado el medio, con 300 µl de una dilución 10^{-5} de Naturalis-L (producto comercial) en agua destilada estéril (Sáenz de Cabezón Irigaray *et al.*, 2003).

Una vez inoculadas, las placas se incubaron durante cinco días en una cámara de crecimiento a una temperatura de 25 ± 1 ^{o}C. Transcurrido este tiempo, se contó el número de unidades formadoras de colonias (ufc) y se estimó la concentración de ufc existente en el producto que se iba a utilizar en el ensayo dando como resultado 1,60 x 10^{7} ± 3,33 x 10^{6} ufc/ml (Resultado de determinación de viabilidad en anexo III).

Bioensayos: evaluación de compatibilidad de *B. bassiana* con acaricidas de nueva generación

Para evaluar la compatibilidad de *B. bassiana* con los acaricidas de nueva generación estudiados fue necesario caracterizar la toxicidad de cada producto (acaricidas y *B. bassiana*) sobre *T. urticae*, con el fin de escoger una dosis subletal que permita comparar la mortalidad que ocasiona cada producto cuando es aplicado en solitario con respecto a la mortalidad causada cuando es aplicado en mezcla (acaricida + *B. bassiana*).

En aquellos casos en los que la mezcla mostró un efecto antagonista, se procedió a analizar el tipo de alteración que el acaricida podía provocar sobre la patogenicidad del hongo, evaluando su efecto sobre la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio.

Caracterización de la toxicidad de los acaricidas y *B. bassiana* sobre huevos y larvas de *T. urticae*: análisis Probit

Para poder caracterizar la compatibilidad de cada producto, se decidió utilizar la LC_{30} en todos los casos (acaricidas y *B. bassiana*), con el fin de permitir la expresión de los posibles efectos sinérgicos, aditivos o antagónicos que se produjesen en las mezclas.

Para poder determinar la LC_{30}, se calculó la recta Probit que caracteriza la toxicidad de cada producto en base a una serie de concentraciones, tal y como se describe a continuación.

Materias activas

Los productos comerciales utilizados para evaluar la compatibilidad de los acaricidas de nueva generación con *B. bassiana* se recogen en la tabla 33.

Ingrediente activo	Nombre comercial	% ingrediente activo y tipo de formulación
Abamectina	[a] Abasi®	1,8 SC
Etoxazol	[b] Borneo®	11 SC
Fenpiroximato	[a] Flash®	5 EC
Spirodiclofén	[c] Envidor®	22,3 SC
Spiromesifén	[c] Oberon®	22,9 SC

[a]Sipcam Iberia S.L. Valencia España, [b]Kenogard S.A. Barcelona España, [c]Bayer CropScience S.L. Valencia España.

Tabla 33. Acaricidas utilizados en los bioensayos.

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* utilizado en los ensayos procede del producto comercial Naturalis-L (2,3 X 10^9 conidias/ml) comercializado por Agrichem S.A. (España).

Los individuos de *Tetranychus urticae*, así como las hojas de judía utilizados en estos bioensayos, se obtuvieron siguiendo los mismos procedimientos descritos en el capítulo anterior.

Recintos experimentales

Cada recinto experimental consistió en una placa de Petri, de 9 cm de diámetro en la que se colocaron cinco discos de hoja de alubia, de 2 cm de diámetro, sobre tres capas de papel de filtro dispuestas sobre una base de algodón saturada de agua, con el fin de mantener la humedad del tejido vegetal y evitar la huida de los ácaros (Figura 29). Cada disco de hoja disponía de diez huevos o diez larvas de *T. urticae,* según fuera el caso.

Tras el tratamiento con el producto comercial y una vez que la superficie de los discos estaba seca, estas placas fueron introducidas en cajas de plástico cilíndricas, de 11,5 cm de diámetro y 5 cm de altura, con la tapa perforada por cuatro agujeros de 2 cm de diámetro cubiertos con tela de visillo. Estos recintos se mantuvieron en una cámara de crecimiento a una de temperatura de 24 ± 1 ^{o}C, humedad relativa de 70 ± 5 % y fotoperiodo de 16:8 (L:O).

Cada concentración utilizada de cada producto se aplicó, al menos, en una placa de Petri con cinco discos de hoja.

Rangos de concentraciones ensayadas

Para determinar la LC_{30} se realizaron ensayos previos con el fin de ajustar las concentraciones finalmente empleadas. En base a los resultados obtenidos, se escogieron las concentraciones que aparecen en la tabla 34, para cada materia activa.

Ingrediente activo	Concentraciones ensayadas (ppm o ufc/ml)	
	Huevos	**Larvas**
Abamectina	0,625 – 1,250 – 2,500 – 5,000 – 10,000 – 20,000	0,010 – 0,016 – 0,100 – 0,150 – 0,250 – 1,562
Etoxazol	0,007 – 0,014 – 0,028 – 0,055 – 0,110 – 0,220	0,029 – 0,065 – 0,098 – 0,147 – 0,220
Fenpiroximato	0,32 – 0,80 – 5,00 – 8,00 – 12,50 – 32,00	0,0625 – 0,1250 – 0,2500 – 0,50000 – 1,0000 – 2,0000
Spirodiclofén	0,25 – 0,50 – 1,00 – 2,00 – 4,00 – 8,00	0,50 – 2,00 – 4,00 – 8,00 – 16,00
Spiromesifén	0,012 – 0,021 – 0,039 – 0,125 – 0,480	0,06 – 0,09 – 0,014 – 0,190 – 0,320 – 0,480
B. bassiana	15.000 – 43.200 – 64.000 – 96.000 – 144.000	12.800 – 19.200 – 28.800 – 43.200 – 64.000 – 96.000

Tabla 34. Serie de concentraciones ensayadas para elaborar recta Probit.

Tratamiento

La aplicación de los tratamientos se realizó mediante una torre para pulverizaciones de precisión en laboratorio tipo Potter, tal y como se ha explicado en el capítulo anterior.

Durante los seis días posteriores al tratamiento, en el caso de los huevos, y durante los cinco días siguientes, en el caso de las larvas, se anotó diariamente el número de individuos que alcanzaba la siguiente fase de desarrollo, con el fin de considerar como individuo muerto a todo aquel que no lo lograse con éxito, independientemente de que después de ese hito muriese o no.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y las medias fueron separadas por LSD ($p < 0,05$).

Para estimar la LC_{30} de cada uno los productos (acaricidas y *B. bassiana*), se realizó un análisis Probit utilizando el programa informático Polo Plus versión 2.0, elaborado por LeOra Software, y utilizando un intervalo de confianza del 95%.

Determinación del efecto conjunto de cada acaricida con *Beauveria bassiana*

Una vez determinada la LC_{30}, tanto para larvas como para huevos, de los productos estudiados, se procedió a realizar los tratamientos a esa concentración de cada producto en solitario y en mezcla combinación con *B. bassiana*, para comprobar si la mortalidad causada por la mezcla era diferente a la suma de la mortalidad causada por hongo y acaricida de forma independiente.

Materias activas

Las concentraciones utilizadas, correspondientes a la LC_{30} para cada producto y estado de desarrollo (huevos y larvas), están recogidas en la tabla 35.

Ingrediente activo	LC_{30} para huevos	LC_{30} para larvas
Abamectina	1,420 ppm	0,025 ppm
Etoxazol	0,029 ppm	0,072 ppm
Fenpiroximato	5,452 ppm	0,232 ppm
Spirodiclofén	0,357 ppm	1,655 ppm
Spiromesifén	0,168 ppm	0,126 ppm
B. bassiana	51.935 ufc/ml	30.691 ufc/ml

Tabla 35. Concentraciones correspondientes a la LC_{30} de los productos ensayados.

Tratamiento

El tratamiento se realizó tal y como se ha explicado en el bioensayo anterior, pero en este caso las concentraciones utilizadas de cada producto correspondían a su LC_{30}.

Se evaluó la mortalidad de cada producto aplicado en solitario y de cada acaricida mezclado con *B. bassiana*.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y las medias fueron separadas por LSD ($p < 0,05$).

Los datos fueron analizados para determinar si se producía efecto sinérgico, aditivo o antagónico cuando los acaricidas eran mezclados con *B. bassiana*. Para ello, se usó un test χ^2 (Kopperhöfer & Fuzy, 2008; Morales-Rodríguez & Peck, 2009). La mortalidad esperada M_E en la mezcla fue calculada usando la siguiente fórmula:

$$M_E = M_H + M_Q\left(1 - \frac{M_H}{100}\right)$$

Donde M_H es el porcentaje de mortalidad corregida Abbot debida al hongo y M_Q es el porcentaje de mortalidad corregida Abbot debida al acaricida.

La mortalidad Abbot se calculó con la siguiente fórmula:

$$Mortalidad\ Abbot = \frac{M_{tratamiento} - M_{testigo}}{100 - M_{testigo}} \times 100$$

Los resultados observados del test χ^2 se obtuvieron con la fórmula que figura a continuación, y se compararon con los valores esperados en una tabla χ^2 para un grado de libertad y $\alpha = 0{,}05$.

$$x^2{}_{observada} = \frac{\left(M_{QH} - M_E\right)^2}{M_E}$$

Siendo M_{QH} es el porcentaje de mortalidad corregida Abbot debida a la mezcla de acaricida y hongo.

La comparación entre la χ^2 observada y la χ^2 esperada ofrece las posibilidades que figuran en la tabla 36. La hipótesis nula H_o afirma que la mezcla de *B. bassiana* con el acaricida tiene como resultado un efecto aditivo. En el caso de que la hipótesis nula fuese rechazada, se optaría por una de las hipótesis alternativas. Si la M_{QH} es menor que la M_E, se consideraría que el efecto es antagónico. Por el contrario, en el caso de que fuese mayor se consideraría que el efecto es sinérgico.

Si $\chi^2_{observadas} < \chi^2_{esperada}$	**H_o cierta**		Efecto aditivo
Si $\chi^2_{observadas} > \chi^2_{esperada}$	**H_o falsa**	Si $M_{QH} - M_E < 0$	Efecto antagónico
		Si $M_{QH} - M_E > 0$	Efecto sinérgico

Tabla 36. Comparación de χ^2 observada y χ^2 esperada.

Efecto de los acaricidas sobre la germinación de las conidias y el crecimiento micelial de *Beauveria bassiana*

En aquellos casos en los que la mezcla tuvo como resultado una respuesta antagonista, se analizó si este resultado era una consecuencia del efecto negativo producido por el acaricida sobre la germinación de las conidias o el crecimiento micelial, factores que influyen en la patogenicidad del hongo.

Recintos experimentales

Se utilizaron placas de Petri estériles, de 9 cm de diámetro, y PDA como medio de cultivo.

Se utilizaron las concentraciones de LC_{30} correspondientes a los acaricidas etoxazol y fenpiroximato, que fueron los productos cuya mezcla con *B. bassiana* mostró una respuesta antagonista.

Tratamiento

Se prepararon 600 ml de PDA autoclavado por cada acaricida a ensayar, así como para el control.

Se dejó enfriar el medio de cultivo hasta los 45 ^{o}C, temperatura a la cual se añadió la concentración LC_{30} del correspondiente acaricida, y se mezcló con cuidado para evitar la formación de burbujas. Posteriormente, se dispensó el medio de cultivo en 35 placas de Petri.

Por cada acaricida y control se utilizaron 20 placas para evaluar la germinación de las conidias y 15 placas para cuantificar el crecimiento micelial.

Germinación de conidias

Se preparó una dilución 10^{-5} de Naturalis-L utilizando agua destilada estéril y se sembró cada placa con 300 µl.

Las placas se incubaron durante cinco días en una cámara de crecimiento, a 24 ^{o}C, tras los cuales se contó el número de ufc.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y las medias fueron separadas por LSD ($p < 0,05$).

Crecimiento micelial

A partir de una dilución 10^{-3} de Naturalis-L en agua destilada estéril, se sembraron varias placas de Petri que contenían medio de cultivo PDA y se incubaron a 24 ^{o}C durante una semana con el propósito de obtener inóculo de *B. bassiana*. Utilizando un palillo estéril, se tocaba el micelio con su punta y seguidamente el medio de la placa con acaricida que se deseaba inocular, tras lo cual se desechaba ese palillo.

Estas placas se incubaron durante 12 días en una cámara de crecimiento, a 24 ^{o}C, realizándose mediciones del diámetro adquirido por el micelio del hongo a los 5, 7 y 12 días.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y las medias fueron separadas por LSD ($p < 0,05$).

Resultados

Caracterización de la toxicidad de los acaricidas y *B. bassiana* sobre huevos y larvas de *T. urticae*: análisis Probit

En las siguientes tablas y figuras se representan los resultados obtenidos en el análisis Probit para *B. bassiana* y cada uno de los acaricidas ensayados sobre huevos de menos de 24 horas de edad y larvas de *T. urticae*. Los ajustes se obtuvieron a los cinco días del tratamiento, en el caso de huevos, y a los cuatro días, en el caso de larvas. En todos los casos, se registraron valores adecuados de χ^2 y de heterogeneidad. En las figuras se representan las rectas de regresión Probit, así como los puntos observados a partir de los cuales se ha determinado la ecuación de la recta.

El test de igualdad y paralelismo llevado a cabo entre las rectas obtenidas para huevos y larvas no permitió aceptar la hipótesis de igualdad ni de paralelismo en los tratamientos con *B. bassiana*, abamectina, fenpiroximato y spirodiclofén. Sin embargo si permitió aceptar la hipótesis de paralelismo, aunque no la de igualdad en el caso del etoxazol y el spirodiclofén.

Beauveria bassiana

En la tabla 37 figuran los parámetros de las rectas de regresión ponderada Probit obtenidas al tratar huevos y larvas de *T. urticae* con esporas de *B. bassiana*.

Los valores obtenidos para la LC_{50} y la LC_{99} indican que *B. bassiana* es más eficaz como larvicida que como ovicida siendo necesarias concentraciones inferiores para lograr el mismo efecto sobre larvas que sobre huevos.

Estado de desarrollo	Ecuación de la recta Probit	$\chi^2_{observada}$ (gl)	LC_{10} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{50} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{99} (intervalo de confianza al 95%)
Huevos	y = -2,94 + 1,57 x	0,397 (3)	17.130 (5.065 – 28.311)	$1,12 \times 10^5$ ($84.115 – 1,85 \times 10^5$)	$3,38 \times 10^6$ ($1,01 \times 10^6 – 7,66 \times 10^7$)
Larvas	y = -7,49 + 2,67 x	1,832 (3)	15.965 (11.672 – 19.862)	48.261 (41.267 – 57.668)	$3,59 \times 10^5$ ($2,34 \times 10^5 – 6,96 \times 10^5$)

gl = grados de libertad.

Tabla 37. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con esporas de *B. bassiana*.

En la figura 39 se representan las rectas de regresión Probit obtenidas para huevos y larvas.

La pendiente es más pronunciada para el estado de desarrollo de larva que para el estado de huevo, lo que indica que incrementos iguales en las concentraciones intensifican más el efecto larvicida que el ovicida.

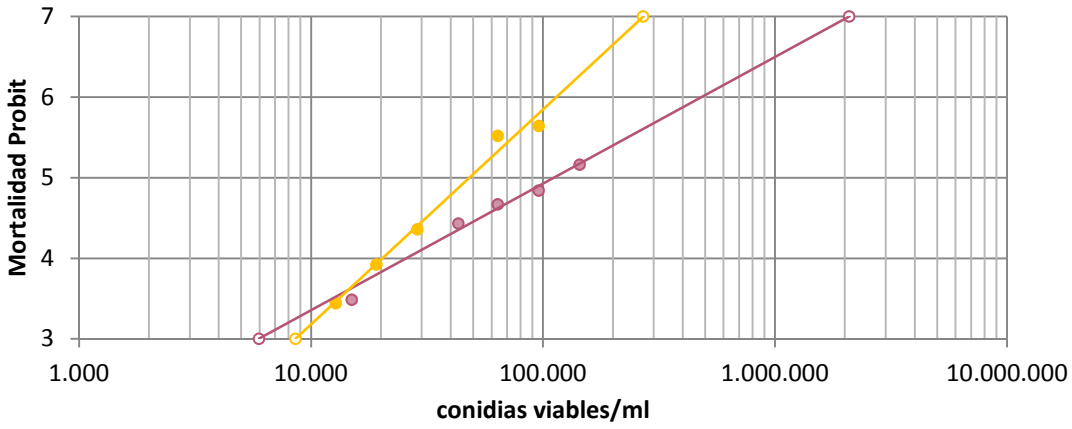

Figura 39. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con esporas de *B. bassiana* (puntos observados para huevos; puntos observados para larvas).

Abamectina

Los parámetros de las rectas de regresión ponderada Probit obtenidas al tratar huevos y larvas de *T. urticae* con abamectina se muestran en la tabla 38.

Estado de desarrollo	Ecuación de la recta Probit	$\chi^2_{observada}$ (gl)	LC_{10} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{50} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{99} (intervalo de confianza al 95%)
Huevos	y = 4,22 + 1,66 x	8,915 (4)	0,496 (0,022 – 1,240)	2,944 (1,127 – 5,386)	74,596 (23,212 – 4945,913)
Larvas	y = 5,91 + 0,90 x	8,887 (4)	0,004 (0,000 – 0,015)	0,096 (0,033 – 0,273)	37,459 (3,878 – 1,11 x 10^5)

gl = grados de libertad.

Tabla 38. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con abamectina.

Por su parte, en la figura 40 se representan las rectas de regresión Probit obtenidas para huevos y larvas.

La pendiente es más pronunciada para el estado de huevos que para el estado de larva, lo que indica que incrementos iguales en las concentraciones intensifican más el efecto ovicida que el larvicida. Sin embargo, los valores obtenidos para LC_{10} y LC_{50}

indican que la abamectina es más eficaz como larvicida que como ovicida siendo necesarias concentraciones inferiores para lograr el mismo efecto sobre larvas que sobre huevos.

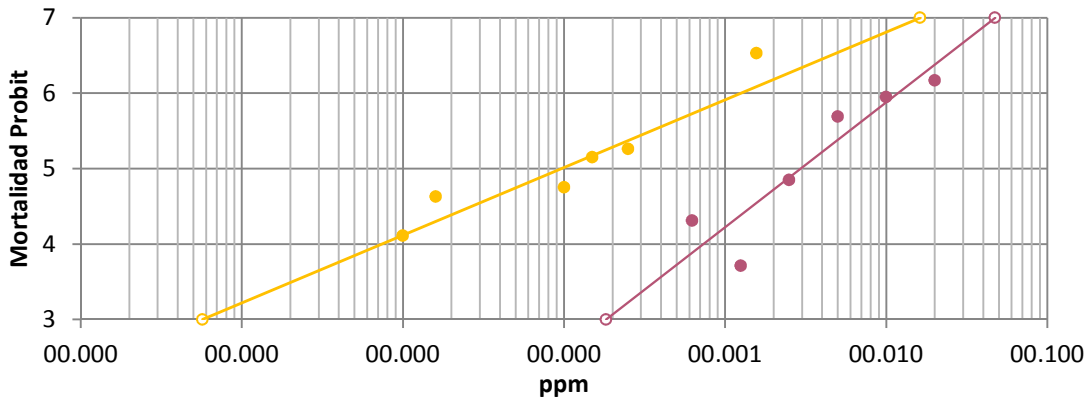

Figura 40. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con abamectina (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

Etoxazol

La Tabla 39 muestra los parámetros de la recta de regresión ponderada Probit obtenidas al tratar huevos y larvas de *T. urticae* con etoxazol, mientras que en la figura 41 se representan gráficamente dichas rectas.

Estado de desarrollo	Ecuación de la recta Probit	$\chi^2_{observada}$ (gl)	LC_{10} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{50} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{99} (intervalo de confianza al 95%)
Huevos	y = 10,46 + 3,88 x	1,979 (4)	0,018 (0,013 – 0,023)	0,039 (0,033 – 0,046)	0,156 (0,116 – 0,255)
Larvas	y = 8,72 + 3,72 x	0,924 (3)	0,045 (0,034 – 0,054)	0,100 (0,088 – 0,112)	0,421 (0,320 – 0,641)

gl = grados de libertad.

Tabla 39. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con etoxazol.

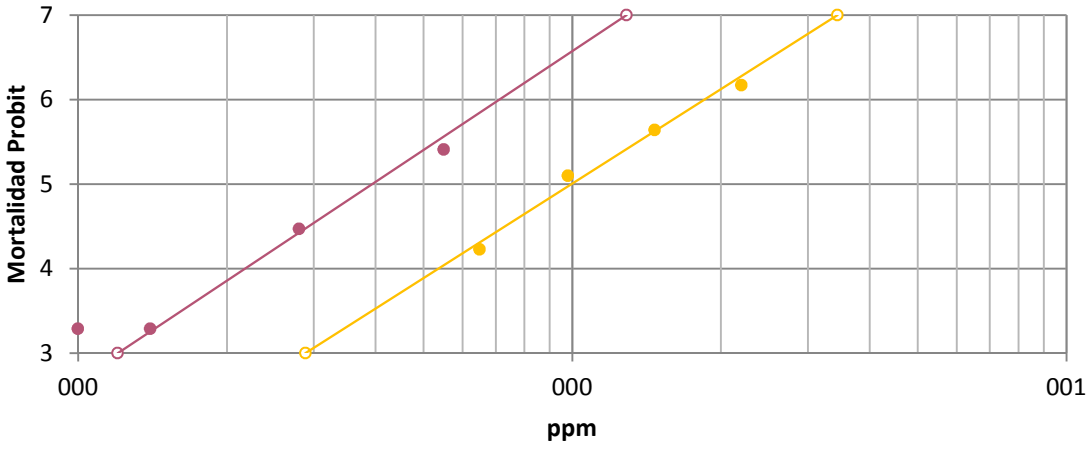

Figura 41. Recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con etoxazol (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

El test de igualdad y paralelismo llevado a cabo entre las dos rectas obtenidas no permitió aceptar la hipótesis de igualdad, pero sí la de paralelismo, por lo que en la figura 42 se representan las rectas Probit forzadas al paralelismo.

Tras calcular la potencia relativa entre las etapas de desarrollo ensayadas, resultó ser más sensible el estado de huevo que el de larva, obteniendo una potencia relativa de 2,5.

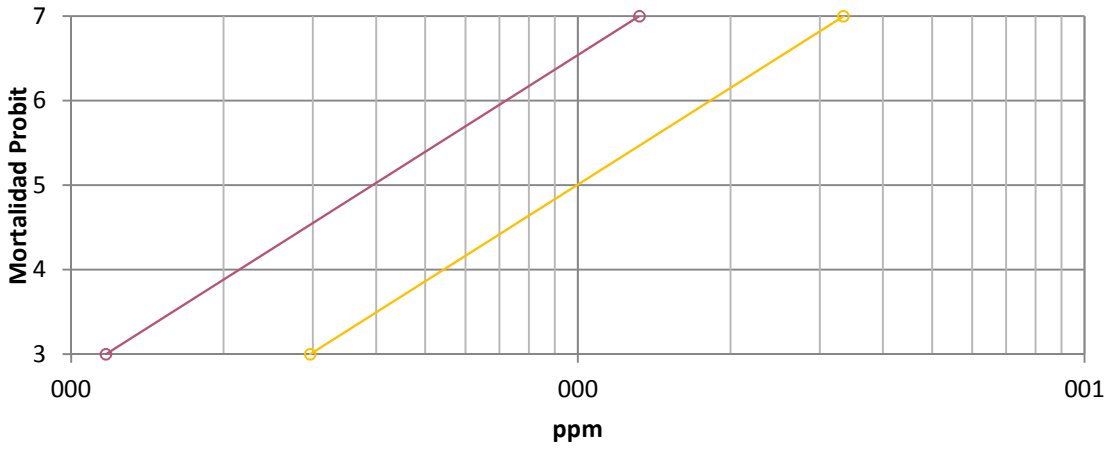

Figura 42. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con etoxazol, forzadas al paralelismo (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

Fenpiroximato

En la tabla 40 figuran los parámetros de la recta de regresión ponderada Probit obtenidas al tratar huevos y larvas de *T. urticae* con fenpiroximato. Los valores obtenidos para la LC_{50} y la LC_{99} indican que el fenpiroximato es más eficaz como larvicida que como ovicida, siendo necesarias concentraciones inferiores para lograr el mismo efecto sobre larvas que sobre huevos.

Estado de desarrollo	Ecuación de la recta Probit	$\chi^2_{observada}$ (gl)	LC_{10} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{50} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{99} (intervalo de confianza al 95%)
Huevos	y = 3,64 + 1,14 x	4,955 (4)	1,181 (0,014 – 3,205)	15,725 (8,173 – 60,439)	1727,00 (209,31 – 4,89 x 10^7)
Larvas	y = 6,21 + 2,73 x	6,225 (4)	0,123 (0,067 – 0,177)	0,361 (0,268 – 0,486)	2,564 (1,507 – 6,753)

gl = grados de libertad.

Tabla 40. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con fenpiroximato.

Por su parte en la figura 43 se representan las rectas de regresión Probit obtenidas para huevos y larvas.

La pendiente es más pronunciada para el estado de desarrollo de larva que para el de huevo, lo que indica que incrementos iguales en las concentraciones intensifican más el efecto larvicida que el ovicida.

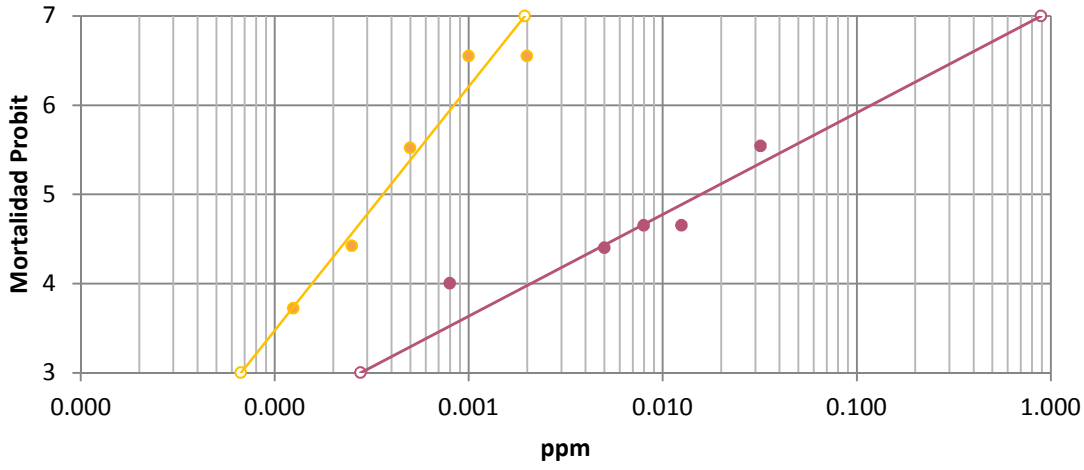

Figura 43. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con fenpiroximato (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

Spirodiclofén

Los parámetros de la recta de regresión ponderada Probit obtenidas al tratar huevos y larvas de *T. urticae* con spirodiclofén, aparecen en la tabla 41.

En la figura 44 se representan las rectas de regresión Probit obtenidas para huevos y larvas.

Estado de desarrollo	Ecuación de la recta Probit	$\chi^2_{observada}$ (gl)	LC_{10} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{50} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{99} (intervalo de confianza al 95%)
Huevos	y = 5,55 + 2,40 x	1,070 (4)	0,173 (0,099 – 0,247)	0,590 (0,460 – 0,724)	5,484 (3,642 – 10,424)
Larvas	y = 3,94 + 2,46 x	6,392 (3)	0,815 (0,158 – 1,499)	2,704 (1,454 – 4,268)	23,829 (11,182 – 208,036)

gl = grados de libertad.

Tabla 41. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spirodiclofén.

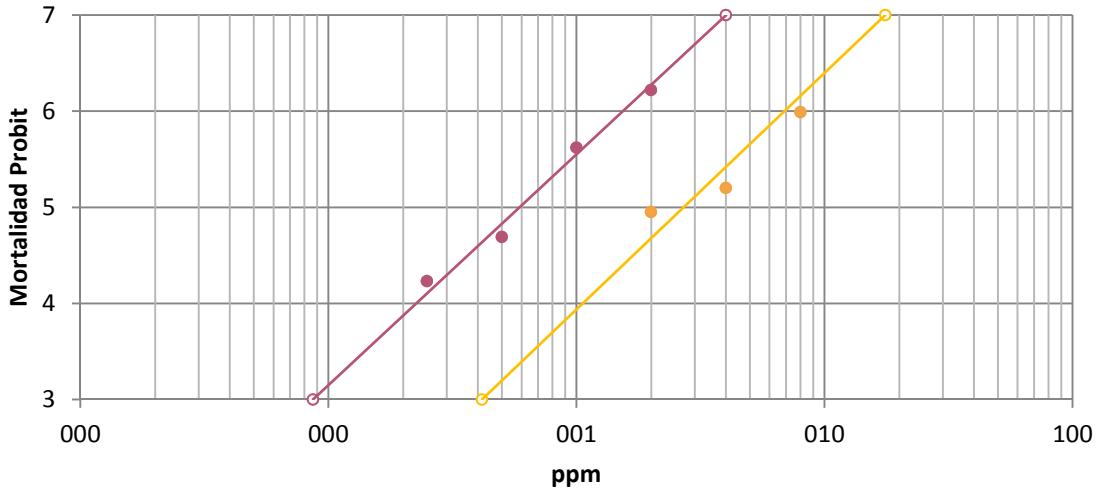

Figura 44. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spirodiclofén (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

El test de igualdad y paralelismo llevado a cabo entre las dos rectas obtenidas no permitió aceptar la hipótesis de igualdad, pero sí la de paralelismo, por lo que en la figura 45 se representan las rectas Probit forzadas al paralelismo.

Una vez calculada la potencia relativa entre los distintos estados de desarrollo ensayados, resultó ser más sensible la fase de huevo que la de larva, obteniendo una potencia relativa de 4,6.

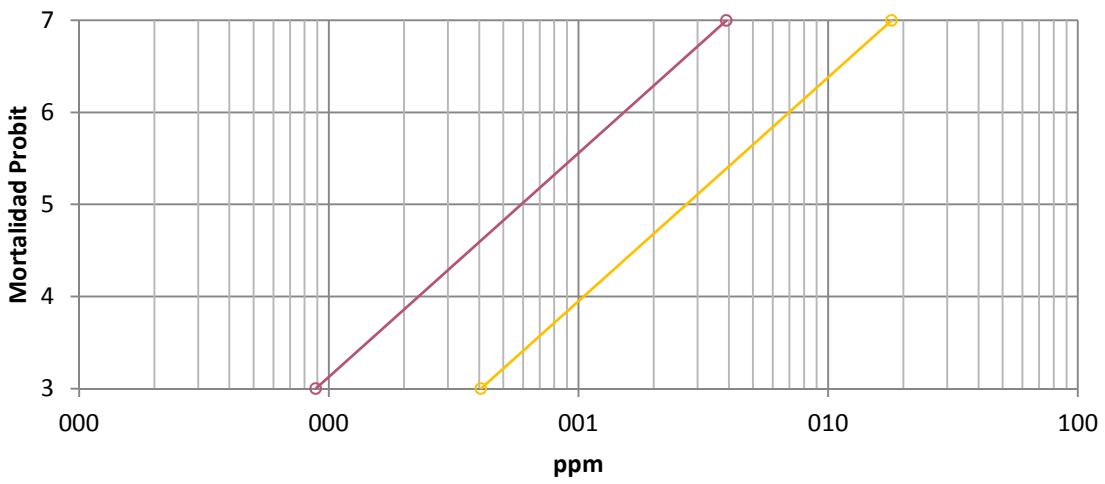

Figura 45. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spirodiclofén, forzadas al paralelismo (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

Spiromesifén

La tabla 42 muestra los parámetros de la recta de regresión ponderada Probit obtenidas al tratar huevos y larvas de *T. urticae* con spiromesifén. Los valores obtenidos para la LC_{50} y la LC_{99} indican que el spiromesifén es algo más eficaz como larvicida que como ovicida, pero estas diferencias no son significativas puesto que los límites de confianza se solapan.

Estado de desarrollo	Ecuación de la recta Probit	$\chi^2_{observada}$ (gl)	LC_{10} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{50} (intervalo de confianza al 95%)	LC_{99} (intervalo de confianza al 95%)
Huevos	y = 7,21 + 3,53 x	4,069 (3)	0,103 (0,029 – 0,158)	0,237 (0,152 – 0,388)	1,080 (0,560 – 11,251)
Larvas	y = 9,07 + 5,12 x	7,041 (4)	0,090 (0,062 – 0,111)	0,160 (0,134 – 0,192)	0,455 (0,332 – 0,853)

gl = grados de libertad.

Tabla 42. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spiromesifén.

En la figura 46 se representan las rectas de regresión Probit obtenidas para huevos y larvas.

La pendiente es más pronunciada para el estado de desarrollo de larva que para el de huevo, lo que indica que incrementos iguales en las concentraciones intensifican más el efecto larvicida que el ovicida.

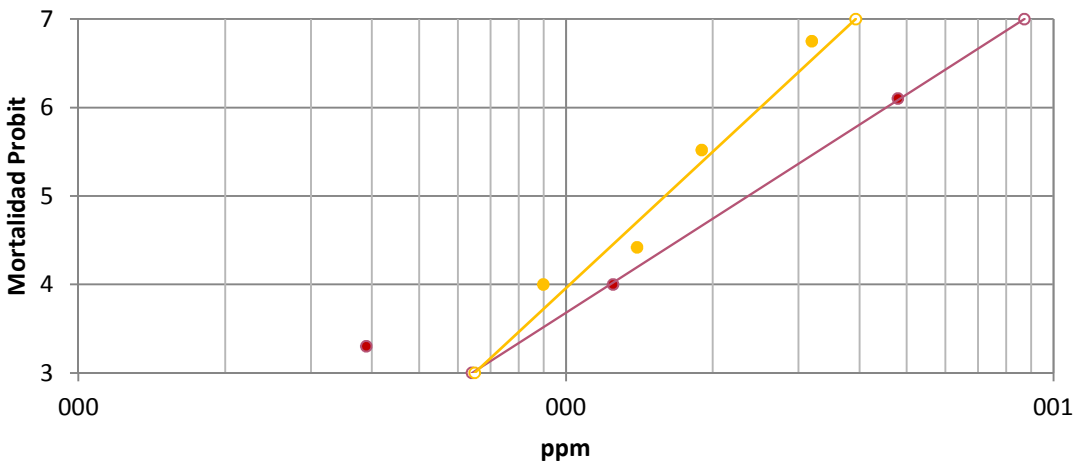

Figura 46. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spiromesifén (● puntos observados para huevos; ● puntos observados para larvas).

Determinación del efecto conjunto de cada acaricida con *Beauveria bassiana*

En las siguientes tablas se representa, para cada uno de los tratamientos aplicados, el porcentaje de mortalidad seguido de la desviación estándar. Además, en el caso de la combinación de los acaricidas con *B. bassiana*, se indica la comparación entre la $\chi^2_{observada}$ y la $\chi^2_{esperada}$ para α= 0,05 y gl=1. Como ya se ha indicado, se considera que cuando la $\chi^2_{observada}$ es menor que la $\chi^2_{esperada}$ el efecto es aditivo. Por el contrario, cuando la $\chi^2_{observada}$ es mayor que la $\chi^2_{esperada}$ existirían dos posibilidades: si la mortalidad observada es mayor que la esperada, se debe a un efecto sinérgico, mientras que si es menor, se trata de un efecto antagónico.

Abamectina

La mezcla de las LC_{30} de *B. bassiana* y abamectina tuvo efecto sinérgico, tanto sobre huevos como sobre larvas de *T. urticae* y se apreciaron diferencias significativas entre las mezclas y sus respectivos componentes aplicados en solitario (Tablas 43 y 44).

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	7,14 ± 1,84	a			
B. bassiana	34,29 ± 6,85	b			
B. bassiana + Abamectina	68,57 ± 6,34	c	6,147	3,841	17,33
Abamectina	32, 86 ± 7,78	b			
$F_{3,24}$ =16,83; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 43. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC_{30} de *B. bassiana* y abamectina en mezcla y en solitario.

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	0,00 ± 0,00	a			
B. bassiana	27,14 ± 5,22	b			
B. bassiana + Abamectina	85,71 ± 5,28	c	40,121	3,841	41,92
Abamectina	22,86 ± 5,65	b			
$F_{3,24}$ =61,27; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 44. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC_{30} de *B. bassiana* y abamectina en mezcla y en solitario.

Etoxazol

La combinación de las LC_{30} de *B. bassiana* y etoxazol tuvo efecto antagonista, tanto sobre huevos como sobre larvas de *T. urticae*, por lo que no se apreciaron diferencias significativas entre la mezcla y sus respectivos componentes aplicados en solitario (Tablas 45 y 46).

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	7,14 ± 1,84	a			
B. bassiana	34,29 ± 6,85	b			
B. bassiana + Etoxazol	34,29 ± 6,12	b	7,866	3,841	-19,60
Etoxazol	32,86 ± 3,60	b			
$F_{3,24}$ =7,08; P<0,0014					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 45. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC_{30} de *B. bassiana* y etoxazol en mezcla y en solitario.

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	0,00 ± 0,00	a			
B. bassiana	27,14 ± 5,22	b			
B. bassiana + Etoxazol	31,43 ± 7,69	b	10,267	3,841	-23,82
Etoxazol	38,57 ± 8,00	b			
$F_{3,24}$ =7,57; P<0,0010					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 46. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC_{30} de *B. bassiana* y etoxazol en mezcla y en solitario.

Fenpiroximato

La mezcla de las LC_{30} de *B. bassiana* y fenpiroximato tuvo efecto aditivo cuando el tratamiento fue sobre huevos de *T. urticae*, apreciándose diferencias significativas entre la mezcla y sus respectivos componentes en solitario, y efecto antagonista cuando fue sobre larvas, no apreciándose, en este caso, diferencias significativas entre la mezcla y sus respectivos componentes aplicados por separado (Tablas 47 y 48).

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	7,14 ± 1,84	a			
B. bassiana	34,29 ± 6,85	b			
B. bassiana + Fenpiroximato	70,00 ± 6,17	d	0,543	3,841	–
Fenpiroximato	50,00 ± 4,36	c			
$F_{3,24}$ = 26,20; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 47. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC_{30} de *B. bassiana* y fenpiroximato en mezcla y en solitario.

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	0,00 ± 0,00	a			
B. bassiana	27,14 ± 5,22	b			
B. bassiana + Fenpiroximato	44,29 ± 8,96	bc	4,813	3,841	-17,20
Fenpiroximato	47,14 ± 6,80	c			
$F_{3,24}$ = 12,19; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 48. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC_{30} de *B. bassiana* y fenpiroximato en mezcla y en solitario.

Spirodiclofén

La aplicación conjunta de las LC_{30} de *B. bassiana* y spirodiclofén tuvo efecto aditivo, tanto sobre huevos como sobre larvas de *T. urticae* (Tablas 49 y 50).

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	7,14 ± 1,84	a			
B. bassiana	34,29 ± 6,85	bc			
B. bassiana + Spirodiclofén	51,43 ± 7,38	c	0,689	3,841	–
Spirodiclofén	24,29 ± 6,12	ab			
$F_{3,24}$ = 9,67; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 49. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC_{30} de *B. bassiana* y spirodiclofén en mezcla y en solitario.

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	0,00 ± 0,00	a			
B. bassiana	27,14 ± 5,22	c			
B. bassiana + Spirodiclofén	42,86 ± 5,65	d	1,103	3,841	–
Spirodiclofén	12,86 ± 2,86	b			
$F_{3,24}$ = 20,24; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 50. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC_{30} de *B. bassiana* y spirodiclofén en mezcla y en solitario.

Spiromesifén

La combinación de las LC_{30} de *B. bassiana* y spiromesifén tuvo efecto aditivo, tanto sobre huevos como sobre larvas de *T. urticae* (Tablas 51 y 52).

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	7,14 ± 1,84	a			
B. bassiana	34,29 ± 6,85	bc			
B. bassiana + Spiromesifén	41,43 ± 6,70	c	0,114	3,841	–
Spiromesifén	20,00 ± 7,87	ab			
$F_{3,24}$ = 5,92; P<0,0036					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 51. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC_{30} de *B. bassiana* y spiromesifén en mezcla y en solitario.

Tratamiento	Mortalidad ± ES		$\chi^2_{observada}$	$\chi^2_{esperada}$	D
Control	0,00 ± 0,00	a			
B. bassiana	27,14 ± 5,22	b			
B. bassiana + Spiromesifén	45,71 ± 8,12	c	2,320	3,841	–
Spiromesifén	12,86 ± 3,60	ab			
$F_{3,24}$ = 14,51; P<0,0000					

ES = error estándar. D = Mortalidad observada – Mortalidad esperada. Medias de porcentaje de mortalidad ± ES seguidas de la misma letra implican que no hay diferencias significativas con un nivel del 5% (Anova y LSD).

Tabla 52. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC_{30} de *B. bassiana* y spiromesifén en mezcla y en solitario.

Efecto de los acaricidas sobre la germinación de conidias y el crecimiento micelial de *Beauveria bassiana*

Efecto del etoxazol y del fenpiroximato sobre la germinación de las conidias

El etoxazol no provocó una disminución de la germinación de las conidias de *B. bassiana*, ni a la LC_{30} para huevos (0,0029 ppm), ni a la LC_{30} para larvas (0,0072 ppm). Sin embargo, el fenpiroximato sí ocasionó un descenso significativo de la germinación cuando se añadió a la LC_{30} para huevos (5,452 ppm), pero no en el caso de la LC_{30} para larvas (0,0072 ppm) ($F_{4, 70}$ = 5,12; P<0,0011) (Figura 47).

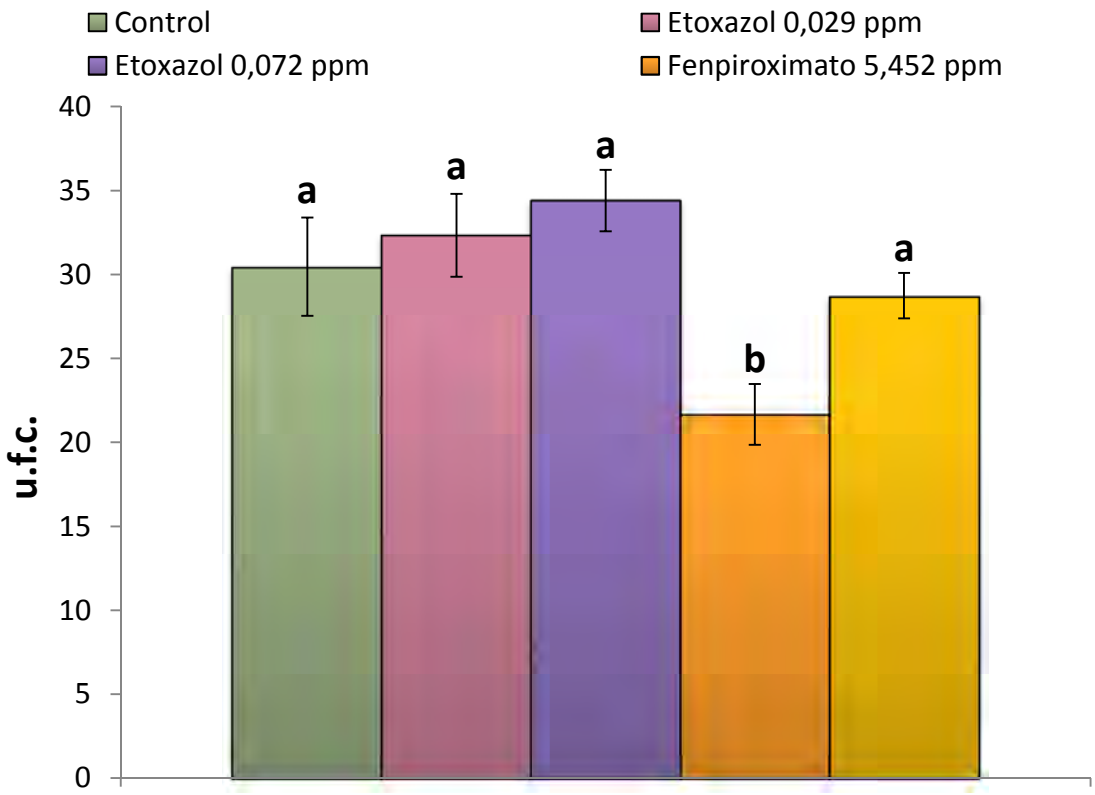

Figura 47. Efecto del etoxazol y del fenpiroximato en la germinación de las conidias de *B. bassiana*.

Efecto del etoxazol y del fenpiroximato sobre el crecimiento del micelio

El etoxazol, aplicado a la LC_{30} para huevos (0,0029 ppm), no provocó una disminución significativa del crecimiento micelial de *B. bassiana* a los 5 días ($F_{1, 22}$ = 0,96; P = 0,3387), ni a los 7 días ($F_{1, 22}$ = 0,44; P = 0,5140), pero sí a los 12 días ($F_{1, 22}$ = 27,00; P < 0,0000), siendo el diámetro medio alcanzado por el micelio un 3,16% inferior al del control (Figura 50).

Cuando la concentración utilizada fue la LC_{30} para larvas (0,0072 ppm), tampoco hubo una reducción significativa del crecimiento del micelio a los 5 días ($F_{1, 22}$ = 0,07; P = 0,7924), ni a los 7 días ($F_{1, 22}$ = 2,26; P = 0,1474), pero sí a los 12 días ($F_{1, 22}$ = 8,03; P = 0,0097), siendo el diámetro medio del micelio del tratamiento un 7,19% inferior al del control (Figura 48).

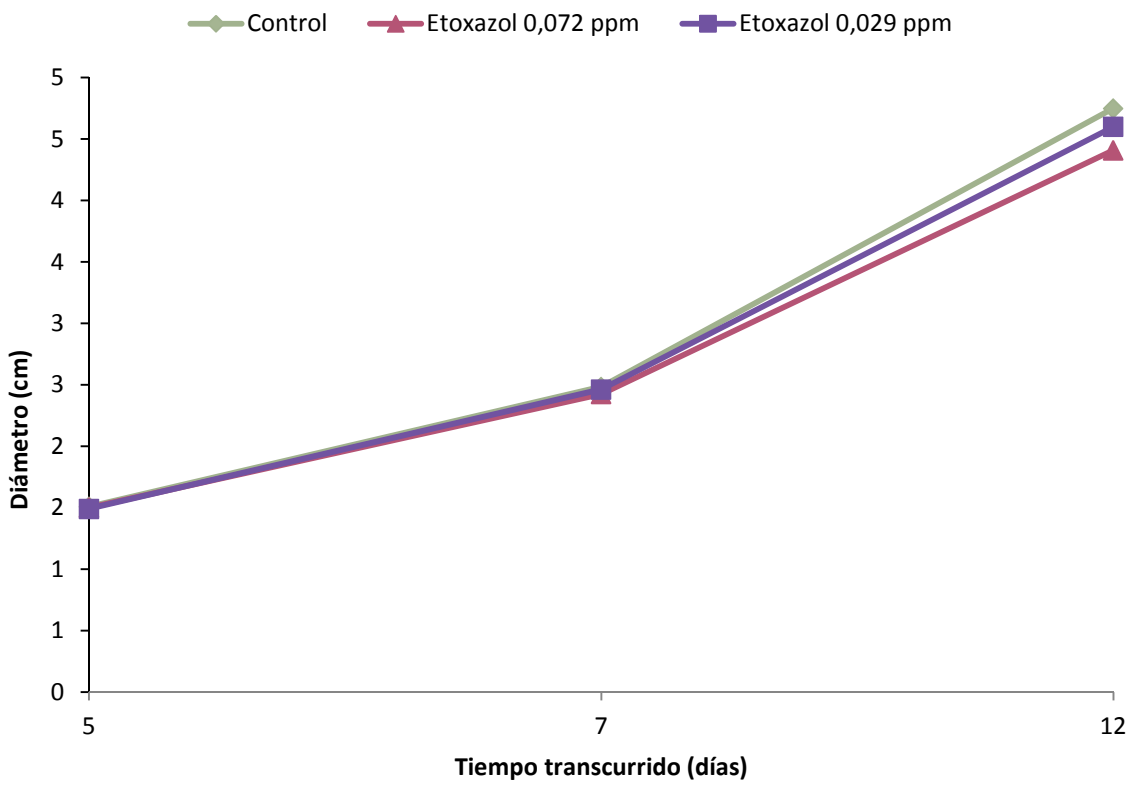

Figura 48. Efecto del etoxazol en el crecimiento micelial de *B. bassiana* durante 12 días.

Por su parte, el fenpiroximato provocó una reducción significativa en el crecimiento micelial de *B. bassiana* a los 5 días ($F_{1, 21}$ = 20,35; P = 0,0002), a los 7 días ($F_{1, 21}$ = 206,32; P < 0,0000) y a los 12 días ($F_{1, 21}$ = 74,32; P < 0,0000), cuando se añadió a la LC_{30} para huevos (5,425 ppm), siendo el diámetro medio alcanzado por el micelio un 16,22 %, un 16,72 % y un 22,49 % inferior al del control, a los 5, 7 y 12 días, respectivamente (Figura 51).

En el caso de la LC_{30} para larvas (0,232 ppm), el resultado obtenido fue el mismo, tanto a los 5 días ($F_{1, 22}$ = 4,96; P = 0,0365), como a los 7 días ($F_{1, 22}$ = 26,36; P < 0,0000) y a los 12 días ($F_{1, 22}$ = 27,52; P < 0,0000). En esta ocasión, el diámetro medio alcanzado por el micelio fue un 4,42 %, un 14,77 % y un 12,46 % inferior al control, a los 5, 7 y 12 días, respectivamente (Figura 49).

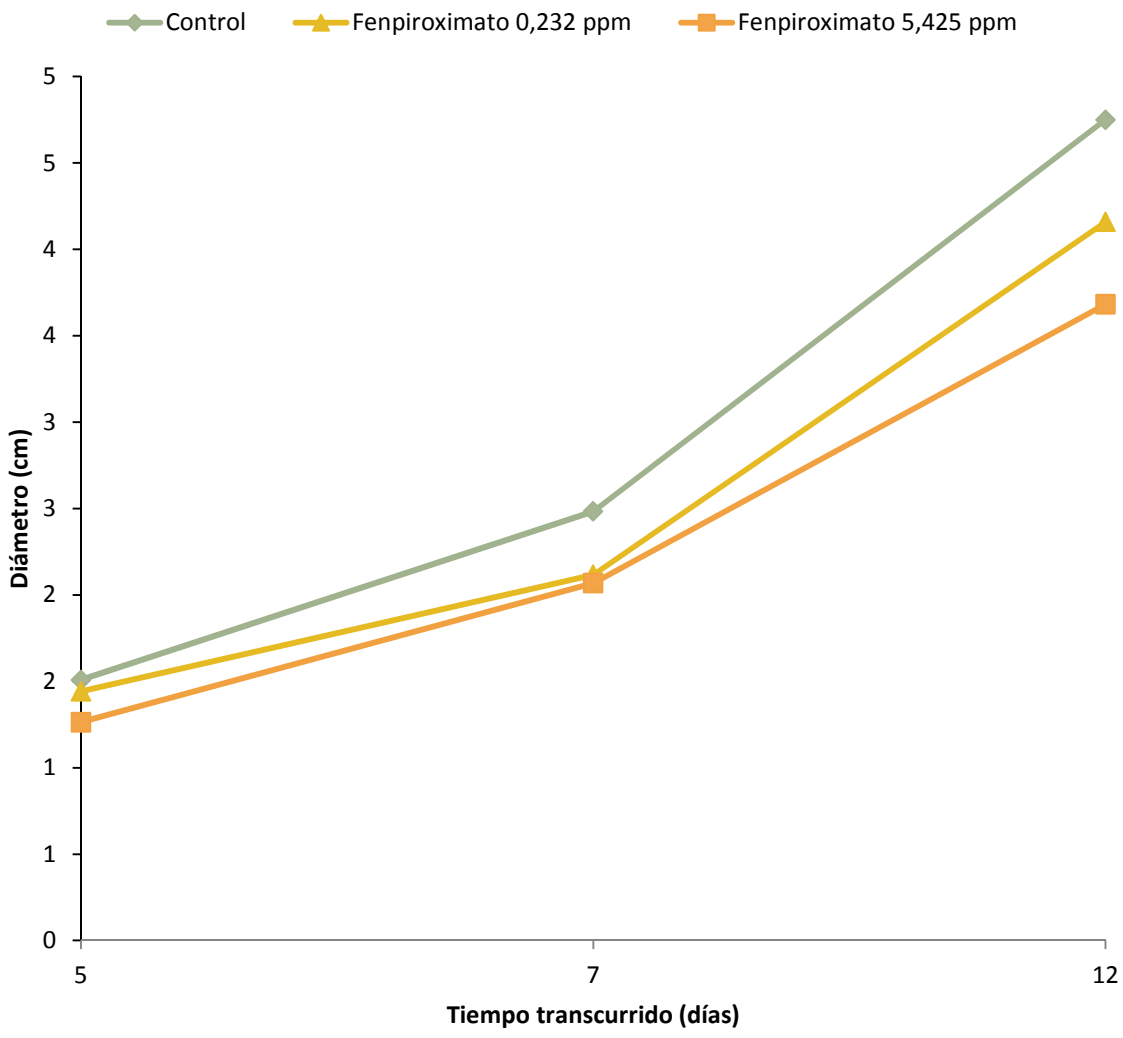

Figura 49. Efecto del fenpiroximato en el crecimiento micelial de *B. bassiana* durante 12 días.

Discusión

Beauveria bassiana

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* es considerado como un agente útil para controlar las poblaciones de numerosas especies de insectos capaces de causar daños económicos (Legaspi *et al.*, 2000). No obstante, los resultados obtenidos por este agente varían en función de la cepa del hongo que se utilice o incluso de la formulación empleada (Kaaya & Hassan, 2000). Esto explicaría algunas de las aparentes contradicciones que se encuentran acerca de su efecto sobre *T. urticae* cuando se consulta la bibliografía. Así, Dresner (1949) y Alves *et al.* (1998) consideran que *B. bassiana* puede ser un buen agente de control de *T. urticae*, al contrario de lo que expresan Andreeva & Shternshis (1995). En cualquier caso, incluso utilizando el mismo producto comercial, existen diferentes autores que han obtenido resultados distintos. En el caso del producto que se ha empleado en este estudio, Naturalis-L, Alves *et al.* (2002) y Shi and Feng (2009) registraron mortalidades del 75%, mientras que Chandler *et al.* (2005) obtuvieron reducciones de la población del 97% y Gatarayiha *et al.* (2010) constataron un 60% de mortalidad. Estos últimos lograron elevar la mortalidad al 85% mezclándolo con surfactantes basados en silicona. Por su parte, Sáenz de Cabezón *et al.* (2003) fijaron en 1949 conidias/ml la LC_{50} para adultos y en 3184 conidias/ml para formas juveniles, mientras que Castagnoli *et al.* (2005) y Shipp *et al.* (2003) obtuvieron valores diferentes con este producto, lo que demuestra que, además de la formulación, hay otros factores que influyen en la mortalidad, como por ejemplo, las características propias de la población de *T. urticae* empleada en los bioensayos.

Como era de esperar, en base a las observaciones de Sáenz de Cabezón *et al.* (2003), los huevos de *T. urticae* resultaron ser menos susceptibles a *B. bassiana* que las larvas, obteniéndose, para ambos estados de desarrollo, unos valores de la LC_{50} de $1{,}12 \times 10^5$ ufc/ml y de 48.261 ufc/ml, respectivamente.

Esta mayor resistencia, por parte de los huevos, puede ser explicada por la propia topografía del corion, que puede dificultar el establecimiento de las conidias (St. Leger *et al.*, 1991). Además, los nutrientes que encuentra el hongo en la superficie del huevo pueden diferir de los presentes en las formas móviles, lo que podría afectar a la germinación y crecimiento de *B. bassiana*, dado que la composición del sustrato influye de forma importante sobre el hongo (Bidochka & Khachatourians, 1992; Napolitano & Juarez, 1997).

Abamectina

En el presente estudio, los huevos de *T. urticae* resultaron ser menos susceptibles a la abamectina que las larvas (LC_{50} = 2,944 ppm y LC_{50} = 0,096 ppm, respectivamente). No es de extrañar este resultado, puesto que la abamectina es un acaricida indicado contra las formas móviles (Tirello *et al.*, 2012). Esta menor susceptibilidad de los huevos puede ser debida a una menor penetración del producto a través del corion, ya que, en el presente trabajo, se ha observado cómo larvas recién emergidas quedaron inmediatamente paralizadas al entrar en contacto con la superficie de hoja de alubia tratada, llegando a morir con la característica forma esférica que tienen nada más nacer.

Comparando el resultado que se obtuvo sobre larvas con los señalados por Nauen *et al.* (2000), se podría pensar que la población objeto de este estudio es menos sensible que las utilizadas por estos autores, ya que obtuvieron valores de la LC_{50} comprendidos entre 0,026 y 0,069 ppm.

Con respecto a la compatibilidad de la abamectina con *B. bassiana*, existen algunos estudios en este sentido. Así, Łabanowska *et al.* (2015), obtuvieron buenos resultados ensayando diversas estrategias para el control del ácaro *Phytonemus pallidus* en cultivos de fresa utilizando abamectina y *B. bassiana*, y Kivett *et al.* (2015) proponen la integración de hongos entomopatógenos, como *B. bassiana*, en programas de rotación de tratamientos con insecticidas, entre ellos abamectina, para el control de trips, ya que calculan un ahorro económico del 34% respecto a programas basados, únicamente, en la utilización de insecticidas.

Por otra parte, diversos estudios han demostrado que la abamectina no ejerce efectos perniciosos sobre la germinación de las conidias y el crecimiento micelial de *B. bassiana*, haciendo factible su uso en mezclas (Halley *et al.*, 1993; Tamai *et al.*, 2002; de Oliveira & Neves, 2004; Cuthbertson *et al.*, 2012).

En el presente estudio, se encontró que la mezcla de *B. bassiana* y abamectina tiene un efecto sinérgico sobre *T. urticae*, tanto en larvas como en huevos, lo que apoyaría los resultados obtenidos por los autores ya mencionados y coincidiría con el estudio realizado por Nada & Gaffar (2012) sobre el pulgón *Aphis craccivora*, quienes reportan el mismo tipo de efecto al utilizar la LC_{25} sobre adultos.

No obstante, la integración de la abamectina en los programas de MIP debe tener en cuenta su efecto sobre la fauna auxiliar. Algunos autores la consideran altamente tóxica para depredadores como *Chrysoperla carnea* (Nitharwal *et al.*, 2013), mientras que otros afirman que apenas tiene efecto sobre las larvas de esta especie y sí algo de efecto sobre *Phytoseiulus persimilis* (Fitzgerald, 2004). Por todo ello, aunque la

aplicación de ambos productos en mezcla parece ser, además de factible, recomendable, hay que ser cautelosos para evitar situaciones como la descrita por Elzen & James (2002), quienes encontraron que la mezcla de azadiractina con *B. bassiana* fue más efectiva que los tratamientos por separado contra el lepidóptero *Plutella xylostella*, pero también para uno de sus enemigos naturales, el coleóptero polífago *Coleomegilla maculata*.

Etoxazol

El etoxazol es un acaricida cuya actividad principal es ovicida y larvicida (Tirello *et al.*, 2012), lo que explicaría por qué las LC_{50} obtenidas en este estudio sobre larvas y huevos son considerablemente inferiores a las obtenidas por Nicastro *et al.* (2013) sobre adultos. Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que las larvas de *T. urticae* son algo menos susceptibles al etoxazol que los huevos. Considerando la LC_{50} calculada para huevos, se puede estimar que el resultado está dentro del rango de los obtenidos por Tirello *et al.* (2012) para varias poblaciones de Italia.

En el caso del etoxazol no se han hallado estudios previos que evalúen su compatibilidad con *B. bassiana*. La mezcla de ambos compuestos mostró un efecto antagónico, tanto sobre huevos como sobre larvas, puesto que la mortalidad obtenida en la mezcla fue similar a la obtenida utilizando cada producto por separado.

Este efecto antagónico no se ha podido atribuir a un efecto dañino del etoxazol sobre la germinación y el crecimiento micelial del hongo, ya que ninguno de ellos se vio afectado por el acaricida, salvo una ligera reducción en el desarrollo del micelio a largo plazo.

Fenpiroximato

Los huevos de *T. urticae* resultaron ser mucho menos susceptibles al fenpiroximato que las larvas. Esto no es de extrañar, puesto que el fenpiroximato es considerado principalmente activo frente a formas móviles (Tirello *et al.*, 2012).

Nauen *et al.* (2000) obtuvieron la LC_{50} para larvas de tres poblaciones diferentes de *T. urticae,* encontrando valores similares a los del presente trabajo, pero también muy superiores en algunos casos, lo que demuestra que la susceptibilidad del ácaro es dependiente de las características de cada población, en este caso, de su resistencia frente a acaricidas con determinados modos de acción.

El resultado de la mezcla de fenpiroximato con *B. bassiana* tuvo efecto aditivo sobre huevos y antagónico sobre larvas de *T. urticae*. Este antagonismo, se trató de explicar como consecuencia de algún efecto negativo sobre el hongo. Así, se encontró que el acaricida no afectó a la germinación de sus esporas cuando la concentración fue la LC_{30} para larvas (0,232 ppm), pero sí afectó al crecimiento del micelio. La germinación de las conidias solo se vio afectada cuando se utilizó una concentración mucho más alta (5,452 ppm). En este sentido, de Oliveira & Neves (2004) ensayaron una batería de diferentes concentraciones de fenpiroximato (500 ppm, 1000 ppm y 2000 ppm) muy superiores a las utilizadas en el presente trabajo, y observaron que el acaricida fue capaz de reducir la germinación de conidias y la esporulación en torno a un 70%, además de provocar un detrimento del crecimiento micelial de aproximadamente un 30%. No obstante, Tamai *et al.* (2002), pese a observar efectos adversos del acaricida sobre el hongo, consideraron que el fenpiroximato es compatible con *B. bassiana*.

Existen múltiples hipótesis para explicar el efecto que los productos químicos pueden tener en la germinación de las conidias. Boucias *et al.* (1988) proponen que se puede producir una neutralización de la carga electrostática de la superficie y/o la eliminación de la capa mucosa que cubre la conidia, lo cual afectaría al proceso de reconocimiento de sustrato y a la transducción de la señal que inicia la germinación. Puesto que St. Leger & Cooper (1987) y St. Leger *et al.* (1991) demostraron el papel que esta envuelta tiene en el reconocimiento y la transducción de la señal que desencadena la formación del tubo germinativo en *Metarhzium anisopliae*, esta podría ser una teoría plausible en el caso de *B. bassiana*.

Cuando se producen inhibiciones drásticas de la germinación de las conidias, algunos autores la achacan a alteraciones metabólicas, como por ejemplo, las debidas a la acumulación de iones en la superficie de la membrana celular (Ghini & Kimati, 2000; Moore-Landecker, 1982).

En cuanto al crecimiento micelial, Alves *et al.* (1998) sostienen que el resultado obtenido *in vitro* es más drástico que el que se obtendría en campo, donde numerosos factores influirían en la exposición del hongo al químico. Por su parte, Neves *et al.* (2001) sugieren que, puesto que el crecimiento vegetativo en condiciones reales tiene lugar dentro del artrópodo, es lógico pensar que la concentración de producto que entra en contacto con el hongo sea menor a la ensayada *in vitro*, lo que hace improbable que el efecto antagónico observado en la mezcla pueda deberse a la disminución del crecimiento micelial observado en laboratorio. Por ello, la germinación de las conidias sería el factor clave a tener en cuenta.

En esta línea, Tkazczuk *et al.* (2015) afirman que las investigaciones orientadas a evaluar la susceptibilidad de los hongos entomopatógenos a los pesticidas en laboratorio, no tienen por qué reflejar totalmente la realidad en campo, puesto que existen numerosos factores bióticos y abióticos que podrían modificar el resultado. De hecho, los medios de cultivo se caracterizan por su homogeneidad, contrastando notablemente con la heterogeneidad del ambiente, especialmente del suelo, donde, por ejemplo, la materia orgánica puede adsorber pesticidas, provocando que el contacto con el hongo sea muy variable (Green & Karickhoff, 1990).

Spirodiclofén

El spirodiclofén es un compuesto derivado de los ácidos tetrónicos considerado como altamente efectivo frente a huevos y estados inmaduros de plagas de ácaros fitófagos, y en menor medida sobre hembras adultas, aunque afecta seriamente a su fertilidad y fecundidad y termina por provocarles la muerte en pocos días (Wachendorff *et al.* 2002; Marcic & Ogurlic, 2006; Cheon *et al.*, 2007).

Los resultados obtenidos por Seyed-Talebi *et al.* (2014) confirman lo que Wachendorff *et al.* (2002) y Marcic & Ogurlic (2006) ya habían afirmado anteriormente, esto es, que los estados inmaduros son más susceptibles que los adultos al spirodiclofén. No obstante, Marcic & Ogurlic (2006) sostienen que el estado larvario es más sensible que el estado de huevo, al contrario que lo encontrado en el presente estudio, donde la LC_{50} para las larvas fue superior a la de los huevos (2,70 ppm y 0,59 ppm, respectivamente).

En el caso de las concentraciones letales del spirodiclofén para huevos, en la bibliografía se encuentran valores no muy alejados de los obtenidos en el presente trabajo (Askari Saryazdi *et al.*, 2013; Tirello *et al.*, 2012; Rauch & Nauen, 2003).

Con respecto a la compatibilidad de *B. bassiana* con spirodiclofén, Seyed-Talebi *et al.* (2014) obtuvieron que la mezcla produjo un efecto sinérgico interesante para el control de adultos de *T. urticae.* Sin embargo, en el presente estudio, el resultado de la mezcla fue aditivo, tanto sobre huevos como sobre larvas.

Desde el punto de vista de la incorporación del spirodiclofén a programas de MIP, hay que tener en cuenta que los huevos y las fases inmaduras de *T. urticae* constituyen más del 90% de los individuos en sus poblaciones naturales estables (Carey, 1982; Helle & Sabelis, 1985), por lo que este producto es capaz de reducirlas notablemente por sí solo. Además, al fundamentarse en un nuevo modo de acción basado en la inhibición de la síntesis de lípidos, tiene la ventaja de actuar sobre ácaros resistentes a otros acaricidas que no muestran resistencia cruzada con el spirodiclofén (Nauen,

2000; Elbert *et al.*, 2002, Dekeyser, 2005). El único inconveniente que presenta esta materia activa es su menor eficacia sobre adultos, pero teniendo en cuenta el efecto sinérgico descrito por Seyed-Talebi en combinación con *B. bassiana*, podría ser interesante su combinación, pese a que no ocurra lo mismo frente a huevos y larvas.

En varios países europeos se considera que 96 ppm de spirodiclofén es una concentración adecuada para controlar poblaciones de *T. urticae* (Elbert *et al.*, 2002). No obstante ensayos de campo y de laboratorio utilizando concentraciones comprendidas entre 48 y 96 ppm, y/o aplicaciones de 240 g/ha (Wolf & Schnorbach, 2002; de Maeyer *et al.*, 2002; Hardman *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2006; Welty; 2006; Cheon *et al.*, 2007) demostraron la existencia de problemas de supervivencia y fecundidad en varias especies de ácaros depredadores. Esto respalda la idea de que la estrategia ideal debe basarse en concentraciones bajas que permitan integrar el control biológico. Además, de esta forma se consigue reducir la presión selectiva y la aparición de resistencias (Roush, 1989; Wege & Leonard, 1994; Hoy, 1995; Dent, 2000).

Spiromesifén

En este estudio se encontró que las larvas y los huevos de *T. urticae* tuvieron una sensibilidad similar al spiromesifén. Al tratarse de un producto ovicida y larvicida, es esperable que las concentraciones letales para adultos sean más elevadas, tal como encuentran diferentes autores (Nicastro *et al.*, 2013; Askari Saryazdi *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2005; Sato *et al.*, 2011; Esteves Filho *et al.*, 2013).

En cuanto a la compatibilidad de *B. bassiana* con spiromesifén, prácticamente no existen estudios al respecto. Cuthbertson *et al.* (2012) detectaron una merma en la germinación de las esporas del hongo, por lo que desaconsejan su uso en mezclas. No obstante, el resultado obtenido en este estudio al mezclar ambos productos, arroja un efecto aditivo, tanto sobre huevos como sobre larvas, por lo que su combinación no aporta ninguna ventaja, aunque tampoco supone una pérdida de eficacia.

Conclusiones

A la vista de estos resultados, se puede concluir que:

1. El etoxazol y el spirodiclofén tienen mayor efecto ovicida que larvicida sobre *Tetranychus urticae*.

2. Las larvas de *T. urticae* son más susceptibles a *Beauveria bassiana*, abamectina y fenpiroximato que sus huevos.

3. El spirodiclofén y el spiromesifén mezclados con *B. bassiana*, manifestaron un efecto aditivo al ser aplicados sobre huevos y sobre larvas de *T. urticae*.

4. La mezcla de *B. bassiana* y abamectina tiene un efecto sinérgico sobre *T. urticae*, tanto sobre larvas como sobre huevos.

5. Se obtiene un efecto antagonista al combinar *B. bassiana* y etoxazol, tanto sobre huevos, como sobre larvas de *T. urticae*.

6. La mezcla de fenpiroximato y *B. bassiana*, tiene efecto aditivo sobre huevos y antagonista sobre larvas de *T. urticae*.

7. El fenpiroximato afecta a la germinación de las conidias y al crecimiento micelial de *B. bassiana*.

8. El etoxazol no tiene efecto sobre la germinación de conidias ni sobre el crecimiento micelial a corto plazo.

Bibliografía

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol, 18: 265–267.

Abdallah, A.A., El-Saiedy, E.M. & Maklad, A.M.H. 2014. Biological and chemical control of the spider mite species, *Tetranychus urticae* Koch. On two faba bean cultivars. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 24 (1): 7–10.

Alean Carreño, I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura en Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia, 116 págs.

Aleshina, O.A. 1980. Composition and prospects for study of the entomopathogenic fungi of the USSR. The Review of Applied Entomology, 68: 83–84.

Alves S.B., Rossi L.S., Lopes R.B., Tamai M.A. & Pereira R.M. 2002. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). J. Invertebrate Pathol., 81 (2): 70–77.

Alves, S.B., Tamai, M.A. & Lopes, R.B. 1998. Avaliacao de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para controle de *Tetranychus urticae* Koch em crisantemo. Abstracts 17th Brazil. Congr. Entomol., Rio de Janeiro, 1068 págs.

Andreeva, I.V. & Shternshis, M.V. 1995. Microbiological formulations against web mites in greenhouses. Zaschitarastenii (Moskva), 11: 41–42.

Askari Saryazdia, G., Jalil Hejazi, M. & Amizadeh, M. 2013. Lethal and sublethal effects of spiromesifen, spirotetramat and spirodiclofen on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Phytopathology and Plant Protection, 46 (11): 1278–1284.

Bidochka, M.J. & Khachatourians, G.G. 1992. Growth of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on cuticular components from the migratory Grasshopper, *Melanopus sanguinipes*. J. Invertebr. Pathol., 59: 165–173.

Boucias, D.G., Pendland, J.C. & Latge, J.P. 1988. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. Appl. Environ. Microbiol., 54: 1795–1805.

Bugeme, D., Maniania, N., Knapp, M. & Boga H. 2008. Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. Experimental and Applied Acarology, 46: 275−285.

Bugeme, D.M., Knapp, M., Boga, H.I. Ekesi, S. & Maniania, N.K. 2014. Susceptibility of developmental stages of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) to infection by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). International Journal of Tropical Insect Science, 34 (3): 190−196.

Bugeme, D.M., Knapp, M., Boga, H.I., Wanjoya, A.K. & Maniania, N.K. 2009. Influence of temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Mycopathologia, 167 (4): 221–227.

Bugeme, D.M., Knapp, M., Ekesi, S., Chabi-Olaye, A., Boga, H.I. & Maniania, N.K. 2015. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* in controlling the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on common bean in screenhouse and field experiments. Insect Sci., 22 (1): 121–8.

Butt, T.M. & Goettel, M.S. 2000. Bioassays of entomogenous fungi. En: A. Navon & K.R. Ascher. (Eds.). Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. CAB International, Wallingford, U.K., 141–196.

Cañedo, V. & Ames, T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, 62 págs.

Carey, J.R. 1982. Demography of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. Oecologia, 52: 389–395.

Castagnoli, M., Liguori, M., Simonis, S. & Duso, C. 2005. Toxicity of some insecticides to *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus californicus* and *Tydeus californicus*. BioControl, 50 (4): 611–622.

Chandler, D., Davidson, G. & Jacobson, R.J. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomato. *Lycopersicon esculentum* Chadler. Biocontrol Sci. Technol., 15 (1): 37–54.

Cheon, G.S., Paik, C.H., Lee, G.H. & Kim, S.S. 2007. Toxicity of spirodiclofen to the predatory mite, *Amblyseius womersleyi* (Acari: Phytoseiidae), and its prey, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). J. Entomol. Sci., 42: 44–51.

Cuthbertson, A.G.S., Buxton, J.H., Blackburn, L.F., Mathers, J.J., Robinson, K.A., Powell, M.E., Fleming, D.A. & Bell, H.A. 2012. Eradicating Bemisia tabaci Q biotype on poinsettia plants in the UK. Crop Protection, 42: 42–48.

De Maeyer, L., Schmidt H.W. & Peeters, D. 2002. Envidor - a new acaricide for IPM in pomefruit orchards. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 55: 211–236.

de Oliveira, R.C. & Neves, P.M.O.J. 2004. Compatibility of *Beauveria bassiana* with acaricides [Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com Acaricidas]. Neotropical Entomology, 33 (3): 353–358.

Dekeyser, M.A. 2005. Acaricide mode of action. Pest Manag. Sci., 61: 103–110.

Dent, D. 2000. Insect Pest Management, 2nd ed. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, U.K., 410 págs.

Dresner, E. 1949. Culture and use of entomogenous fungi for the control of insects. Contr. Boyce Thompson Inst., 15: 319–335.

Duso, C., Malagnini, V. & Paganelli, A. 1997. Indagini preliminari sul rapporto tra polline e *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) su *Vitis vinifera* L. Allionia, 35: 229–239.

Duso, C., Malagnini, V., Pozzebon, A., Castagnoli, M., Liguori, M. & Simoni, S. 2008. Comparative toxicity of botanical and reduced-risk insecticides to mediterranean populations of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae). Biological Control, 47 (1): 16–21.

Elbert, A., Brück, E., Sone, S. & Toledo, A. 2002. Worldwide use of the new acaricide Envidor® in perennial crops. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 55: 287–304.

Elzen, G.W. & James, R.R. 2002. Responses of *Plutella xylostella* and *Coleomegilla maculata* to selected insecticides in a residual insecticide bioassay. Southwestern Entomologist, 27 (2): 149–153.

Erler, F., Ates, A.O. & Bahar, Y. 2013. Evaluation of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, for the control of carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) under greenhouse conditions. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 23 (2): 233–240.

Esteves Filho, A.B., Vargas de Oliveira, J., Braz Torres, J. & Cysneiros Matos, C.H. 2013. Toxicity of spiromesifen and natural acaricides to *Tetranychus urticae* Koch and compatibility with *Phytoseiulus macropilis* (Banks). Ciências Agrárias, Londrina, 34 (6): 2675–2686.

Fitzgerald, J. 2004. Laboratory bioassays and field evaluation of insecticides for the control of *Anthonomus rubi*, *Lygus rugulipennis* and *Chaetosiphon fragaefolii*, and effects on beneficial species, in UK strawberry production. Crop Protection, 23 (9): 801–809.

Gatarayiha, M.C., Laing, M.D. & Miller, R.M. 2010. Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of *Beauveria bassiana* for the control of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Exp. Appl. Acarol., 50: 217–229.

Ghini, R. & Kimati, H. 2000. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna, EMBRAPA Meio Ambiente, 78 págs.

Goettel, M.S., Leger, R.J.S., Bhairi, S., Jung, M.K., Oakley, B.R., Roberts D.W. & Staples, R.C. 1990. Pathogenicity and growth of *Metarhizium anisopliae* stably transformed to benomyl resistance. Current Genetics, 17 (2): 129–132.

Green, R.E. & Karickhoff, S.W. 1990. Sorption estimates for modeling. En: H.H. Cheng. (Eds.). Pesticides in the soil environment. Soil Science Society of America. Madison, 530: 79–101.

Halley, B.A., VandenHeuvel, W.J.A., Wislocki, P.G., Herd, R., Strong, L. & Wardhaugh, K. 1993. En: Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. Environmental impact of avermectin usage in livestock. Veter. Parasit., 48 (1-4): 109-125.

Hardman, J.M., Franklin, J.L., Moreau, D.L. & Bostanian, N.J. 2003. An index for selective toxicity of miticides to phytophagous mites and their predators based on orchard trials. Pest Manag. Sci., 59: 1321–1332.

Helle, W. & Sabelis, M.W. 1985. Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam.

Hernández, M.M., Martínez-Villar, E., Peace, C., Pérez-Moreno, I. & Marco, V. 2012. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with flufenoxuron and

azadirachtin against *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology, 58 (4): 395–405.

Hoy, M.A. 1995. Multitactic resistance management: an approach that is long overdue? Florida Entomologist, 78: 443–451.

Jacobson, R.J., Chandler, D., Fenlon, J. & Russell, K.M. 2001. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin with *Amblyseius cucumeris* Oudemans (Acarina: Phytoseiidae) to control *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber plants. Biocontrol Science and Technology, 11 (3): 391–400.

Kaaya, G. & Hassan, S. 2000. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. Exp. Appl. Acarol., 24: 913–926.

Kivett, J.M., Cloyd, R.A. & Bello, N.M. 2015. Insecticide Rotation Programs with Entomopathogenic Organisms for Suppression of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) Adult Populations under Greenhouse Conditions. Journal of Economic Entomology, 108 (4): 1936–1946.

Koppenhöfer, A.M. & Fuzy, E.M. 2003. *Steinernema scarabaei* for the control of white grubs. Biol. Control., 28: 47–59.

Kurubal, D. & Ay, R. 2015. The toxic effects of some insect growth regulators and bioinsecticides on predators mites *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot ve *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). Turkiye Entomoloji Dergisi, 39 (1): 79–89.

Łabanowska, B.H., Tartanus, M., Gruchała, M. & Masny, A. 2015. Efficacy of *Beauveria bassiana* and abamectin in the control of strawberry mite - *Phytonemus pallidus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) and the susceptibility of cultivars to pest infestation. Journal of Berry Research, 5 (1): 1–7.

Legaspi, J.C., Poprawski, T.J. & Legaspi, B.C. 2000. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) in the Lower Rio Grande Valley of Texas. J. Econ. Entomol., 93: 54–59.

Ludwig, S.W. & Oetting, R.D. 2001. Susceptibility of natural enemies to infection by *Beauveria bassiana* and impact of insecticides on *Ipheseius degenerans* (Acari: Phytoseiidae). Journal of Agricultural and Urban Entomology, 18 (3): 169–178.

Maniania, N., Bugeme, D., Wekesa, V., Delailibera, I., & Knapp, M. 2008. Role of entomopathogenic fungi in the control of *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), pests of horticultural crops. Experimental and Applied Acarology, 46: 259–274.

Marcic, D, & Ogurlic, I. 2006. Lethal and sublethal efects of spirodiclofen on two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). Pestic. Phytomed., 21: 137–143.

Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica, 63: 95–103.

Moore-Landecker, E. 1982. Spores En: E. Moore-Landecker. (Eds.). Fundamentals of the fungi. New Jersey, Prentice-Hall, 398–403.

Morales-Rodrigurez, A. & Peck, D.C. 2009. Synergies between biological and neonicotinoid insecticides for the curative control of the white grubs *Amphimallon majale* and *Popillia japonica*. Biol. Control, 51: 169–180.

Nada, M.S. & Gaffar, S.A. 2012. Efficacy of some bio-formulations and potassium cilicate and their joint action on some biochemical aspects of the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 22 (2): 177–183.

Napolitano, R. & Juarez, M.P. 1997. Entomopathogenous fungi degrade epicuticular hidrocarbons of *Triatoma infestans*. Arch. Biochem. Biophys., 344: 208–214.

Nauen, R., Schnorbach, H.J. & Elbert, A. 2005. The biological profile of spiromesifen (Oberon®) - A new tetronic acid insecticide/acaricide. Pflanzenschutz- Nachrichten Bayer, Leverkusen, 58 (76): 417–440.

Nauen, R., Stumpf, N. & Elbert, A. 2000. EYcacy of BAJ 2740, a new acaricidal tetronic acid derivative, against tetranychid spider mite species resistant to conventional acaricides. En: Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference - Pests & Diseases, 1: 453–458.

Neves, P.M.O.J., Hirose, E., Tchujo, P.T. & Moino, Jr.A. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. Neotrop. Entomol., 30: 263–268.

Nicastro, R.L., Sato, M.E., Arthur, V. & da Silva, M.Z. 2013. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: Stability, cross-resistance and monitoring of resistance. Phytoparasitica, 41 (5): 503–513.

Nitharwal, M., Kumawat, K.C., Choudhary, M. & Jat, R.G. 2013. Influence of biorational and conventional insecticides on the population of *Chrysoperla carnea* (Steph.) In Green gram, *Vigna radiata* (Linn.) In semi-arid conditions. Biopesticides International, 9 (1): 83–87.

Numa Vergel, S.J., Bustos, R.A., Rodríguez, C.D. & Cantor, R.F. 2011. Laboratory and greenhouse evaluation of the entomopathogenic fungi and garlic-pepper extract on the predatory mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* and their effect on the spider mite *Tetranychus urticae*. Biological Control, 57 (2): 143–149.

Rauch, N. & Nauen, R. 2003. Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. Pesticide Biochemistry and Physiology, San Diego, 74 (2): 91–101.

Reis, P.R., Franco, R.A., Neto, M.P. & Teodoro, A.V. 2006. Selectivity of agrochemicals on predatory mites (Phytoseiidae) found on coVee plants. CoVee Sci., 1: 64–70.

Roush, R.T. 1989. Designing resistance management programs: how can you choose? Pestic. Sci., 26: 423–441.

Sáenz-de-Cabezón, F.J. Marco, V. & Pérez-Moreno, I. 2003. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron: effects on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Biol. Control, 26: 168–173.

Saranya, S., Ramaraju, K. & Jeyarani, S. 2013. Pathogenicity of entomopathogenic fungi to two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Biopesticides International, 9 (2): 127–131.

Sato, M.E., Silva, M.Z., Raga, A., Cangani, K.G., Veronez, B. & Nicastro, R.L. 2011. Spiromesifen toxicity to the spider mite *Tetranychus urticae* and selectivity to the predator *Neoseiulus californicus*. Phytoparasitica, Bet Dagan, 39 (5): 437–445.

Seiedy, M., Saboori, A. & Allahyari, H. 2012a. Interactions of two natural enemies of *Tetranychus urticae*, the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* and the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis*. Biocontrol Science and Technology, 22 (8): 873–882.

Seiedy, M., Saboori, A. & Zahedi-Golpayegani, A. 2013. Olfactory response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to untreated and *Beauveria bassiana*-treated *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology, 60 (2):219–227.

Seiedy, M., Saboori, A., Allahyari, H., Talaei-Hassanloui, R. & Tork, M. 2012b. Functional response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on untreated and *Beauveria bassiana* - treated adults of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of Insect Behavior, 25 (6): 543–553.

Seyed-Talebi, F.S., Kheradmand, K., Talaei-Hassanloui, R. & Talebi-Jahromi, K. 2012c. Sublethal effects of *Beauveria bassiana* on life table parameters of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Biocontrol Science and Technology, 22 (3): 293–303.

Seyed-Talebi, F.S., Kheradmand, K., Talaei-Hassanloui, R. & Talebi-Jahromi, K. 2014. Synergistic effect of *Beauveria bassiana* and spirodiclofen on the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). Phytoparasitica, 42 (3): 405–412.

Shi, W. & Feng, M. 2004a. Ovicidal activity of two fungal pathogens (hyphomycetes) against *Tetranychus cinnabarinus* (Acarina: Tetranichidae). Chinese Science Bulletin, 49 (3): 263–267.

Shi, W.B. & Feng, M.G. 2004b. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. Biological Control, 30 (2): 165–173.

Shi, W.B. & Feng, M.G. 2006. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in orchards. Biological Control , 39: 210–217.

Shi, W.B. & Feng, M.G. 2009. Effect of fungal infection on reproductive potential and survival time of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol., 48: 229–237.

Shi, W.B., Feng, M.G. & Liu, S.S. 2008. Sprays of emulsifiable *Beauveria bassiana* formulation are ovicidal towards *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at various regimes of temperature and humidity. Experimental and Applied Acarology, 46 (1-4): 247–257.

Shi, W.B., Jiang, Y. & Ming-Guang Feng, M.G. 2005. Compatibility of ten acaricides with *Beauveria bassiana* and enhancement of fungal infection to *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) eggs by sublethal application rates of pyridaben. Applied Entomology and Zoology, 40 (4): 659-666.

Shipp, J.L., Zhang, Y., Hunt, D.W.A. & Ferguson, G. 2003. Influence of humidity and greenhouse microclimate on the efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) for control of greenhouse. Arthropod Pest Environ. Entomol., 32 (5): 1154–1163.

Shipp, L., Kapongo, J.P., Park, H.H. & Kevan, P. 2012. Effect of bee-vectored *Beauveria bassiana* on greenhouse beneficials under greenhouse cage conditions. Biological Control, 63 (2): 135–142.

St. Leger, R.J. & Cooper, R.M. 1987. Production of cuticledegrading enzymes by the *Metarhizium anisopliae* during infection of cuticles fron *Calliphora vomitoria* and *Manduca sexta*. J. Gen. Microbiol., 133: 1371–1382.

St. Leger, R.J., Allee, L.L., May, B., Staples, R.C. & Roberts, D.W. 1992. World-wide distribution of genetic variation among isolates of *Beauveria* spp. Mycological Research, 96 (12): 1007–1015.

St. Leger, R.J., Goettel, M., Roberts, D.W. & Staples, R.C. 1991. Preparation events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. J. Invertebr. Pathol., 58: 168–179.

Tamai, M.A., Alves, S.B., Lopes, R.B., Faion, M. & Padulla, L.F.L. 2002. Toxicidade de productos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Arqu. Inst. Biol., Sao Paulo., 69: 89–96.

Tirello, P., Pozzebon, A., Cassanelli, S., Van Leeuwen, T. & Duso, C. 2012. Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. Exp Appl Acarol., 57 (1): 53-64.

Tkaczuk, C., Harasimiuk, M., Król, A. & Bereś, P.K. 2015. The effect of selected pesticides on the growth of entomopathogenic fungi *Hirsutella nodulosa* and *Beauveria bassiana*. Journal of Ecological Engineering, 16 (3): 177–183.

Ullah, M.S. & Lim, U.T. 2014. Laboratory bioassay of *Beauveria bassiana* against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on leaf discs and potted bean plants. Experimental and Applied Acarology.

Van der Geest, L.P.S., Elliot, S.L., Breeuwer, J.A.J. & Beerling, E.A.M. 2000. Diseases of mites. Experimental and Applied Acarology, 24 (7): 497–560.

Wachendorff U., Nauen, R., Schnorbach, H.J., Rauch, N. & Elbert, A. 2002. The biological profile of spirodiclofén (Envidor®) a new selective tetronic acid acaricide. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 55: 149–176.

Wege, P.J. & Leonard, P.K. 1994. Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) fruit crops spider mite resistance management guidelines. En: British Crop Protection Council. (Eds.). Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference - Pests & Diseases, 427–430.

Wekesa, V.W., Hountondji, F.C.C. & Dara S.K. 2015. Mite pathogens and their use in biological control. In Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms, 309–328.

Wekesa, V.W., Knapp, M., Maniania, N.K. & Boga, H. I. 2006. Effects of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on mortalitiy, fecundity and egg fertility of *Tetranychus evansi*. Journal of Applied Entomology, 130: 155–190.

Wekesa, V.W., Maniania, N.K. Knapp & M. Boga, H.I. 2005. Pathogenicity *of Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to the tobacco spider mite *Tetranychus evansi*. Exp. Appl. Acarol., 36: 41–50.

Welty, C. 2006. Integrated control of European red mite in Ohio apple orchards. Disponible en: http://bugs.osu.edu/welty/pdf/OhioAppleMite2006Report.pdf.

Wolf, G. & Schnorbach, H.J. 2002. Ecobiological profile of the acaricide spirodiclofen. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 55: 177–196.

Wu, S.Y, Gao, Y.L., Zhang, Y., Wang, E., Xu, X.N. & Lei, Z.R. 2014. An entomopathogenic strain of *Beauveria bassiana* against *Frankliniella occidentalis* with no detrimental effect on the predatory mite *Neoseiulus barkeri*: Evidence from laboratory bioassay and scanning electron microscopic observation. PLoS ONE, 9 (1).

Wu, S.Y., Gao, Y.L., Xu, X.N., Goettel, M.S. & Lei, Z.R. 2015. Compatibility of *Beauveria bassiana* with *Neoseiulus barkeri* for control of *Frankliniella occidentalis*. Journal of Integrative Agriculture, 14 (1): 98–105.

Índice de ilustraciones

Índice de ilustraciones

Figuras

Figura 1. Evolución de las cifras del mercado español de productos fitosanitarios 2000-2013 (Fuente: AEPLA, 2010 y 2013; MAGRAMA, 2014). 25

Figura 2. Evolución de las cifras del mercado europeo (EU 25+EFTA, 2000-2009 y EU 27+EFTA, 2010-2011) de productos fitosanitarios (Fuente: AEPLA, 2010 y 2013; ECPA, 2012). 25

Figura 3. Evolución de las cifras de mercado mundial de productos fitosanitarios 2000-2012 (Fuente: AEPLA, 2010 y 2013). 26

Figura 4. Evolución de la superficie cultivada de acuerdo al sistema de Producción Integrada en España 2002-2014 (Fuente MAGRAMA, 2014). 26

Figura 5. Distribución de las ventas mundiales de insecticidas y acaricidas en 2013 (excluyendo los fumigantes) en base a su modo de acción (Sparks & Nauen, 2015). ... 31

Figura 6. Estructura química de la abamectina (Krämer *et al.*, 2007). 32

Figura 7. Estructura química del acequinocyl (Krämer *et al.*, 2007). 35

Figura 8. Transformación del pro-insecticida acequinocyl en una forma activa (Krämer *et al.*, 2007). 36

Figura 9. Estructura química del bifenazato (Krämer *et al.*, 2007) 36

Figura 10. Estructura química del etoxazol (Krämer *et al.*, 2007) 37

Figura 11. Estructura química del fenpiroximato (Krämer *et al.*, 2007). 38

Figura 12. Estructura química del spirodiclofén y del spiromesifén (Krämer *et al.*, 2007). 40

Figura 13. Número de especies descritas de los géneros de la familia Tetranychidae que contienen más de 20 taxones. El color más oscuro indica el número de especies descritas antes de 1955 (Gutiérrez, 1985). 44

Figura 14. Distribución del número de especies en las 6 tribus de la familia Tetranychidae (Gutiérrez, 1985). 44

Figura 15. Diferencias entre el empódio de algunos linajes de la tribu Tetranychini. Comparación de las distintas tendencias del ambulacro I de hembras (Gutiérrez, 1985). 45

Figura 16. Ejemplo de tendencias evolutivas de la quetotaxia en tres géneros de tetraníquidos (Gutiérrez, 1985). 46

Figura 17. Efecto de una colonia de *T. urticae* sobre *Phaseolus vulgaris*. 47

Figura 18. Ciclo de vida de *Tetranychus urticae*. 48

Figura 19. Distribución de *Tetranychus urticae* en Europa (de Jong *et al*., 2014). 52

Figura 20. *Tetranychus urticae* Koch: aspecto dorsal y ventral de la hembra mostrando la nomenclatura de las setas corporales (Gutiérrez, 1985) 53

Figura 21. Nomenclatura propuesta para la quetotaxia dorsal de Phytoseiidae (Doreste, 1988). 55

Figura 22. (a) Aspecto dorsal de un fitoseido, incluyendo nomenclatura de las setas; (b) Aspecto ventral de una hembra adulta de fitoseido típica, incluyendo nomenclatura de las setas; (c) Aspecto ventral de un macho adulto de fitoseido típico, incluyendo nomenclatura de las setas (Helle & Sabelis, 1985) 56

Figura 23. Ejemplo de morfología de Phytoseiidae, *Iphiseius quadripilis* (Banks): (a) hembra dorsal, (b) hembra ventral, (c) quelícero de hembra, (d) quelícero de macho, (e) espermateca (Doreste, 1988)..... 57

Figura 24. Ciclo de vida de los fitoseidos..... 59

Figura 25. Clasificación taxonómica de los principales géneros de hongos entomopatógenos (Tanada & Kaya, 1993). 69

Figura 26. Fotografías tomadas al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de una hembra de *Typhlodromus pyri* en posición dorsal y ventral, procedente de la colonia utilizada en los bioensayos. 88

Figura 27. Recintos utilizados para cría de *Typhlodromus pyri*. 93

Figura 28. Recintos utilizados para la cría masiva de *Tetranychus urticae*. 93

Figura 29. Diferentes formas de exposición a los tratamientos acaricidas, por parte de *Typhlodromus pyri*: peor situación posible (PSP), alimento tratado (AT), contacto directo (CD) y superficie tratada (ST). 95

Figura 30. Recinto experimental y disposición de los discos de hoja en el bioensayo de evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*.... 97

Figura 31. Recinto experimental tratado y colocado en el interior de una caja provista de agua, utilizado en el bioensayo de evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*. 98

Figura 32. Desarrollo del bioensayo sobre la actividad residual de los acaricidas sobre *T. pyri* y composición de cada recinto experimental. 100

Figura 33. Desarrollo del ensayo sobre la evaluación del efecto de los acaricidas sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*. 103

Figura 34. Imagen de la parcela..... 106

Figura 35. Imagen de una hembra de fitoseido sobre el envés de una hoja de vid de la variedad Tempranillo..... 107

Figura 36. Distribución de los bloques de cada tratamiento, con sus correspondientes repeticiones en la parcela experimental. 108

Figura 37. Índice de efecto total (%) de los acaricidas ensayados sobre hembras adultas de *T. pyri* según la vía de exposición (peor situación posible (PSP), alimento tratado (AT), contacto directo (CD) y superficie tratada (ST). 111

Figura 38. Número de huevos de *Tetranychus urticae* depredados por hembra de *Typhlodromus pyri* en función de la densidad de presa ofrecida y del tratamiento acaricida al que fue expuesto el depredador. Letras iguales dentro de una misma densidad de presa indican que no hay diferencias significativas para LSD de Fisher (α = 0,005)..... 124

Figura 39. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con esporas de *B. bassiana* (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas). 160

Figura 40. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con abamectina (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas)... 161

Figura 41. Recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con etoxazol (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas). 162

Figura 42. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con etoxazol, forzadas al paralelismo (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas)..... 162

Figura 43. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con fenpiroximato (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas). 163

Figura 44. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spirodiclofén (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas). 164

Figura 45. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spirodiclofén, forzadas al paralelismo (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas)..... 165

Figura 46. Rectas de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spiromesifén (• puntos observados para huevos; • puntos observados para larvas). 166

Figura 47. Efecto del etoxazol y del fenpiroximato en la germinación de las conidias de *B. bassiana*..... 172

Figura 48. Efecto del etoxazol en el crecimiento micelial de *B. bassiana* durante 12 días. 173

Figura 49. Efecto del fenpiroximato en el crecimiento micelial de *B. bassiana* durante 12 días. 174

Tablas

Tabla 1. Modo de acción, grupo y objetivo fisiológico de las materias activas utilizadas en base a criterios del Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). 27

Tabla 2. Situación de las materias activas utilizadas en la lista comunitaria del 17 de marzo de 2015 de sustancias activas incluidas, excluidas y en evaluación incluidas en el anexo I de la Directiva 91/414/CEE (434) trasladadas al anexo I del Reglamento (CE) Nº 1107/2009.*Sustancia activa nueva, (IN) insecticida, (AC) acaricida..... 28

Tabla 3. Productos fitosanitarios que figuran en el registro del MAGRAMA y que contienen las materias activas utilizadas en el presente estudio. Usos autorizados relacionados con ácaros en diferentes cultivos: 1 (ácaro de las maravillas), 2 (ácaro del bronceado), 3 (ácaro rojo), 4 (ácaros), 5 (ácaros tetraníquidos), 6 (araña roja), 7 (araña blanca), 8 (erinosis), 9 (eriófidos). Datos a fecha del 18 de marzo de 2015. 29

Tabla 4. Productos fitosanitarios que figuran en el registro del MAGRAMA y que contienen las materias activas utilizadas en el presente estudio. Usos autorizados relacionados con ácaros en diferentes cultivos: 1 (ácaro de las maravillas), 2 (ácaro del bronceado), 3 (ácaro rojo), 4 (ácaros), 5 (ácaros tetraníquidos), 6 (araña roja), 7 (araña blanca), 8 (erinosis), 9 (eriófidos). Datos a fecha del 18 de marzo de 2015 (continuación)..... 30

Tabla 5. Posibles fuentes de alimentación de los fitoseidos (Pérez Moreno & Marco Mancebón, 2011). 61

Tabla 6. Clasificación de McMurtry & Croft (1997) de los principales géneros de fitoseidos en base a su tipo de vida. 63

Tabla 7. Fitoseidos comercializados por las principales empresas distribuidoras de enemigos naturales en España y principales plagas contra las que van dirigidos. 65

Tabla 8. Hongos entomopatógenos desarrollados o en desarrollo para el control de plagas de artrópodos y algunos ejemplos para los que están indicados (Burges, 1998; Butt et al., 1999; Butt y Copping, 2000; Butt et al., 2001a y b) 70

Tabla 9. Características de los acaricidas y concentraciones utilizados en los bioensayos. 96

Tabla 10. Tratamientos y particularidades de cada uno de ellos en el bioensayo de evaluación del efecto de acaricidas de nueva generación sobre *Typhlodromus pyri*.... 97

Tabla 11. Características de los acaricidas y concentraciones utilizadas para valorar su efecto residual sobre *Typhlodromus pyri*. 101

Tabla 12. Características de los acaricidas y concentraciones utilizados para valorar su efecto sobre la capacidad depredadora de *T. pyri*. 104

Tabla 13. Características de los acaricidas y concentraciones utilizados para evaluar el efecto sobre poblaciones naturales de *T. pyri*. 106

Tabla 14. Índice de efecto total (%) de los acaricidas ensayados sobre hembras adultas de *T. pyri* según la vía de exposición (peor situación posible (PSP), alimento tratado (AT), contacto directo (CD) y superficie tratada (ST). 111

Tabla 15. Efecto de la vía de exposición a la abamectina sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 112

Tabla 16. Efecto de la vía de exposición al acequinocyl sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 113

Tabla 17. Efecto de la vía de exposición al etoxazol sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 114

Tabla 18. Efecto de la vía de exposición al fenpiroximato sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 115

Tabla 19. Efecto de la vía de exposición al spirodiclofén sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 116

Tabla 20. Efecto de la vía de exposición al spiromesifén sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*. PSP (peor situación posible), AT (alimento tratado), CD (contacto directo), ST (superficie tratada). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 117

Tabla 21. Efecto total (E) y efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* por parte de los acaricidas ensayados, inmediatamente después del tratamiento (T+0). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 118

Tabla 22. Efecto residual de los acaricidas sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* por parte de los acaricidas ensayados, a los 7 días del tratamiento (T+7). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 119

Tabla 23. Efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* de los acaricidas ensayados, a los 7 días del tratamiento (T+7). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005)..... 119

Tabla 24. Efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* de los acaricidas ensayados, a los 24 días del tratamiento (T+7). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005)..... 120

Tabla 25. Efecto residual sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri* de los acaricidas ensayados, a los 36 días del tratamiento (T+7). Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005)..... 120

Tabla 26. Actividad residual de la abamectina sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 7, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 121

Tabla 27. Actividad residual del acequinocyl sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 14, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 121

Tabla 28. Actividad residual del etoxazol sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 14, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 122

Tabla 29. Actividad residual del fenpiroximato sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 122

Tabla 30. Actividad residual del spiromesifén sobre la mortalidad, puesta de huevos y fertilidad (media ± error estándar) de *Typhlodromus pyri*, a los 0, 7, 14, 24 y 36 días del tratamiento. Letras iguales dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas. Test F de ANOVA seguido de LSD de Fisher (p = 0,005). 123

Tabla 31. Número de huevos de Tetranychus urticae depredados por hembra de *Typhlodromus pyri* (media ± error estándar) en función de la densidad de presa ofrecida y del tratamiento acaricida al que fue expuesto el depredador. Letras iguales

dentro de la misma columna indican que no hay diferencias significativas para LSD de Fisher (p = 0,005). 124

Tabla 32. Número de fitoseidos/muestra (media ± error estándar) y EHT en cada tratamiento para cada fecha de muestreo. 127

Tabla 33. Acaricidas utilizados en los bioensayos. 152

Tabla 34. Serie de concentraciones ensayadas para elaborar recta Probit. 153

Tabla 35. Concentraciones correspondientes a la LC30 de los productos ensayados. 155

Tabla 36. Comparación de χ2 observada y χ2 esperada. 156

Tabla 37. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con esporas de *B. bassiana*. 159

Tabla 38. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con abamectina. 160

Tabla 39. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con etoxazol. 161

Tabla 40. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con fenpiroximato. 163

Tabla 41. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spirodiclofén. 164

Tabla 42. Parámetros de la recta de regresión Probit de huevos y larvas de *T. urticae* tratados con spiromesifén. 165

Tabla 43. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC30 de *B. bassiana* y abamectina en mezcla y en solitario. 167

Tabla 44. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC30 de *B. bassiana* y abamectina en mezcla y en solitario. 167

Tabla 45. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC30 de *B. bassiana* y etoxazol en mezcla y en solitario. 168

Tabla 46. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC30 de *B. bassiana* y etoxazol en mezcla y en solitario. 168

Tabla 47. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC30 de *B. bassiana* y fenpiroximato en mezcla y en solitario. 169

Tabla 48. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC30 de *B. bassiana* y fenpiroximato en mezcla y en solitario. 169

Tabla 49. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC30 de *B. bassiana* y spirodiclofén en mezcla y en solitario. 170

Tabla 50. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC30 de *B. bassiana* y spirodiclofén en mezcla y en solitario. 170

Tabla 51. Respuesta de huevos de *T. urticae* de menos de 24 horas de edad cuando son tratados con las LC30 de *B. bassiana* y spiromesifén en mezcla y en solitario..... 171

Tabla 52. Respuesta de larvas de *T. urticae* cuando son tratadas con las LC30 de *B. bassiana* y spiromesifén en mezcla y en solitario. 171

Tabla 53. Datos de la estación agroclimática de Logroño desde: 01-09-2010 hasta el 31-10-2010 extraídos de la página web del Gobierno de La Rioja. 202

Anexos

Anexos

Anexo I: Calibrado de la torre de Potter

Diámetro de los discos	11,2 cm	**Gramaje del papel**	73 g/cm^2	**Volumen aplicado**	5,5 ml
Superficie de los discos	98,52 cm	**Peso teórico del disco**	0,7192 g	**Presión aplicada**	20 kPa

Disco	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia peso (g)	ml/cm^2	l/ha
1	0,7060	1,1749	0,4689	0,0048	475,94
2	0,7011	1,2099	0,5088	0,0052	516,44
3	0,7266	1,2185	0,4919	0,0050	499,29
4	0,7030	1,2350	0,5320	0,0054	539,99
5	0,7000	1,2922	0,5922	0,0060	601,09
6	0,7205	1,1890	0,4685	0,0048	475,54
7	0,7002	1,1894	0,4892	0,0050	496,55
8	0,7010	1,1980	0,4970	0,0050	504,46
9	0,6806	1,2143	0,5337	0,0054	541,72
10	0,6850	1,2445	0,5595	0,0057	567,90
11	0,7306	1,2136	0,4830	0,0049	490,25
12	0,7019	1,1760	0,4741	0,0048	481,22
13	0,7258	1,2870	0,5612	0,0057	569,63

0,005 ± 0,0004 ml/cm^2
520,00 ± 40,56 ml/cm^2

Anexo II: Parámetros agroclimáticos durante el ensayo de evaluación de actividad residual al aire libre

Fecha	T (°C)			Hr (%)	P (l/m2)	Rg (MJ/m2)	ETo (mm/día)
	Max	Med	Min	Med	Ac	Ac	Calc
				Agosto			
01/08/2010	28	21,3	17,6	72	0	20,438	4,8
02/08/2010	20,4	18,6	17	77	0	5,241	1,9
03/08/2010	24,5	19,1	14,7	65	0	23,339	4,9
04/08/2010	25,4	19,4	14,8	65	0	19,971	4,7
05/08/2010	24	18,7	13,7	58	0	27,061	5,4
06/08/2010	28,4	19,6	12,5	51	0	28,601	6,2
07/08/2010	33,1	22,6	13,3	49	0	27,608	6,7
08/08/2010	29	22	15,4	62	0	19,686	4,9
09/08/2010	26,5	21,2	17,5	70	0	19,813	4,7
10/08/2010	33,9	22,9	15	53	0	24,128	6,4
11/08/2010	30,3	22,5	15	46	0	25,861	6,1
12/08/2010	21,4	19,5	16	69	0,2	6,635	2,5
13/08/2010	20,6	16,8	13,9	67	0	11,973	3,2
14/08/2010	21,1	16,5	13,5	64	0	18,092	4
15/08/2010	23,6	17,3	12,5	58	0	22,869	4,7
16/08/2010	26,8	18,2	10,1	57	0	26,796	5
17/08/2010	31,4	21,3	12	55	0	25,879	5,6
18/08/2010	30,8	22,4	14,1	52	0	23,77	5,5
19/08/2010	28,2	22,1	16,5	65	0	19,235	4,5
20/08/2010	32,9	23,7	15,2	59	0	24,522	5,2
21/08/2010	35,3	26,7	17,7	51	0	24,581	6,1
22/08/2010	36,4	28	21	43	0	23,012	6,4
23/08/2010	34,3	26,3	17,4	41	0	24,663	7
24/08/2010	28,4	23	18,6	60	0	20,085	4,6
25/08/2010	34,2	24,6	15	53	0	24,89	5,8
26/08/2010	38,9	28,1	20,2	38	0	20,739	6,7
27/08/2010	31,7	24,7	19,3	43	0	24,464	7,8
28/08/2010	24,7	19,9	15	57	0	20,77	4,6
29/08/2010	26,5	18,2	12,1	57	0	25,406	5,5
30/08/2010	25,3	17,7	11,1	57	0	24,798	4,8
31/08/2010	26,7	18,7	10,9	52	0	23,517	4,8
				Septiembre			
01/09/2010	25,7	20	15,8	69	0,2	12,285	3
02/09/2010	26,4	20,8	17,1	72	2	17,184	3,3
03/09/2010	31	22,7	14,5	45	0	24,109	5,2
04/09/2010	31,4	22,4	13,5	41	0	21,361	4,7

Tabla 53. Datos de la estación agroclimática de Logroño desde: 01-09-2010 hasta el 31-10-2010 extraídos de la página web del Gobierno de La Rioja.

Fecha	T (°C)			Hr (%)	P (l/m2)	Rg (MJ/m2)	ETo (mm/día)
	Max	Med	Min	Med	Ac	Ac	Calc
				Septiembre			
05/09/2010	32,8	23,6	15	46	0,2	22,306	5,5
06/09/2010	31,4	23,5	16,8	57	0	18,055	4,7
07/09/2010	24,1	18,7	13,8	64	1,8	14,243	4,2
08/09/2010	23,3	16,7	10,5	58	0	20,69	4,6
09/09/2010	23,1	17,6	13,5	62	0	19,962	3,8
10/09/2010	28	18,9	10,3	52	0	22,004	4,4
11/09/2010	28,9	20,3	11,6	51	0	20,396	4,1
12/09/2010	22,2	18,4	14,7	66	0	10,555	3,1
13/09/2010	26,1	18,2	13,1	56	0	22,734	5
14/09/2010	29,5	20,3	12,4	47	0	21,98	5,6
15/09/2010	30,8	21,8	13,2	45	0	16,192	3,5
16/09/2010	22,2	18,8	15,6	65	3	5,573	2
17/09/2010	17,2	15,1	12,8	91	4,4	3,276	1,1
18/09/2010	19,1	14,8	12,6	70	0	8,81	2,6
19/09/2010	23,8	15,4	7,3	61	0	21,449	3,5
20/09/2010	24	17,4	11	70	0,2	13,803	2,7
21/09/2010	27,9	20	14,1	69	0	18,606	3,5
22/09/2010	24,5	19,1	13,9	74	0	12,48	2,5
23/09/2010	22,3	18,8	14,6	77	0	8,171	1,9
24/09/2010	19,9	16,3	13,5	72	0,2	10,175	2,5
25/09/2010	17,5	13,2	11,1	75	0,4	9,526	2,4
26/09/2010	16,2	11,7	7,7	70	0,8	10,445	2,3
27/09/2010	18	12,2	5,2	62	0	16,778	2,5
28/09/2010	20,5	13,6	6,9	60	0	19,757	3,3
29/09/2010	27,1	17	8,1	46	0	18,86	4,3
30/09/2010	20,7	15,6	11,4	71	0	12,205	2,4
				Octubre			
01/10/2010	23,7	16,3	9,1	64	0	16,329	2,7
02/10/2010	27,4	19,2	13,1	55	0	15,686	3
03/10/2010	24,1	16,9	11,4	69	2,6	6,631	2,8
04/10/2010	19,4	15,2	9,3	61	2,2	15,674	3,4
05/10/2010	22	14,2	7	64	0	16,871	2,6
06/10/2010	23,7	16,7	9,5	53	0	16,857	2,5
07/10/2010	23,4	18,1	12,9	72	2,2	12,079	2,8
08/10/2010	26,2	20,2	15,3	68	0,2	11,971	3,6
09/10/2010	19,1	17,3	12,7	89	4,8	2,17	1,4
10/10/2010	15,4	12,7	9,7	84	5,1	5,686	1,4
11/10/2010	16,5	13,4	11,3	89	5,9	5,569	1,2
12/10/2010	17,4	14,2	11,2	87	0,2	6,93	1,5
13/10/2010	18,1	14,2	10,7	75	0	12,172	2,4
14/10/2010	15,8	11,4	8,2	72	0	14,455	2,2

Tabla 54. Datos de la estación agroclimática de Logroño desde: 01-09-2010 hasta el 31-10-2010 extraídos de la página web del Gobierno de La Rioja (continuación).

Fecha	T (°C)			Hr (%)	P (l/m2)	Rg (MJ/m2)	ETo (mm/día)
	Max	Med	Min	Med	Ac	Ac	Calc
				Octubre			
15/10/2010	14,5	11,4	7,8	71	0	9,646	1,8
16/10/2010	13,3	9,9	6,6	76	0	4,969	1,4
17/10/2010	13,1	9	4,9	74	0,2	9,999	1,9
18/10/2010	13,4	9	5,1	63	0	13	2,1
19/10/2010	15	9,4	4,7	67	0	15,77	2,3
20/10/2010	15,8	9,7	3,7	72	0	10,081	1,7
21/10/2010	15,5	9,2	3,3	72	0	14,647	1,5
22/10/2010	14,3	9,5	4,2	77	0	10,98	1,2
23/10/2010	18,7	11,7	5,7	72	0	13,252	1,8
24/10/2010	18	12,1	7,6	78	2	8,83	2
25/10/2010	12	8,6	4,3	67	0,2	11,367	2
26/10/2010	14,7	8,4	2,5	55	0	13,685	2,7
27/10/2010	21,3	12,6	4,9	34	0	13,888	3,4
28/10/2010	20	13	7,2	55	0	13,279	1,8
29/10/2010	20,5	11,4	7,2	69	3,4	5,032	1,9
30/10/2010	14,9	10,3	5,8	78	0	4,643	1,2
31/10/2010	14,3	11,4	8	72	5,5	6,33	1,5

Tabla 55. Datos de la estación agroclimática de Logroño desde: 01-09-2010 hasta el 31-10-2010 extraídos de la página web del Gobierno de La Rioja (continuación).

PARÁMETROS	
Desc. Abr.	**Descripción**
T	Temperatura del aire
Hr	Humedad relativa del aire
P	Precipitación acumulada
Rg	Radiación global acumulada
ETo	Evapotranspiración

FUNCIONES	
Desc. Abr.	**Descripción**
Ac	Acumulado
Calc	Calculado
Max	Máximo
Med	Media
Min	Mínimo

Anexo III: Resultado viabilidad de esporas

Placa	ufc	ufc/ml producto
1	40	$1,33 \times 10^7$
2	37	$1,23 \times 10^7$
3	34	$1,13 \times 10^7$
4	49	$1,63 \times 10^7$
5	44	$1,47 \times 10^7$
6	52	$1,73 \times 10^7$
7	55	$1,83 \times 10^7$
8	54	$1,80 \times 10^7$
9	48	$1,60 \times 10^7$
10	58	$1,93 \times 10^7$
11	69	$2,30 \times 10^7$
12	40	$1,33 \times 10^7$
13	44	$1,47 \times 10^7$
14	31	$1,03 \times 10^7$
15	60	$2,00 \times 10^7$
16	57	$1,90 \times 10^7$
17	59	$1,97 \times 10^7$
18	58	$1,93 \times 10^7$
19	49	$1,63 \times 10^7$
20	32	$1,07 \times 10^7$
21	57	$1,90 \times 10^7$
22	39	$1,30 \times 10^7$
23	55	$1,83 \times 10^7$
24	40	$1,33 \times 10^7$
25	42	$1,40 \times 10^7$
26	31	$1,03 \times 10^7$
27	46	$1,53 \times 10^7$
28	49	$1,63 \times 10^7$
29	61	$2,03 \times 10^7$
30	52	$1,73 \times 10^7$

Tabla 56. Valoración de la viabilidad del producto expresado en ufc/ml.

$$1,60 \times 10^7 \pm 3,33 \times 10^6 \text{ ufc/ml producto}$$