Biblioteca Digital
FCEN-UBA

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis Doctoral

Evaluación del sistema planta hospedera-huésped alternativo como estrategia para el control biológico de pulgones (Hemiptera: Aphididae) en sistemas de producción hortícola en cultivos protegidos

Andorno, Andrea Verónica

2012

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Andorno, Andrea Verónica. (2012). Evaluación del sistema planta hospedera-huésped alternativo como estrategia para el control biológico de pulgones (Hemiptera: Aphididae) en sistemas de producción hortícola en cultivos protegidos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:
Andorno, Andrea Verónica. "Evaluación del sistema planta hospedera-huésped alternativo como estrategia para el control biológico de pulgones (Hemiptera: Aphididae) en sistemas de producción hortícola en cultivos protegidos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012.

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Evaluación del sistema planta hospedera – huésped alternativo como estrategia para el control biológico de pulgones (Hemiptera: Aphididae) en sistemas de producción hortícola en cultivos protegidos

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área **CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Andrea Verónica Andorno

Directores de tesis: Dr. Eduardo N. Botto
Dra. Graciela Cohen

Consejero de estudios: Dra. Graciela Cohen

Lugar de Trabajo: Laboratorio de Lucha Biológica, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, INTA Castelar.

Buenos Aires, 2012

ÍNDICE

RESUMEN.....04

ABSTRACT.....05

AGRADECIMIENTOS.....06

INTRODUCCIÓN GENERAL.....07

Manejo del hábitat y control biológico por conservación.....12

Control biológico por conservación y el empleo de hospederas alternativas.....13

Componentes del sistema tri-trófico.....16

El cultivo de rúcula, *Eruca sativa*.....17

La planta hospedera alternativa, *Avena sativa*.....19

La plaga, *Myzus persicae*.....20

El áfido alternativo, *Rhopalosiphum padi*.....25

El enemigo natural, *Aphidius colemani*.....28

HIPÓTESIS.....35

OBJETIVOS.....35

CAPÍTULO 1. El Sistema tri-trófico en estudio.....37

Conclusiones del Capítulo 1.....58

CAPÍTULO 2. Estudios sobre la asociación *Eruca sativa* (rúcula)- *Myzus persicae* (áfido plaga) en condiciones de laboratorio.....59

Conclusiones del Capítulo 2.....71

CAPÍTULO 3. Estudios sobre el enemigo natural: el parasitoide *Aphidius colemani*.....72

Conclusiones del Capítulo 3.....98

CAPÍTULO 4. Compatibilidad de uso del parasitoide *Aphidius colemani* con algunos insecticidas utilizados en producciones hortícolas.....99

4a) Toxicidad directa sobre el estado adulto de *A.colemani*.....102

4b) Toxicidad directa sobre los estados inmaduros de *A.colemani* 108

4c) Persistencia de la acción de los productos..... 110

Conclusiones del Capítulo 4 117

CAPÍTULO 5. Evaluación del sistema de planta hospedera alternativa- áfido alternativo-parasitoide común como estrategia para el control de áfidos. Comparación con tácticas de control biológico mediante liberaciones inoculativas de *Aphidius colemani* 119

5a) Ensayo en cultivo de rúcula 122

5b) Ensayo en cultivo de pimiento 131

Conclusiones del Capítulo 5 144

CONSIDERACIONES GENERALES Y CONCLUSIONES 146

BIBLIOGRAFÍA 150

ANEXOS 171

EVALUACIÓN DEL SISTEMA PLANTA HOSPEDERA – HUÉSPED ALTERNATIVO COMO ESTRATEGIA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PULGONES (HEMIPTERA: APHIDIDAE) EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA EN CULTIVOS PROTEGIDOS

RESUMEN

Los áfidos constituyen una de las plagas de mayor importancia económica sobre una gran variedad de cultivos. El control biológico por conservación utilizando plantas hospederas y fitófagos huéspedes alternativos ha sido exitosamente utilizado en el manejo de áfidos plaga. Esta modalidad consiste en el empleo de especies vegetales hospederas de herbívoros inócuos para el cultivo de interés pero que son utilizados por los enemigos naturales de la plaga como huéspedes alternativos. El objetivo de esta tesis fue evaluar el empleo de este sistema como estrategia para el control del áfido plaga, *Myzus persicae* por el parasitoide *Aphidius colemani* en cultivos hortícolas (rúcula y pimiento).

Los principales aportes de esta tesis han sido:

- ✓ Conocimiento de las asociaciones áfidos - enemigos naturales parasitoides en cultivos hortícolas y plantas hospederas no cultivadas.
- ✓ Conocimiento de la biología y parámetros poblacionales de *M. persicae* sobre el cultivo de rúcula.
- ✓ Conocimiento de los atributos biológicos y de la preferencia del parasitoide *A. colemani* sobre las asociaciones cultivo- huésped plaga y planta hospedera alternativa- áfido alternativo, *R. padi*.
- ✓ Conocimientos sobre la compatibilidad de empleo de insecticidas y el parasitoide *A. colemani*.
- ✓ Evaluación del sistema planta hospedera – huésped alternativo para el control biológico de *M. persicae* por el parasitoide *A. colemani*.

PALABRAS CLAVE: control biológico por conservación, áfidos, *Myzus persicae*, *Rhopalosiphum padi,* parasitoides, *Aphidius colemani.*

EVALUATION OF AN ALTERNATIVE HOST PLANT- PHYTOPHAGOUS SYSTEM FOR BIOLOGICAL CONTROL OF APHIDS (HEMIPTERA: APHIDIDAE) IN PROTECTED VEGETABLE CROPS.

ABSTRACT

Aphids are a common problem on a wide variety of crops. Alternative host plant - phytophagous systems has been successfully applied in conservation biological control for aphid pests. The use of alternative host plant – phytophagous provides an alternative suitable food resource for those natural enemies controlling the target pest with no threat for the crop of interest.

The aim of this thesis was to evaluate the use of the alternative host plant - aphid - parasitoid system (oat - *Rhopalosiphum padi* - *Aphidius colemani*) as a strategy for aphid pest control in vegetable crop systems (arugula and pepper).

The most important contributions from this thesis are:

- ✓ Knowledge of the relationships between aphids - natural enemies parasitoids associated to vegetable crops and uncultivated host plants.
- ✓ Knowledge of the biology of the aphid pest *M. persicae* in arugula.
- ✓ Knowledge on the biology and host preference of the aphid parasitoid *A. colemani*.
- ✓ Knowledge on the side effect of pesticides on *A. colemani.*
- ✓ Evaluation of the "alternative host plant- phytophagous system" as a biological control strategy of *M. persicae* by the aphid parasitoid *A. colemani*

KEY WORDS: conservation biological control, aphids, *Myzus persicae, Rhopalosiphum padi*, parasitoids, *Aphidius colemani*.

AGRADECIMIENTOS

A mi director, el Dr. Eduardo Botto por brindarme su apoyo para el desarrollo de esta tesis y a mi directora, la Dra. Graciela Cohen por dedicar su tiempo, por sus minuciosas correcciones y valiosos aportes.

A la Dra. Silvia López por ser mi compañera, maestra y amiga. Gracias por enseñarme como hacer mejor mi trabajo, por su incansable ayuda en los ensayos de campo y por estar siempre mostrándome como ser mejor persona en todo sentido.

A la Dra. Mariana Viscarret, la Dra. María Riquelme, la Lic. Carmen Hernández y la Lic. Cynthia Cagnotti por sus oportunos consejos, sus palabras de aliento y por estar siempre que las necesité.

A todos mis compañeros del I.I.L.B. del IMYZA, los que pasaron y los que aún están, por acompañarme durante todos estos años.

Al productor Ing. Agr. Roland Möhle quien me abrió las puertas de su establecimiento y me ayudó en la recolección de las muestras de campo.

Al Ing. Agr. M. Sc. Ruben La Rossa por su colaboración en el reconocimiento de las especies de áfidos.

A la Ing. Agr. M. Sc. Teresa Boca por su colaboración en la realización de los análisis estadísticos.

A los jurados por mejorar esta tesis con sus valiosas correcciones.

A Agustín y Facundo por su hermosa compañía en las salidas de campo y los ensayos de invernáculo y por ser el tesoro más valioso que me regaló la vida.

A Mariano por su inmensa paciencia, tolerancia y por comprender mis ausencias.

A mi familia y amigos por demostrarme su amor incondicional en las pequeñas cosas de todos los días.

INTRODUCCIÓN GENERAL

En los agroecosistemas con predominio de monocultivos, la biodiversidad se encuentra fuertemente alterada produciendo frecuentes situaciones de inestabilidad en el sistema, que se manifiestan, por ejemplo, con la aparición de plagas[1]. El manejo del hábitat, consiste en modificar la biodiversidad de estos agroecosistemas, mejorando sustancialmente las interacciones en los distintos niveles tróficos. Una consecuencia directa de esta acción es una regulación de la abundancia de los organismos perjudiciales por sus enemigos naturales (Altieri, 1995; Landis *et al*., 2000).

Detrás de este concepto, existen dos hipótesis relacionadas con la máxima simplificación de los agroecosistemas (Root, 1973):

1. "Hipótesis de la concentración del recurso": considera que los monocultivos ofrecen un recurso abundante y altamente concentrado a los fitófagos. Las plagas encuentran una elevada oferta y disponibilidad del recurso alimenticio (planta). Además, la abundancia de recursos disminuye la probabilidad de que la especie plaga emigre del hábitat una vez que ha llegado a éste. En este sentido, a una menor concentración del recurso, más difícil será para el artrópodo plaga la localización de una planta hospedera.

2. "Hipótesis de los enemigos naturales": considera que la simplificación extrema del agroecosistema provoca la reducción de las fuentes de alimentación alternativas (polen, néctar, otras presas) y de los lugares de refugio y de oviposición requeridos por los enemigos naturales. Esto determina una menor riqueza y abundancia de enemigos naturales, muchos de los cuales son polífagos (con requerimientos alimentarios más diversos). En este sentido, esta hipótesis plantea que, en ambientes con alta diversidad vegetal, como son los cultivos diversificados,

[1] DEFINICIÓN DE PLAGA: Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales (FAO, 1995).

a. Se dispone de una mayor diversidad de presas y como resultado, las poblaciones relativamente estables de depredadores generalistas pueden persistir en estos ambientes complejos, alimentándose de una amplia variedad de herbívoros disponibles en diferentes períodos y/o en diversos hábitats.

b. Los depredadores especialistas también pueden persistir en el sistema, sin grandes fluctuaciones en su densidad, porque sus presas pueden escapar de la aniquilación total encontrando las alternativas de refugio que ofrece un ambiente complejo.

c. Los hábitats diversos ofrecen una abundancia de recursos alimentarios alternativos, tales como fuentes de néctar y polen, para los depredadores y parasitoides adultos de vida libre. Esto reduce la posibilidad de que estos organismos se marchen o lleguen a extinguirse en forma local. Estos recursos no están disponibles o lo están en forma muy escasa en los monocultivos.

Desde la década del 60, la literatura ha provisto cientos de ejemplos de experimentos donde se documenta que la diversificación de cultivos conduce a la reducción de poblaciones de herbívoros plaga (Van Den Bosch y Telford, 1964; Andow, 1991; Altieri *et al*., 1996; Van Driesche y Bellows, 1996; Vollhardt *et al*., 2008; Petermann *et al*., 2010; Perovic *et al*., 2010). La mayoría de los estudios donde se combinan el cultivo principal con otras plantas demuestra que las poblaciones de herbívoros especialistas son menos numerosas que aquéllas que ocurren en los monocultivos (Risch *et al*., 1983; Marino y Landis, 1996; Moshe y Bottrell, 1996; Eilers y Klein, 2009; Gurr *et al*., 2000; Frank, 2010). Diversos autores confirman la importancia de los huéspedes alternativos, la mayor accesibilidad a refugios y la provisión de fuentes diversas de alimento para incrementar la supervivencia de los artrópodos benéficos (Corbett y Rosenheim, 1996; Verkerk *et al*. 1998; Rebek *et al*., 2005). En otras palabras, es posible estabilizar las poblaciones de diversos artrópodos en agroecosistemas, diseñando arquitecturas de la vegetación que incrementen la diversidad de enemigos naturales. La estructura del paisaje modifica también el control ejercido por los

mismos, lo que se refleja en un aumento del parasitismo y/o la presión de predación (Marino y Landis, 1996; Menalled *et al*., 1999; Baggen *et al.* 1999).

Al modificar el hábitat, cada situación debe ser analizada independientemente, dado que en cada zona los complejos herbívoros - enemigos naturales varían, entre otros factores, de acuerdo con: la vegetación presente dentro y fuera del cultivo, la intensidad del manejo agrícola y la calidad del suelo. Sin embargo, lo que es universal, es el principio de que la diversificación vegetal es clave para un control biológico más eficiente (Altieri y Nicholls, 1999; Gurr *et al*., 2000; Landis *et al*., 2000). Conocer las especies plaga, sus enemigos naturales y sus interacciones con el ambiente, facilita el diseño y la aplicación de procedimientos de manejo que sean eficientes para explotar los "puntos débiles" en las defensas de la plaga (Starỳ y Pike, 1999; Verkerk, 2004; Zehnder *et al*., 2007).

Entre las plagas de mayor importancia económica, los áfidos (Hemiptera: Aphididae) constituyen un grupo de insectos muy bien adaptados para desarrollar su actividad fitófaga sobre una gran variedad de cultivos en todos los ecosistemas del mundo (Moran, 1992). Estos insectos ocasionan dos tipos de daño: 1) directo, provocado por la succión de fotosintatos por adultos y ninfas y 2) indirecto, debido a que las ninfas eliminan sustancias ricas en hidratos de carbono sobre las que se desarrollan gran cantidad de hongos, conocidos vulgarmente como fumagina (Cabello García y Belda Suárez, 1994). A este daño indirecto debe agregarse otro más grave aún, que consiste en la capacidad de algunos áfidos de comportarse como vectores de virus (Castle y Berger, 1993; Syller, 1994).

El "pulgón verde del duraznero", *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) se destaca por causar serios problemas principalmente en las producciones hortícolas. Ésta es una especie muy polífaga y cosmopolita que utiliza como huésped primario a especies del género *Prunus*, aunque puede colonizar como huésped secundario a especies de plantas de más de 40 familias botánicas, incluyendo muchas de interés económico (Blackman y Eastop, 1985). *Myzus persicae* es considerada una de las especies más perjudiciales, específicamente sobre cultivos de hoja. En

la Argentina su presencia se ha registrado sobre lechuga, rúcula, espinaca, coliflor y brócoli, entre otros cultivos (citado en Cordo *et al*., 2004). Dado lo breve de su ciclo vital, su rápida dispersión y las exigencias impuestas por el mercado en términos de calidad, este áfido suele ser un factor limitante para los cultivos de hoja en ambientes protegidos.

Ante las elevadas infestaciones y sus consecuentes pérdidas económicas, los productores hortícolas se han visto obligados a intensificar los tratamientos fitosanitarios utilizando los más variados plaguicidas, elevando las dosis y el número de aplicaciones recomendadas. Si bien el control químico de áfidos es un método de fácil aplicación, el grado de control no siempre resulta efectivo y, por otro lado, ha traído como consecuencia la aparición de fenómenos de resistencia a varios principios activos (Alcazar *et al*., 2000). Además esta práctica no responde a las actuales exigencias de una producción con bajo nivel de contaminantes, con lo cual es necesario encontrar alternativas de control racionales desde el punto de vista de la sustentabilidad del sistema (Aparicio *et al*., 1998).

Existen muchos enemigos naturales entomófagos (predadores y parasitoides) y entomopatógenos (hongos, bacterias y virus), que juegan un importante papel en la reducción de las poblaciones de áfidos plaga (Starý, 1976; Van Emden, 1995). Entre los parasitoides se destaca la subfamilia de himenópteros Aphidiinae, constituida por más de 400 especies distribuidas por todo el mundo. Todas las especies son endoparásitos solitarios y específicos de áfidos (Kavallieratos *et al*., 2001; Aslan *et al*., 2004).

El control biológico constituye una táctica en donde se utiliza a los enemigos naturales de las plagas con el propósito de reducir su abundancia por debajo del nivel en que causan perjuicios económicos (De Bach, 1974; Van Driesche y Bellows, 1996).

Existen tres modos para implementar el control biológico:

1) Clásico: consiste en la importación e introducción de enemigos naturales exóticos contra plagas también exóticas, aunque en algunos casos se los emplea contra plagas nativas.

2) Aumentativo: se refiere a la cría y liberación periódica de enemigos naturales nativos o exóticos, en grandes cantidades (inundativo) o de unos pocos individuos que sobrevivirán por varias generaciones (inoculativo).

3) Por conservación: consiste en el aumento de los enemigos naturales presentes en el agroecosistema, manipulando el ambiente de modo de hacerlo más favorable para ellos. En este aspecto se pueden mencionar técnicas tales como la utilización de hospederas alternativas, los corredores biológicos, el uso de cultivos trampa, la incorporación de plantas con flores, la introducción de refugios potenciales, etc. (Altieri *et al*., 1996; Landis *et al*., 2000).
Frecuentemente se usan indistintamente los términos control biológico por conservación y manejo del hábitat, como si fueran sinónimos, pero no lo son.

Manejo del hábitat y control biológico por conservación

Tanto el manejo del hábitat como el control biológico por conservación utilizan la diversificación de cultivos como método para favorecer las poblaciones de enemigos naturales. Sin embargo, el manejo del hábitat considera rediseños que mejoran la biodiversidad agrícola, con lo cual la protección vegetal se logra evitando la "concentración de los recursos" conforme a la hipótesis mencionada inicialmente. La finalidad que persigue el manejo del hábitat es aumentar la biodiversidad para lograr mayor estabilidad en el sistema agrícola y así obtener una mayor producción del mismo. En cambio, el control biológico por conservación implica maximizar el impacto de los enemigos naturales proveyendo recursos ecológicos claves y minimizando la mortalidad inducida por el uso de plaguicidas. El control biológico por conservación "mejora el ambiente" para aumentar la eficiencia de los enemigos naturales (Gurr *et al*., 2000).

Control biológico por conservación y el empleo de hospederas alternativas

El interés por el control biológico ha ido aumentando en las últimas décadas por varias razones (Van Driesche *et al*., 2007). Primero, existe un mayor compromiso por la gestión ambiental entre los distintos actores sociales (entes reguladores, productores y público en general), lo que ha promovido el desarrollo de prácticas agrícolas más sustentables (Kogan, 1998). Segundo, el uso indiscriminado de productos químicos ha sido el responsable de la aparición de resistencia en los artrópodos plaga (Guillebeau, 2004). Finalmente, la creciente demanda por parte de los consumidores de productos más sanos, ha despertado la necesidad de buscar estrategias alternativas para el control de las plagas (Zehnder *et al*., 2007).
A pesar de estas convincentes razones, la adopción del control biológico como parte de los programas de manejo de plagas, ha sido muy lenta. Por ejemplo, Frank (2010) menciona que a nivel mundial, solo el 5% de las 296.516 ha de producción en invernaderos utiliza tácticas de control biológico. En la Argentina, el control biológico data de principios del siglo pasado. No obstante su aplicación exitosa, el control biológico a nivel local no tiene la importancia que debiera asignársele, si se consideran aspectos tales como la sustentabilidad agrícola y la preservación ambiental (Botto, 1995; 2005). Más aún, el control biológico por conservación en nuestro país se encuentra muy poco desarrollado hasta el momento.

Dentro del control biológico por conservación, la utilización de plantas hospederas alternativas consiste en la introducción de una o más especies vegetales que alberga/n herbívoros que son inocuos para el cultivo de interés pero que comparten con la plaga algún/os enemigo/s natural/es. El empleo de hospederas alternativas para el control de plagas en ambientes protegidos, ha sido propuesto en reemplazo del método de “la plaga primero” descrito por Markkula y Tiittanen (1976). El método de “la plaga primero” se basa en la introducción intencional en el invernadero, de una pequeña población de la plaga con el fin de proveer de un recurso alimentario al/a los biocontrolador/es presentes en ese momento en el

sistema. En caso que por alguna razón el/los biocontrolador/es no funcionara/n, la plaga podría incrementarse y provocar daño. Por esta razón este método no ha sido adoptado por los productores debido a la preocupación que genera la liberación de la plaga en el cultivo. Ejemplos de la utilización de este método han sido mencionados en cultivos de tomate y zapallito, para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) con *Encarsia formosa* (Gahan) (Parr *et al*., 1976; Stacey, 1977; Hoddle *et al*., 1998); para el control de *Tetranychus urticae* Koch con *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Henn *et al*., 1995); para el control de áfidos mediante el uso de parasitoides (Aphelinidae y Aphidiinae) y de predadores tales como *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani), Chrysopidae, Anthocoridae y Coccinellidae (Yano, 2006).

Tanto este sistema (hospedera alternativa) como el método de "la plaga primero" tienen un mismo requisito, que es tener establecido en el ambiente al/ a los biocontrolador/es, antes de la llegada de la plaga al cultivo. Sin embargo, el uso de hospederas alternativas se presenta como un método más seguro, ya que no se introduce en el cultivo de manera intencional a la plaga en cuestión (Starỳ, 1993; Henn *et al*., 1995; Yano; 2006). Este sistema ha sido estudiado por primera vez por Hansen (1983), quien evaluó el control ejercido por el predador *A. aphidimiza* introducido sobre la especie de áfido (no plaga) *Megoura viciae* Buckton utilizando habas como planta hospedera alternativa. *Aphidoletes aphidimiza* no solo atacaría a los pulgones no-plaga sino que también ejercería un control sobre *M. persicae*. La manera de implementar este sistema en un cultivo de pimiento para el control de *M. persicae*, fue colocar varias macetas dispersas por todo el invernáculo conteniendo el sistema tri- trófico compuesto por: habas- *M. viciae- A. aphidimyza*. Diez años más tarde, Starỳ (1993) propuso un sistema similar al descripto por Hansen, utilizando en este caso parasitoides Aphidiinae como enemigo natural y áfidos de los cereales como huéspedes alternativos sobre plantas de trigo. Este autor presentó un sistema modelo compuesto por: 1) cultivo= poroto y hospedera alternativa= trigo; 2) áfido plaga= *M. persicae* y áfido alternativo= *Schizaphis*

graminum (Rondani); 3) parasitoides= *Lysiphlebus testaceipes* y *A. colemani*. Starỳ (op. cit.) resaltó tres aspectos muy importantes a tener en cuenta:

- El áfido alternativo debe ser específico de la hospedera alternativa y no debe atacar al cultivo.
- El parasitoide que ataca a este áfido alternativo debe ser oligófago e incluir en su lista de huéspedes al áfido plaga.
- La preferencia del parasitoide por ambos huéspedes debe ser igual. Es decir, no debe existir una preferencia muy marcada por ninguno de los áfidos involucrados en el sistema.

El sistema de hospedera alternativa, ha sido más frecuentemente empleado en cultivos que se realizan bajo cubierta, dado que los invernaderos ofrecen una contención contra la dispersión del enemigo natural, acortando las distancias y favoreciendo la disminución del tiempo de búsqueda del huésped (van Lenteren y Woets, 1988). Si bien son escasos los trabajos científicos acerca del uso de hospederas alternativas, se pueden citar algunos ejemplos. Frank (2010) ha realizado una revisión de trabajos referidos al control biológico, utilizando como palabras clave “banker plant” y “open rearing system” y ha encontrado sólo 15 trabajos referidos a esta temática. Otros trabajos han sido presentados en conferencias y congresos, en cuyo caso el acceso es más difícil aún. De un total de 29 trabajos encontrados, el 86% utilizan plantas banco para el control de áfidos plaga en cultivos protegidos. En general se utiliza un sistema tri-trófico que se compone de un cereal (trigo, cebada, maíz, avena, sorgo) que alberga áfidos de los cereales, tales como *Rhopalosiphum padi* (L.), *Schizaphis graminum*, *Metopolophium dirhodum* (Walker), los cuales se alimentan exclusivamente de gramíneas (Poaceae) y no atacan a la mayoría de los cultivos hortícolas y ornamentales que se producen bajo cubierta. Estos áfidos son utilizados como huéspedes alternativos de parasitoides Aphidinae (*Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius matricariae* Haliday, *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson), *Diarietiella rapae* (M´Intosh)) para el control de áfidos plaga de hortalizas y flores cultivadas

(Jacobson y Croft, 1998; Conte *et al*, 2000; Kim y Kim, 2004; van Driesche *et al*., 2008).

Componentes del sistema tri-trófico en estudio

El sistema tri-trófico estudiado en la presente tesis comprende los siguientes componentes:

1º nivel trófico (planta):

- **cultivo de interés**: rúcula, *Eruca sativa* Miller
- **planta hospedera alternativa**: avena, *Avena sativa* L.

2º nivel trófico (herbívoro):

- **plaga a controlar**: pulgón verde del duraznero, *Myzus persicae* (Sulzer, 1776).
- **áfido húesped alternativo**: pulgón de la avena, *Rhopalosiphum padi* (L., 1758).

3º nivel trófico (enemigo natural):

- **parasitoide (biocontrolador):** común a ambos áfidos, *Aphidius colemani* Viereck, 1912.

El cultivo de rúcula, Eruca sativa

Rúcula es el nombre común de la especie *Eruca sativa*, de la familia Brassicaceae (Figura 1). Es una hortaliza diploide, anual, cuyas hojas poseen un característico sabor picante, lo cual favorece su utilización en fresco como ingrediente para ensaladas (Pignone, 1996; Morales y Janick, 2002, Palada y Crossman, 1999).

1. Posición sistemática

Reino: Plantae
Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares)
Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas)
División: Magnoliophyta (plantas con flor)
Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas)
Subclase: Dilleniidae
Orden: Capparales
Familia: Brassicaceae
Género: *Eruca*
Especie: *Eruca sativa* Miller

La rúcula es originaria del Mediterráneo occidental (Rollins, 1993) y se encuentra ampliamente distribuida en Europa, donde es un importante cultivo, ya que tradicionalmente se la considera como una delicadeza gastronómica. Sus hojas algo acres y picantes se comen en ensalada (Parodi, 1959). Por otro lado, en el continente americano *E. sativa* ha aparecido como una planta espontánea en terrenos no cultivados o como maleza invadiendo algunos cultivos y viene cobrando importancia como cultivo, a partir de la demanda de inmigrantes europeos y sus descendientes (Bermejillo *et al.*, 2006; Pignone 1996).

Figura 1: Cultivo de rúcula

En el mercado argentino, se ha observado una demanda creciente de esta hortaliza, sobre todo en las grandes capitales (Buenos Aires, Córdoba y Rosario). Se la puede adquirir en negocios especializados generalmente asociados a los segmentos de población con ingresos mediano-altos a altos (Bermejillo *et al.*, 2006).

El cultivo de rúcula presenta algunas ventajas tales como, la adaptabilidad de la planta, que puede desarrollarse casi sobre cualquier tipo de suelo, y la posibilidad de realizar varias cosechas en poco tiempo, debido a sus rápidos ciclos de producción. Generalmente, la primera cosecha se realiza, luego de 20-27 días de haber realizado la siembra, cortando las hojas desde la base del peciolo. Posteriormente, pueden realizarse nuevas cosechas conforme la planta rebrota (Pimpini y Enzo, 1996; Morales y Janick, 2002). Según Pimpini y Enzo (1996), la cantidad de cosechas que se pueden llevar a cabo varía de acuerdo con la época del año en que se realiza el cultivo. En cultivos de verano, los largos períodos de luz diurna ejercen un estímulo sobre las plantas que las lleva a entrar en floración súbitamente y, en consecuencia, debido a la pérdida de calidad de las hojas (órgano de consumo), suele ser factible realizar como máximo 2 cosechas. Por otro lado, cuando el cultivo se lleva a cabo desde el otoño hasta la primavera, pueden realizarse aproximadamente 5-6 cosechas (Escobar, 2003).

Con el objetivo de aumentar el rendimiento del cultivo y de obtener un producto de mejor calidad, los productores de rúcula han optado por trabajar en ambientes protegidos. Generalmente, se emplean invernaderos con forma de túnel dentro de los cuales se procura superar las limitaciones climáticas del exterior. Las condiciones de temperatura óptima para el cultivo bajo cubierta de *E. sativa* son 22-24 ºC durante el día y 16-18 ºC durante la noche, con una humedad relativa siempre por debajo del 60% (Pereira, 2002; Pimpini y Enzo, 1996).

La planta hospedera alternativa, Avena sativa

Avena sativa es una planta herbácea anual perteneciente a la familia Poaceae, de hojas planas y alargadas, con raíces fibrosas abundantes y profundas (Figura 2).

1. Posición sistemática

    Reino: Plantae
    Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares)
    Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas)
    División: Magnoliophyta (plantas con flor)
    Clase: Liliopsida (monocotiledóneas)
    Subclase: Commelinidae
    Orden: Cyperales
    Familia: Poaceae
    Género: *Avena*
    Especie: *Avena sativa* L.

Esta especie de origen algo incierto (Asia menor o SE de Europa), se cultiva por sus granos o como forrajera en los países templados de todo el mundo. Es considerada una planta de estación fría, aunque posee una resistencia al frío menor que otros cereales de invierno como por ejemplo la cebada y el trigo (Parodi, 1959). El rango térmico de desarrollo está entre 5 y 30 ºC con un óptimo de 17,5 ºC (Ruíz *et al.*, 1999). Las necesidades hídricas de la avena son las más

elevadas de todos los cereales de invierno por eso se adapta mejor a los climas frescos y húmedos. Es una planta rústica poco exigente en suelo, pues se adecua a terrenos muy diversos. La avena está adaptada a los suelos ácidos con pH entre 5 y 7 y por lo tanto suele sembrarse en tierras recién roturadas ricas en materia orgánica.

Figura 2: Plantas de avena

La plaga, Myzus persicae

El "pulgón verde del duraznero", *M. persicae,* es considerado el áfido de mayor predominio y peligrosidad debido a su frecuente aparición y a la magnitud de los daños que ocasiona (Castle y Berger, 1993; Syller, 1994). Se encuentra distribuido en todo el mundo (Blackman and Eastop, 1985) y su polifagia (Van Enden, 1972) le permite desarrollar grandes poblaciones, con la producción de individuos alados que colonizan distintos cultivos (Kanegae y Lomônaca, 2003).

1. Posición sistemática

Orden: Hemiptera

Suborden: Homoptera

Serie: Sternorrhyncha

Superfamilia: Aphidoidea

Familia: Aphididae

Subfamilia: Aphidinae

Tribu: Macrosiphini

Subtribu: Macrosiphina

Género: *Myzus*

Especie: *Myzus persicae* (Sulzer)

2. Ciclo de vida

El ciclo biológico de esta especie es heteroico holocíclico, es decir, se desarrolla sobre un hospedero primario y otro secundario y presenta una fase sexual y una partenogenética (Cabello García y Belda Suarez, 1994).

Los áfidos toleran las condiciones adversas del invierno atravesando este período como huevos, en estado de latencia. Los huevos se localizan en los brotes tiernos y las axilas de las yemas del duraznero (hospedero primario). Cerca del inicio de la primavera, las larvas eclosionan y de cada una surge una hembra áptera denominada *fundatrix*. Esta forma está más adaptada para reproducirse en forma masiva y acelerada por medio de partenogénesis que para alimentarse y subsistir por largos períodos de tiempo. De ella se originan nuevas hembras partenogenéticas que se reproducen por dos o tres generaciones, hasta que surgen las hembras *virginóparas*. Estas son hembras partenogenéticas aladas que emigran a un hospedero secundario (una planta herbácea generalmente) y originan nuevas hembras partenogenéticas llamadas *exiliadas* (Moran, 1992) (Figura 3). De las hembras *exiliadas*, que se reproducen por partenogénesis durante los meses de verano, surgen por vía directa los machos alados de la especie y hembras *ginóparas,* también aladas. A finales del otoño, los machos y las hembras *ginóparas* emprenden el vuelo de retorno al duraznero. Una vez ahí, las hembras *ginóparas* originan hembras *ovíparas* (hembras sexuales), las que se aparean con los machos y realizan una nueva puesta de huevos (Agarwala, 2007;

Moran, 1992). Así, durante todo el ciclo se realiza una única puesta de huevos y las demás generaciones se originan a partir de hembras partenogenéticas que paren crías vivas (viviparidad), las cuales atraviesan cuatro estadios ninfales antes de alcanzar su forma adulta y poder reproducirse.

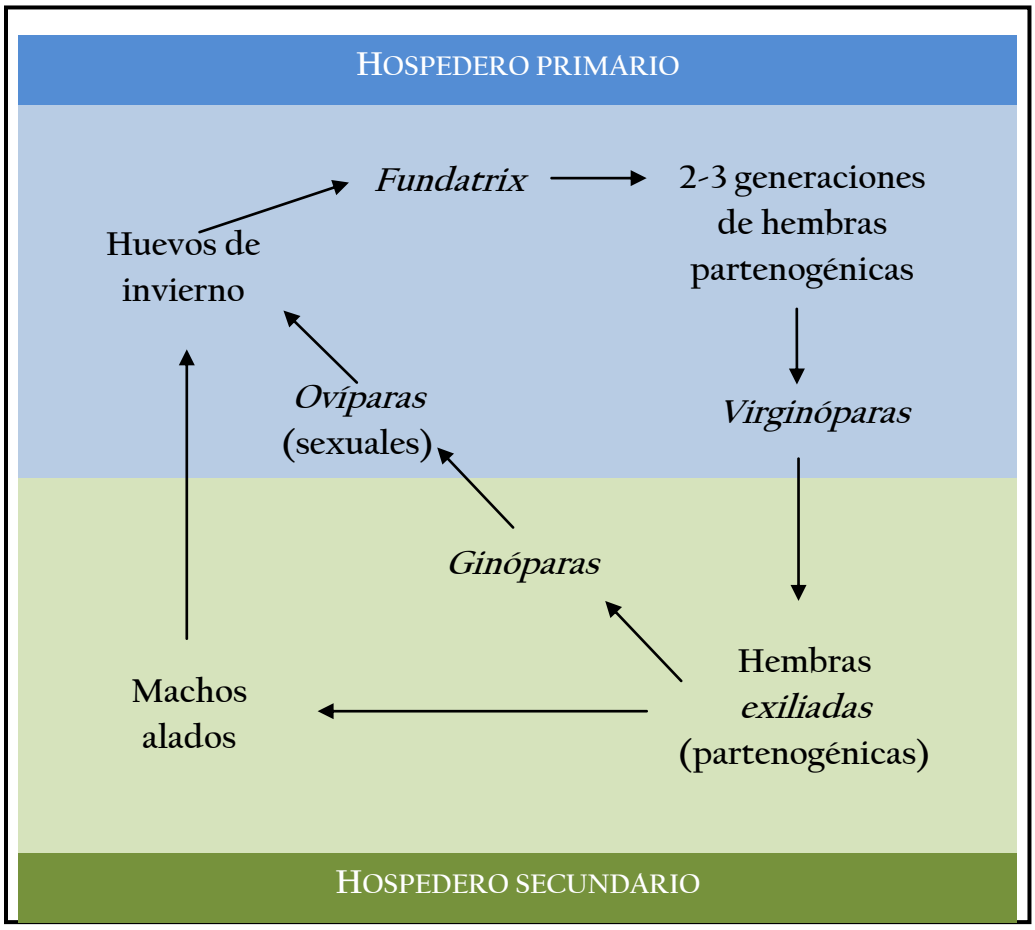


Figura 3: Ciclo biológico de *Myzus persicae*

Es importante recalcar que, en lugares donde las condiciones climáticas son lo suficientemente favorables como para que los áfidos pasen el invierno en una forma activa, el ciclo de *M. persicae* es anholocíclico (sin fase sexual), o sea que la reproducción de la plaga se realiza netamente por la vía de la partenogénesis originando formas ápteras y aladas (Blackman y Eastop, 1985; Dixon, 1985; Moran, 1992; Agarwala, 2007). La escasez de alimento y/o las condiciones

ambientales desfavorables actúan como estímulos para el desarrollo de las formas aladas. Estas formas aladas son las que se dispersan buscando otros recursos.

En nuestro país *M. persicae* está muy difundido principalmente sobre frutales del género *Prunus* (hospedero primario) y sobre una amplia variedad de hortalizas (hospederos secundarios) (Ortego y Carrillo, 1995). Espur y Mansur (1968) comprobaron el ciclo sexuado sobre el hospedero primario en la provincia de Mendoza, pero este tipo de ciclo biológico (holociclo) no se ha verificado en otras zonas del país (Delfino, 1983).

3. Caracterización de los estados de desarrollo del ciclo anholocíclico

Ninfa (Figura 4): son amarillentas, de coloración uniforme, destacando los ojos oscuros. Presentan cuatro estadios ninfales y de la última muda emerge el adulto (hembra partenogenética, en el ciclo anholocíclico), que puede ser áptero o alado (Cabello García y Belda Suarez, 1994). Para diferenciar los estadios ninfales de *M. persicae*, Devi y Singh (2007) han confeccionado una clave basada en diversas características morfométricas tales como: número de segmentos antenales; número de pelos presentes en el segmento III de la antena; longitud del cuerpo, de los sifones y de la cauda. Estos mismos autores describen los siguientes intervalos de longitud para cada estadio: ninfa I= 0,62-0,72 mm, ninfa II= 0,72-0,95 mm, ninfa III= 0,96-1,12 mm y ninfa IV= 1,34-1,68 mm.

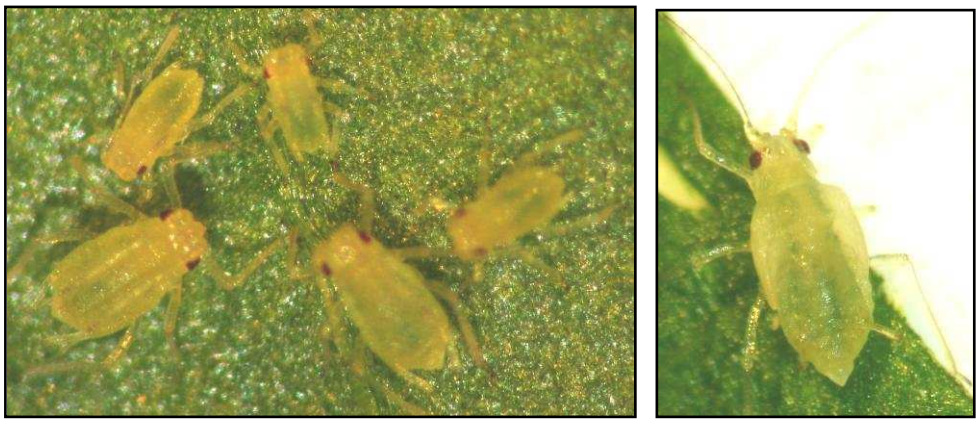


Figura 4: Ninfas de *Myzus persicae*
(Izquierda: ninfas I, II y III. Derecha: ninfa IV con esbozos alares)

Adulto áptero (hembra partenogenética) (Figura 5): color del cuerpo verde pálido a verde amarillento, con manchas longitudinales oscuras, aunque a veces aparecen coloraciones rojizas o rosadas (Blackman e Eastop, 1985). Tubérculos antenales muy desarrollados, con textura rugosa, antenas largas, claras en su base oscureciéndose gradualmente hacia el ápice. Antenas con seis artejos, un poco más cortas que la longitud del cuerpo. Sifones cilíndricos y cauda cónica, ambos órganos del mismo color que el cuerpo. La cauda es una prolongación de la parte final del abdomen, y su desarrollo está relacionado con la forma de expulsión de la melaza que producen por el ano, situado justamente debajo. Los sifones o cornículos, que se ubican entre el quinto y el sexto segmento abdominal, son dos tubos por los que pueden expulsar sustancias procedentes de la hemolinfa. Estas secreciones tienen misiones defensivas frente a los enemigos naturales, son ricas en cera y suelen llevar feromonas de alarma (Raman, 1985).

Figura 5: Adulto áptero (hembra partenogenética) de *Myzus persicae*

Adulto alado (hembra partenogenética) (Figura 6): Cabeza oscura, con tórax negro brillante. El abdomen es de color verde oscuro con una mancha dorsal negra. La longitud total del cuerpo de las formas ápteras y aladas es de 1,6 a 2,2 mm (Devi y Singh, 2007). Las antenas con seis artejos son ligeramente más largas que la longitud del cuerpo. Los ojos son de color rojo. Sifones y cauda de color oscuro.

Las alas son transparentes, se pliegan en posición vertical sobresaliendo del cuerpo.

Figura 6: Adulto alado (hembra partenogenética) de *Myzus persicae*

El áfido alternativo, Rhopalosiphum padi

Esta especie fue descripta originalmente bajo el nombre de *Aphis padi*, actualmente se lo conoce como *Rhopalosiphum padi,* el "pulgón de la avena", una especie cuyas poblaciones normalmente se mantienen en bajas densidades, por lo que su importancia no radica en los daños directos que produce sino en su capacidad para transmitir virus (Leather y Dixon, 1981).

1. Posición sistemática

Orden: Hemiptera

Suborden: Homoptera

Serie: Sternorrhyncha

Superfamilia: Aphidoidea

Familia: Aphididae

Subfamilia: Aphidinae

Tribu: Aphidini

Subtribu: Rhopalosiphina

Género: *Rhopalosiphum*

Especie: *Rhopalosiphum padi*

2. Ciclo de vida

Esta especie está registrada en el país desde hace varias décadas (La Rossa *et al*., 2005) y afecta principalmente plantas jóvenes o en estados vegetativos. Los pulgones se ubican en las partes aéreas de las plantas o a nivel del suelo (Aragón, 1997) y pueden observarse en invierno y primavera.

El ciclo biológico de *R. padi* es similar al de *M. persicae*, es decir, heteroico holocíclico. Su hospedero primario es el cerezo aliso (*Prunus padus*) y tiene la capacidad de desarrollarse sobre gramíneas, principalmente avena, maíz, trigo y cebada, como hospederas secundarias (Leather y Dixon, 1982). Debido a lo poco común de su hospedero primario, el cual se encuentra escasamente en Europa, Asia y África, suele reproducirse por vía anholocíclica sobre las gramíneas anteriormente mencionadas (Leather y Dixon, 1981; Simon *et al*., 1996).

3. Caracterización de los estados de desarrollo del ciclo anholocíclico

Ninfa (Figura 7): de color amarillo o verde pálido, con manchas rojizas características en la base de los sifones. Patch (1917) describe los 4 estadios ninfales diferenciándolos por el número de segmentos antenales: ninfa I= 4 segmentos, ninfa II= 5 segmentos, ninfa III y ninfa IV= 6 segmentos. La ninfa IV además, se caracteriza por ser de un color verde oliva, más oscuro que el resto de los estadios ninfales.

Figura 7: Ninfa II de *Rhopalosiphum padi*

Adulto áptero (hembra partenogenética) (Figura 8): de aproximadamente 1,5 - 2,3 mm de longitud, de color verde oliva a pardo, con manchas rojizas características en la base de los sifones y la cauda. Las patas son del mismo color que el cuerpo. Las antenas son cortas, con seis segmentos antenales. Los sifones se afinan hacia el ápice y en algunas ocasiones son de color más claro que el cuerpo (Patch, 1917).

Figura 8: Adulto áptero (hembra partenogenética) de *Rhopalosiphum padi*

Adulto alado (hembra partenogenética) (Figura 9): cabeza y tórax de color negro, abdomen verde oscuro, cauda y sifones negros (Patch, 1917).

Figura 9: Adulto alado (hembra partenogenética) de *Rhopalosiphum padi*

El enemigo natural, Aphidius colemani

Aphidius colemani es miembro de la subfamilia Aphidiidae (Hymenoptera: Braconidae) constituida por más de 400 especies distribuidas por todo el mundo. Todas las especies son endoparasitoides solitarios y específicos de áfidos (Starý, 1976; Kavallieratos *et al.*, 2001; Aslan *et al.*, 2004). Esta especie es originaria del Norte de la India o Pakistán y actualmente se encuentra en Norte y Sur de América, Europa y Australia (Starý, 1976). Es una especie pantropical, conocida también por su sinónimo *Aphidius platensis* Brèthes (1913) (Starý, 1975).

1. Posición sistemática

Orden: Hymenoptera

Suborden: Apocrita

Superfamilia: Ichneumonoidea

Familia: Braconidae

Subfamilia: Aphidiidae

Género: *Aphidius*

Especie: *Aphidius colemani* Viereck

2. Ciclo de vida

Las hembras, dotadas de una elevada capacidad de búsqueda, son capaces de ubicar el hábitat de sus huéspedes mediante señales atrayentes de radiación electromagnética (percibida visualmente), sonido y olor (Ojeda *et al.*, 2001; Douloumpaka y van Emden, 2003; Lo Pinto *et al.*, 2004). Se acepta comúnmente que los compuestos volátiles liberados por la planta atacada pueden ser detectados a grandes distancias por el parasitoide, de manera que éste debe primeramente ubicar el hábitat de sus hospederos y posteriormente ubicar a sus huéspedes en la planta (Lo Pinto *et al.*, 2004; Rutledge y Wiedenmann, 1999; Braimah y van Emden, 1994).

Una vez que las hembras de *A. colemani* han localizado una población de áfidos, se acercan a un individuo al azar, y mediante toques con sus antenas y su ovipositor realizan pruebas de contacto, olfativas y gustativas para determinar si es apto para ser parasitado (Sampaio *et al.*, 2001a). Cuando encuentran un huésped adecuado (preferentemente ninfas aunque también pueden parasitar adultos de áfidos), las hembras del parasitoide curvan su cuerpo, pasando su abdomen bajo su tórax y entre sus patas, para llevar su ovipositor hasta el áfido y perforarlo, colocando un huevo en su interior (Figura 10). Usualmente las hembras colocan un huevo por huésped y en los casos de superparasitismo (más de un huevo por huésped), sólo un parasitoide es capaz de completar su desarrollo (Van Driesche *et al.*, 2007).

Figura 10: *Aphidius colemani* parasitando una ninfa de *Myzus persicae*

Aphidius colemani es un endoparasitoide koinobionte o cenobionte, lo que significa que en el momento de oviponer no mata al hospedador sino que el desarrollo del parasitoide transcurre mientras el huésped también continúa desarrollándose. A medida que la larva del parasitoide se desarrolla, va consumiendo el interior de su huésped y termina por matarlo justo antes de su transformación a pupa. Para ese momento, la larva se encuentra cubierta por el exoesqueleto de un áfido sin vida, en cuya parte ventral realiza un pequeño orificio y utiliza una secreción de sus glándulas abdominales para adherirse a la superficie de la planta. Luego, la larva hila un capullo dentro del pulgón e inicia la formación de la pupa, al tiempo que el exoesqueleto del áfido se endurece y cambia de color. A este áfido parasitado, de aspecto inflado y coloración castaña se lo llama “momia” (Figura 11 A y B) (Hagvar y Hofsvang, 1991).

De esta momia, a través de un orificio redondo (Figura 11C) emerge el nuevo adulto (Figura 12).

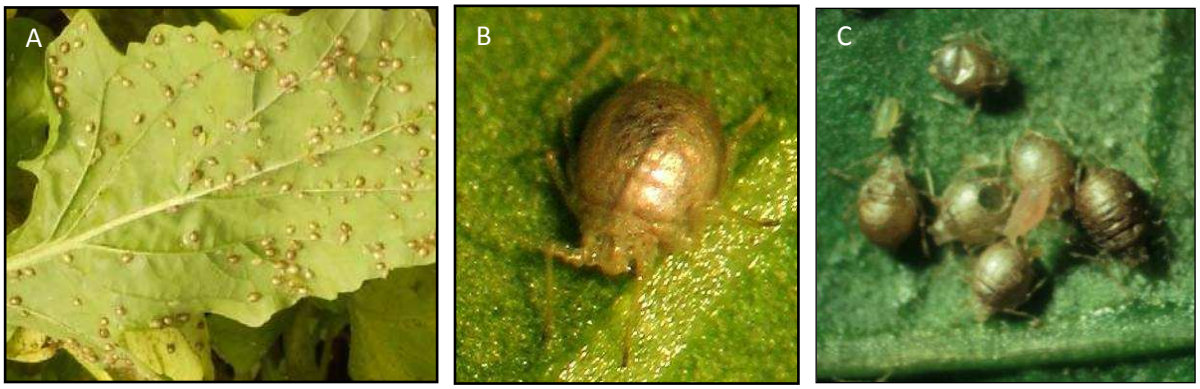


Figura 11: A) *Myzus persicae* parasitado por *Aphidius colemani* en hoja de rúcula. B) Detalle de una momia C) Momia con orificio de salida

La reproducción de *A. colemani* es biparental. Los huevos no fertilizados dan origen a machos, mientras que los huevos fertilizados producen hembras (arrenotoquia). La vida del adulto suele comprender 2-3 semanas dependiendo de la temperatura, alcanzando un pico máximo de fecundidad en los tres primeros días (Sampaio *et al*., 2007; Hagvar y Hofsvang, 1991). El tiempo de desarrollo de huevo a adulto abarca aproximadamente 12-14 días a temperaturas de 20-21ºC (Hagvar y Hofsvang, 1991). Las hembras de *A. colemani* presentan una elevada fecundidad y frecuencia de oviposición, de manera que son capaces de parasitar hasta 400 áfidos a lo largo de su vida (Rodríguez *et al*., 2003; Torres *et al*., 2007). Además de la acción directa de parasitismo sobre los pulgones, *A. colemani* también actúa de forma indirecta sobre la población de áfidos. La presencia del parasitoide en una planta infestada genera la liberación de una feromona de alarma en los áfidos que alertan a toda la población. Frecuentemente, ante esta señal, los áfidos abandonan la hoja o se dejan caer de la planta al suelo, sin siquiera ser atacados, lo que produce una gran mortalidad en la colonia de pulgones (Ives *et al*., 1999).

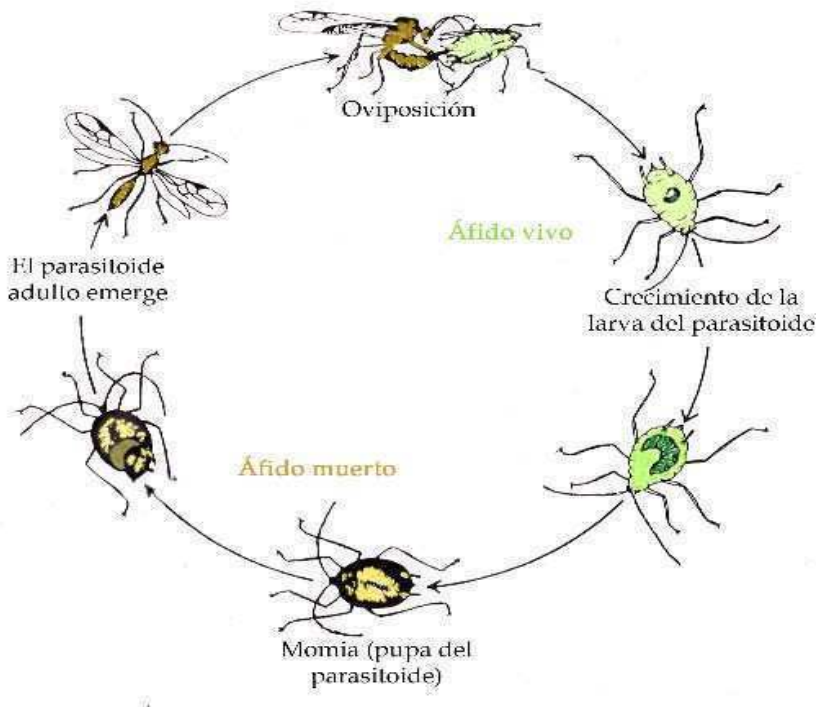


Figura 12: Ciclo biológico de *Aphidius colemani* (Hagvar y Hofsvang, 1991)

3. Caracterización de los estados de desarrollo

Larva: Las larvas se alimentan directamente de los tejidos de su huésped. Solo durante el último estadio larval atacan los órganos reproductivos del huésped.

Existen diversos estudios sobre la morfología de las larvas de Aphidiinae. Debido a la similitud morfológica de los sucesivos estadios larvales no hay un consenso entre los autores sobre el número de larvas hasta llegar a adulto (Pennachio y Digilio, 1990; Muratori *et al*., 2004). Sobre la base de la morfología de las larvas, algunos autores proponen tres estadios (Schlinger y Hall, 1960; O´Donnell, 1987; Pennachio y Digilio, 1990; Muratori *et al*., 2004). Otros autores, sin embargo, reconocen cuatro (Chorney y Mackauer, 1979; Pare *et al*., 1979; Hagvar y Hofsvang, 1991) y hasta cinco estadios (Starỳ, 1962; Van der Hoek, 1971). Si bien la hipótesis de cuatro estadios larvales fue la más aceptada durante mucho tiempo, los estudios cuantitativos realizados por O´Donnell (1987) sobre 22

especies pertenecientes a 10 géneros de Aphidiinae dan apoyo a la hipótesis de tres estadios larvales, como lo confirma Pennachio y Digilio (1990) para *Aphidius ervi* Haliday.

Adultos (Figura 13): Los adultos son avispas de 2-3 mm que tienen el cuerpo negruzco con antenas largas (14-16 artejos), más cortas que el cuerpo en las hembras y más largas en los machos. La venación de las alas anteriores es muy incompleta; el abdomen es peciolado, con los segmentos 2-3 unidos por una membrana extensible (Ceballos, 1956). Los adultos de vida libre se alimentan principalmente de las sustancias azucaradas producidas por los áfidos.

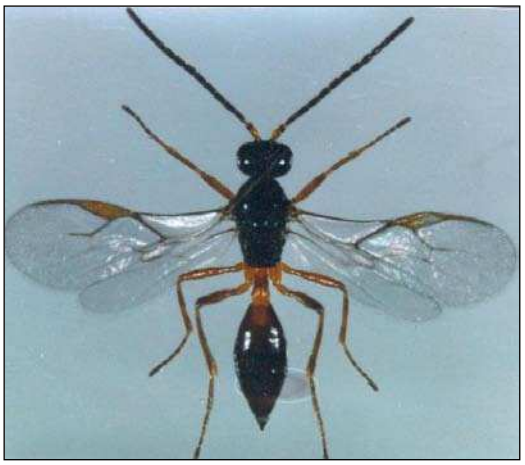


Figura 13: Adulto hembra de *Aphidius colemani* (Foto: Dr. E. Saini)

4. Antecedentes como agente de control

A*phidius colemani* es comercializado en muchos países del mundo, principalmente para el control de *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* en cultivos hortícolas y ornamentales, siendo particularmente efectivo cuando se lo emplea en sistemas bajo cubierta (Takada, 2002; van Steenis, 1995; Van Driesche *et al*., 2008). Van Steenis (1993b) menciona a *A. colemani* como el biocontrolador más eficiente para el control de las especies de áfidos arriba mencionadas, cuando se lo compara con otros parasitoides de la misma subfamilia, tales como *A. matricariae*

Haliday y *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson). En Europa se considera que este parasitoide, comercializado desde el año 1992, presenta muy buenas características (alta fecundidad, corto tiempo de desarrollo, adultos con buena movilidad), y está altamente adaptado a las condiciones que ofrece el monocultivo en ambientes protegidos (van Lenteren, 1997). Asimismo, Gassen y Tambasco (1983) mencionan que desde el año 1978 y hasta 1982 han sido liberados a gran escala 14 especies de himenópteros parasitoides para el control del complejo de áfidos del trigo en la región sur de Brasil. Entre las especies liberadas, 6 pertenecían al género *Aphidius*, incluido *A. colemani*.

Para la Argentina, en general es escasa la información existente sobre las relaciones áfidos-enemigos naturales. Pueden citarse una primera lista de himenópteros parasitoides publicada por De Santis y Esquivel (1966), el catálogo de De Santis (1967) y un trabajo de relevamiento de áfidos y sus parasitoides en Tucumán, de Starỳ y Delfino (1986). Ovruski *et al*. (1998) dan a conocer las especies de áfidos presentes en cultivo de tomate, citando la presencia de parasitoides e hiperparasitoides, sin hacer mención a las relaciones tróficas entre las especies involucradas. Berta *et al*. (2002) publican un trabajo referido al complejo de himenópteros parasitoides (primarios e hiperparasitoides) de áfidos colonizadores del tomate, en donde se establecen las relaciones interespecíficas entre los áfidos y sus parasitoides. En todos estos trabajos se menciona a *A. colemani* como una de las principales especies de parasitoides.

HIPÓTESIS

Sobre la base de los antecedentes precedentes se plantean las siguientes hipótesis:

1. El aumento de la biodiversidad en agroecosistemas simplificados (monocultivos) mediante el empleo de plantas hospederas alternativas contribuye a mejorar la estabilidad de las relaciones tróficas planta-fitófagos-enemigos naturales.
2. Relaciones tróficas más estables permiten atenuar el impacto negativo de los fitófagos plaga al mejorarse su control biológico natural.

OBJETIVOS

General:

Evaluar el empleo del sistema planta hospedera alternativa- áfido alternativo-parasitoide común, como estrategia para el control de áfidos plaga en sistemas hortícolas.

Específicos:

1. Generar inventarios de las especies de áfidos y sus enemigos naturales parasitoides, tanto en los cultivos como en las plantas no cultivadas presentes en el agroecosistema.
2. Analizar las relaciones tri-tróficas (planta – áfido – parasitoide) espontáneas en un sistema orgánico de producción de hortalizas.

3. Seleccionar el sistema biológico (planta – áfido – parasitoide) con potencial para ser empleado en la estrategia propuesta.

4. Estimar los principales atributos biológicos y parámetros poblacionales del áfido plaga seleccionado sobre el cultivo, en condiciones controladas de laboratorio.

5. Estimar los principales atributos biológicos y parámetros poblacionales del parasitoide seleccionado en relación con las asociaciones cultivo-plaga y planta hospedera alternativa-huésped alternativo.

6. Evaluar la preferencia del parasitoide seleccionado por ambos huéspedes (áfido plaga y áfido alternativo).

7. Evaluar la compatibilidad de uso del parasitoide con algunos insecticidas utilizados en producciones hortícolas.

8. Evaluar el empleo del sistema de planta hospedera alternativa- áfido alternativo- parasitoide común en comparación con liberaciones inoculativas del parasitoide seleccionado para el control de áfidos plaga.

Capítulo 1

El sistema tri-trófico en estudio

INTRODUCCIÓN

El estudio de las relaciones tri-tróficas (planta hospedera-áfido-parasitoide) además de incrementar el conocimiento básico sobre las especies presentes en un agroecosistema, es de utilidad para la toma de decisiones referidas a la sanidad del cultivo y a su utilización de manera óptima y sostenida.

El manejo de las plantas silvestres o espontáneas asociadas a agroecosistemas cobra especial interés en el control biológico de plagas, dado que en ellas se pueden mantener poblaciones alternativas afines a las especies plaga que se desean controlar. Estas especies alternativas (ej. áfidos) no afectan a los cultivos pero pueden servir de huéspedes para algunas especies de parasitoides que naturalmente controlan a las especies plaga, especialmente cuando sus niveles de abundancia son bajos. Entre los enemigos naturales que se utilizan en el control biológico de áfidos plaga, los parasitoides presentan un interés particular dada su relativa especificidad. Así sucede con los Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) cuyas especies generalmente atacan a unas pocas especies de áfidos relacionados entre sí taxonómica o biológicamente (Tizado Morales *et al*., 1992). Starỳ y Nemec (1986), investigando asociaciones planta-áfido-parasitoide, encontraron que algunas malezas y árboles ornamentales son reservorios de áfidos que, si bien no poseen importancia económica, son huéspedes alternativos de parasitoides de áfidos plaga que dañan otras especies vegetales. Este conocimiento permitió a estos autores, establecer pautas para el manejo de la áfidofauna a través de la manipulación de las plantas hospederas, áfidos alternativos y parasitoides presentes en el sistema, con el propósito de minimizar los impactos negativos de las especies plaga.

Existen diversos trabajos sobre las relaciones tri-tróficas estudiadas en otros países (Starỳ y Cermeli, 1989; Starỳ *et al*., 1993; Starỳ *et al*., 1994; Pike *et al*., 1997; Kavallieratos *et al*., 2001; Tomanović *et al*., 2003; Aslan *et al*., 2004), pero

este tipo de información es escaso para la Argentina (Starỳ y Delfino, 1986; Ovruski *et al*., 1998; Berta *et al*., 2002).

Los objetivos de este capítulo fueron:

- Generar inventarios de las especies de áfidos y sus enemigos naturales parasitoides, tanto en los cultivos como en las plantas no cultivadas presentes en el agroecosistema.
- Analizar y evaluar las relaciones tri-tróficas (planta-áfido-parasitoide) observadas en cultivos hortícolas de producción orgánica.
- Seleccionar un sistema tri-trófico experimental (cultivo/planta hospedera alternativa - áfido plaga/áfido alternativo - parasitoide común) para ser utilizado como estrategia de control biológico de áfidos plaga.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos se realizaron en el establecimiento comercial de producción orgánica de hortalizas y aromáticas “ROCO S.H.”, ubicado en Ruta 6 Km 20,5, Cuartel 2, Exaltación de la Cruz, provincia de Buenos Aires (34° 21’ 21’’ latitud sur, 59° 01’ 10’’ longitud oeste, sistema de coordenadas WGS 84).

El establecimiento se dedica a la producción de hortalizas de hoja y aromáticas para consumo en fresco destinada a la venta en las grandes cadenas de supermercados como productos de “cuarta gama” (hortalizas procesadas, limpias, frescas y envasadas para su consumo), con lo cual la sola presencia de áfidos sobre las hojas resulta ser el daño indirecto de mayor importancia (= daño cosmético). El establecimiento certifica para la producción orgánica (Certificadora OIA - Organización Internacional Agropecuaria) y por este motivo, todas las

actividades realizadas tanto en el campo como en el proceso de empaque de la producción poseen trazabilidad, como así también requieren el planeamiento de los manejos culturales realizados (ejemplo: rotaciones, fertilizaciones, combinaciones de cultivos, etc.). Todas estas características hacen que este sistema productivo resulte ser un sistema biológico con alto recambio y fragmentado en términos de asociaciones espacio-temporales, debido a que los cultivos son de corta duración y además las rotaciones son distintas en el tiempo (meses del año) y en el espacio (invernáculos y parcelas a campo abierto).

El sistema biológico en estudio forma parte de un sistema de producción intensiva. Dado que los trabajos realizados que aquí se presentan se ajustaron al manejo de la producción de acuerdo con las pautas del establecimiento comercial, es necesario describir algunos aspectos del mismo. Este establecimiento cuenta con 12 invernáculos del tipo “macrotúnel” de 400 m^2 cada uno. La mitad de ellos es de estructura metálica, con los laterales cubiertos con malla antiáfido, mientras que la otra mitad es de estructura de madera, sin malla antiáfido. El establecimiento produce además algunos cultivos de aromáticas (ciboullette, mejorana, eneldo, entre otros) a campo abierto (Figura 14).

Entre los meses de marzo y noviembre de 2003, 2004 y 2005, se realizaron muestreos mensuales sistemáticos dentro de invernáculos de producción de albahaca, lechuga, radicheta y rúcula, en cultivos a campo abierto de plantas aromáticas, y también en hospederas no cultivadas, halladas tanto en los invernáculos como en el campo. No se realizaron muestreos en los meses de verano por dos motivos: en primer lugar, porque en esta estación algunos invernáculos se sometieron a la práctica de solarización, que es la cobertura del suelo húmedo con plástico transparente durante los meses calurosos, para aumentar la temperatura del suelo y eliminar artrópodos, malezas y fitopatógenos; en segundo lugar porque, debido a las altas temperaturas, la población de áfidos fue escasa y en algunas ocasiones nula.

Figura 14: Establecimiento ROCO S.H. A) Macrotúneles de estructura metálica con laterales con malla antiáfido, B) Interior de un macrotúnel con líneas de cultivo, C) Macrotúnel de estructura de madera sin malla antiáfido y D) Cultivo de aromáticas producidas a campo abierto.

Para estudiar las relaciones tri-tróficas (planta-áfido-parasitoide), en los invernáculos de producción de albahaca, lechuga, radicheta y rúcula (cultivos más importantes en cuanto a superficie destinada a su producción) se extrajeron al azar 100 hojas de cada cultivo en cada fecha de muestreo. Estas hojas fueron colocadas en bolsas plásticas rotuladas y llevadas al laboratorio para su posterior acondicionamiento.

Es importante aclarar que la superficie destinada a cada cultivo fue cambiante dentro de cada campaña anual y entre las tres campañas de muestreo. A modo de ejemplo, el Anexo 1 muestra la planificación de las rotaciones en la campaña

2004, para cada macrotúnel y para cada mes del año. Cada macrotúnel contó con 4 líneas de cultivo. En algunos casos la totalidad del macrotúnel tuvo el mismo cultivo sembrado de manera escalonada en el tiempo (1 línea por semana) o las 4 líneas al mismo tiempo, mientras que en otros casos en un mismo invernáculo se mezclaron 2 o 3 cultivos al mismo tiempo.

Asimismo, en los cultivos de aromáticas a campo abierto se extrajeron aquellas hojas de las plantas que por observación directa contenían áfidos vivos y/o parasitados.

La vegetación espontánea (hospederas no cultivadas) presente dentro y entre los invernáculos se mantuvo con el propósito de analizar su papel como reservorio de áfidos y sus enemigos naturales. En este caso, también se muestrearon hojas que se veían atacadas por pulgones vivos y/o parasitados por observación directa de las plantas.

En el laboratorio se acondicionó el material traído del campo. Utilizando un pincel fino se separaron de las hojas los áfidos sin signos de parasitismo y los áfidos parasitados (=momias). Los primeros fueron colocados sobre hojas limpias de su planta hospedera dentro de cajas plásticas con papel absorbente en su base hasta obtener aquéllos áfidos parasitados. Las momias se dispusieron individualmente en tubos de vidrio (1 x 3 cm) con tapa de algodón, hasta la emergencia del parasitoide adulto, el que fue conservado en alcohol 70° o incluido en líquido de Faure para su identificación taxonómica. Los áfidos encontrados fueron identificados por el Ing. Agr. M.Sc. F. R. La Rossa (Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, INTA Castelar). Para la clasificación de los parasitoides se utilizaron las claves de Starỳ (1976), Starỳ *et al*. (1991) y Kavallieratos *et al*. (2005). La confirmación de las identificaciones de *Aphidius matricariae* fue realizada por el Dr. Petr Starỳ (Institute of Entomology, Academy of Sciencies of the Czech Republic). Especímenes “voucher” fueron depositados en la colección del IMYZA, INTA Castelar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se confeccionó un inventario de las relaciones planta-áfido-parasitoide Aphidiinae halladas en el sistema en estudio. La Tabla I presenta los resultados de los relevamientos realizados en cultivos bajo cubierta y a campo, como así también en plantas espontáneas crecidas dentro y fuera de los invernáculos. Respecto de éstas últimas, varios autores mencionan la importancia de la vegetación espontánea y su papel como reservorio de potenciales enemigos naturales (Starỳ *et al*., 1994; Corbett y Rosenheim, 1996; Verkerk *et al*., 1998; Rebek *et al*., 2005). Así por ejemplo, Tizado Morales *et al.* (1992) estudiando los reservorios silvestres de parasitoides de áfidos del género *Aphis* en España, mencionan la importancia de conservar distintas especies silvestres asociadas a cultivos extensivos que albergan parasitoides con un uso potencial como biocontroladores. Estos autores hallaron que en cultivos de regadío de leguminosas forrajeras, como la alfalfa y el trébol, se pueden conservar plantas como *Salix* spp. que mantienen poblaciones de *Aphis farinosa* Gmelin y plantas como *Epilobium* spp. con poblaciones de *Aphis epilobii* Kaltenbach y *Aphis praeterita* Walker. Estas tres especies de áfidos son monoicas holocíclicas, no se las ha encontrado alimentándose sobre ninguna planta cultivada y se las ha recogido parasitadas por *Lysiphlebus confusus* Tremblay and Eady, *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) y *Trioxys acalephae* (Marshall). Kavallieratos *et al.* (2002) mencionan que la planta *Dittrichia viscosa* (Olivarda) mantenida en las adyacencias de cultivos de trigo y cebada es reservorio del áfido *Capitophorus inulae* (Passerini) el cual es parasitado por *Aphidius matricariae.* Este parasitoide a su vez parasita al áfido plaga de los cereales *Rhopalosiphum padi*.

Tabla I: Asociaciones planta - áfido - parasitoide halladas en un sistema hortícola de producción orgánica, Los Cardales, Buenos Aires (2003 - 2005).

Referencias:
En negrita: cultivos principales
En negro: otros cultivos
En gris: plantas crecidas de manera espontánea o plantas que no son cultivos en producción.
(I) cultivos o plantas espontáneas crecidas en invernáculo.
(C) cultivos o plantas espontáneas crecidas a campo.
** no se obtuvo material.

Planta hospedera	Afido	Parasitoide Aphidiinae
Allium schoenoprasum L. (C) (ciboullete)	*Neotoxoptera formosana* (Takahashi)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
	Neotoxoptera oliveri (Essig)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
Anethum graveolens var. *hortorum* Alef. (C) (eneldo)	*Cavariella aegopodii* (Scopoli)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Hyadaphis foeniculi (Passerini)	*Aphidius colemani* Viereck
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius colemani* Viereck
Avena sativa L. (C)	*Metopolophium dirhodum* (Walker)	**
	Rhopalosiphum padi (L.)	*Aphidius colemani* Viereck
	Rhopalosiphum padi (L.)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
	Rhopalosiphum padi (L.)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
	Sipha maidis (Passerini)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
Brassica oleracea L. var. *botrytis* L. (C) (coliflor)	*Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
Brassica oleracea L. var. *capitata* L. (C) (repollo)	*Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
Bromus sp. (C)	*Rhopalosiphum padi* (L.)	*Aphidius colemani* Viereck
	Sipha maidis (Passerini)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
Calendula arvensis L. (I)	*Aphis* sp.	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
	Myzus persicae (Sulzer)	**
Capsella bursa pastoris (L.) (I)	*Aphis* sp.	**
	Myzus persicae (Sulzer)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
***Cichorium intybus* L.** (I) (radicheta)	*Aphis craccivora* Koch	*Aphidius colemani* Viereck
	Aphis craccivora Koch	*Aphidius matricariae Haliday*

	Aphis gossypii (Glover)	*Aphidius colemani* Viereck
	Macrosiphum euphorbiae (Thomas)	*Aphidius colemani* Viereck
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius colemani* Viereck
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius ervi* Haliday
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius rhopalosiphi* DeStefani
	Myzus persicae (Sulzer)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
	Myzus persicae (Sulzer)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
	Uroleucon sonchi (Linnaeus)	**
Citrus sinensis (L.) *Osbeck* (C) (naranjo)	*Aphis gossypii* (Glover)	*Aphidius colemani* Viereck
Coriandrum sativum L. (I)	*Aphis craccivora* Koch	**
(cilantro)	*Aphis gossypii* (Glover)	*Aphidius colemani* Viereck
***Eruca sativa* Miller.** (I)	*Myzus persicae* (Sulzer)	*Aphidius colemani* Viereck
(rúcula)	*Myzus persicae* (Sulzer)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius rhopalosiphi* DeStefani
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius uzbekistanicus* Luzhetzki
	Myzus persicae (Sulzer)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
	Lipaphis erysimi (Kaltenbach)	*Diaeretiella rapae* (M'Intosh)
	Pemphigus sp.	**
Fragaria vesca L. (C)	*Aphis* sp.	**
(frutilla silvestre)	*Pentatrichopus fragaefolii* (Cock.)	**
***Latuca sativa* L.** (I)	*Hyperomyzus lactucae* (Linnaeus)	**
(lechuga)	*Myzus persicae* (Sulzer)	*Aphidius colemani* Viereck
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius rhopalosiphi* DeStefani
	Nasonovia ribisnigri (Mosley)	*Aphidius colemani* Viereck
	Uroleucon sonchi (Linnaeus)	**
Medicago sativa L. (C)	*Acyrthosiphon kondoi* Shinji	*Aphidius* sp.
(alfalfa)	*Acyrthosiphon pisum* (Harris)	**
	Aphis craccivora Koch	**
Menta piperita L. (C)	*Aphis* sp.	**
(menta)	*Kaltembachiella pallida* (Haliday)	**
	Ovatus crategarius (Walker)	**

***Ocimum basilicum* L.** (I) (albahaca)	*Aphis gossypii* (Glover)	*Aphidius colemani* Viereck
	Aphis gossypii (Glover)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Macrosiphum euphorbiae (Thomas)	**
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius colemani* Viereck
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Myzus persicae (Sulzer)	*Aphidius rhopalosiphi* DeStefani
Petroselinum crispum (Miller.) (I) (perejil)	*Aphis fabae* Scoppoli	**
	Cavariella aegopodii (Scopoli)	*Aphidius matricariae* Haliday
	Dysaphis apiifolia (Theobald)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
	Myzus persicae (Sulzer)	**
Phragmites australis (Cav.) (C)	*Hyalopterus pruni* (Geoffroy)	**
Polygonum sp. (C)	*Aphis craccivora* Koch	**
Prunus domestica L. (C) (ciruelo)	*Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach)	**
Rosmarinus officinalis (C) (romero)	*Aphis gossypii* (Glover)	*Lysiphlebus testaceipes* (Cresson)
	Eucarazzia elegans (Ferrari)	*Aphidius colemani* Viereck
Salvia officinalis L. (I)	*Eucarazzia elegans* (Ferrari)	*Aphidius colemani* Viereck
Sonchus sp. (I)	*Hyperomyzus lactucae* (Linnaeus)	**
	Uroleucon sonchi (Linnaeus)	**
Sorghum halepense (L.) Pers. (C) (sorgo)	*Rhopalosiphum padi* (L.)	**
Triticum aestivum L. (C) (trigo)	*Sipha maidis* (Passerini)	**

En el agroecosistema estudiado en este trabajo, las gramíneas estarían actuando como plantas espontáneas (hospederas alternativas), potenciales reservorios de áfidos y sus parasitoides asociados. Entre las 21 especies de pulgones registradas en las diversas plantas relevadas (Tabla I) y, como era esperable, los pulgones *Rhopalosiphum padi*, *Metopolophium dirhodum,* y *Sipha maydis* fueron registrados exclusivamente sobre gramíneas. El "pulgón de la avena" *R. padi* y el "pulgón amarillo" *M. dirhodum*, están presentes en el país desde hace varias décadas

(Botto *et al.*, 1979; Botto y Hernández, 1989) y ocasionalmente causan daños en trigo y otros cereales (La Rossa *et al.*, 2005). *Metopolophium dirhodum* es especialmente mencionado como vector del enanismo amarillo de la cebada (Rodriguez *et al.*, 1996). *Sipha maydis* es un áfido de reciente introducción en Argentina, citado como nueva especie para Sudamérica en 2002 (Ortego y Difabio, 2002). Estos autores lo hallaron sobre trigo (*Triticum aestivum* L.), avena (*Avena sativa* L.), avena negra (*Avena fatua* L.), cebadilla (*Bromus unioloides* L.), maíz (*Zea mays* L.), sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* L.) y otras gramíneas silvestres en las provincias de Mendoza, Córdoba, Entre Ríos y Buenos Aires.

Con respecto a las especies plaga para los cultivos hortícolas y de aromáticas, el pulgón más frecuentemente hallado en un amplio rango de plantas hospederas fue *Myzus persicae* (Sulzer) (Tabla I). En este estudio se lo halló atacando cultivos de *Anethum graveolens var. hortorum* "eneldo" (Apiaceae), *Cichorium intybus* "radicheta" (Compositae), *Eruca sativa* "rúcula" (Cruciferae), *Latuca sativa* "lechuga" (Compositae), *Ocimum basilicum* "albahaca" (Labiatae) y *Petroselinum crispum* "perejil" (Apiaceae). Otros autores han encontrado a este áfido sobre las mismas familias de plantas mencionadas en este trabajo, aunque sobre especies distintas (Starỳ *et al.*, 1994; Kavallieratos *et al.*, 2001). El hecho de haberlo encontrado sobre una gran diversidad de plantas confirma su condición de polifagia. Por otro lado, otros pulgones sólo se asociaron a una planta hospedera; este es el caso de *Neotoxoptera* spp. asociado a *Allium schoenoprasum* (ciboulette) y *H. lactucae* asociado a *Latuca sativa* (lechuga), entre otros (Tabla I).
Con respecto a los parasitoides, se colectaron ocho (8) especies, todas oligófagas[2], capaces de desarrollarse sobre huéspedes alternativos.

[2] Los enemigos naturales a menudo son clasificados de acuerdo con el nivel de especificidad de sus huéspedes. Se genera así una clasificación en categorías muchas veces artificiales frente a lo que en la naturaleza se presenta como un continuo, pero aún así el concepto es útil (Van Driesche *et al.,* 2007). Algunas especies tienen claramente una gran variedad de hospederos y se definen como ***polífagos***, ya que consumen varias especies de huéspedes de diversas familias u órdenes. Los que utilizan una sola especie para su alimentación se denominan ***monófagos***, mientras que aquellos que se alimentan sobre un número limitado de especies se denominan ***oligófagos*** (Hajek, 2004).

Starỳ *et al*. (1994) al estudiar la biodiversidad en ecosistemas urbanos mencionan que una completa investigación sobre las asociaciones planta- áfido- parasitoide podría detectar especies nuevas para la ciencia, o al menos, para un área determinada. En este trabajo se han hallado nuevas asociaciones para *Aphidius matricariae* quien fue encontrado parasitando a: I) *Myzus persicae* en hospederas como lechuga, rúcula, radicheta y albahaca; II) *Cavariella aegopodii* en eneldo y perejil; III) *Aphis gossypii* en albahaca y IV) *Aphis craccivora* en radicheta. Hasta el momento el único registro de la presencia de *A. matricariae* en el país era el citado por Delfino y Buffa (2004) en Altas Cumbres, Córdoba, quienes no mencionan la especie de áfido y hospedera sobre la que lo hallaron. *Aphidius matricariae* es un parasitoide oligófago, probablemente originario del norte de la India o Pakistán y posteriormente extendido por varios países de Europa, Australia y América del Norte y del Sur (Starỳ 1975). Esta especie, junto con *A. colemani* son producidas comercialmente para el control biológico de áfidos en cultivos protegidos (Grasswitz 1998). Varios autores mencionan a *A. matricariae* como un buen agente biológico para el control de *Aphis gossypii* (Bennison, 1992; van Steenis y El-Khawass 1995; Zamani *et al*., 2006).

Aphidius colemani ha sido el parasitoide más frecuentemente encontrado, parasitando distintas especies de pulgones sobre diversas hospederas en el agroecosistema, tanto en cultivos como en sus alrededores, lo que estaría indicando su condición de oligófago y su capacidad de desplazarse de un sitio a otro (Tabla I).

Una vez identificada la diversidad de especies halladas en el sistema en estudio, se analizaron las asociaciones áfido/parasitoide presentes en los cultivos más importantes: albahaca, rúcula, radicheta y lechuga. La Figura 15 muestra para cada cultivo la abundancia relativa, medida como la proporción de ocurrencia de cada asociación áfido/parasitoide sobre el total de asociaciones encontradas. Las asociaciones *M. persicae*/*A. colemani* y *M. persicae*/*A. matricariae* fueron observadas en los 4 cultivos estudiados. Otra asociación también hallada en los 4

cultivos fue *M. persicae*/*A. rhopalosiphi* pero en abundancias relativas menores al 10%. La asociación *M. persicae*/*D. rapae* en cambio, fue hallada con una abundancia relativa del 38% en el cultivo de rúcula y sólo del 3% en el cultivo de radicheta; esta asociación no se encontró en los cultivos de albahaca y lechuga (Figura 15). La presencia de la asociación *M. persicae*/*D. rapae* en el cultivo de rúcula concuerda con la bibliografía, dónde se menciona a *D. rapae* como un importante parasitoide de áfidos en cultivos de crucíferas (Read *et al*., 1970; Nemec y Starỳ, 1984; Elliott *et al*., 1994). Pike *et al*. (1999) determinaron el rango de húespedes de *D. rapae* en una extensa área agrícola y sus alrededores en el este de Washington. Luego de 7 años de muestreo, estos autores hallaron 19 especies de áfidos parasitadas por *D. rapae*. Asimismo, para cada especie de áfidos estudiaron la diversidad de parasitoides asociada y encontraron que del total de parasitoides hallados sobre *Brevicoryne brassicae* el 88,5% correspondió a *D. rapae*; mientras que sobre *R. padi* sólo el 11,6% correspondió a *D. rapae*.

La diversidad de parasitoides asociada a cada uno de los 4 cultivos se caracterizó por el índice de Shanon-Wiener (Moreno, 2001). Este método de medición de la diversidad alfa (diversidad dentro de las comunidades) se basa en la estructura de la comunidad, es decir, en la distribución proporcional del valor de abundancia relativa de los individuos, cobertura, productividad, etc., de cada especie presente. El índice de Shanon-Wiener mide el grado promedio de incertidumbre para predecir a qué especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección. Adquiere valores entre cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo de S (número total de especies), cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos. De este modo, desde la perspectiva de las plantas hospederas, la radicheta fue el cultivo con mayor diversidad de parasitoides asociados ($H'_{(n=56)}$= 1,2559), seguido por la rúcula ($H'_{(n=74)}$= 1,2432), la albahaca ($H'_{(n=51)}$= 0,8706) y la lechuga ($H'_{(n=35)}$= 0,5849). Es importante aclarar que los datos tomados para el cultivo de lechuga sólo correspondieron a la campaña 2004 debido a que en la campaña 2003 no se produjo este cultivo y en la campaña 2005 se hallaron las siguientes especies de

pulgones: *N. ribisnigri*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aulacorthum solana* y *Uroleucon sonchi*, pero ninguna de ellas resultó parasitada. Cabe destacar que el establecimiento nunca había realizado liberaciones de enemigos naturales, con lo cual el parasitismo registrado corresponde al parasitismo "espontáneo" presente en el agroecosistema.

Para los cuatro cultivos de mayor interés se analizaron las tramas tróficas de conectancia (Figura 16). Lo mismo se hizo para las plantas espontáneas con el objeto de encontrar alguna candidata para el sistema de hospedera alternativa experimental a ser evaluado (Figura 17).

Las tramas tróficas son diagramas que muestran las interacciones entre las especies de una comunidad (Pimm, 1979). Proveen información sobre el potencial directo e indirecto de la dinámica de las interacciones entre las especies de una comunidad y ofrecen la posibilidad, en determinadas ocasiones de detectar patrones en relación con la forma en que se estructuran las comunidades naturales (Rott y Godfray, 2000). Las tramas tróficas pueden construirse de diferentes formas, según el objetivo que se persiga. La naturaleza cualitativa o cuantitativa de la información disponible permite la construcción de tramas con diferente grado de complejidad. Se distinguen tres tipos principales: a) de conectancia, que muestran qué especies de parasitoides atacan un determinado huésped pero sin ofrecer información cuantitativa sobre la importancia relativa de las diferentes asociaciones; b) semicuantitativas, que incluyen información sobre la abundancia relativa de los parasitoides atacando diferentes huéspedes; y c) cuantitativas, que incluyen la abundancia de ambos, huéspedes y parasitoides, pudiendo expresarse la frecuencia de cada interacción en la misma unidad absoluta (Pimm, 1980; Pimm *et al*., 1991).

En la Figura 16 se observa que *M. persicae* fue el pulgón hallado en los cuatro cultivos principales y que además presentó la máxima diversidad de parasitoides asociados, registrándose 7 especies de Aphidiinae. Por el contrario, la mínima diversidad de parasitoides fue registrada para *Nasonovia ribisnigri* (asociado a *A.*

colemani en lechuga) y para *Lypaphis erysimi* (asociado a *D. rapae* en rúcula). Las asociaciones *M. persicae/A. colemani* también fueron observadas por otros autores para otros países: en Chile (Starỳ *et al*., 1993; Starỳ *et al*., 1994), en Venezuela (Starỳ y Cermeli, 1989) y en el sudeste europeo (Kavallieratos *et al*., 2001; Kavallieratos *et al*., 2005). Todos estos trabajos, en donde se presentaron listados de las asociaciones planta-áfido-parasitoide, coinciden en haber encontrado la asociación *M. persicae / A. colemani* siempre vinculada a cultivos agrícolas.

En la Figura 17 se observa que la diversidad de parasitoides asociada a las hospederas espontáneas fue menor que la obtenida para los cultivos. De la misma manera la diversidad de áfidos asociados a estas plantas también fue menor en comparación con la hallada para los cultivos principales. Sólo se registraron 3 especies de parasitoides Aphidiinae, *A. colemani*, *D. rapae* y *L. testaceipes*. Sin embargo, la información obtenida en la Figura 17 es sumamente valiosa, ya que de ella se desprende que las hospederas *Capsela bursa pastoris* y C*alendula arvensis* no resultan factibles de ser usadas para el sistema de hospedera alternativa ya que se encuentran asociadas a especies de pulgones halladas también en los cultivos.

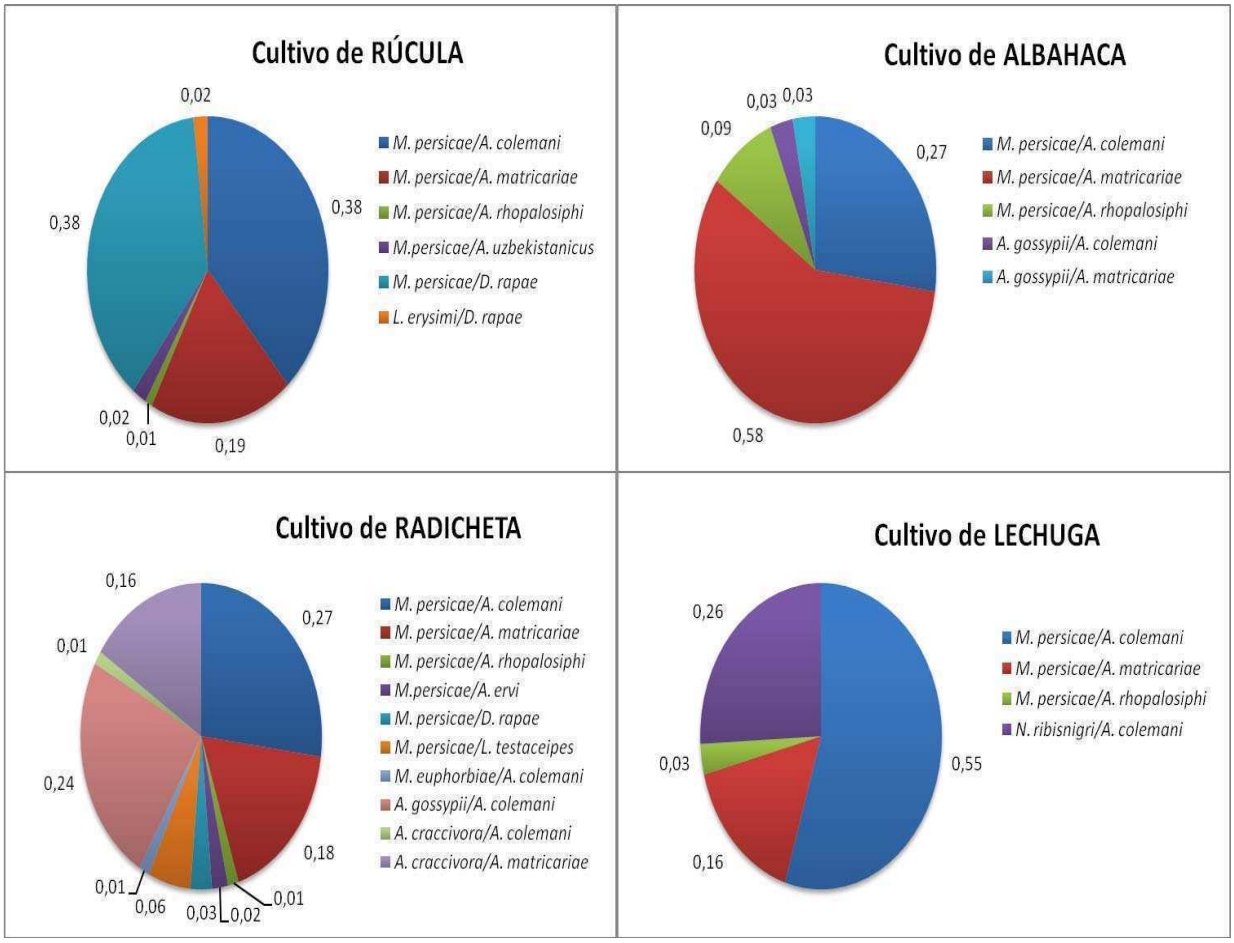


Figura 15: Abundancias relativas de las asociaciones áfido/parasitoide correspondiente a los principales cultivos.

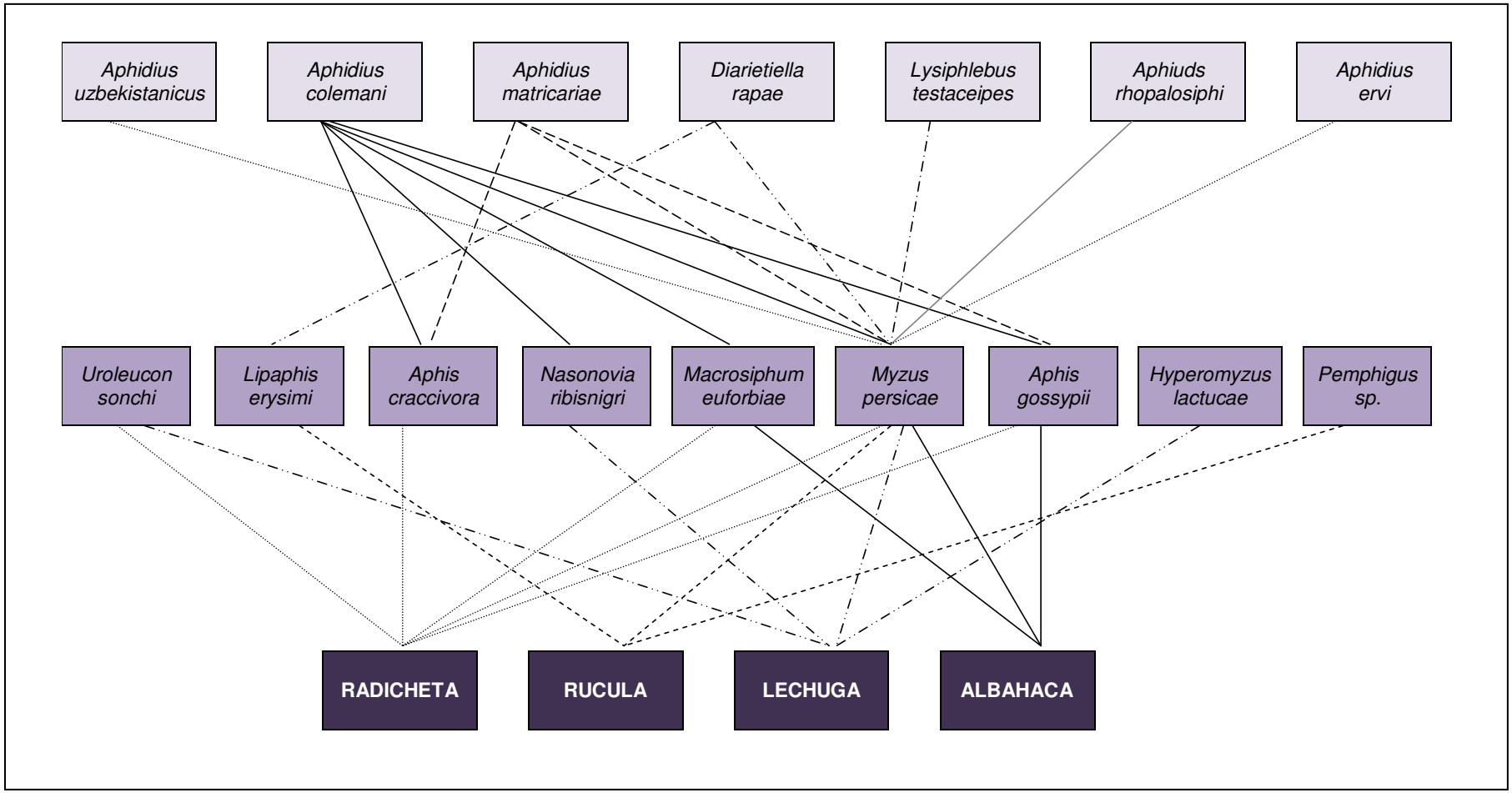


Figura 16: Trama trófica de conectancia correspondiente a los cuatro cultivos principales.

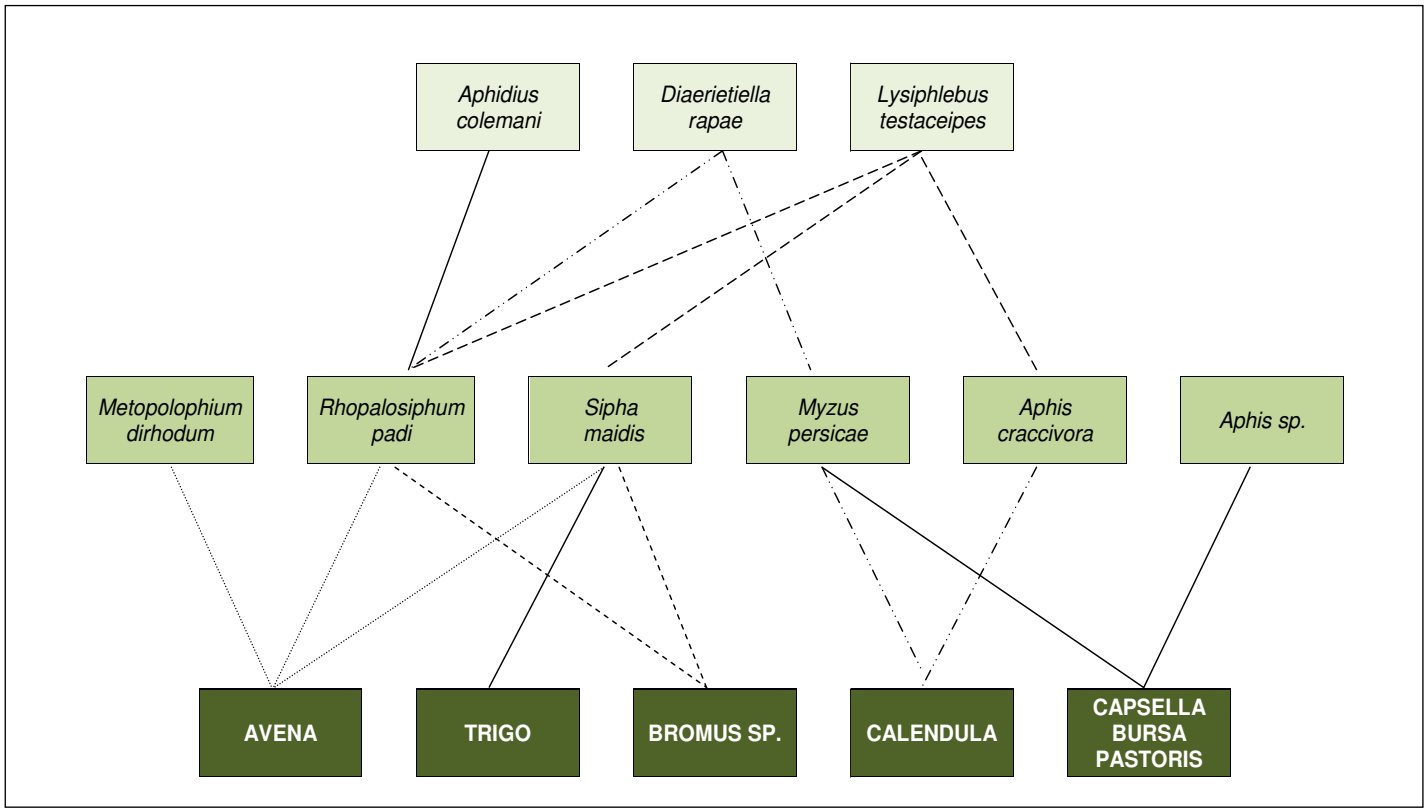


Figura 17: Trama trófica de conectancia correspondiente a hospederas espontáneas.

En función de los resultados hasta aquí expuestos y en relación con el tercer objetivo específico propuesto en este capítulo, se seleccionó el sistema tri-trófico experimental sobre la base de los siguientes criterios:

- PLAGA: en términos de la estabilidad del sistema ***Myzus persicae*** juega un papel de gran importancia. Si bien el agroecosistema estudiado corresponde a un ambiente fragmentado y con alto recambio en el tiempo, este áfido fue hallado a lo largo de todo el año y asociado a la mayoría de los cultivos relevados (Tabla I). Sumado a esto, esta especie es causante de daños indirectos (virosis, daño cosmético) en los cuatro cultivos de mayor interés comercial (Figura 16).

- CULTIVO: de los cuatro cultivos principales (rúcula, lechuga, albahaca y radicheta), se eligió la **rúcula**, debido a que el mayor impacto económico en este cultivo es provocado por áfidos en general y principalmente por *M. persicae*. Las pérdidas de invernaderos completos de producción de rúcula por la sola presencia de áfidos en las hojas (=daño cosmético) justificaron tomar a este cultivo como prioritario para su estudio y posterior control.

- PLANTA HOSPEDERA ALTERNATIVA: sobre la base de los datos obtenidos en los relevamientos (Figura 17) y a la bibliografía existente en donde se sugiere la utilización de un cereal como planta hospedera alternativa (Starý, 1993; Jacobson y Croft, 1998; Conte *et al*, 2000; Kim y Kim, 2004; van Driesche *et al*., 2008; Frank, 2010) se seleccionó la **avena**. Si bien existían otras opciones de cereales de posible uso, la avena resultó ser la planta que mejor se adaptó a las condiciones ambientales del invernadero, además de ser una planta de fácil producción y de buenas características para su posterior infestación con el áfido alternativo.

- ÁFIDO ALTERNATIVO: 3 especies de áfidos se hallaron asociadas a los cereales, *M. dirhodum, S. maidis y R. padi*. De las tres especies se seleccionó ***R. padi*** debido a que posee algunas características favorables para ser utilizado en un sistema de hospedera y huésped alternativo. En primer lugar, es una especie cuyas poblaciones normalmente se mantienen en bajas densidades, por lo que su importancia no radica en los daños directos que produce y con lo cual la planta

hospedera puede perdurar en el tiempo. En segundo lugar, *R. padi* afecta principalmente plantas jóvenes o en estados vegetativos; esta característica beneficia la infestación temprana de la planta hospedera alternativa y su utilización en el invernadero como parte del sistema tri-trófico experimental seleccionado. Además la bibliografía respalda esta elección ya que se citan variados ejemplos de este áfido para el uso de plantas banco[3] (=planta hospedera alternativa) (Frank, 2010).

- PARASITOIDE: La selección del parasitoide, y de todo el sistema tri-trófico experimental a ser empleado se basa en el análisis conjunto de las tramas tróficas resultantes de plantas hospederas blanco y hospederas alternativas. La figura 18 muestra la trama trófica resultante de relacionar el cultivo y la planta hospedera alternativa seleccionada. De ella se desprende que las posibles especies de parasitoides para ser empleadas en el sistema tri-trófico experimental son aquellas compartidas entre la plaga y el áfido alternativo, por ello se presentan 2 opciones de parasitoides con potencial para ser empleados en este sistema, *A. colemani* y *Diaerietiella rapae*.

D. rapae se descarta, debido a que esta especie se menciona como un importante parasitoide de áfidos preferentemente sobre plantas de la familia Cruciferae (Read *et al*., 1970). Esta característica no se condice con uno de los aspectos que según Starỳ (1993) es importante tener en cuenta en la elección del parasitoide a ser empleado en este sistema: “La preferencia del parasitoide por ambos huéspedes debe ser igual. Es decir, no debe existir una preferencia muy marcada por ninguno de los áfidos involucrados en el sistema”. En este sistema en el que el cultivo elegido es una crucífera, es probable que el parasitoide *D. rapae* manifieste una preferencia marcada por la asociación rúcula/*M. persicae* frente a la asociación alternativa avena/ *R. padi*.

[3] Se denomina planta banco a una planta hospedera alternativa contenida en una maceta, infestada con un huésped alternativo y parasitada por el biocontrolador elegido. La planta banco se coloca dentro del cultivo, ya sea entre las líneas del cultivo o en los laterales y cabezales de la parcela productiva.

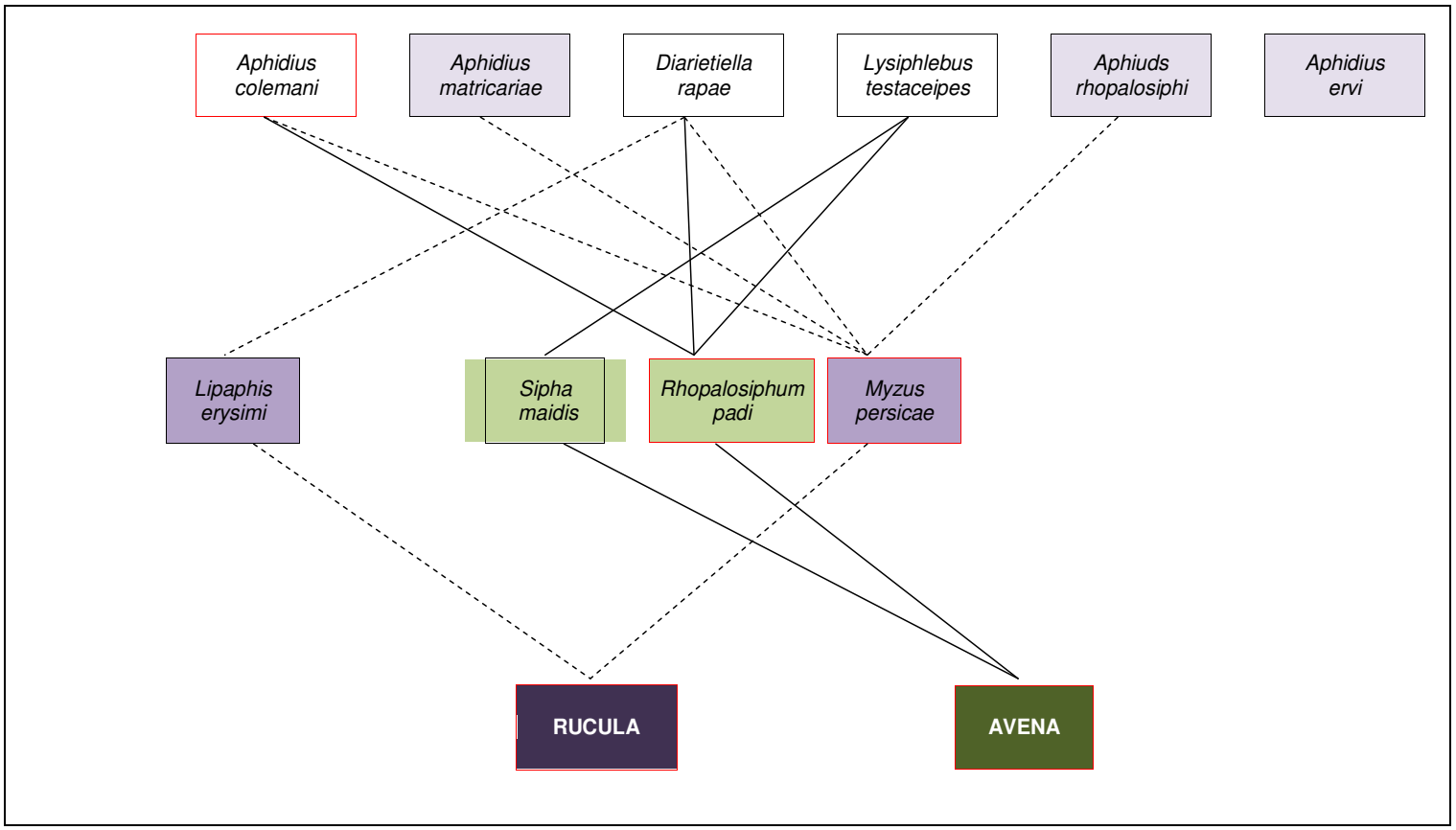


Figura 18: Trama trófica de conectancia correspondiente al cultivo y la planta hospedera alternativa seleccionadas.

Por todo lo arriba expuesto y sumado a los antecedentes mencionados para ***A. colemani*** como agente de biocontrol, se selecciona esta especie como parasitoide común al áfido plaga y al áfido alternativo.

CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO 1

Se generaron inventarios de las especies de áfidos y sus enemigos naturales parasitoides asociados tanto a los cultivos hortícolas como a las plantas no cultivadas presentes en el sistema.

Se establecieron las principales asociaciones planta - áfido – parasitoide y se seleccionaron las asociaciones cultivo / planta hospedera alternativa - áfido plaga / áfido alternativo – parasitoide, factibles de ser empleadas como sistema tri-trófico experimental.

El sistema objeto de estudio quedó compuesto por: 1) el cultivo de rúcula como cultivo de interés y la avena como planta hospedera alternativa; 2) *Myzus persicae* como especie de áfido plaga y *Rhopalosiphum padi* como pulgón alternativo, inocuo para el cultivo blanco y 3) *Aphidius colemani* como parasitoide común a ambos áfidos.

Capítulo 2

Estudios sobre la asociación *Eruca sativa* (rúcula)-*M. persicae* (áfido plaga) en condiciones de laboratorio

INTRODUCCIÓN

En la Argentina, la rúcula, al igual que otras hortalizas de hojas, se produce en los cinturones hortícolas que rodean los principales centros urbanos de todo el país (Censo Nacional Agropecuario- INDEC, 2002). El cultivo se realiza principalmente bajo cubierta, con siembras escalonadas que garantizan la producción durante todo el año (Botto *et al*., 2003). El "pulgón verde del duraznero", *Myzus persicae* (Sulzer), representa para la producción de rúcula una plaga de gran importancia económica (Andorno *et al*., 2004). Si bien la rúcula se produce durante todo el año, en los meses de otoño y primavera se observan poblaciones numerosas de *M. persicae* que forman colonias densas en el envés de las hojas. *M. persicae* se reproduce sólo en forma partenogenética sobre hospederos secundarios tanto silvestres como cultivados (Ortego y Carrillo, 1995); esta forma de reproducción anholocíclica es considerada una adaptación a ambientes inestables y perturbados, tales como los cultivos en invernadero (Moran, 1992).

Los atributos biológicos y parámetros poblacionales de insectos plaga, estimados a partir de tablas de vida desarrolladas en el laboratorio, ofrecen información sobre importantes aspectos necesarios para su manejo (Southwood, 1994). La tasa intrínseca de crecimiento poblacional estimada en condiciones de laboratorio es de utilidad pues proporciona una idea de la capacidad máxima de una especie para multiplicarse y del efecto que ejercen las condiciones ambientales sobre la capacidad fisiológica de crecimiento de la especie (Barlow, 1962). Para la mayoría de las poblaciones de insectos, el concepto de la tasa intrínseca de crecimiento poblacional es una abstracción de lo que ocurre en la naturaleza. Su cálculo se basa en una distribución estable de edades, la cual es difícil de alcanzar en condiciones naturales debido a la existencia de factores ambientales que reducen drásticamente las poblaciones. La determinación de la tasa real de crecimiento de una población natural es más complicada que el cálculo de la tasa intrínseca de

crecimiento (r_m) para poblaciones de laboratorio y sólo puede ser estimada a partir de poblaciones en el campo. Como la temperatura es el factor físico de mayor importancia que influye sobre la longevidad y las tasas de desarrollo y reproducción en áfidos (Dixon, 1998), la determinación de tablas de vida y fertilidad a distintas temperaturas es la clave para comprender la dinámica poblacional de estos insectos, proporcionando también las bases para el desarrollo de estrategias de control (Southwood, 1994).

Si bien existen abundantes estudios acerca de la biología de *M. persicae*, no se hallaron trabajos en donde se utilice la rúcula como planta hospedera.

El objetivo de este capítulo fue:

- Estimar los principales atributos biológicos y parámetros poblacionales de *M. persicae* sobre el cultivo de rúcula en condiciones controladas de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los individuos de *M. persicae* utilizados en el presente estudio procedieron de la cría mantenida en el Insectario de Investigaciones para la Lucha Biológica, IMYZA, INTA Castelar.

En 100 cajas de Petri de 5,5 cm de diámetro se colocó un papel de filtro humedecido con agua destilada y una hoja de rúcula. Sobre cada hoja se dispuso una hembra adulta de *M. persicae* la cual se dejó reproducir durante 24 h. Transcurrido ese lapso se retiraron todos los individuos recién nacidos menos uno, que fue el individuo que se observó en el tiempo. Las cajas se agruparon

aleatoriamente en dos grupos de 50, los que fueron colocados separadamente en dos cámaras climatizadas (CONVIRON E7) a temperaturas de 15 y 25 ± 1 ºC. Estas temperaturas se aproximan a las medias registradas dentro de los invernaderos en los momentos de mayor densidad de la plaga (observación personal). Las restantes condiciones experimentales en ambas cámaras fueron: 60-70% de humedad relativa y fotoperíodo de 12:12 (L:O).

Diariamente se registraron las mudas, el número de individuos muertos y la progenie producida una vez alcanzado el estado adulto. Cada 2-3 días se renovaron las hojas de rúcula y los papeles de filtro humedecidos.

Tiempo de desarrollo ninfal, períodos reproductivos y longevidad total

Se estimaron las siguientes variables:

a) Tiempo de desarrollo ninfal (período ninfal): tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta la cuarta ecdisis (=adulto).
b) Período pre-reproductivo: tiempo que transcurre desde la cuarta ecdisis hasta la puesta de la primera ninfa.
c) Período reproductivo: el tiempo que transcurre desde la puesta de la primera hasta la última ninfa.
d) Período post-reproductivo: tiempo que transcurre desde la puesta de la última ninfa hasta la muerte del áfido adulto.
e) Longevidad total: duración total de la vida o tiempo que transcurre entre la puesta de la ninfa I y la muerte del áfido adulto.

Estas variables, expresadas en días, fueron calculadas mediante el programa PERIOD (LaRossa y Kahn, 2003). Posibles diferencias para las variables observadas a distintas temperaturas fueron analizadas por un ANOVA de un factor con $\alpha=0,05$ (Infostat, 2010).

Supervivencia y fecundidad

Se estimaron también:

a) Supervivencia por edades (l_x): proporción de hembras de una cohorte inicial que sobrevive hasta la edad *x* (expresada en días)
b) Fecundidad (m_x): promedio de ninfas producidas por hembra por día.

La comparación entre las curvas de supervivencia se realizó mediante la prueba de Cox-Mantel. Este análisis fue elegido por ser el más adecuado para los datos con los que se trabajó (sin datos "censored") (Statsoft Inc., 2000). La fecundidad total se analizó mediante un ANOVA de un factor.

Parámetros poblacionales

A partir de la confección de tablas de vida se estimaron los siguientes parámetros poblacionales (Laughlin, 1965; Ravinovich, 1980; Begon *et al*., 1988; Southwood, 1994):

- ✓ La tasa reproductiva neta (R_0) o tasa de reemplazo, definida como el número de hembras nacidas por hembra y por generación. La fórmula que posibilita su cálculo es la siguiente:

$$R_0 = \sum l_x m_x$$

- ✓ El tiempo generacional (*T*), definido como el tiempo promedio en días que transcurre entre dos generaciones sucesivas. El método de cálculo es el siguiente:

$$T = \sum x\, l_x m_x / \sum l_x m_x$$

- ✓ La tasa intrínseca de crecimiento (r_m), definida como el número de descendientes hembra por hembra, por unidad de tiempo. Representa el crecimiento poblacional de tipo instantáneo. Se calcula iterando la ecuación de Lotka:

$$\sum l_x m_x e^{-rm\, x} = 1$$

- ✓ El tiempo de duplicación (*D*), definido como el tiempo requerido por la población para duplicarse. La fórmula que posibilita su cálculo es la siguiente:

$$D = (\ln 2)/r_m$$

Los parámetros poblacionales se estimaron mediante el programa TABLAVI (La Rossa y Kahn, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tiempo de desarrollo ninfal, períodos reproductivos y longevidad total

Los períodos ninfal, pre-reproductivo y reproductivo fueron significativamente más prolongados a 15 ºC que a 25 ºC ($F_{ninfal\ (1,96)}$= 301,14; P<0,05; $F_{prerep(1,96)}$= 13,19; P<0,05 y $F_{rep(1,96)}$= 24,66; P<0,05) (Tabla II). El tiempo de desarrollo para el período ninfal fue similar al obtenido por El Din (1976) y Cividanes y Souza (2003) a las mismas temperaturas pero utilizando coles como planta hospedera. El período post-reproductivo fue el único parámetro que no presentó diferencias significativas entre ambas temperaturas experimentales ($F_{postrep(1,96)}$= 0,04; P>0,05).

A 15 ºC la longevidad total (ninfa I – muerte del adulto) fue 10 días mayor que a 25 ºC ($F_{long(1,96)}$= 67,23; P<0,05). La edad de la primera reproducción (periodo

ninfal + pre-reproductivo) fue de 10,9 y 6,4 días para las temperaturas de 15 y 25 ℃, respectivamente. La edad de la primera reproducción obtenida para *M. persicae* sobre pimiento a 10 ℃, fue de 18,4 días (Vasicek *et al.,* 2001) y sobre coliflor y brócoli a 20 ℃, fue de 9,4 y 8,1 días, respectivamente (Vasicek *et al*., 2003). De acuerdo con lo esperado para un organismo ectotermo, se observa un aumento de la velocidad de crecimiento a medida que aumenta la temperatura en el intervalo de 10 a 25 ℃.

Tabla II: Duración media en días (± E.E.) de los períodos ninfal, pre-reproductivo, reproductivo, post-reproductivo y longevidad total de *Myzus persicae* sobre *Eruca sativa*.

	NINFAL	PREREP.	REP.	POSTREP.	LONG.
15℃	9,33 (±0,17) **a**	1,53 (±0,12) **a**	14,59 (±0,91) **a**	0,51 (±0,15) **a**	25,96 (±0,95) **a**
25℃	5,31 (±0,12) **b**	1,09 (±0,08) **b**	9,69 (±0,64) **b**	0,60 (±0,15) **a**	16,67 (±0,69) **b**

Medias seguidas por letras iguales en la misma columna no difieren significativamente (p>0,05)

Asimismo, Cividanes y Souza (2003) evaluaron a este áfido sobre *Brassica oleracea* var. *acephala* a temperaturas constantes de 15, 20, 23, 25 y 30 ºC y encontraron que existe una relación lineal entre la tasa de desarrollo y la temperatura en el intervalo de 15 a 25 ºC, y que se observa el 100% de mortalidad de las ninfas mantenidas a 30 ºC. Resultados similares fueron hallados por El Din (1976), quien observó un aumento de la tasa de desarrollo en un intervalo más amplio de temperaturas (10 a 29 ºC).

Supervivencia y fecundidad

Las curvas de supervivencia (l_x) a 15 y 25 ℃ fueron significativamente diferentes entre sí (P<0,05; I =10,1269; U= -24,902) (Figura 19). A 15 ℃ la supervivencia disminuyó al 50% alrededor del día 28, mientras que a 25 ℃ este descenso ocurrió aproximadamente 10 días antes.

A 15 ℃, la curva de supervivencia desde el inicio de la cohorte hasta los 13 días, se asemeja a una curva de tipo I, en la cual la probabilidad de sobrevivir en edades tempranas es igual a uno, mientras que a partir del día 14 se asemeja a una de tipo II, en la cual el número de individuos que mueren por unidad de tiempo es prácticamente constante independientemente de la edad (Rabinovich, 1980). A 15 ºC no se observó mortalidad de los estadios juveniles ni tampoco en los primeros días de vida del adulto. La mortalidad a esta temperatura se concentra sólo en los áfidos adultos avanzados (Figura 19).

En cambio a 25 ℃, la curva se asemeja a una de tipo II observándose mortalidad inclusive en los estadios ninfales. De acuerdo con lo observado por Cividanes y Souza (2003) el límite térmico superior de desarrollo para *M. persicae*, es decir la temperatura a partir de la cual la velocidad de desarrollo comienza a disminuir, se encuentra cercano a los 25 ºC. Además estos autores han observado 100% de mortalidad de las ninfas mantenidas a 30ºC, indicando que el límite térmico de esta especie se encuentra por debajo de esta temperatura. Por esta razón, el hecho que la temperatura de 25ºC se acerque a la temperatura máxima letal podría adjudicarse a la mortalidad observada (Figura 19).

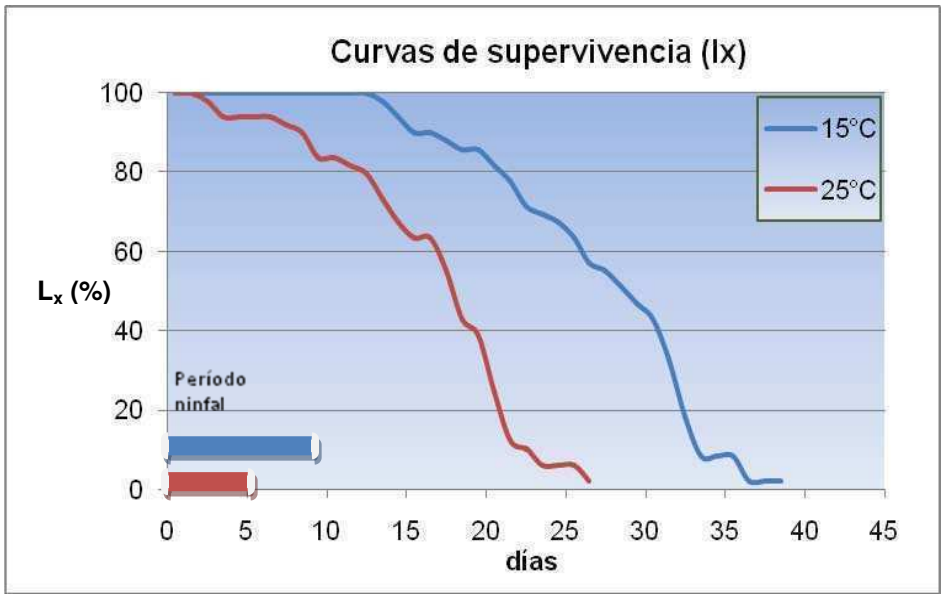


Figura 19: Curvas de supervivencia media diaria (l_x) de *Myzus persicae* sobre *Eruca sativa.* El gráfico muestra la supervivencia desde ninfa I a adulto; las barras horizontales corresponden a la duración del período ninfal para cada una de las temperaturas respectivamente.

Las curvas de supervivencia permiten describir el patrón de mortalidad al que está sujeta una población, por ello son muy sensibles a las condiciones ambientales, el sexo y el genotipo de los individuos (Rabinovich, 1980). En condiciones de laboratorio, en donde el recurso alimentario se encuentra en exceso y no hay causas externas de mortalidad (parasitismo, predación), es esperable que los organismos expresen el máximo potencial de supervivencia de la especie (Messenger, 1964). Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, la diferencia observada en la mortalidad ninfal entre ambas curvas puede adjudicarse básicamente a la temperatura.

La fecundidad total acumulada no difirió estadísticamente entre las temperaturas estudiadas ($F_{(1,49)}$=2,769, P=0,103) y fue en promedio 25,43 y 20,61 ninfas/hembra a 15 y 25 ºC respectivamente. A 15 ºC, la curva de fecundidad

media diaria (m_x) presenta una mayor extensión, indicando un período reproductivo más largo, con aproximadamente 10 días más de duración (Figura 20). A esta temperatura los individuos comenzaron a reproducirse al quinto día, observándose valores de fecundidad media que fluctuaron alrededor de 1,5 ninfas/hembra/día. A 25 ºC, los áfidos comenzaron a reproducirse al segundo día, mostrando un máximo de 2,8 ninfas/hembra/día, luego del cual la fecundidad decreció. Los valores de fecundidad obtenidos en este trabajo, difieren de los obtenidos por Cividanes y Souza (2003) sobre *B. oleracea* var. *acephala*; estos autores registraron 2 y 1,3 ninfas/hembra/día para 15 y 25 ºC, respectivamente, siendo la fecundidad total acumulada de 69,2 y 30,7 ninfas/hembra para ambas temperaturas. Las diferencias observadas en la fecundidad de *M. persicae* podrían estar relacionadas con diferencias entre las metodologías utilizadas en ambos estudios, como así también este parámetro podría verse afectado tanto por la planta hospedera (Wale *et al*., 2000) como por la existencia de biotipos de *M. persicae* (Tamaki *et al*., 1982).

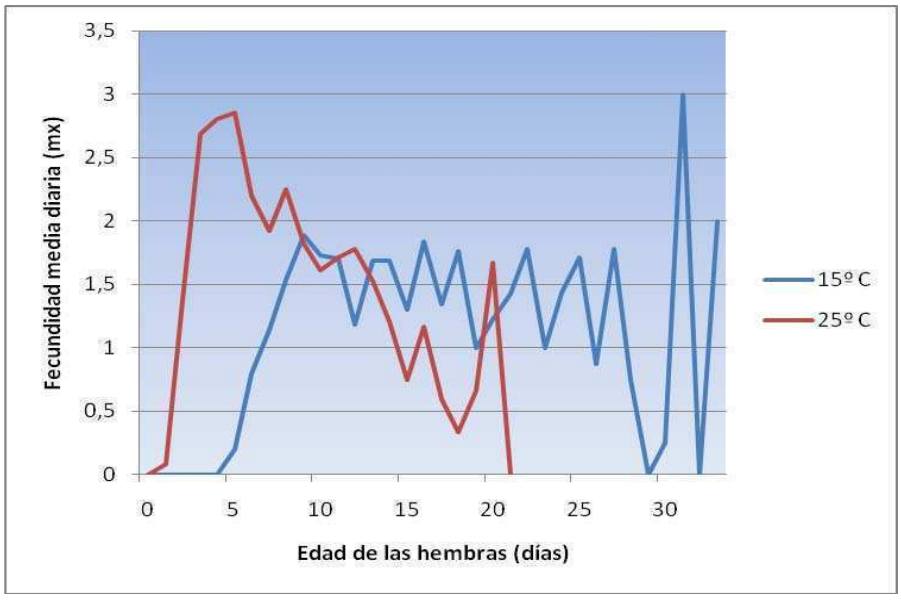


Figura 20: Curvas de fecundidad media diaria (m_x) de *Myzus persicae* sobre *Eruca sativa*

Parámetros poblacionales

Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros poblacionales estimados entre las temperaturas estudiadas (Tabla III). La tasa reproductiva neta (R_0) fue significativamente mayor a 15 ºC; en tanto la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) fue significativamente mayor a 25 ºC. El mayor valor obtenido a 25 ºC, se corresponde con el menor tiempo generacional observado a esta temperatura (Tabla III). De acuerdo con Messenger (1964) los factores que afectan la duración del ciclo de vida, y en consecuencia el tiempo generacional, ejercen efectos más importantes sobre la tasa intrínseca de crecimiento que aquellos factores que afectan la fecundidad.

Tabla III: Parámetros poblacionales (± E.E.) de *Myzus persicae* sobre *Eruca sativa*

	R_0	r_m	T	*D*
15 ºC	22,94 (±1,66) **a**	0,18 (±0,01) **b**	20,10 (±0,39) **a**	3,90 (±0,09) **a**
25 ºC	19,32 (±1,68) **b**	0,27 (±0,01) **a**	12,39 (±0,26) **b**	2,57 (±0,07) **b**

Medias seguidas por letras distintas en la misma columna difieren significativamente (p<0,05)

Los valores de la tasa intrínseca de crecimiento obtenidos a 15 y 25 ºC fueron menores a los hallados por Barlow (1962) en condiciones experimentales similares, utilizando al tabaco como planta hospedera ($r_{m\ (15\ ºC)}$ = 0,34 y $r_{m\ (25ºC)}$ = 0,45). Asimismo, el valor de la r_m hallado a 25 ºC para *M. persicae* resultó similar al obtenido por Ricci *et al*. (2000) para la misma especie sobre pimiento a 20 ºC (r_m= 0,25). Sin embargo, no coincidió con el valor hallado por Ricci *et al.* (1999)

sobre lechuga (cv. *Regina*) a 20 ºC (r_m= - 0,0257) en donde se observa un efecto negativo de la planta hospedera sobre el desarrollo poblacional de *M. persicae.*
La capacidad innata de crecimiento de las especies animales debe ser tal que la especie sea capaz de mantener un número adecuado en el ambiente en el que vive, alcanzando un balance entre la tasa de crecimiento y la disponibilidad de alimento (Barlow, 1962). Utilizando rúcula como planta hospedera, *M. persicae* logró desarrollarse y reproducirse tanto a 15ºC como a 25 ºC. Es importante destacar que a 15 ºC la población duplicó su tamaño en 3,9 días, mientras que a 25 ºC esto ocurrió en 2,6 días. De acuerdo con otros autores las temperaturas cercanas a 25 ºC son las que proporcionan las mejores condiciones térmicas para el crecimiento poblacional de *M. persicae*. A esta temperatura se observó mayor valor de r_m, menor tiempo generacional y menor tiempo necesario para duplicar la población.

Si bien estos parámetros han sido estimados para poblaciones del áfido en el laboratorio podrían dar un indicio acerca de lo que ocurriría en cultivos en invernadero al registrarse condiciones ambientales similares a las estudiadas. En consecuencia, pueden esperarse poblaciones importantes de este áfido en los sistemas de cultivo protegidos cuando las temperaturas se elevan, con el consiguiente deterioro del rendimiento y calidad de la producción del cultivo de rúcula. Esto coincide con los resultados de Cividanes y Souza (2003) quienes hallaron que *M. persicae* presenta mayor actividad durante los períodos del año en los que prevalecen temperaturas cercanas a 23-25 ºC. Hwang y Hsieh (1983) indicaron también 25 ºC como la temperatura a la cual *M. persicae* produce el mayor crecimiento poblacional, aunque señalaron que la tasa de fecundidad alcanzó su punto máximo a 15 ºC.

CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO 2

Myzus persicae logró desarrollarse y aumentar en número sobre rúcula, *E.* sativa, a las temperaturas de 15 y 25 ºC, utilizadas en el presente trabajo.

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los valores registrados por otros autores utilizando distintas hortalizas como plantas hospederas.

Los aspectos biológicos aquí estudiados, si bien han sido evaluados en laboratorio, pueden dar una orientación sobre el comportamiento que tendría este áfido plaga sobre el cultivo de rúcula, en invernadero o a campo.

Capítulo 3

Estudios sobre el enemigo natural: el parasitoide *Aphidius colemani*

INTRODUCCIÓN

El proceso de selección de huéspedes realizado por las hembras de *A. colemani* implica una serie de pasos, desde la localización del hábitat del huésped, el encuentro con éste, su aceptación y la posterior etapa de adecuación y regulación de su fisiología mediada por las larvas del parasitoide.

La mayoría de las hembras del parasitoide localizan a sus huéspedes a través de señales químicas o visuales emitidas por sus huéspedes, la planta sobre la cual su huésped se alimenta o por el entorno de sus huéspedes. La planta proporciona a menudo la primera señal captada por el parasitoide para localizar a su huésped. Este tema ha sido ampliamente estudiado en ensayos de laboratorio utilizando túneles de viento. Los parasitoides son capaces de localizar a sus huéspedes discriminando plantas infestadas de plantas no infestadas (Grassswitz, 1998). Además de las señales volátiles, otros estímulos como los colores, la arquitectura de planta, la estratificación y altura del canopeo, y la superficie de la hoja también pueden provocar una respuesta de vuelo en las hembras del parasitoide (Lo Pinto *et al.*, 2004; Rutledge y Wiedenmann, 1999; Braimah y van Emden, 1994). Una vez que las hembras de *A. colemani* han localizado una población de áfidos, se acercan azarosamente a un individuo y, mediante toques con sus antenas y su ovipositor realizan pruebas de contacto, olfativas y gustativas para determinar si es apto para ser parasitado (Sampaio *et al.*, 2001a; Sampaio *et al.*, 2001b). La aceptación de un huésped depende de su reconocimiento como un sitio apto para la oviposición, alimentación y desarrollo de las formas jóvenes del parasitoide (Hagvar y Hofsvang, 1991).

La realización de un estudio donde se emplee el sistema de planta hospedera y áfido alternativo, implica que el parasitoide debe elegir entre dos opciones: 1) la planta hospedera alternativa + el pulgón alternativo y 2) el cultivo + la plaga. Ante esta situación, el parasitoide podría responder parasitando en mayor medida una

de ambas opciones o podría parasitar ambas de manera semejante. Esto implica que el parasitoide debe reconocer las señales físicas y químicas de cada asociación planta-áfido y manifestar si tiene preferencia por alguna de ellas. Además de los estímulos ya descritos, mediante los cuales un parasitoide se guía en la selección de su huésped, pueden existir otro tipo de factores condicionantes de su preferencia por un huésped en particular. Sands y Van Driesche (2002) sugieren que este puede ser el caso de la experiencia previa de los parasitoides con una asociación planta hospedera - fitófago huésped. Si al emerger un parasitoide, éste entrara en contacto con cadáveres o con productos de su fitófago huésped, su preferencia podría verse alterada, inclinándose hacia el huésped del cual emergió. No obstante, esto es solamente una posibilidad, ya que en algunos casos la experiencia previa de un parasitoide no condiciona su preferencia por algún fitófago huésped (Ojeda *et al.*, 2001; Sands y Van Driesche, 2002).

Existen buenas razones para estudiar la preferencia de un agente de control biológico. Los motivos para realizar este tipo de estudios pueden originarse en la necesidad de probar la especificidad de un agente de control biológico, o bien, de generar conocimientos que puedan ser aprovechados para estructurar una estrategia de manejo ecológico que permita optimizar el rendimiento del biocontrolador en cuestión (Rutledge y Wiedenmann, 1999; Raffa *et al.*, 2002). En las pruebas *sin* opción, cada posible huésped es presentado por separado al parasitoide con el propósito de observar hasta donde es capaz de afectar este agente de control a la especie fitófaga ofrecida. Son consideradas pruebas rigurosas donde se fuerza al parasitoide a elegir entre actuar o no actuar sobre la especie ofrecida. De esta forma se procura disminuir la posibilidad de obtener falsos negativos, ya que en las pruebas con opción las especies ligeramente atrayentes podrían ser ignoradas por el parasitoide si éste se enfoca a oviponer exclusivamente en otras especies que le generan mayor atracción (Edwards, 1999). Por otro lado, las pruebas *con* opción, consisten en ofrecer al parasitoide

dos o más posibles huéspedes al mismo tiempo, entre los cuales suele estar la especie "blanco" (sobre la cual se desea estudiar su acción biocontroladora). Presentan la ventaja de que permiten estudiar el comportamiento de selección del agente de biocontrol en condiciones en las que, en un mismo espacio temporal, los insectos encuentran varios posibles huéspedes y son capaces de percibir sus diversas señales atrayentes.

Las pruebas *sin* y *con* opción son complementarias. Al realizar ambas de manera apropiada, es posible comprender el comportamiento de selección del parasitoide, ya que dentro de una estrategia de planta hospedera y húesped alternativo, la meta debe ser hallar el escenario donde se facilite la ocurrencia de dos procesos beneficiosos en paralelo: la acción biocontroladora en el cultivo y la multiplicación del enemigo natural en la planta hospedera alternativa.

El objetivo de este capítulo fue:

- Estudiar la preferencia del parasitoide *Aphidius colemani* entre las asociaciones rúcula - *Myzus persicae* (=cultivo + plaga) y avena - *Rhopalosiphum padi* (=planta hospedera alternativa + huésped alternativo).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los áfidos y el parasitoide utilizado en las pruebas *sin* y *con* opción procedieron de crías mantenidas durante más de 20 generaciones, que se iniciaron a partir de material recolectado en cultivos orgánicos de hortalizas de hoja en Los Cardales, provincia de Buenos Aires (muestreos realizados en las campañas 2005-2006).

Se criaron los siguientes áfidos y parasitoide:

- Crías de áfidos:
    - ***M. persicae*** criado sobre rúcula
    - ***R. padi*** criado sobre avena

- Crías de parasitoide:
    - ***A. colemani*** criado sobre rúcula - *M. persicae*
    - ***A. colemani*** criado sobre *avena - R. padi*

Para todos los experimentos se utilizaron las siguientes condiciones ambientales: 22 ± 2 ºC de temperatura, 50-70% HR y fotoperíodo 12L:12O, utilizando una incubadora vegetal Peet Lab® modelo MGC-350HPY-2.

3a) Prueba SIN opción

El objetivo perseguido con estas pruebas fue evaluar la "performance" de las líneas que luego fueron utilizadas en las pruebas con opción. Se evaluó el desempeño del parasitoide tras haberlo obtenido de material de campo y criado en el laboratorio por más de 20 generaciones sobre la misma asociación planta-huésped. Estas líneas fueron utilizadas como control del origen del parasitoide.

Experimento 1: Parasitismo y tiempo de desarrollo

La unidad experimental consistió en macetas de ¼ litro con sustrato, formulado con turba rubia, turba negra, perlita, vermiculita, fertilizantes NPK y micro elementos (marca *Dynamics*® N°3). Algunas macetas (n=20) contenían cuatro plantas de avena de tres días de crecimiento desde su germinación. Otras macetas (n=20) contenían una sola planta de rúcula con 2-3 hojas verdaderas. Las macetas fueron cubiertas con un cilindro hueco de acetato de aproximadamente 25 cm de altura, cuyo extremo superior fue cerrado con una malla de voile sujetada por una banda elástica (Figura 21).

En cada unidad experimental, las plantas de rúcula y avena fueron infestadas con 200 ninfas de 2º-3º estadio de *M. persicae* y *R. padi,* respectivamente.

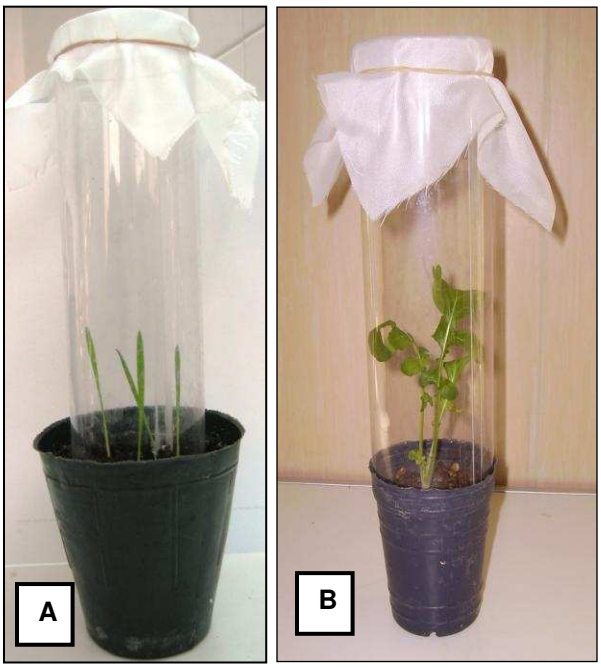


Figura 21. Unidad experimental empleada en el experimento 1. **A.** Tratamiento Avena *sin* opción. **B.** Tratamiento Rúcula *sin* opción.

Sobre cada una de las asociaciones planta-áfido se probó el parasitoide de igual procedencia, es decir aquel que fue criado por más de 20 generaciones sobre la misma asociación planta-áfido. Hembras fecundadas del parasitoide (n=20), de menos de 24 horas de vida y sin experiencia previa de oviposición, fueron expuestas individualmente a las plantas de rúcula y avena infestadas con sus correspondientes áfidos. Transcurridas 48 horas se retiró la hembra del parasitoide y se registró el número de ninfas parasitadas (momias). Las momias obtenidas fueron individualizadas en tubos hasta la emergencia de los adultos.

Las variables evaluadas fueron la cantidad de áfidos parasitados y el tiempo de desarrollo. El porcentaje de parasitismo se calculó como: la cantidad de momias observadas * 100 / la cantidad de pulgones ofrecidos inicialmente. El tiempo de desarrollo se estimó en días, discriminado entre las etapas huevo-pupa y pupa-adulto.

El porcentaje de parasitismo y el tiempo de desarrollo se analizaron estadísticamente mediante un ANOVA de un factor (procedencia del parasitoide) con α=0,05 (Infostat, 2010).

Experimento 2: Parámetros poblacionales, supervivencia y fecundidad

En este ensayo, se utilizaron macetas más pequeñas que en el experimento 1. Algunas macetas (n=10) contenían 4 plantas de avena infestadas con *R. padi*; otras macetas (n=10) contenían una planta de rúcula infestada con *M. persicae.* Las macetas fueron cubiertas por un cilindro hueco de acetato y cerradas con voile, en forma similar al experimento 1 (Figura 22).

De las momias obtenidas en el experimento anterior (experimento 1), para cada procedencia del parasitoide y una vez obtenidos los adultos, se escogieron al azar 10 hembras previamente fecundadas, con menos de 24 horas de vida y sin experiencia previa de oviposición y se colocaron individualmente dentro de la unidad experimental conteniendo la misma asociación planta-áfido de la cual habían emergido, según fuera el caso para cada hembra en particular.

Figura 22. Unidades experimentales utilizadas en los experimentos *sin* y *con* opción para evaluar los parámetros poblacionales, supervivencia y fecundidad (experimentos 2 y 4).

Las plantas y los áfidos de las unidades experimentales fueron renovados diariamente, ofreciendo a las hembras del parasitoide, pulgones en cantidades decrecientes, de la siguiente manera:

- Día 1-3: 100 pulgones.
- Día 4-6: 50 pulgones.
- Día 7-muerte del parasitoide: 25 pulgones.

Se registró la cantidad de días de vida y la cantidad de momias producidas durante ese tiempo por cada una de las hembras del parasitoide. A partir de la confección de tablas de vida se estimaron los siguientes parámetros poblacionales mediante el programa TABLAVI (LaRossa y Kahn, 2003):

- Tasa reproductiva neta (R_0), definida como el promedio de descendientes producidos por cada hembra, por generación.
- Tasa intrínseca de crecimiento (r_m), definida como la cantidad de descendientes producidos por cada hembra, por día.
- Tiempo generacional medio (T), definido como el tiempo promedio en días, que transcurre entre dos generaciones sucesivas.
- Tiempo de duplicación (D), definido como el tiempo requerido por la población para duplicarse.

Las posibles diferencias entre los tratamientos estudiados fueron determinadas mediante un ANOVA de un factor (procedencia del parasitoide) con α=0,05 (Infostat, 2010).

La supervivencia del parasitoide adulto (l_x), se definió como la proporción de individuos de una cohorte inicial que sobrevive hasta la edad x (expresada en días) y se analizaron siguiendo el método Kaplan-Meier. Se utilizó la prueba estadística Log-rank para comprobar la homogeneidad entre las cohortes

estudiadas. Este análisis fue elegido por ser el más adecuado para los datos con los que se trabajó (curvas que no se entrecruzan) (Gramatges Ortiz, 2002).

La fecundidad específica por edades de los adultos (m_x) se expresó como el promedio de áfidos parasitados (momias)/♀/día. Se calculó también la fecundidad total y se analizó con un ANOVA de un factor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1: Parasitismo y tiempo de desarrollo

El porcentaje de parasitismo de *A. colemani* procedente de la cría sobre avena-*R. padi* sobre esta misma asociación planta-áfido, alcanzó un valor de 28,58% (57,15 1,37 momias), el cual resultó significativamente superior al 16,05% (32,10 ± 1,29 momias) obtenido para *A. colemani* procedente de la cría sobre rúcula-*M. persicae* ($F_{(1,34)}$=13,24; P=0,0009) (Figura 23).

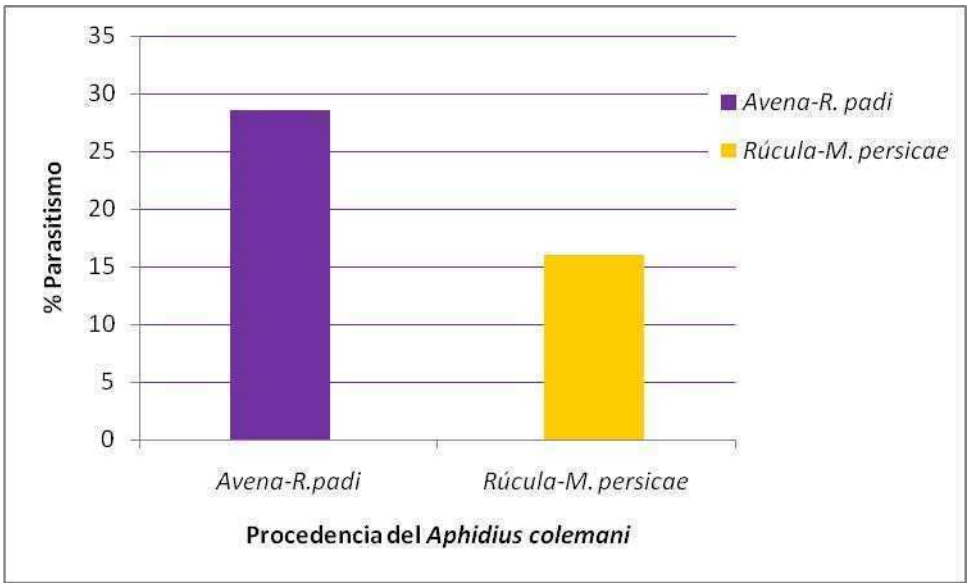


Figura 23. Porcentaje de parasitismo de *Aphidius colemani* en prueba sin opción para las dos procedencias estudiadas del parasitoide.

Según Hill (1999), una prueba sin opción donde se cuantifique el parasitismo de una especie, mide la habilidad de las formas adultas del parasitoide para sobrevivir, madurar y dejar su descendencia en una asociación planta-huésped determinada. Este tipo de pruebas contribuye en la definición del rango de huéspedes que el parasitoide evaluado puede ocupar. Los resultados obtenidos para este experimento muestran que *A. colemani* es fisiológicamente capaz de parasitar, sobrevivir y madurar en las asociaciones avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae*. Sin embargo, se observa que la primera asociación permitió un mayor parasitismo que la segunda, respectivamente.

Porcentajes de parasitismo de 44,4% (Sampaio *et al.*, 2001a) y 39,5% (Sampaio *et al.*, 2001b) fueron reportados para *A. colemani* en *M. persicae* mantenido sobre pimiento a 23 ºC. Asimismo, Sampaio *et al.* (2008) obtuvieron un porcentaje de parasitismo de 21,2% para *A. colemani* en *M. persicae* mantenido sobre col a 22 ºC.

La Tabla IV muestra el tiempo de desarrollo de los períodos huevo-pupa y pupa-adulto, para las dos cohortes de *A. colemani*. Para ambos períodos por separado, el efecto de la asociación planta-áfido resultó significativo; el período huevo-pupa fue mayor sobre la asociación avena-*R. padi* ($F_{(1,37)}$= 26,46; P<0,001), mientras que el período pupa-adulto tuvo mayor duración sobre la asociación rúcula-*M. persicae* ($F_{(1,37)}$ = 31,15; P<0,001). El período huevo-pupa fue un día más largo en avena-*R. padi*, mientras que el período pupa-adulto fue un día más largo en rúcula-*M. persicae*. De manera que, el tiempo de desarrollo de los estadios inmaduros fue muy similar para ambas asociaciones planta hospedera-áfido huésped estudiadas.

Tabla IV. Tiempo de desarrollo (media ± EE) de *Aphidius colemani* en sus huéspedes originales.

Procedencia del parasitoide	Asociación planta-áfido	Huevo-pupa (días)	Pupa-adulto (días)
Avena-R. padi	Avena-*R. padi*	9,1 ± 0,12 a	4,5 ± 0,06 a
Rúcula-*M. persicae*	Rúcula-*M. persicae*	8,1 ± 0,14 b	5,5 ± 0,18 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (ANOVA, P< 0,05),

El tiempo de desarrollo promedio de los estadios inmaduros de *A. colemani* fue de 13,6 ± 0,11 y 13,7 ± 0,28 días sobre las asociaciones avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae*, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los valores reportados por otros autores que han estimado una duración de entre 12-17 días para el tiempo de desarrollo de *A. colemani* sobre asociaciones de *M. persicae* con distintas plantas hospederas (Soglia *et al.,* 2006; Sampaio *et al.,* 2005; Sampaio *et al.,* 2008). Dado que el tiempo de desarrollo de un parasitoide en un áfido determinado es un indicador de su calidad nutricional (Sequeira y Mackauer, 1992), se puede afirmar que las dos crías de pulgones empleadas en este trabajo, aportaron individuos en condiciones aceptables para el adecuado desarrollo de *A. colemani*.

Experimento 2: Parámetros poblacionales, supervivencia y fecundidad

Se encontraron diferencias significativas entre las dos cohortes estudiadas únicamente para los valores de tiempo generacional medio (T) ($F_{(1,19)}$=8,26; P=0,010), cuyo valor fue mayor en la asociación avena-*R. padi* (Tabla V). Los demás parámetros poblacionales estudiados no difirieron significativamente (F $R_{0(1,19)}$=0,17; P=0,683), (F $r_{m(1,19)}$=0,11; P=0,749) y (F $D_{(1,19)}$=0,07; P=0,788) (Tabla V).

Tabla V. Parámetros poblacionales (media ± EE) de *Aphidius colemani* en sus huéspedes originales.

Procedencia del parasitoide	**Asociación planta-áfido**	**R_0** (momias/♀)	**r_m** (momias/♀/día)	**T** (días)	**D** (días)
Avena-*R. padi*	Avena-*R. padi*	25,08 ± 7,89 a	0,20 ± 0,02 a	16,42 ± 0,31 a	3,44 ± 0,35 a
Rúcula-*M. persicae*	Rúcula-*M. persicae*	21,25 ± 5,12 a	0,21 ± 0,01 a	14,90 ± 0,42 b	3,33 ± 0,25 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (ANOVA, P<0.05).

El tiempo generacional medio (T) mostró diferencias significativas entre las dos cohortes estudiadas. Se obtuvieron valores de 16,42 ± 0,31 y 14,91 ± 0,42 días para las asociaciones avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae*, respectivamente. Estos resultados están en el mismo orden de los valores obtenidos por Torres *et al.* (2007) (T=13,74 días, para *A. colemani* en pepino infestado con *Aphis gossypii*, a 22 ºC) y Chi y Su (2006) (T=14,5 ± 0,2 días, para *A. gifuensis* en col infestada con *M. persicae*, a 22 ºC).

Las curvas de supervivencia (l_x) para las dos cohortes estudiadas se presentan en la Figura 24. No se hallaron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia (l_x) obtenidas para las dos cohortes estudiadas (Test Log-rank, p=0,089). El 50 % de las hembras de la población sobrevivieron hasta el día 5 aproximadamente, en ambas procedencias.

Las hembras de *A. colemani* desarrolladas sobre avena-*R. padi* presentaron en su inicio una curva de tipo I, ya que durante sus primeros tres días de vida adulta presentaron una mortalidad nula. Posteriormente, la curva de esta cohorte adquirió una apariencia de tipo II, pues los parasitoides adultos comenzaron a morir en forma más o menos constante. Asimismo, el parasitoide desarrollado sobre rúcula-*M. persicae* presentó una curva de tipo II desde el inicio (Rabinovich, 1980).

Las curvas de fecundidad específica por edades (m_x) obtenidas para las dos cohortes estudiadas se presentan en la Figura 24. Ambos períodos reproductivos tuvieron una duración aproximada de 8 días, pero el parasitoide de la asociación rúcula-*M. persicae* lo inició aproximadamente dos días antes que el de la asociación avena-*R. padi.*

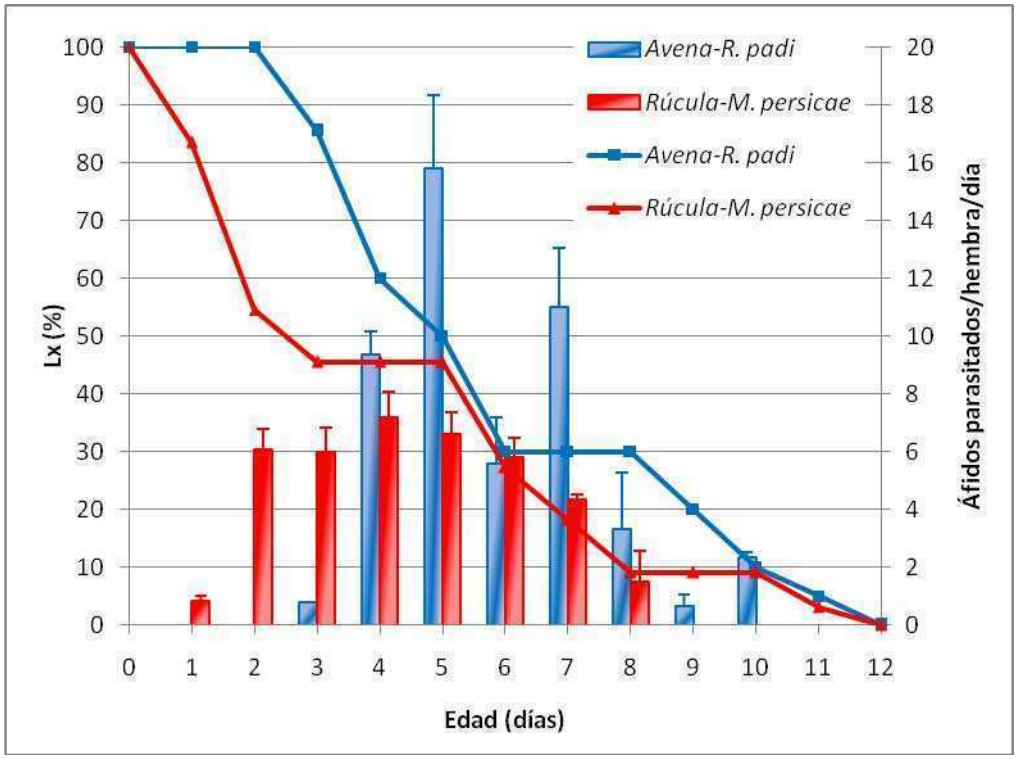


Figura 24. Curvas de supervivencia (l_x) y fecundidad (m_x) de *Aphidius colemani* sobre sus huéspedes originales.

El máximo de fecundidad específica se encontró en alrededor de 16 momias/♀/día para la asociación avena-*R. padi*, mientras que para la asociación rúcula-*M. persicae* fue de 7 momias/♀/día. El pico de fecundidad se presentó el día 5 para la asociación avena- *R. padi*, mientras que para la asociación rúcula-*M. persicae* el máximo se registró el día 4 del período reproductivo. El pico máximo de fecundidad específica en la asociación rúcula-*M. persicae* no alcanzó

siquiera la mitad del valor máximo de la otra asociación planta-áfido estudiada. Torres *et al.* (2007) reportan una duración de 6 días para el período reproductivo de hembras de *A. colemani,* las cuales mostraron su máximo de fecundidad específica en su primer día de vida y ovipusieron el 89,4% de sus huevos al cabo de 3 días de vida. La fecundidad total no difirió estadísticamente ($F_{(1,16)}$= 0,734; P=0,4041) y fue en promedio 31,38 ± 7,11 y 23,20 ± 6,35 momias para las asociaciones avena- *R. padi* y rúcula – *M. persicae*, respectivamente.

3b) Prueba CON opción

Experimento 3: Parasitismo y tiempo de desarrollo

La unidad experimental consistió en macetas de ¼ litro con sustrato, formulado con turba rubia, turba negra, perlita, vermiculita, fertilizantes NPK y micro elementos (marca *Dynamics*® N°3). Las macetas contenían en su interior tres plantas de avena de 3 días de crecimiento desde su germinación y una planta de rúcula con 2-3 hojas verdaderas. Cada maceta fue cubierta por un cilindro hueco de acetato de aproximadamente 25 cm de altura, cuyo extremo superior fue cubierto por una malla de voile sujetada por una banda elástica. En cada maceta, las plantas de avena ocuparon una mitad y la planta de rúcula la mitad restante. Para separar físicamente las especies vegetales, se colocó entre ellas una lámina de acetato, la cual separaba parcialmente cada planta hospedera quedando un espacio abierto por donde el parasitoide podía circular libremente (Figura 25).

La unidad experimental fue infestada con 100 ninfas de 2º-3º estadio de *R. padi* en la mitad correspondiente a la avena y con 100 ninfas de 2º-3º estadio de *M. persicae* en la mitad correspondiente a rúcula.

Mediante pruebas de opción doble se probaron sobre el sistema rúcula/avena-*M. persicae*/*R. padi* las siguientes procedencias del parasitoide:

- *A. colemani* criado sobre la asociación rúcula-*M. persicae* (n=20).
- *A. colemani* criado sobre la asociación avena-*R. padi* (n=20).

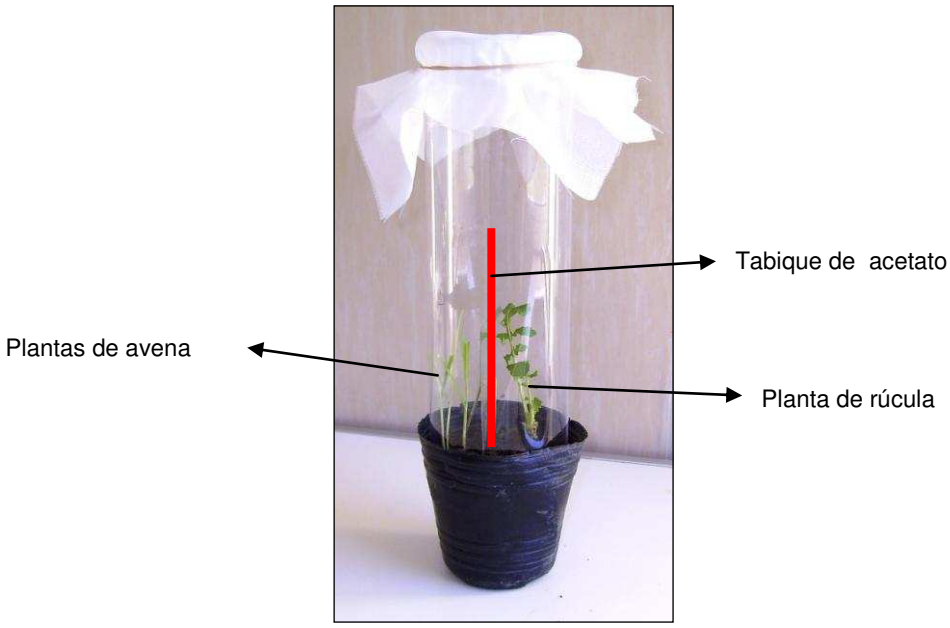


Figura 25. Unidad experimental en prueba con opción.

Se utilizó la misma metodología explicada en el experimento 1.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos para porcentaje de parasitismo (número de momias) se llevó a cabo mediante una prueba de bondad de ajuste con repeticiones (Sokal y Rohlf, 1981), y se empleó un ANOVA de dos factores (procedencia del parasitoide y asociación planta-huésped ofrecida) para analizar el tiempo de desarrollo.

Experimento 4: Parámetros poblacionales, supervivencia y fecundidad

La unidad experimental utilizada para este ensayo fue la misma que se explicó en el experimento 2 (Figura 22).

De las momias obtenidas en el experimento 3, para cada una de las asociaciones planta-áfido y para cada procedencia del parasitoide, se tomaron al azar 10 hembras previamente fecundadas, con menos de 24 horas de vida y sin experiencia previa de oviposición y se colocaron individualmente dentro de una unidad experimental conteniendo la misma asociación planta-áfido de la cual habían emergido (n=10 para cada una de las procedencias del parasitoide).

Las posibles diferencias entre los tratamientos estudiados fueron determinadas mediante un ANOVA de dos factores (procedencia del parasitoide y asociación planta-huésped elegida). Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($P< 0.05$) (Sokal y Rohlf, 1981).

Las curvas de supervivencia se analizaron siguiendo el método Kaplan-Meier, se utilizó la prueba estadística de Gehan´s Wilcoxon para comprobar la homogeneidad entre las cohortes estudiadas. Este análisis fue elegido por ser el más adecuado para los datos con los que se trabajó (curvas que se cruzan entre sí) (Gramatges Ortiz, 2002).

La fecundidad específica por edades de los adultos (m_x) se expresó como el promedio de áfidos parasitados (momias)/♀/día. Para cada procedencia del parasitoide se calculó la fecundidad total y se analizó estadísticamente mediante un ANOVA de un factor (asociación planta-áfido ofrecida).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 3: Parasitismo y tiempo de desarrollo

Los resultados obtenidos para el porcentaje de parasitismo de *A. colemani* en las pruebas con opción realizadas en el laboratorio, se presentan en la Tabla VI.

Los máximos valores de cantidad de momias y porcentaje de parasitismo observado, los mostraron los parasitoides de la procedencia avena-*R. padi* para

ambas asociaciones planta-áfido ofrecidas. Se calculó también el porcentaje de parasitismo relativo, que es la parte del parasitismo total observado en cada procedencia, que le corresponde a cada una de las 2 asociaciones planta-áfido ofrecidas.

Tabla VI. Cantidad de momias (media ± EE) y porcentaje de parasitismo de *Aphidius colemani* según su procedencia y la asociación planta-áfido elegida.

Procedencia del parasitoide	**Asociación planta-áfido**	**Cantidad de momias**	**% Parasitismo ***	**% Parasitismo relativo****
Avena-*R. padi*	Avena-*R. padi*	34,94 ± 3,97	34,94	69 a
	Rúcula-*M. persicae*	16,12 ± 3,67	16,12	31 b
Rúcula-*M. persicae*	Avena-*R. padi*	6,33 ± 1,00	6,33	41 b
	Rúcula-*M. persicae*	9,00 ± 1,39	9,00	59 a

* Se calculó como cantidad de momias x pulgones ofrecidos inicialmente / 100.
** Proporción de momias correspondientes a cada asociación planta – áfido, se calculó dentro de cada procedencia.
Letras distintas dentro de cada procedencia indican diferencias significativas (Prueba de Bondad de Ajuste con repeticiones. P<0,05)

El porcentaje de parasitismo relativo sobre cada asociación planta hospedera-áfido huésped fue desigual, con un porcentaje mayor sobre su huésped original. Se obtuvo un 69% de parasitismo en la asociación avena-*R. padi*, cuando ésta misma fue su procedencia; y un 59% sobre rúcula-*M. persicae* al estudiar el parasitoide procedente de esta asociación (prueba de Bondad de Ajuste con repeticiones: $G_{\text{procedencia avena-}R.\ padi\ (16)}=123{,}32$; $P<0{,}05$; $G_{\text{procedencia rúcula - }M.\ persicae\ (16)}=7{,}064$; $P<0{,}05$ (Tabla VI).

Los resultados obtenidos para este experimento evidenciaron que el origen previo del parasitoide influyó en la elección entre las asociaciones planta-áfido ofrecidas. Para ambas procedencias evaluadas se obtuvo un porcentaje mayor sobre su

huésped original. Este efecto del origen previo de *A. colemani* sobre su preferencia como parasitoide ya ha sido registrado por otros autores. Por ejemplo, Bilu *et al.* (2006) hallaron que hembras de *A. colemani* procedentes de pimiento-*M. persicae* y rábano-*M. persicae* pasaban más tiempo y parasitaban en mayor medida sobre la asociación planta-áfido de la cual provenían. Asimismo, en pruebas de preferencia mediante el uso de olfatómetro, Grasswitz (1998) encontró que aún una corta experiencia previa (15 minutos) sobre la asociación pimiento-*M. persicae* bastaba para intensificar la cantidad de vuelos de adultos de *A. colemani* dirigidos hacia esta asociación planta-áfido en particular.

Sin embargo, aún cuando la preferencia estuvo volcada hacia la asociación del origen previo del parasitoide, *A. colemani* también fue capaz de dejar descendencia en la otra opción planta-áfido ofrecida, es decir el parasitoide es fisiológicamente compatible con ambas asociaciones planta-áfido. Este hecho es de suma importancia ya que, según Starý (1993), para que el sistema de hospedera alternativa sea eficaz, el parasitoide debe ser capaz de ciclar entre el sistema cultivo - plaga y el sistema alternativo.

La Tabla VII muestra el tiempo de desarrollo de los períodos huevo-pupa y pupa-adulto para las cuatro cohortes de *A. colemani* estudiadas. Para el período huevo-pupa, la interacción "Procedencia × Asociación" resultó significativa ($F_{(3,69)}$=4,63; P=0,0349). Para el período pupa-adulto se observó un efecto significativo de la procedencia ($F_{(1,69)}$=34,67; P<0,001), mostrando una mayor duración de este período cuando el parasitoide fue criado sobre rúcula-*M. persicae*.

Tabla VI. Tiempo de desarrollo (media ± EE) de *Aphidius colemani* según su procedencia y la asociación planta-áfido ofrecida.

Procedencia del parasitoide	Asociación planta-áfido	Huevo- pupa (días)	Pupa- adulto (días)
Avena-*R. padi*	Avena-*R. padi*	8,1 ± 0,11 a	4,9 ± 0,12 a
	Rúcula-*M. persicae*	8,1 ± 0,13 a	5,1 ± 0,18 a
Rúcula-*M. persicae*	Avena-*R. padi*	8,7 ± 0,16 b	5,9 ± 0,09 b
	Rúcula-*M. persicae*	8,0 ± 0,23 a	5,7 ± 0,12 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05). ANOVA, Test de Tuckey.

La estimación del tiempo de desarrollo es de suma importancia, ya que es uno de los parámetros que permite estimar el potencial del parasitoide como agente de biocontrol, siendo lo deseable un breve período de desarrollo perimaginal del parasitoide respecto de la plaga (De Bach, 1974). El tiempo de desarrollo para el período pupa-adulto mostró diferencias significativas entre ambas procedencias, siendo de mayor duración (aproximadamente un día) en la procedencia rúcula-*M. persicae* (Tabla VII). Para el período pupa-adulto no se encontró un efecto de la asociación planta-áfido sobre la cual se desarrolló el parasitoide.

Según Sampaio *et al.* (2005), el comportamiento biológico de *A. colemani* puede verse influenciado por el entorno del cual proviene, entendiéndose por entorno la asociación planta- huésped y el ambiente en el cual éstas se desarrollan. En el presente trabajo, el hecho de contar con dos procedencias distintas de *A. colemani* implica que se utilizaron parasitoides adaptados a distintos entornos y fuentes de alimento. Por ello, es esperable que las procedencias difieran en cuanto al tiempo de desarrollo para ambos períodos estudiados (huevo-pupa y pupa-adulto).

El tiempo de desarrollo promedio de los estadios inmaduros para el parasitoide de la procedencia avena-*R. padi* fue de 13,1 ± 0,15 días y 13,2 ± 0,22 días sobre las

asociaciones avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae*, respectivamente. Para la procedencia rúcula-*M. persicae*, se obtuvieron valores de 14,6 ± 0,22 días y 13,7 ± 0,30 días sobre las mismas asociaciones. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores. Por ejemplo, Sampaio *et al.* (2005) estimaron tiempos de 12,1 ± 0,04, 12,4 ± 0,08 y 12,3 ± 0,05 días sobre pepino infestado con *Aphis gossypii* para poblaciones de *A. colemani* de diferentes regiones climáticas, a 22ºC. Soglia *et al.* (2006) reportaron un tiempo de desarrollo de 17,0 ± 3,14 y 16,3 ± 2,34 días sobre dos cultivares de crisantemo infestados con *Aphis gossypii*, a 22 ºC, mientras que Sampaio *et al.* (2008) obtuvieron un tiempo de desarrollo de 12,2 ± 0,10 días para *A. colemani* sobre col infestada con *M. persicae*, a 22 ºC.

Experimento 4: Parámetros poblacionales, supervivencia y fecundidad

No se observaron diferencias significativas en la tasa reproductiva neta (R_0) entre las cuatro cohortes estudiadas ($F_{(1,34)}$=1,236; P=0,273). De igual manera ocurrió para el tiempo de duplicación (D) ($F_{(1,28)}$=0,53; P=0,472). Por otro lado, la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) fue significativamente mayor cuando la procedencia del parasitoide fue rúcula-*M. persicae* ($F_{(1,34)}$=8,85; P=0,0054), mientras que el tiempo generacional medio (T) fue menor para esta misma procedencia ($F_{(1,28)}$= 15,72; P<0,001) (Tabla VIII).

Se dice que un enemigo natural puede ser efectivo cuando su tasa intrínseca de crecimiento (r_m) es igual o mayor que la de la plaga que se desea combatir (Vivan *et al.,* 2002). Los valores de r_m obtenidos para la plaga (*M. persicae*) sobre rúcula fueron de 0,18 a 15ºC y de 0,27 a 25ºC, mientras que los valores de r_m obtenidos para el parasitoide sobre la asociación rúcula-*M. persicae* fueron de 0,20 (cuando la procedencia fue avena-*R. padi*) y de 0,22 (cuando la procedencia fue rúcula-*M. persicae*) a 22ºC (Tabla VII). Estos valores son similares a los obtenidos por Cividanes y Souza (2003) para *M. persicae* sobre col a 23ºC (r_m= 0,235) y los

obtenidos por Chi y Su (2006) para *Aphidius gifuensis* en col infestada con *M. persicae* ($r_{m=}$0,264).

Torres *et al.* (2007) evaluaron a *A. colemani* en pepino infestado con *Aphis gossypii* y obtuvieron valores de r_m superiores a los obtenidos en este trabajo (r_m=0,384). Sin embargo, estos autores estimaron el potencial reproductivo de *A. colemani* a través de disecciones de áfidos, lo cual les permitió computar aquellos casos en que las hembras ovipusieron pero la larva no llegó a completar su desarrollo. En este trabajo, los casos en donde la momia no llegó a formarse pasaron inadvertidos. Además, estos autores trabajaron bajo condiciones experimentales más artificiales que las usadas aquí (discos foliares de pepino dentro de cajas de Petri). Por otro lado, en este trabajo los experimentos se hicieron con plantas enteras dentro de macetas conteniendo tierra, y posiblemente, en este sistema más natural, algunas momias pueden haberse desprendido de las plantas y caído al sustrato, impidiendo su localización y posterior conteo.

Tabla VIII. Parámetros poblacionales (media ± EE) de *Aphidius colemani* según la procedencia y la asociación planta-áfido ofrecida.

Procedencia del parasitoide	**Asociación planta-áfido**	**R_0** (momias/♀)	**r_m** (momias/♀/día)	**T** (días)	**D** (días)
Avena-*R. padi*	Avena-*R. padi*	20,24 ± 5,91 a	0,19 ± 0,02 a	16,07 ± 0,49 a	3,61 ± 0,34 a
	Rúcula-*M. persicae*	23,67 ± 13,71 a	0,20 ± 0,04 a	17,46 ± 0,40 a	3,23 ± 1,20 a
Rúcula-*M. persicae*	Avena-*R. padi*	39,07 ± 6,58 a	0,25 ± 0,01 b	14,73 ± 0,33 b	2,77 ± 0,10 a
	Rúcula-*M. persicae*	28,59 ± 4,30 a	0,22 ± 0,01 b	15,19 ± 0,25 b	3,12 ± 0,11 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05). ANOVA, Test de Tuckey.

El tiempo generacional medio (T) presentó diferencias significativas entre las dos procedencias del parasitoide utilizadas; las hembras procedentes de rúcula-*M. persicae* mostraron un valor de T significativamente menor en ambas asociaciones planta-áfido ofrecidas. El valor mínimo de T se obtuvo para el parasitoide procedente de rúcula-*M. persicae* que se desarrolló sobre avena-*R. padi* (T=14,73 ± 0,33) y el valor máximo correspondió al procedente de avena-*R. padi* desarrollado sobre rúcula-*M. persicae* (T=17,46 ± 0,40).

Torres *et al.* (2007) reportaron un tiempo generacional medio de 13,74 días para *A. colemani* en pepino infestado con *Aphis gossypii*, a 22 ºC. Chi y Su (2006) obtuvieron un valor de T=14,5 ± 0,2 para *Aphidius gifuensis* en col infestada con *M. persicae*, a 22 ºC. Estos valores de T fueron cercanos a los obtenidos en el presente estudio, especialmente para la procedencia rúcula-*M. persicae* del parasitoide.

La evaluación de estos parámetros biológicos y poblacionales evidenció que el parasitoide de ambas procedencias estudiadas puede aumentar en número sobre las asociaciones avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae.* Se encontraron diferencias significativas entre las procedencias estudiadas de *A. colemani* para la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) y el tiempo generacional medio (T), favoreciendo en ambas ocasiones a la procedencia rúcula-*M. persicae*. El estudio de los parámetros biológicos del parasitoide sugiere que los insectos de esta procedencia son más aptos para controlar la plaga de *M. persicae* que los de la procedencia avena-*R. padi*. Posiblemente los mejores valores de R_0 y r_m para *A. colemani* en rúcula-*M. persicae*, se deban a que el áfido *R. padi* no proporciona un medio óptimo para el desarrollo del parasitoide como lo mencionan algunos autores que han descrito a *R. padi* como un huésped de baja calidad (Bilu *et al*., 2006; Ode *et al*., 2005).

No se encontraron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de las cuatro cohortes estudiadas (Gehan´s Wilcoxon, P=0,540). El 50 % de las

hembras de la población (l_{x50}) sobrevivieron hasta el día 3 aproximadamente (Figura 26). Tres de las cuatro cohortes estudiadas presentaron en su inicio una curva de Tipo I, pues en su primer día de vida adulta estas hembras presentaron una mortalidad nula. Este fue el caso del parasitoide de la procedencia rúcula-*M. persicae* desarrollado sobre rúcula-*M. persicae* y el de la procedencia avena-*R. padi* desarrollado sobre las dos asociaciones planta-áfido estudiadas. Luego del día uno, estas tres curvas adquirieron una apariencia de tipo II, pues los parasitoides adultos comenzaron a morir en forma más o menos constante. La cohorte de *A. colemani* de la procedencia rúcula-*M. persicae* que se desarrolló sobre avena-*R. padi*, fue la única que presentó una curva de tipo II desde el nacimiento de las hembras.

La mediana de supervivencia (l_{x50}) en la asociación avena-*R. padi* fue de 3 días para ambas procedencias. En la asociación rúcula-*M. persicae*, la l_{x50} fue de 2 días y 3,5 días para los parasitoides de las procedencias avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae*, respectivamente.

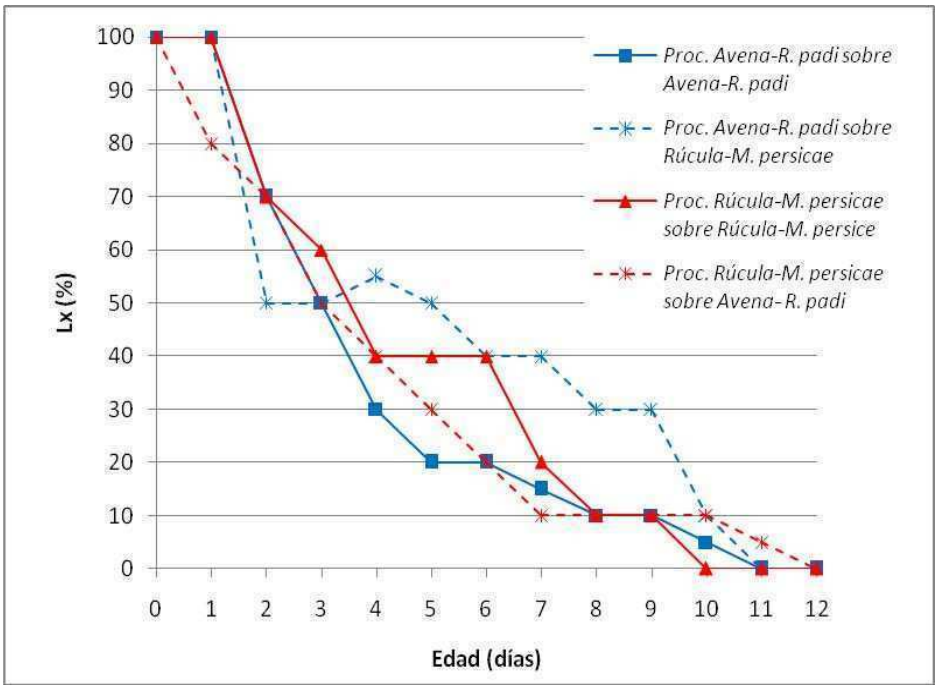


Figura 26. Curvas de supervivencia (L_x) de hembras de *Aphidius colemani* para las cuatro cohortes estudiadas.

Se ha visto que una planta, como fuente de alimento, puede afectar el tamaño, el tiempo de desarrollo y la supervivencia tanto de los fitófagos que alberga como también de los enemigos naturales que se alimentan de dichos herbívoros (Bottrell *et al.*, 1998). Dado que en el laboratorio no hubo escasez de recursos, condiciones de hacinamiento, ni variaciones de temperatura, humedad relativa o alguna otra fuente de mortalidad externa, el comportamiento de las curvas de supervivencia (l_x) podría atribuirse a la asociación planta-áfido sobre la cual se desarrolló el parasitoide y a las interacciones dentro de este sistema tri-trófico.

Las curvas de fecundidad específica por edades (m_x) obtenidas para las cuatro cohortes estudiadas se presentan en la Figura 27. Se observó cómo el parasitoide de la procedencia rúcula-*M. persicae* inició su período reproductivo aproximadamente dos días antes que los individuos de la procedencia avena-*R. padi*, indistintamente de la asociación planta-áfido sobre la cual se desarrolló. Además, la duración del período reproductivo fue mayor para la procedencia rúcula-*M. persicae*, siendo de aproximadamente 8 y 9 días, sobre las asociaciones avena-*R. padi* y rúcula-*M. persicae*, respectivamente. El período reproductivo de las hembras de la procedencia avena-*R. padi* fue de aproximadamente 6 días. Indistintamente sobre la asociación planta-áfido sobre la cual se desarrolló. Los máximos valores de fecundidad específica en la procedencia avena-*R. padi* se encontraron en los últimos días de su período reproductivo. De manera que en el día 7, esta procedencia alcanzó un valor máximo de 22 momias/♀/día al desarrollarse sobre avena-*R. padi* y de 18 momias/♀/día sobre rúcula-*M. persicae*. Por otro lado, la procedencia rúcula-*M. persicae* presentó el máximo de fecundidad al inicio de su período reproductivo con 18 momias/♀/día sobre avena-*R. padi* y alrededor de 10 momias/♀/día sobre rúcula-*M. persicae* el día 3 de su período reproductivo (Figura 27).

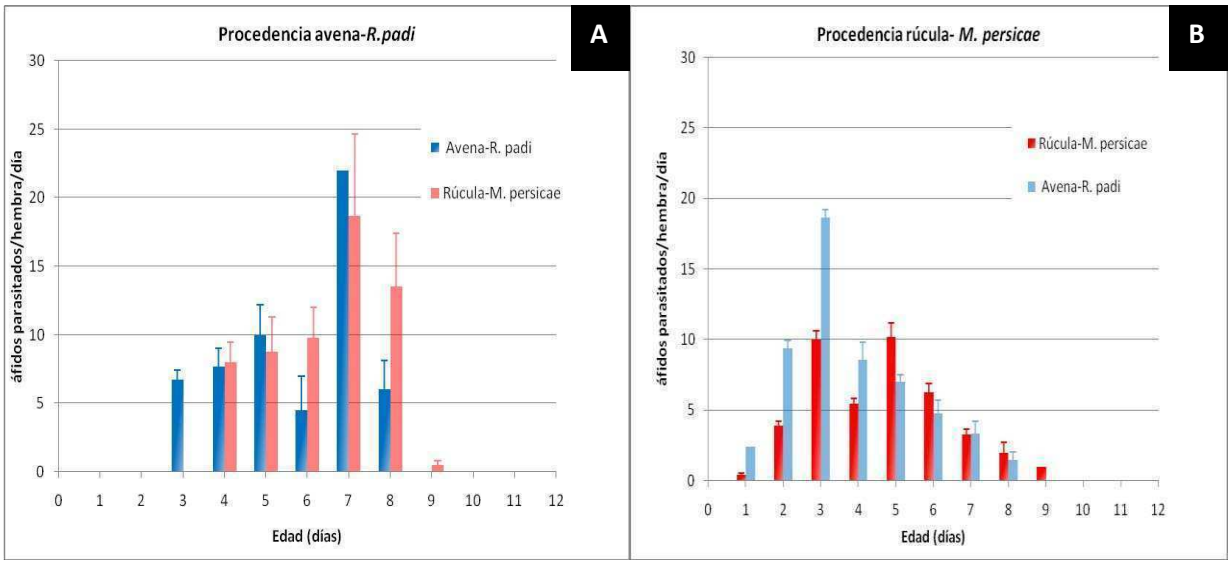


Figura 27. Curvas de fecundidad (m_x) de *Aphidius colemani* para los dos orígenes del parasitoide estudiados. A) Procedencia avena-*R. padi*. B) Procedencia rúcula - *M. persicae*.

Los máximos valores de fecundidad específica en la procedencia avena-*R. padi* se encontraron en los últimos días de su período reproductivo (día 7), lo cual resulta atípico. Lo más común es que las hembras de *A. colemani* alcancen su máximo de fecundidad específica pocos días después de emerger y que luego comience a disminuir gradualmente, como ocurrió con la procedencia rúcula-*M. persicae* (Hagvar y Hofsvang, 1991).

En un sistema tri-trófico (planta-áfido-parasitoide), tanto la planta como la especie de áfido huésped y las interacciones entre ambos niveles tróficos influyen en el desarrollo de los parasitoides que completan el sistema. Bottrell *et al.* (1998) discuten sobre la forma en que la planta hospedera puede afectar el desempeño tanto de los áfidos huéspedes como de los parasitoides que se alimentan de ellos; y según Bai (1991) la calidad de los áfidos parasitados influye sobre el tamaño y la fecundidad de los parasitoides desarrollados en su interior. La asociación

planta-áfido de la cual proviene *A. colemani* sería capaz de afectar el potencial reproductivo del parasitoide.

Torres *et al.* (2007) reportan una duración de 6 días para el período reproductivo de *A. colemani* en pepino infestado con *Aphis gossypii*, a 22ºC, este resultado es semejante a lo observado en este ensayo para la procedencia avena-*R. padi* (7 días). Además, estos autores observaron hembras del parasitoide que mostraron su máximo de fecundidad específica en su primer día de vida y ovipusieron el 89,4% de sus huevos al cabo de 3 días de vida.

Bai (1991) en una descripción de los parasitoides del género *Aphidius*, afirma que las hembras son capaces de oviponer un promedio de 40-100 huevos diarios. Por otro lado, Torres *et al.* (2007) reportan un máximo de fecundidad específica de 188,6 ± 5,25 huevos/♀/día. Es importante remarcar que este valor de fecundidad diaria, que se encuentra por encima del promedio citado, fue obtenido al estimar el potencial reproductivo de *A. colemani* mediante disecciones de *Aphis gossypii* expuesto al parasitoide en placas de Petri. Este tipo de disecciones se utiliza para estimar el potencial reproductivo del parasitoide mediante el conteo de larvas en el interior del áfido plaga. El número de larvas encontradas es considerado una estimación confiable de la cantidad de huevos que las hembras del parasitoide depositan en el interior de la plaga. Así, es posible tomar en cuenta aquella parte de la descendencia que perece por parasitismo incompleto (la larva muere antes de matar al huésped) y los casos de superparasitismo (la hembra ovipone más de un huevo en un mismo huésped). A pesar que la metodología para evaluar la fecundidad seguida en este trabajo fue diferente, no alcanza para justificar las diferencias encontradas con los valores bibliográficos. Se puede considerar que la fecundidad observada, fue baja para todas las cohortes estudiadas.

Por otro lado, la fecundidad total no difirió estadísticamente para cada una de las procedencias estudiadas ($F_{\text{procedencia avena-}R.\ padi(1,12)}$= 0,338; P=0,571; $F_{\text{procedencia rúcula-}M.\ persicae\ (1,18)}$= 1,814; P=0,195). Para la procedencia avena-*R. padi* los valores

promedio fueron de 22,13 ± 10,93 y 31,83 ± 12,61 momias para las asociaciones avena- *R. padi* y rúcula – *M. persicae*, respectivamente. Para la procedencia rúcula- *M. persicae* los promedios fueron 39,1 ± 6,57 y 28,5 ± 4,32 momias para las asociaciones avena- *R. padi* y rúcula – *M. persicae*, respectivamente.

CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO 3

Las pruebas de opción doble evidenciaron que la procedencia del parasitoide *A. colemani* influyó en forma significativa en la elección entre las asociaciones planta hospedera-áfido huésped estudiadas. Esto condicionó la preferencia del parasitoide en favor de la asociación planta-áfido de origen.

Aún existiendo una preferencia, *A. colemani* es capaz de sobrevivir, desarrollarse y dejar descendencia en la asociación hospedera alternativa-áfido alternativo, independientemente de la procedencia del parasitoide.

Capítulo 4

Compatibilidad de uso del parasitoide *Aphidius colemani* con algunos insecticidas utilizados en producciones hortícolas

INTRODUCCIÓN

Si bien la utilización de parasitoides a través del uso de un sistema de plantas hospederas y huéspedes alternativos se adapta mejor a producciones orgánicas (sin el empleo de agroquímicos) no se descarta la posibilidad de utilizar este sistema de control biológico en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP).

Uno de los factores que más influye en el éxito de un programa de MIP es la compatibilidad del control biológico y el control químico, es decir la utilización de agroquímicos que no afecten a los enemigos naturales presentes en los sistemas de cultivo. Cuando no existe información referida a dicha compatibilidad, se tiende a realizar un MIP con mayor intervención de agroquímicos, pero teniendo en cuenta los umbrales de daño. Sin embargo, en los últimos años y debido al aumento de las buenas prácticas agrícolas, la tendencia es buscar un MIP basado principalmente en el control biológico, con pocas intervenciones químicas (Bielza, 2007).

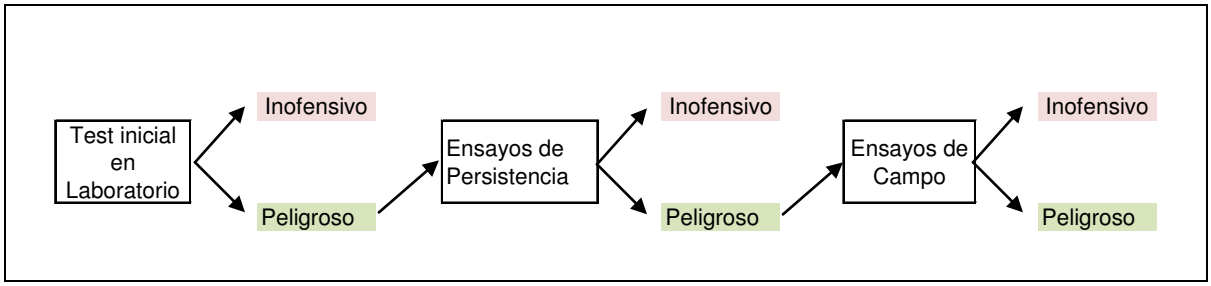
Según Bielza *et al*. (2001) y Bielza (2007) es de crucial importancia para el futuro del MIP estudiar en profundidad la compatibilidad de los agroquímicos con los enemigos naturales e inclusive, con los polinizadores. Para estos autores se deberá lograr el control de las poblaciones de las plagas a través de la acción conjunta biológica y química, buscando las sinergias entre ambos tipos de control y no su acción por separado.

La posibilidad de usar plaguicidas compatibles con los enemigos naturales resultará entonces, en una mayor posibilidad de aplicación del control biológico.

La principal limitante del MIP basado principalmente en el control biológico, es el empleo de agroquímicos no selectivos (Van Driesche y Bellows, 1996). En planes de MIP el uso de los plaguicidas debe respetar a los enemigos naturales tanto a

través de su *selectividad fisiológica* como de su *selectividad física o ecológica* (De Bach, 1974; Van Driesche y Bellows, 1996). La *selectividad fisiológica* se refiere a la toxicidad intrínseca del principio activo. Los productos químicos varían enormemente en su toxicidad y existen muy pocos casos en los que son altamente efectivos contra la plaga e inocuos para el enemigo natural. La *selectividad física o ecológica* tiene que ver con el grado de contacto entre el producto y el enemigo natural, lo que está directamente afectado por la concentración, la formulación, el modo de acción, la persistencia en el ambiente y la metodología de aplicación.

La Organización Internacional de Control Biológico (abreviatura en inglés: IOBC) ha delineado pruebas a nivel de laboratorio y campo que permiten seleccionar los agroquímicos según su efecto sobre los enemigos naturales (Hassan *et al*., 1985; Hassan, 1997) a través de un procedimiento en cascada:



Fuente: Riquelme, 2009

El test inicial en laboratorio consiste en pruebas de toxicidad directa sobre los estadios de desarrollo de los enemigos naturales que eventualmente pueden estar expuestos a los agroquímicos. En el caso de los parasitoides, se considera que el estado más susceptible es el adulto, mientras que los más tolerantes son los que se desarrollan dentro de su huésped (Hassan, 1997). Las pruebas de toxicidad directa permiten determinar los productos que no causan efectos negativos sobre los enemigos naturales (inofensivos), mientras que aquellos que

presentan signos de toxicidad deben ser además estudiados en ensayos de persistencia, y en semicampo y/o campo.

La persistencia de la actividad tóxica de los agroquímicos es un factor de suma importancia, ya que pueden existir productos que en las pruebas anteriores demuestren ser tóxicos pero que su efecto sea de vida corta (=baja persistencia), por lo que un correcto manejo de los intervalos de liberación/aplicación podría permitir su empleo combinado con los enemigos naturales.

Finalmente, las pruebas de semicampo y campo, verifican la toxicidad de los productos y proporcionan importante información de uso práctico. Se realizan liberando los enemigos naturales directamente sobre el cultivo experimental o comercial que ha sido pulverizado, y evaluando, luego del tratamiento, la supervivencia y/o la actividad de los parasitoides a diferentes períodos de tiempo.

El objetivo de este capítulo fue:

- Evaluar el efecto colateral de algunos productos químicos de uso frecuente en horticultura sobre el parasitoide de áfidos, *Aphidius colemani.*

4a) Toxicidad directa sobre el estado adulto de *A. colemani*

MATERIALES Y MÉTODOS

Para esta y las demás pruebas se evaluaron en laboratorio algunos principios activos comúnmente utilizados en el control de plagas en cultivos hortícolas, considerando las dosis recomendadas comercialmente (CASAFE, 2007). Se evaluaron los siguientes principios activos:

Principio activo	Marca comercial	Dosis
PYRIPROXIFEN	EPINGLE	60 cc./hl
PYMETROZINE	CHESS	50 g/hl
IMIDACLOPRID	CONFIDOR	50 cc./hl
ACETAMIPRID	MOSPILAN	200 g/hl
TIAMETOXAN	ACTARA	50 g/hl
PIRIDABEN	SANMITE	100 cc./hl

En todos los casos se utilizó agua destilada como solvente y testigo. Todas las pulverizaciones se realizaron en el Instituto de Ingeniería Rural, INTA Castelar, con la colaboración del Ing. Agr. Gerardo Masiá.

Efecto sobre la supervivencia de adultos de A. colemani

Los tratamientos se realizaron con un equipo pulverizador con una boquilla de cono hueco 8001, marca Teejet a 200 kPa de presión y una altura del objetivo de 0,40 m. La metodología fue adaptada de Mead-Briggs *et al.* (2000). Se utilizaron placas de vidrio de 13 x 13 cm (2 placas por dispositivo) para formar el techo y el piso del dispositivo que se muestra en la Figura 28. Las placas de vidrio se asperjaron en su cara interna con cada uno de los principios activos por separado. Se utilizaron 8 réplicas por tratamiento. El testigo fue considerado un tratamiento más (con n=8) en el cual se utilizó agua destilada para la pulverización. Una vez seca la superficie tratada, en cada dispositivo se colocaron grupos de 10 adultos (5♀ y 5♂) de *A. colemani* de menos de 24h de vida; los dispositivos se mantuvieron en una cámara bajo condiciones controladas (25 ± 1 ℃, 70%HR y ventilación constante). Se evaluó la proporción de individuos muertos a las 2 y 24 horas post tratamiento.

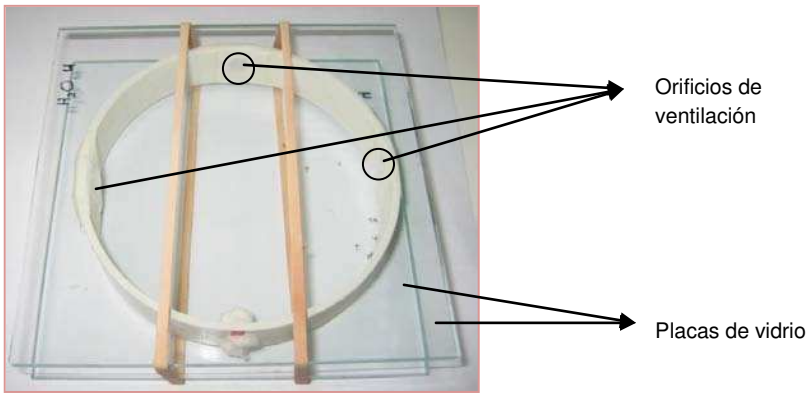


Figura 28. Dispositivo utilizado en las pruebas de toxicidad directa sobre adultos (adaptado de Mead-Brigs *et al*., 2000).

Efecto sobre el parasitismo de A. colemani

Cinco parejas de parasitoides fueron colocadas individualmente en los dispositivos mostrados en la Figura 28, cuyas placas de vidrio fueron previamente tratadas con los productos de la manera explicada anteriormente y utilizando un tratamiento testigo con agua destilada. El tiempo de exposición fue de 2h. Los dispositivos se mantuvieron en una cámara bajo condiciones controladas (25 ± 1°C, 70%HR y ventilación constante). Después de este lapso, las hembras aún vivas fueron expuestas en plantas de pimiento a ninfas II–III de *M. persicae* durante 24h. Transcurridos aproximadamente 7 días, tiempo requerido para que ocurra la momificación de los áfidos, se evaluó el número de ninfas parasitadas (=momias) por cada hembra de *A. colemani*.

Análisis: La supervivencia de los adultos del parasitoide luego de 2 y 24 h, como así también la cantidad de ninfas parasitadas fueron evaluadas mediante la prueba de Kruskal-Wallis, por no cumplirse los supuestos del ANOVA. Posteriormente se compararon las medias por la prueba de Connover (Infostat, 2010).

Los productos fueron clasificados según el criterio propuesto por la IOBC (Hassan *et al*., 1985; Hassan, 1997), de acuerdo con los porcentajes de reducción en la supervivencia y de reducción del parasitismo con respecto al testigo, luego de 24 h de exposición al producto (Mead-Brigs *et al*., 2010), según la escala siguiente:

Clase	Característica
(1)	Inofensivo: <30%;
(2)	Poco perjudicial: 30-79%;
(3)	Moderadamente perjudicial: 80-99%;
(4)	Perjudicial: >99%.

RESULTADOS

Efecto sobre la supervivencia de adultos de A. colemani

Luego de 2 horas de exposición de los adultos de *A. colemani* a los productos Pyriproxifen, Pymetrozine, Imidacloprid y Acetamiprid no se observaron diferencias significativas con el testigo; en cambio, se observaron diferencias significativas en la supervivencia en los tratamientos con Tiametoxan (45%) y Piridaben (14%). Después de 24 horas de exposición, los productos Acetamiprid, Tiametoxan y Piridaben mostraron diferencias significativas con el testigo.

El 86% y el 55% de los individuos expuestos a Piridaben y Tiametoxan, respectivamente, murieron antes de las 2 horas (Figura 29); a las 24 hs, la supervivencia de los adultos de *A. colemani* expuestos a ambos tóxicos, fue muy baja para el Piridaben (98%) y nula para Tiametoxan.

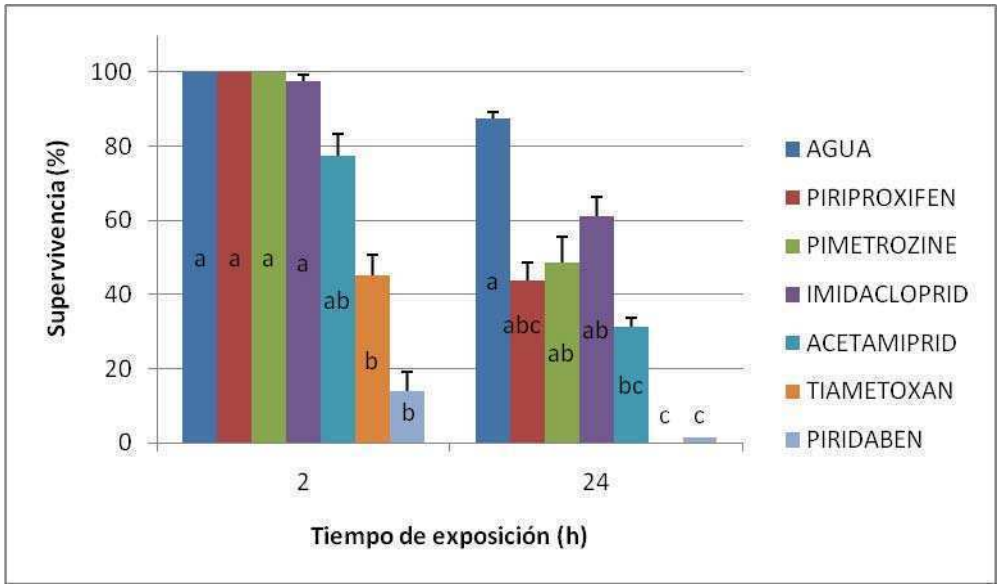


Figura 29. Supervivencia de adultos de *A. colemani* luego de 2 y 24 horas de exposición a insecticidas. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada tiempo (Connover, $p<0.05$).

La clasificación de los productos según la supervivencia luego de 24 horas de exposición se presenta en la Tabla IX.

Tabla IX. Clasificación de los agroquímicos según el porcentaje de reducción en la supervivencia luego de 24 h de exposición.

Principio activo	Marca comercial	Clasificación según IOBC
PYRIPROXIFEN	**EPINGLE**	(2) Poco perjudicial
PYMETROZINE	**CHESS**	(2) Poco perjudicial
IMIDACLOPRID	**CONFIDOR**	(2) Poco perjudicial
ACETAMIPRID	**MOSPILAN**	(2) Poco perjudicial
TIAMETOXAN	**ACTARA**	(4) Perjudicial
PIRIDABEN	**SANMITE**	(4) Perjudicial

Efecto sobre el parasitismo de A. colemani

En todos los casos la cantidad de ninfas parasitadas (momias) luego de 24 h de exposición a los productos, fue significativamente menor con respecto al testigo. Para los productos Tiametoxan y Piridaben el parasitismo fue nulo debido a que la mortalidad de las hembras adultas fue del 100% al cabo de 24 h de exposición (Tabla X). Para el caso del Piridaben el pequeño porcentaje de supervivencia correspondió a un macho.

El protocolo de la IOBC propone evaluar la toxicidad directa a través del efecto sobre el parasitismo o la supervivencia. Como en este trabajo se evaluaron ambos parámetros, la clasificación final considerada es aquella que corresponde al parámetro más afectado por el agroquímico. Sobre la base de los datos obtenidos, el parámetro más afectado fue el parasitismo (Tabla X).

Tabla X. Número de momias por hembra de *A. colemani* luego de 24 h de exposición a insecticidas y clasificación de los agroquímicos según IOBC

Principio activo	Marca comercial	Parasitismo (Media ± EE)	Clasificación según IOBC
AGUA		20,67 ± 4,73 a	
PYRIPROXIFEN	**EPINGLE**	1,5 ± 1,34 b	(3) Moderadamente perjudicial
PYMETROZINE	**CHESS**	0,8 ± 0,4 b	(3) Moderadamente perjudicial
IMIDACLOPRID	**CONFIDOR**	3,67 ± 2,46 ab	(3) Moderadamente perjudicial
ACETAMIPRID	**MOSPILAN**	1,00 ±0,44 b	(3) Moderadamente perjudicial
TIAMETOXAN	**ACTARA**	0	(4) Perjudicial
PIRIDABEN	**SANMITE**	0	(4) Perjudicial

4b) Toxicidad directa sobre los estados inmaduros de *A. colemani*

MATERIALES Y MÉTODOS

Dos parejas (♀♂) de *A. colemani* fueron expuestas a una planta de pimiento con 100 ninfas II –III de *M. persicae* durante 24 horas. Luego de 7 días (estado pupal del parasitoide) las plantas de pimiento con las ninfas parasitadas (momias) fueron pulverizadas con cada agroquímico (n=8, incluído el tratamiento testigo) utilizando el mismo equipo pulverizador mencionado en el punto 4a, pero elevando la altura del objetivo a 0,60 m. Las plantas fueron colocadas en una cámara bajo condiciones controladas (25 ± 1°C, 70%HR y ventilación constante). Previo a la emergencia de los adultos, las momias se colocaron individualmente en tubos de ensayo. Se evaluó: el porcentaje de emergencia, la cantidad de individuos deformes (aquellos que no pueden desplegar sus alas) y la proporción sexual (nro. ♀/total de adultos).

Análisis: El porcentaje de emergencia (adultos emergidos sobre el total de ninfas parasitadas), el número de individuos deformes y la proporción sexual fueron evaluados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis por no cumplirse los supuestos del ANOVA; se realizaron comparaciones entre medias por el test de Connover (Infostat, 2010). Los productos fueron clasificados siguiendo los mismos criterios explicados en el ensayo anterior (Hassan, 1997).

RESULTADOS

El Piridaben afectó el desarrollo del parasitoide reduciendo significativamente el porcentaje de emergencia cuando fue aplicado al estado de pupa (test de

Connover, $p<0.05$) (Figura 30). La cantidad de individuos deformes fue muy baja para todos los tratamientos y no difirió significativamente del testigo.

La proporción sexual no presentó diferencias significativas entre los parasitoides sometidos a los productos agroquímicos y al agua. Todos los tratamientos mostraron valores cercanos a 0,5.

Los productos se clasificaron según la escala de la IOBC teniendo en cuenta la reducción en el porcentaje de emergencia (Tabla XI).

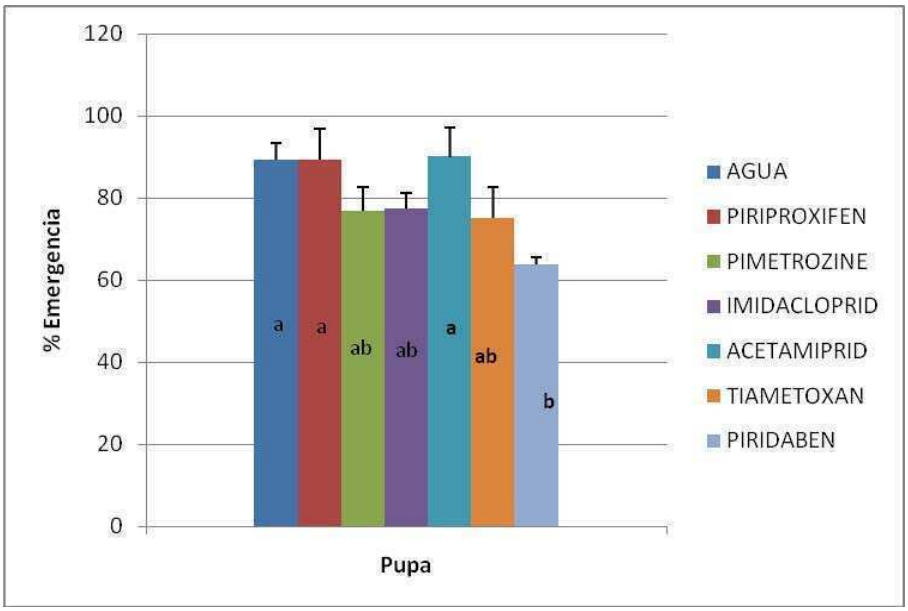


Figura 30. Porcentaje (media ± EE) de adultos emergidos de *A. colemani* provenientes de ninfas de *M. persicae* expuestos a insecticidas en el estado de pupa. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas con el testigo (Connover, $p<0.05$).

Tabla XI. Clasificación de los agroquímicos según el porcentaje de reducción en el porcentaje de emergencia de adultos de *A. colemani* expuestos a insecticidas en el estado de pupa.

Principio activo	Marca comercial	Clasificación según IOBC
PYRIPROXIFEN	**EPINGLE**	(1) Inofensivo
PYMETROZINE	**CHESS**	(1) Inofensivo
IMIDACLOPRID	**CONFIDOR**	(1) Inofensivo
ACETAMIPRID	**MOSPILAN**	(1) Inofensivo
TIAMETOXAN	**ACTARA**	(1) Inofensivo
PIRIDABEN	**SANMITE**	(2) Poco perjudicial

4c) Persistencia de la acción de los productos

MATERIALES Y MÉTODOS

En un invernadero experimental con techo y paredes de vidrio (6 x 4,8 m), cuyas condiciones ambientales fueron 15-28ºC, 50-90% HR y fotoperíodo natural, grupos de 4 plantas de pimiento por tratamiento, fueron pulverizadas a punto de goteo con los productos utilizados en los ensayos anteriores. Luego de 4, 14, y 29 días desde la pulverización se dispusieron 100 ninfas II – III de *M. persicae,* provenientes de la cría mantenida en el IILB, sobre las plantas tratadas. Cada planta fue expuesta a una pareja del parasitoide (<24 h de edad) dentro de un cilindro de acetato (Figura 31). Luego de 24h los parasitoides adultos fueron retirados y las plantas de pimiento fueron colocadas en una cámara bajo condiciones controladas (25 ± 1ºC, 70%HR y ventilación constante) hasta la fecha

en que se observó el parasitismo. Se registró la cantidad de ninfas de *M. persicae* parasitadas durante 24 h para los 3 tiempos de exposición a los productos y al agua (testigo).

Figura 31. Planta de pimiento cubierta con cilindro de acetato. Unidad experimental utilizada en prueba de persistencia.

Análisis: la variable cantidad de ninfas parasitadas por hembra fue analizada a través de un ANOVA de un factor (producto) y las medias de los tratamientos fueron separadas por la prueba de Tuckey (Statsoft, 2000).

Los productos fueron clasificados según la escala propuesta por la IOBC (Hassan, 1997):

La reducción en más de un 30% del parasitismo con respecto al testigo durante:

(1) Menos de 5 días, corresponde a un insecticida de *vida corta*

(2) Entre 5 y 15 días, corresponde a un insecticida *poco persistente*

(3) Entre 15 y 30 días, corresponde a un insecticida *moderadamente persistente*

(4) Más de 30 días, corresponde a un insecticida *persistente*

RESULTADOS

En todas las fechas existieron diferencias significativas entre tratamientos (4 días: $F_{6,13}$=7,9239, p=0,00096; 14 días: $F_{6,12}$=13,1949, p=0,000115; 29 días: $F_{5,9}$= 13,731, p=0,00055).

Todos los productos difirieron significativamente del testigo (agua) luego de 4 días desde la aplicación (Figura 32). Los seis insecticidas evaluados redujeron el número medio de ninfas parasitadas en este lapso, en más del 63%.

Luego de 14 días para el Imidacloprid, la reducción en el porcentaje de parasitismo con respecto al testigo fue menor al 30%, con lo cual este producto fue clasificado como *Poco persistente* (Figura 32). El Pyriproxifen y el Piridaben afectaron el parasitismo por un período menor a los 29 días, por lo que ambos productos fueron clasificados como *Moderadamente persistentes.* El Tiametoxam, el Pymetrozine y el Acetamiprid presentaron un elevado poder residual, ya que redujeron significativamente el parasitismo incluso luego de 29 días desde la aplicación. Estos insecticidas fueron clasificados como *Persistentes*, siendo la reducción en el parasitismo en la última fecha de observación de 78% para el Tiametoxam, 92% para el Pymetrozine y 80% para el Acetamiprid.

La diferencia entre los valores de parasitismo en los distintos tiempos (4, 14 y 29 días) puede atribuirse al uso de cohortes distintas, tanto de los áfidos como de los parasitoides. El material biológico utilizado en estos ensayos provino de crías experimentales mantenidas en el laboratorio en donde se observa bastante variabilidad en la calidad del material obtenido.

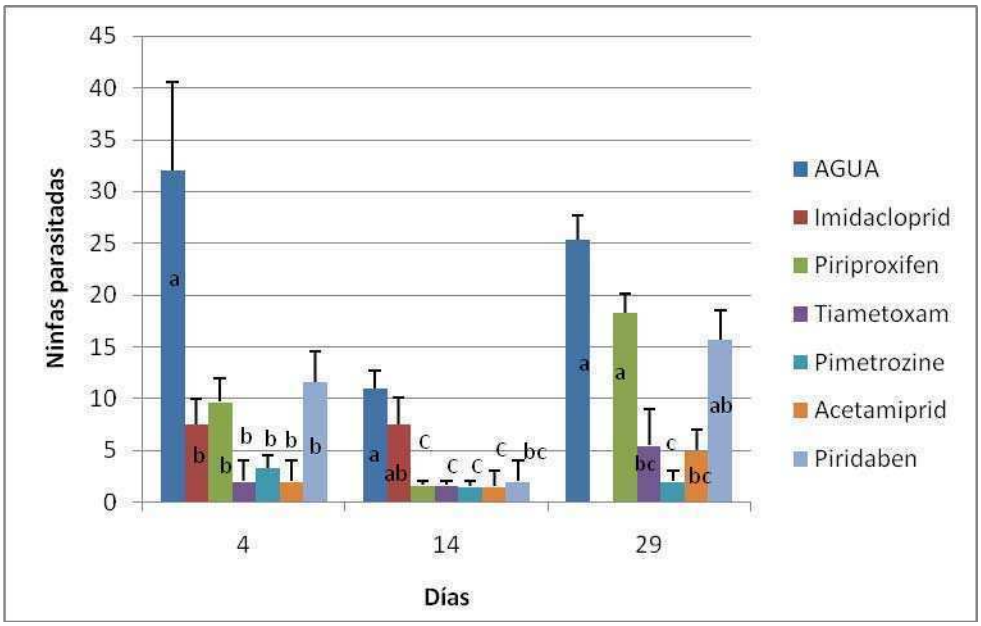


Figura 32. Número medio de ninfas de *Myzus persicae* parasitadas por *Aphidius colemani* luego de 4, 14 y 29 días desde la pulverización con insecticidas. Letras distintas sobre las barras indican diferencias significativas dentro de cada fecha para cada insecticida con relación al testigo (agua).

DISCUSIÓN

Todos los insecticidas afectaron a A*. colemani* en el estado adulto y fueron clasificados como de efecto *Moderadamente perjudicial* y *Perjudicial*. Sin embargo los mismos productos evaluados en el estado de pupa no afectaron al parasitoide y se clasificaron como de efecto *Inofensivo* o *Poco perjudicial*. Las diferencias observadas entre los resultados sobre adulto respecto a los observados sobre pupa, podrían deberse a la metodología empleada. Cloyd y Bethke (2010) discuten que los resultados obtenidos dependen del modo de aplicación de los productos. Estos autores mencionan que en ensayos de laboratorio utilizando discos de hojas las cuales son pulverizadas, se logra un 100% de cobertura con insecticida; en invernadero, en cambio, en donde las pulverizaciones se realizan sobre las plantas, esto no sucede, con lo cual los enemigos naturales podrían

encontrar sitios en donde no existan residuos de insecticidas (refugios) y de este modo no sufrir los efectos directos de los productos químicos. En este trabajo la toxicidad directa sobre el adulto fue evaluada sobre placas de vidrio, con lo cual la cobertura de insecticida lograda fue del 100% y los parasitoides adultos no tuvieron la opción de encontrar refugios, sino que todo el tiempo de exposición estuvieron en contacto con los productos insecticidas. Al probar la toxicidad directa sobre el estado de pupa se pulverizaron plantas de pimiento con ninfas parasitadas; esto se asemeja a una situación de campo, con lo cual podrían haber existido sitios en donde no haya habido residuos de agroquímicos y por este motivo no se vio afectada la posterior emergencia de los adultos del parasitoide. Jansen *et al.* (2011) estudiaron los efectos de 3 agroquímicos (Pymetrozine, Flonicamide y Deltamethrin) sobre adultos de *Aphidius rhopalosiphi* utilizando diferentes metodologías. Estos autores observaron que cuando los productos fueron aplicados en el laboratorio sobre plantas, la toxicidad fue más baja que cuando estos mismos productos fueron aplicados sobre placas de vidrio utilizando dispositivos similares a los empleados en este trabajo. Así por ejemplo, al evaluar los efectos del Pymetrozine sobre los adultos de *A. rhopalosiphi* obtuvieron un 68 ± 22% de mortalidad cuando utilizaron placas de vidrio como dispositivo, mientras que cuando utilizaron plantas (en condiciones de laboratorio) no vieron afectada la mortalidad.

Sumado a esto y para el caso particular de los parasitoides, se considera que el estado más susceptible es el adulto, mientras que los más tolerantes son los que se desarrollan dentro de su hospedero (Hassan, 1997; Acheampong y Stark, 2004).

Considerando efectos letales y subletales se observó que *A. colemani* fue notablemente afectado por los 6 insecticidas evaluados. Este resultado es esperable ya que el género *Aphidius* se menciona como uno de los más sensibles a los agroquímicos. Candolfi *et al.* (1999) probaron 95 productos químicos,

incluyendo insecticidas, herbicidas, fungicidas y reguladores de crecimiento, sobre 9 familias de artrópodos benéficos y observaron que *Aphidius* spp. junto con el ácaro *Typhlodromus pyri* Scheut fueron los más sensibles y afectados por los agroquímicos, tanto en sus efectos letales como subletales. Por este motivo y por algunas otras características tales como su corto ciclo de vida, fácil crianza y por ser importantes parasitoides de áfidos con una amplia distribución geográfica, *Aphidius* spp. son consideradas como especies indicadoras para determinar los efectos de los agroquímicos sobre especies no blanco (Mead-Briggs *et al*., 2000; Mead-Briggs *et al.* 2010).

El Imidacloprid, el Acetamiprid y el Tiametoxan son insecticidas neurotóxicos que pertenecen al grupo químico de los Neonicotinoides. Todos los insecticidas neonicotinoides poseen similar estructura química y modo de acción. Estos compuestos mimetizan la acción de la Acetilcolina, activando los receptores nicotínicos de manera persistente, debido a que son insensibles a la acción de la enzima acetilcolinesterasa que es la responsable de hidrolizar la acetilcolina. La persistente activación de los neuroreceptores conduce a la sobrestimulación de la sinapsis y resulta en una hiperexcitación, convulsión, parálisis y muerte del insecto (Thacker, 2002; Ishaaya *et al*., 2007).

Actualmente, de todos los insecticidas, muy posiblemente el Imidacloprid es el producto que se usa en mayor volumen en el mundo entero. Es un insecticida sistémico, que tiene buenas características de penetración por la raíz y una importante acción de contacto y estomacal (por ingestión). Se usa como tratamiento al suelo, a la semilla o en aplicaciones foliares. Si bien el Imidacloprid parece ser un producto no selectivo fisiológicamente, el hecho de que sea sistémico en la planta, sobre todo por raíz, hace que su selectividad pueda ser *ecológica*, ya que en el cultivo este insecticida puede ser incorporado a través del sistema de riego por goteo, afectando de esta manera sólo a sus plagas blanco: moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae), pulgones (Hemiptera: Aphididae), trips

(Tysanoptera: Thripidae) y minador de la hoja (Díptera: Agromyzidae) (CASAFE, 2007).

El Acetamiprid controla una amplia gama de insectos plagas como: áfidos, moscas blancas, trips y orugas minadoras de hoja. Actúa por contacto e ingestión. Tiene alta acción sistémica y actividad translaminar (absorción a través de las hojas). Es absorbido rápidamente por el follaje y su penetración asegura una buena residualidad. Este producto resultó *Moderadamente perjudicial* en su efecto sobre los adultos pero *Inofensivo* en su efecto sobre inmaduros. Similares resultados fueron encontrados por Rill *et al.* (2008) quienes pulverizaron adultos e inmaduros de *Aphytis melinus* DeBach con este producto, encontrando que no afectó a los estados inmaduros pero que resultó muy tóxico para los adultos.

A diferencia de Imidacloprid y Acetamiprid, el Tiametoxan resultó *Perjudicial* en su efecto sobre los adultos y además persistió por más de 29 días. La mayor acción insecticida de Tiametoxan, puede deberse a que este producto se metaboliza en clotianidina, compuesto que tiene una actividad 100 veces mayor sobre la acetil colinesterasa que el Imidacloprid (Maienfisch *et al*., 2001; Nauen *et al*., 2003).

El Pyriproxifen es un producto clasificado como una piridina RCI (regulador del crecimiento de los insectos), mimetizador de la hormona juvenil, que suprime la embriogénesis, metamorfosis y la formación de adultos (Ishaaya *et al*., 2007). Al igual que este producto, el Pymetrozine también es un insecticida RCI, que actúa por contacto e ingestión. Tanto los estados jóvenes como adultos de pulgones y moscas blancas son sensibles a este producto. No se conoce bien su modo de acción, aunque se ha observado que actúa sobre los receptores neuronales del insecto, estimulando la liberación de serotonina en las brechas sinápticas. Los receptores de la serotonina, a su vez, se estimulan e influyen sobre las glándulas salivares (Ishaaya *et al*., 2007). Los insectos afectados dejan de alimentarse poco

después del tratamiento, ya que se bloquea la penetración del estilete al iniciar la alimentación y los pulgones siguen activos pero no se pueden alimentar. Este bloqueo es irreversible y la muerte ocurre por hambre uno o pocos días después de la aplicación (Hoddle *et al*., 2001). Este producto resultó *Moderadamente perjudicial* sobre el adulto y su efecto persistió por más de 29 días en las plantas. Sobre *Aphidius rhopalosiphi* este producto redujo en un 91% el parasitismo cuando fue evaluado sobre placas de vidrio y en un 72% cuando la fertilidad fue evaluada sobre plantas en condiciones de laboratorio (Jansen *et al*., 2011)

El Piridaben, una piridazinona, es un acaricida selectivo, de contacto, que también es efectivo contra áfidos y moscas blancas. Es un inhibidor metabólico que interrumpe el transporte de electrones en las mitocondrias. Este producto ofrece una residualidad larga, tiene actividad ovicida, efecto instantáneo y controla todos los estados de los ácaros. En orden de toxicidad este producto resultó ser el más tóxico, ya que se clasificó como *Perjudicial* en los dos parámetros evaluados sobre el adulto y además afectó la emergencia cuando fue aplicado sobre los inmaduros. La persistencia en el cultivo fue mayor que 14 días pero menor de 29 días, con lo cual un adecuado manejo de los intervalos entre aplicaciones de insecticidas y liberaciones de parasitoides permitiría el empleo de este producto.

CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO 4

Todos los productos afectaron la supervivencia y el parasitismo de los adultos de *A. colemani,* en mayor o menor medida.

La toxicidad sobre el estado de pupa fue notablemente menor que la observada sobre el adulto, por lo que se considera que este estado de desarrollo es menos susceptible o está más protegido del efecto de los agroquímicos.

El estudio de persistencia reflejó que, a pesar de que algunos productos pueden afectar a los parasitoides por su toxicidad directa, sus residuos son

progresivamente menos nocivos, por lo que un correcto manejo de los intervalos de liberación de parasitoides / aplicación de producto, podría permitir el empleo de ambas estrategias.

El Pymetrozine, el Acetamiprid y el Tiametoxan resultaron tener un efecto negativo sobre la actividad del parasitoide durante 29 días o más. Por lo tanto, el uso de estos principios activos en conjunto con parasitoides aphidiinos podría ser posible sólo con un exigente control de los intervalos entre las aplicaciones de los agroquímicos y las liberaciones de estos enemigos naturales.

Capítulo 5

Evaluación del sistema de planta hospedera alternativa-áfido alternativo- parasitoide común, como estrategia para el control de áfidos. Comparación con tácticas de control biológico mediante liberaciones inoculativas de *Aphidius colemani*

INTRODUCCIÓN

El último paso en la implementación de un plan de control biológico aplicado es su evaluación en condiciones de campo. Existen dos grupos de metodologías generales para determinar el papel de los enemigos naturales en la regulación de sus huéspedes o presas. Uno de estos grupos comprende el uso de métodos comparativos de evaluación entre sistemas con y sin el enemigo natural y tienen como objetivo demostrar la contribución de los enemigos naturales a la regulación poblacional de las plagas. El otro grupo incluye aquellos métodos que utilizan modelos poblacionales y tablas de vida para determinar los mecanismos involucrados en la regulación de la población de las plagas. Los métodos comparativos nos indican qué tan efectivo es un enemigo natural, mientras que los modelos poblacionales describen el por qué un enemigo natural es efectivo en la regulación de la plaga o cómo es que esta regulación realmente ocurre (Badii *et al*., 2004).

La evaluación final del enemigo natural en términos de su eficiencia de control se basará en el nivel de control de la plaga (estimado por la disminución de su densidad por debajo del nivel de daño económico); en los perjuicios ocasionados en el cultivo y en el nivel de predación o parasitismo sobre la plaga. Sin embargo, algunos autores opinan que los porcentajes de parasitismo alcanzados no pueden ser considerados *per se* como indicadores del nivel de control obtenido, ya que el número de sobrevivientes que escaparon a la acción de los enemigos naturales, son los que determinarán la futura densidad de la plaga y el nivel de daño que ocasionarán (Badii *et al*., 2004).

Frank (2010), en su revisión sobre la implementación de sistemas de plantas hospederas y huéspedes alternativos bajo la modalidad de “plantas banco”, mencionó varios estudios en los que se puso a prueba un sistema que consiste en plantas de distintos cereales - *R. padi* - *A. colemani* para el control de *Aphis gossypii*, encontrándose que el nivel de parasitismo es generalmente mayor y las

poblaciones de áfidos son menos abundantes en los invernaderos con plantas banco, en comparación con aquellos que no tienen dichas plantas.
Asimismo, Jacobson y Croft (1998) en una serie de experimentos, compararon el sistema de planta banco y otro sistema denominado "liberaciones inoculativas" en donde se liberaban pequeñas cantidades de adultos de *A. colemani* para el control de *A. gossypii*. Estos autores hallaron que ambos métodos de control biológico han sido eficientes para el control del áfido plaga, aún requiriendo de cuidados y prácticas de manejo diferentes.

Debido a que el control biológico se basa en el manejo de las poblaciones de las plagas y sus enemigos naturales, algunas características de los cultivos y de las zonas de producción influyen en gran medida en el desarrollo y evolución de las poblaciones de insectos, determinando el éxito del control o su fracaso. La incidencia de las prácticas culturales (riego, fertilización, cosecha, etc.) sobre los ciclos y la reproducción de los insectos, las diversas características de las variedades de cultivos utilizadas (resistencia, floración, vigor, etc.), las variaciones en los ciclos de los cultivos bajo las condiciones de temperatura, iluminación, humedad relativa, duración del ciclo productivo, etc., propias de cada zona de producción, entre otros, hacen que la implementación de los protocolos de introducción y suelta de los enemigos naturales varíe en cada zona y para cada cultivo en particular. Así es muy probable que en determinados cultivos o en determinadas áreas no pueda aplicarse el control biológico de modo excluyente, siendo necesario intervenir con aplicaciones de insecticidas sobre alguna(s) plaga(s), durante el tiempo de permanencia del cultivo o en determinados momentos claves durante el mismo (Bielza, 2007).

Los objetivos del presente capítulo fueron:

- Evaluar y comparar el nivel de control del áfido *M. persicae* por el parasitoide *A. colemani*, en cultivos de rúcula, bajo condiciones

semicontroladas, mediante dos estrategias de manejo del biocontrolador: a) plantas banco (planta hospedera alternativa- áfido alternativo- parasitoide común) y b) liberaciones inoculativas de *A. colemani*.

- Evaluar y comparar el nivel de control del áfido *M. persicae* por el parasitoide *A. colemani*, en cultivos de pimiento, cultivo de características agronómicas distintas a la rúcula, pero que constituye una importante planta hospedera para *M. persicae*, bajo las mismas dos estrategias de manejo.

5a) Ensayo en cultivo de rúcula

MATERIALES Y MÉTODOS

Se planificó para este estudio una duración aproximada de 2 meses, entre junio y agosto, tiempo real desde la siembra hasta el primer corte del cultivo de rúcula. En un invernáculo del tipo macrotúnel de 180m^2, a través del uso de jaulas de voile de 55 x 60 x 80 cm (Figura 33) y con un diseño de distribución completamente al azar, se compararon los siguientes tratamientos:

TRATAMIENTO	PLANTA	ÁFIDO	PARASITOIDE	TÉCNICA DE INCORPORACIÓN DEL PARASITOIDE
1) Tratamiento 1	Rúcula	*M. persicae*	--	Sin parasitoide
2) Tratamiento 2	Rúcula + Avena	*M. persicae* + *R. padi*	--	Sin parasitoide
3) CB Inoculativo	Rúcula	*M. persicae*	*A. colemani*	Liberación de adultos
4) Planta Banco	Rúcula + Avena	*M. persicae* + *R. padi*	*A. colemani*	Avena infestadas con *R. padi* parasitados (momias)

Los tratamientos 1 y 2, en los que el parasitoide *A. colemani* no fue incluido, se evaluaron a los efectos de analizar posibles interacciones entre las plantas (rúcula y avena) y los áfidos (*M. persicae* y *R. padi*), que pudieran afectar los resultados esperados particularmente en el tratamiento T4 donde se combinan ambas plantas hospederas y el parasitoide. Asimismo, estos tratamientos también sirvieron para la comparación entre sistemas "con y sin el parasitoide" (tratamientos 1 vs. 3 y tratamientos 2 vs. 4).

Se utilizaron 6 jaulas (réplicas) para cada tratamiento. En cada jaula y para todos los tratamientos se sembró una hilera de rúcula que fue inicialmente infestada con 100 ninfas de 2º-3º estadio de *M. persicae* para generar la población plaga. Se utilizó riego por goteo durante todo el ensayo y se registró la temperatura y humedad relativa mediante un termohigrómetro TFA® colocado en el interior de una de las jaulas tomada al azar.

Figura 33. Invernáculo tipo macrotúnel de 180 m^2 con jaulas de voile en su interior.

Para todos los tratamientos se realizaron, tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes) y comenzando a partir de la infestación inicial, observaciones de la densidad de la plaga en el cultivo. Dentro de cada jaula y en la hilera de 60 cm de cultivo, se escogieron al azar 10 hojas de rúcula y se observó la cantidad de áfidos vivos y parasitados en cada hoja.

Las variables estimadas fueron:

- número de ninfas de *M. persicae* /10 hojas de rúcula/jaula
- número de adultos de *M. persicae*/10 hojas de rúcula/jaula
- número de momias de *M. persicae* /10 hojas de rúcula /jaula

En el tratamiento 2 (T2) se realizaron 2 introducciones de una maceta con avena infestada con 100 ninfas de 2º-3º estadio de *R. padi* / jaula, la primera al momento de la infestación inicial de la rúcula con *M. persicae* y la segunda a los 15 días.

En el tratamiento 3 (T3), a los 15 días de la infestación inicial de la rúcula con *M. persicae*, se iniciaron liberaciones semanales de adultos de *A. colemani*. Se tomó como umbral de acción para realizar las liberaciones de adultos, al menos 1 hoja de rúcula (de las 10 hojas observadas), conteniendo 3 o más pulgones totales (adultos + ninfas).
Estos umbrales fueron establecidos a partir de experiencias previas realizadas en cultivos de rúcula, bajo las mismas condiciones ambientales. En total se realizaron 6 liberaciones, utilizando una dosis de 2♀/jaula/semana. Se utilizó como referencia las dosis comerciales sugeridas por las biofábricas productoras de enemigos naturales (http://attra.ncat.org/attra-pub/gh-aphid.html) y se la adaptó para las condiciones particulares del ensayo (dosis comercial = 0,5 a 2 adultos/m^2/semana.

Para el tratamiento 4 (T4)**,** en el laboratorio se expusieron macetas con avena infestadas con 100 ninfas de 2º-3º estadio de *R. padi* a 2♀ previamente

fecundadas de *A. colemani* durante 24h. Una vez formadas las momias se llevaron las macetas (plantas banco) a las jaulas correspondientes (1 maceta/jaula/15 días) (Figura 34). Cada maceta con avena y *R. padi* contenía en promedio un 70% de áfidos parasitados. La primera introducción de la planta banco se realizó al momento de la infestación inicial de la rúcula con *M. persicae* y se efectuó una segunda introducción a los 15 días.

Para el manejo de las plantas banco se utilizó el protocolo suministrado por la empresa Neudorff (2002). En este protocolo se recomienda que las plantas banco sean renovadas cada 2 semanas. Además, se advierte que cuando la densidad de áfidos plaga comienza a aumentar y se observan adultos del parasitoide en el ambiente (cultivo), se debe detener la introducción y recambio de plantas banco. Con este manejo se garantiza que la densidad de áfidos alternativos (*R. padi* en este estudio) que escaparon al parasitismo (por *A. colemani* en este estudio) sea mínima en comparación con la densidad de áfidos plaga (*M. persicae* en este estudio. Esto es importante al considerar los análisis del parasitismo dada la relación de denso-dependencia entre el biocontrolador y sus huéspedes.

Figura 34. Maceta con avena infestada con *R. padi* y parasitada por *A. colemani*, utilizada en el tratamiento *Planta Banco* (T4).

Análisis de los datos: Para evaluar el efecto de los tratamientos en el tiempo, se analizaron la cantidad de ninfas, adultos y el parasitismo [nro. de momias / (nro. de momias + nro. de ninfas de *M. persicae*)] mediante un modelo lineal, previa transformación de las variables mediante Box-Cox. Se eligió una estructura del error en donde se asumió una correlación entre las fechas con la forma de una matriz de simetría compuesta. Se consideró en el modelo que las varianzas entre los tratamientos eran heterogéneas. Se evaluó la estructura de la matriz de varianzas-covarianzas con el criterio de Akaike (AIC) y se construyeron Test de Verosimilitud para evaluar los efectos de los factores. Finalmente se realizaron contrastes para probar las hipótesis de interés. Los datos fueron analizados con el programa "R" software versión 2.13.1 (<www.r-project.org/>). Se utilizó la función *gls* (Generalized Least Squares) de la librería *nlme* (Linear and Nonlinear Mixed Effects Models).

RESULTADOS

Las temperaturas medias registradas durante el ensayo variaron entre una máxima de 30,5 ± 1,3ºC (rango= 24,4 – 35,2 ºC) y una mínima de 5,5 ± 0,8ºC (rango= 3,1 – 10,4 ºC). La humedad relativa varió entre 90 y 20% dependiendo de los turnos de riego.

La Figura 35 muestra la densidad de ninfas de *M. persicae* en 10 hojas de rúcula/jaula según el tratamiento. Se observaron diferencias significativas en la densidad de ninfas de *M. persicae* entre los cuatro tratamientos estudiados ($F_{3,434}$=90,48; P<0,0001). El Test de Comparaciones Múltiples no detectó diferencias significativas entre los tratamientos sin introducción del parasitoide (T1 y T2) (t_{434}=0,83; P=0,405). En cambio, se observaron diferencias significativas al comparar cada tratamiento de introducción del parasitoide con su respectivo

control: T1 y T3 (t_{434}=4,31; P<0,0001); T2 y T4 (t_{434}=17,26; P<0,0001). También existieron diferencias significativas al comparar ambos tratamientos de liberación del parasitoide (T3 y T4) (t_{434}=13,78; P<0,0001).

Cabe aclarar que este ensayo se dió por finalizado a los dos meses, tiempo real hasta la primera cosecha en un cultivo comercial (primer corte). Además para ese período de tiempo los tratamientos sin introducción del parasitoide (T1 y T2) carecían de material verde (recurso alimenticio limitado), como resultado del daño provocado por las elevadas densidades de los áfidos. Por esta razón es que se observó una disminución en la densidad de la plaga en T1 y T2 a partir del 31de julio y hasta el final del ensayo. Asimismo y debido a que el cultivo de rúcula es de corta duración, no se planificaron aplicaciones de insecticidas para disminuir las altas densidades de la plaga en este ensayo. Con estas particularidades del cultivo hubiera sido muy difícil poder respetar los tiempos de carencia requeridos por los insecticidas, tanto para las liberaciones de parasitoides como así también para la utilización del producto cosechado (hojas).

En el tratamiento de liberaciones inoculativas (T3), aun con la introducción de los adultos del parasitoide, la población de *M. persicae* continuó creciendo. Sólo luego de 4 liberaciones comenzó a observarse una disminución en la densidad de la plaga (Figura 35) que tuvo su correlato con el aumento en el porcentaje de parasitismo (Figura 37).

Con respecto al tratamiento con introducción de planta banco con momias de *R. padi* parasitadas por *A. colemani* (T4) se observó que la población de *M. persicae* siempre se mantuvo por debajo de 150 ninfas/10 hojas/jaula (Figura 35).

Conforme al protocolo para el manejo de plantas banco utilizado en este ensayo (Neudorff, 2002), al momento en el que hubiera sido necesario el recambio de la segunda planta banco (24/7), se realizó una inspección visual de las mismas. Para esta fecha de muestreo, se observó la presencia de adultos del parasitoide volando dentro de las jaulas y parasitando a la plaga. Asimismo, la densidad de *R.*

padi por maceta/jaula fue menor (< 50 ninfas no parasitadas en la planta banco) que la densidad de *M. persicae* en la hilera de cultivo (promedio de ninfas en sólo 10 hojas de rúcula/jaula = 34,17 ± 11,46) motivo por el cual cesó la introducción de plantas banco. Esto contribuyó a que, aun presentando cierto grado de preferencia por su huésped de origen (ver Capítulo 3, punto 3b), en esta experiencia *A. colemani* parasitara al áfido plaga (*M. persicae*) con niveles de parasitismo que para esta fecha (24/7) alcanzó un 20% y permitió mantener a la plaga en bajas densidades durante todo el período de cultivo.

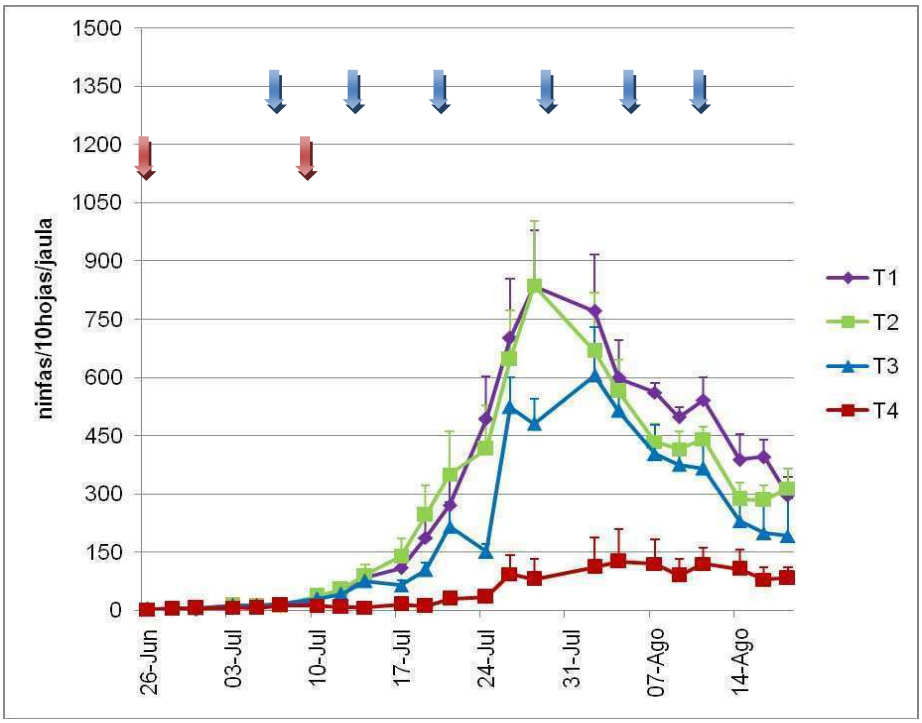


Figura 35: Densidad de ninfas de *Myzus persicae* en rúcula (media ± EE). Las flechas azules indican las liberaciones de adultos de *A. colemani* en T3 y las flechas rojas indican la colocación de la planta banco en T2 y T4.

Para la población de adultos de *M. persicae* se observó el mismo patrón de densidad que el hallado para las ninfas aunque con valores considerablemente más bajos (Figura 36). Se observaron diferencias significativas en la densidad de

adultos de *M. persicae* entre los cuatro tratamientos estudiados ($F_{3,434}$=57,66; P<0,0001). El Test de Comparaciones Múltiples no detectó diferencias significativas entre los tratamientos sin liberación del parasitoide (T1 y T2) (t_{434}=0,42; P=0,676) y entre el tratamiento de liberaciones inoculativas y su respectivo control sin parasitoide (T3 y T1) (t_{434}=1,14; P=0,255). En cambio, existieron diferencias significativas entre el tratamiento con introducción de planta banco y su respectivo control sin parasitoide (T4 y T2) (t_{434}=13,6; P=0,000) y entre ambos tratamientos de liberación del parasitoide (T3 y T4) (t_{434}= 12,88; P<0,0001).

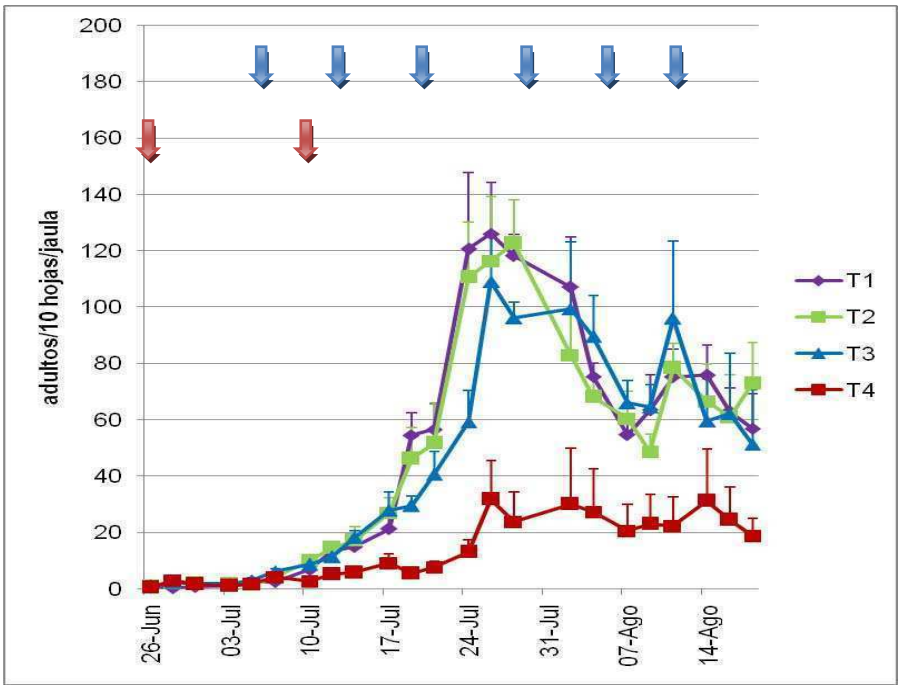


Figura 36: Densidad de adultos de *Myzus persicae* en rúcula (media ± EE). Las flechas azules indican las liberaciones de adultos de *A. colemani* en T3 y las flechas rojas indican la colocación de la planta banco en T2 y T4.

Se observaron diferencias significativas en los porcentajes de parasitismo entre los tratamientos de liberación del parasitoide (T3 y T4) ($F_{1,186}$=33,62; P<0,0001) (Figura 37). El parasitismo máximo en el T3 fue de 21% alcanzado hacia el final

del ensayo, este valor representó pocos pulgones parasitados y muchos pulgones sin parasitar en el cultivo. En el T4 el parasitismo máximo fue de 51%, alcanzado a los 10 días desde el inicio del ensayo. El porcentaje de parasitismo en el T4 representó pocos pulgones en el cultivo pero muchos de ellos parasitados.

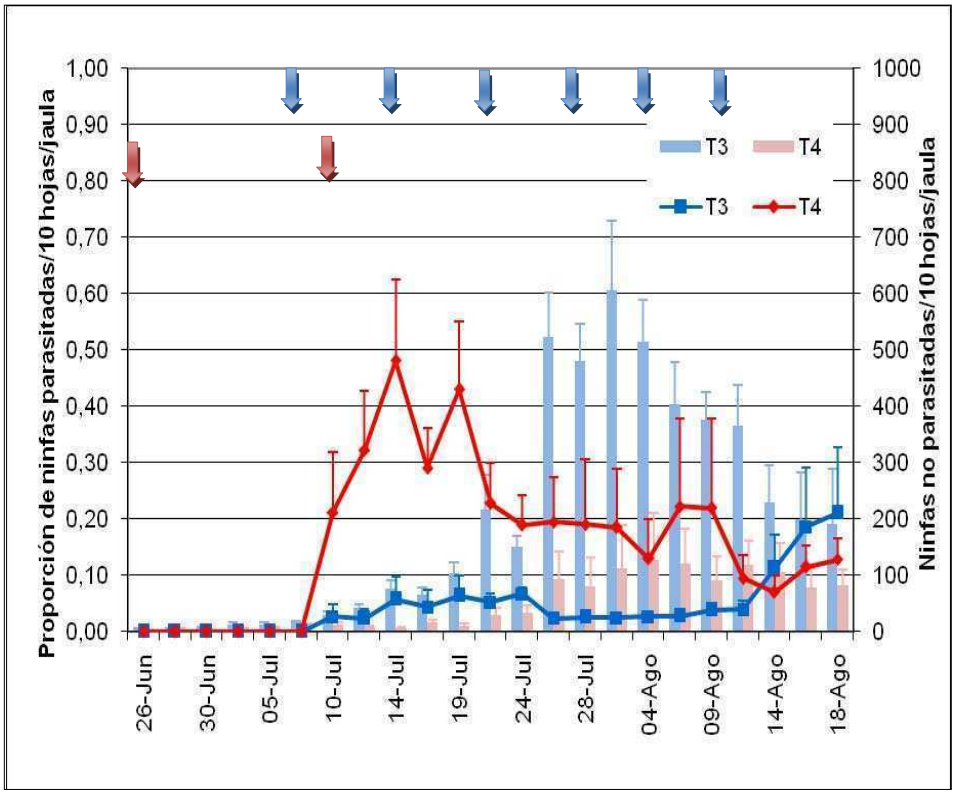


Figura 37: Parasitismo de *A. colemani* sobre *M. persicae* en rúcula (media ± EE). Las flechas azules indican las liberaciones de adultos de *A. colemani* en T3 y las flechas rojas indican la colocación de la planta banco en T4. Con barras sombreadas en un segundo eje se indica el número de ninfas no parasitadas correspondiente a cada tratamiento de liberación del parasitoide.

Si bien en este ensayo no se realizó cosecha del cultivo, se registró su aspecto al finalizar el estudio (Figura 38). Se observó que en los tratamientos 1 y 2 (sin introducción del parasitoide) hubiera sido imposible cosechar, mientras que para los tratamientos 3 y 4 se obtuvieron hojas factibles de ser cosechadas y utilizadas para su consumo. A pesar de ello, las hojas obtenidas en el T3 fueron más

pequeñas que las observadas en el T4, lo que se traducirá en un menor rendimiento del T3 respecto del T4 a igual superficie sembrada.

Figura 38. Aspecto del cultivo de rúcula hacia finales del ensayo según el tratamiento aplicado (hilera de cultivo de 60 cm).

5b) Ensayo en cultivo de pimiento

MATERIALES Y MÉTODOS

Este ensayo fue realizado entre los meses de octubre y enero. El diseño experimental y los tratamientos fueron los mismos que los del punto 5a, reemplazando el cultivo de rúcula por el cultivo de pimiento. En cada jaula se colocaron 4 plantas de pimiento (trasplantadas con 6 hojas verdaderas) que fueron inicialmente infestadas con 2 ninfas de 2º-3º estadio de *M. persicae*/jaula/semana (durante dos semanas) para generar la población plaga (Figura 39). La dosis empleada para lograr la infestación inicial en pimiento fue seleccionada conforme a experiencias previas. De acuerdo con las altas temperaturas registradas durante los meses en que se realizó este ensayo (primavera) y la susceptibilidad del cultivo de pimiento, esta baja dosis de plaga

aseguró suficiente nivel de pulgón como para realizar los estudios. Se utilizaron 4 jaulas (réplicas) para los tratamientos sin parasitoide (T1 y T2) y 8 jaulas para los tratamientos con incorporación del parasitoide (T3 y T4).

Figura 39. Interior de una jaula correspondiente al tratamiento 2 (cultivo de pimiento y maceta con avena infestada con *R. padi*).

Las observaciones de áfidos se realizaron dos veces por semana (martes y viernes) y se iniciaron a partir de la infestación inicial del cultivo con la plaga. En las 4 plantas de cada jaula se observaron 2 hojas del brote y 2 hojas del estrato inferior tomadas al azar.

Las variables estimadas fueron:

- número de ninfas de *M. persicae* /16 hojas/jaula
- número de adultos de *M. persicae* /16 hojas/jaula
- número de momias/16 hojas/jaula

En el tratamiento 2 (T2) se introdujo cada 15 días una maceta con avena infestada con 100 ninfas de *R. padi* / jaula (total 4 introducciones).

En el tratamiento 3 (T3), para realizar las liberaciones de los parasitoides adultos se tomó un criterio conservativo, fijando como umbral de acción al menos 1 áfido (ninfa o adulto) de las 16 hojas muestreadas/jaula. Por esta razón es que a la semana siguiente de realizada la infestación, se iniciaron liberaciones semanales de adultos de *A. colemani*. En total se realizaron 6 liberaciones a una dosis de 2 ♀/ jaula/semana. Tanto la dosis como el umbral de tolerancia utilizado en este ensayo surgieron a partir de experiencias previas y sobre la base de las recomendaciones hechas por las biofábricas productoras de enemigos naturales (http://attra.ncat.org/attra-pub/gh-aphid.html).

Para el T4, en el laboratorio se colocaron macetas con avena infestadas con 100 ninfas de 2º-3º estadio de *R. padi* y 2 hembras previamente fecundadas de *A. colemani*. Una vez formadas las momias se llevaron las macetas a las jaulas correspondientes (1 maceta/jaula/15 días). Cada maceta contenía en promedio un 70% de áfidos parasitados. La primera introducción de la planta banco se realizó al momento de la infestación inicial y se efectuaron 3 introducciones más. Para el manejo de las plantas banco se utilizó el protocolo suministrado por la empresa Neudorff (2002) cuyos criterios para la toma de decisiones se explicó en el punto 5a.

A los efectos de evitar que las densidades de áfidos (*M. persicae*) se convirtieran en un factor limitante para la continuidad de los estudios debido a la muerte de las plantas por exceso de plaga, se estableció un nivel crítico de densidad (fijado experimentalmente en 800 ninfas/16 hojas/jaula). En aquellos casos en que dicho nivel fue superado se decidió la aplicación de un tratamiento correctivo con los agroquímicos habitualmente empleados en sistemas de producción de pimiento.

Análisis de los datos: La cantidad de ninfas, adultos y el parasitismo [nro. de momias / (nro. de momias + nro. de ninfas de *M. persicae*)] fueron analizados mediante un modelo lineal para evaluar los efectos de los tratamientos en el tiempo, previa transformación de las variables mediante Box-Cox. Se eligió una estructura del error en donde se asumió una correlación entre las fechas con la forma de una matriz de simetría compuesta. Se asumió diferente varianza entre los tratamientos. Para la variable "parasitismo" se consideró en el modelo la interacción entre los tratamientos y las fechas de muestreo. Se evaluó la estructura de la matriz de varianzas-covarianzas con el criterio de Akaike (AIC) y se construyeron Test de Verosimilitud para evaluar los efectos de los factores. Finalmente se realizaron contrastes para probar las hipótesis de interés. Los datos fueron analizados con "R" versión 2.13.1. Se utilizó la función *gls* de la librería *nlme*.

RESULTADOS

Las temperaturas medias registradas durante el ensayo variaron entre una máxima de 43,6 ± 0,9ºC (rango= 37,5 – 49,2 ºC) y una mínima de 11,3 ± 0,6ºC (rango= 7,6 – 16,3 ºC). La humedad relativa varió entre 90 y 20% dependiendo de los turnos de riego.

La Figura 40 muestra la cantidad de ninfas de *M. persicae* en las 16 hojas muestreadas por jaula para cada tratamiento y fecha de muestreo. Se observaron diferencias significativas en la densidad de ninfas de *M. persicae* entre los cuatro tratamientos estudiados ($F_{3,393}$=38,31; P<0,0001). El Test de Comparaciones Múltiples no detectó diferencias significativas entre los tratamientos sin introducción del parasitoide (T1 y T2) (t_{393}=0,85; P=0,393). Tampoco entre los tratamientos con liberación del parasitoide (T3 y T4) (t_{393}=1,91; P=0,057).

Existieron diferencias significativas entre cada tratamiento de liberación del parasitoide y su respectivo control sin parasitoide, T1 y T3 (t_{393}=6,63; P=0,000); T2 y T4 (t_{393}=7,9; P=0,000).

En T1 y T2 fue necesaria la aplicación de un insecticida selectivo en tres oportunidades cuando la densidad media de áfidos por jaula superó el valor crítico fijado en 800 ninfas/16 hojas/jaula. Se utilizó Imidacloprid (0,5 ml/l) para las dos primeras aplicaciones y Tiametoxan (0,5g/l) para la tercera aplicación.

De acuerdo con lo evaluado en el capítulo 4 se seleccionó el Imidacloprid por ser moderadamente perjudicial y poco persistente en su efecto para el parasitoide, y luego de dos aplicaciones de este producto se decidió cambiar y utilizar un principio activo aún más tóxico en su efecto sobre la plaga, por esta razón se empleó el Tiametoxan. Las dosis empleadas fueron las sugeridas por CASAFE (2007), 50 cc/hl y 50 g/hl respectivamente y coinciden con las dosis probadas en los ensayos mencionados en el capítulo 4.

En los tratamientos con liberación del parasitoide (T3 y T4), la densidad de la plaga nunca superó el valor crítico de 800 ninfas/16 hojas/jaula, motivo por el cual no fue necesaria la aplicación de insecticida (Figura 40).

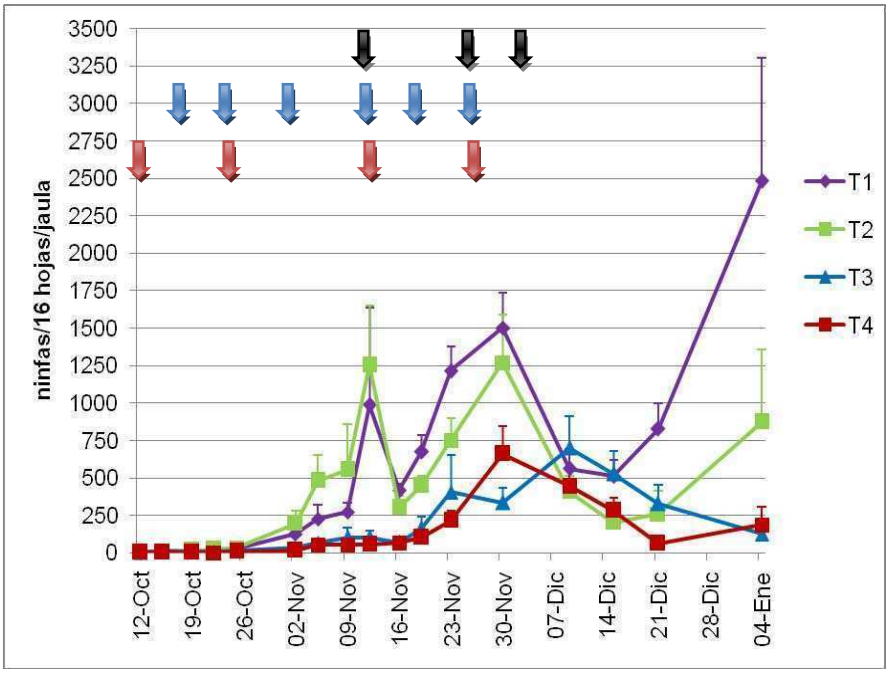


Figura 40: Densidad de ninfas de *Myzus persicae* en pimiento (media ± EE). Las flechas negras indican la aplicación de insecticidas en T1 y T2, las flechas azules indican las liberaciones de adultos de *A. colemani* en T3 y las flechas rojas indican la colocación de la planta banco en T4.

A pesar de la aplicación de insecticidas, la densidad de áfidos en ambos tratamientos sin liberación del parasitoide continuó aumentando hacia finales del ensayo. Este ensayo se dio por finalizado luego de una primera cosecha de frutos y cuando las plantas de pimiento habían alcanzado un tamaño tal que tocaban el techo de las unidades experimentales (jaulas).

La misma tendencia fue observada para los adultos de *M. persicae*, aunque con densidades menores a las observadas para ninfas (Figura 41). Se observaron diferencias significativas en la densidad de adultos de *M. persicae* entre los cuatro tratamientos estudiados ($F_{3,\ 393}$=11,65; P<0,0001). El Test de Comparaciones Múltiples no detectó diferencias significativas entre los tratamientos sin liberación del parasitoide (T1 y T2) (t_{393}=0,20; P=0,844) como tampoco entre los

tratamientos de liberación del parasitoide (T3 y T4) (t_{393}=1,23; P=0,218). Existieron diferencias significativas entre cada tratamiento de liberación del parasitoide y su respectivo control sin parasitoide, T1 y T3 (t_{393}=3,62; P<0,0001); T2 y T4 (t_{393}=4,43; P<0,0001).

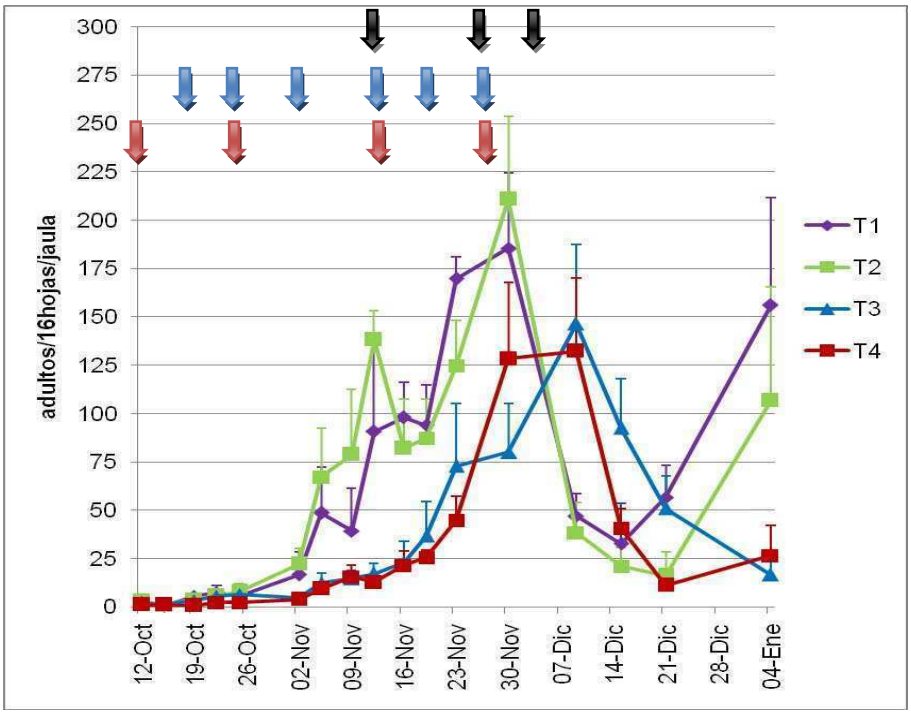


Figura 41: Densidad de adultos de *Myzus persicae* en pimiento (media ± EE). Las flechas negras indican la aplicación de insecticidas en T1 y T2, las flechas azules indican las liberaciones de adultos de *A. colemani* en T3 y las flechas rojas indican la colocación de la planta banco en T4.

La Figura 42 muestra el porcentaje de parasitismo de *A. colemani* sobre la plaga. En el T4 se observó un aumento del parasitismo de 30% a un valor cercano a 60%, desde el 30/11 y el 21/12, con una disminución de la densidad de ninfas de *M. persicae* entre ambas fechas (Figura 42). La misma tendencia se observó en el T3 pero desfasada en el tiempo, la aparición de las primeras momias se observó a los 10 días posteriores a la primera liberación (25/10). Luego de 4 liberaciones

de adultos de *A. colemani* el porcentaje de parasitismo alcanzó el 30%. Se observó interacción significativa entre los tratamientos de liberación del parasitoide (T3 y T4) y las fechas ($F_{15,208}$=1,77; P<0,041). En las tres primeras fechas el porcentaje de parasitismo en el tratamiento con introducción de planta banco (T4) fue superior al hallado en el tratamiento con liberaciones inoculativas (T3) (15/10: t_{208}=-3,93; P<0,0001; 19/10: t_{208}=-2,61; P=0,009; 22/10: t_{208}=-2,57; P=0,011). Por el contrario, el porcentaje de parasitismo fue el mismo para el resto de la temporada del cultivo.

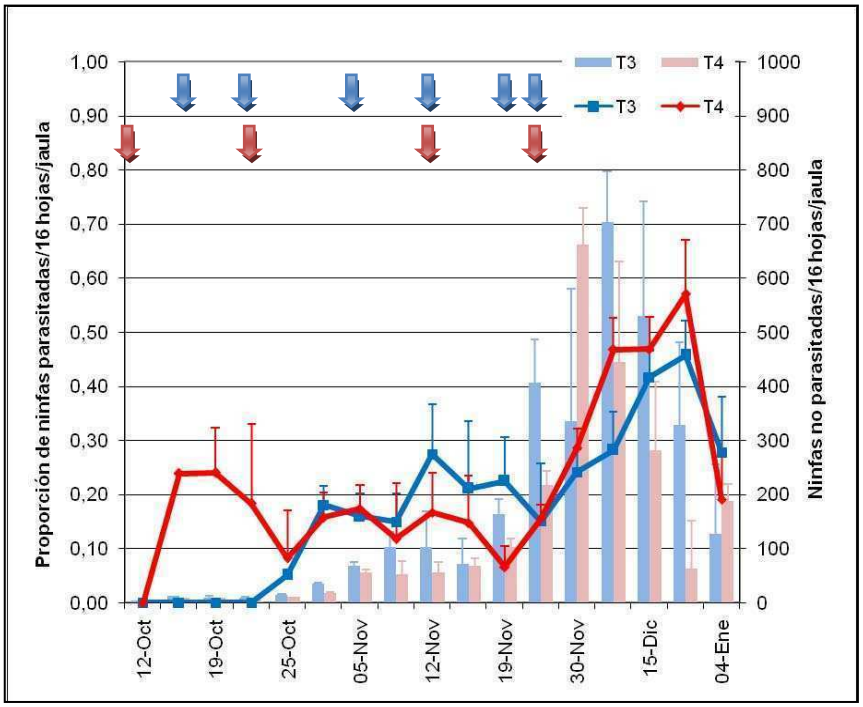


Figura 42: Parasitismo de *A. colemani* sobre *M. persicae* en pimiento (media ± EE). Las flechas azules indican las liberaciones de adultos de *A. colemani* en el T3 y las flechas rojas indican la colocación de la planta banco en el T4.

Hacia finales del ensayo se realizó la cosecha de los frutos y se comparó el rendimiento (gramos cosechados) por jaula según el tratamiento (Figura 43). No

se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ($F_{3,19}$=0,402; P= 0,753).

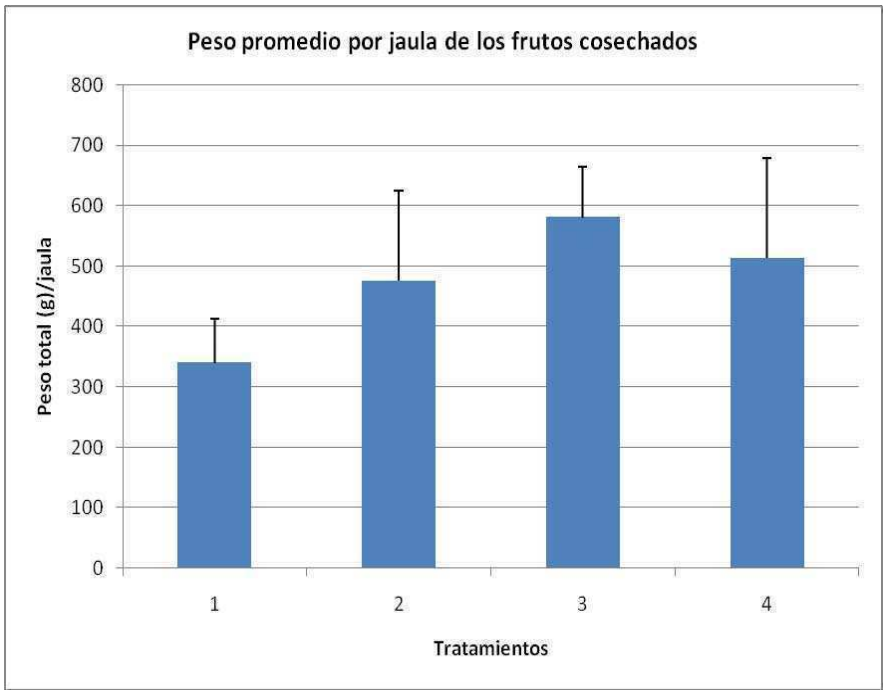


Figura 43. Peso promedio de los frutos de pimiento cosechados (media ± EE).

DISCUSIÓN

En el cultivo de rúcula se observaron diferencias significativas en la población de la plaga entre las dos estrategias de introducción del parasitoide comparadas, liberaciones inoculativas y utilización del sistema de planta hospedera alternativa - áfido alternativo - parasitoide. Las menores densidades de la plaga se observaron con la introducción de la planta banco (T4).

El porcentaje de parasitismo fue mayor en el tratamiento con introducción de planta banco (T4) y solo hacia finales del ensayo el porcentaje de parasitismo

comenzó a aumentar en el tratamiento con liberaciones inoculativas de adultos del parasitoide (T3). A pesar de ello y si bien no fue cuantificado, se observó que el rendimiento obtenido en T3 fue menor respecto del volumen (hojas de rúcula) obtenido en T4 (Figura 38).

En este cultivo se observó que la estrategia de introducción de planta banco resultó más eficiente en términos del control ejercido sobre la plaga, que la estrategia de liberaciones inoculativas de adultos del parasitoide. Cualquiera sea su modo de utilización, una vez introducido en el sistema *A. colemani* requiere de un cierto tiempo para poder expresar todo su potencial biológico.

En la estrategia de liberaciones inoculativas, la franja de tiempo desde el inicio del cultivo hasta que el monitoreo permitió detectar la presencia de *M. persicae* y por consiguiente se decidió iniciar las liberaciones de adultos del parasitoide, trajo como consecuencia un crecimiento de la población de la plaga que comprometió su posterior control con *A. colemani*. Este umbral de tiempo entre la entrada de la plaga al cultivo y el inicio del control (momento en que el productor detecta realmente la plaga y decide controlarla) es un factor de decisión crítico y sumamente importante ya que compromete posteriores resultados.

Con el sistema de planta banco el productor se independiza de la toma de decisión (“esperar” vs. “controlar”) ya que al introducir al enemigo natural con el huésped alternativo y al establecerse el parasitoide antes de la llegada de la plaga al ambiente, es el parasitoide el que detecta a la plaga, quizás antes de la detección que puede efectuar el “ojo humano”. Controlar a la plaga cuando ésta se encuentra en densidades bajas es el factor clave para poder mantenerla durante todo el cultivo en valores poblacionales que no comprometan la producción. En un cultivo de corta duración, como la rúcula, la toma de decisión para iniciar las liberaciones del parasitoide es un factor importante, que

condicionó en este ensayo en particular los resultados obtenidos para ambas estrategias de control biológico (T3 y T4).

Van Steenis (1993a, b) menciona a *A. colemani* como un buen biocontrolador de *A. gossypii* en cultivo de pepino, en sistemas de MIP. En coincidencia con los resultados obtenidos en el ensayo del cultivo de rúcula, si los parasitoides son liberados en el cultivo luego del establecimiento de la plaga, éstos fallan en el control ejercido sobre el áfido plaga. Así, Jacobson y Croft (1998) estudiaron diferentes dosis de liberación de adultos de *A. colemani* (desde 0,2 hasta 3,3 *A. colemani*/m^2/semana) para el control de *A. gossypii*, comenzando las liberaciones antes de la llegada de la plaga al cultivo y lo compararon con la utilización de un sistema de plantas y huéspedes alternativos (plantas banco). Estos autores hallaron que *A. colemani* había ejercido un buen control sobre la plaga en ambas estrategias de liberación del parasitoide. Por el contrario, Van Steenis y El-Khawass (1996) al evaluar similares dosis de liberación de adultos de *A. colemani* para el control de *A. gossypii* en pepino, observaron que el control de la plaga había fallado en algunas ocasiones. De la comparación de estos dos estudios puede concluirse que la causa de los diferentes resultados se encuentra en las variaciones en las estrategias de liberación utilizadas. A igual dosis de liberación e igual época del año, Jacobson y Croft (1998) realizaron las liberaciones de parasitoides antes de la infestación con el áfido plaga dispersando los parasitoides a lo largo del cultivo; mientras que Van Steenis y El-Khawass (1996) liberaron los parasitoides un día después de la infestación con los áfidos plaga y concentrando la liberación en un solo punto de liberación.

En el cultivo de pimiento se compararon las mismas estrategias de control biológico probadas en el cultivo de rúcula. El cultivo de pimiento posee una duración del ciclo productivo más extensa que la rúcula y además se produce en

otra época del año en donde las condiciones ambientales (particularmente la temperatura) difieren.

No se observaron diferencias en la población de la plaga y en el rendimiento (peso de los frutos cosechados por jaula) entre ambas estrategias de control biológico (T3 y T4). Sólo se observaron diferencias en los porcentajes de parasitismo entre T3 y T4 en las tres primeras fechas de muestreo y luego estos valores se igualaron hasta finalizar el ensayo. En este cultivo ambas estrategias de control biológico mostraron los mismos resultados en el control ejercido sobre la plaga.

Van Driesche *et al*. (2008) al estudiar el uso de plantas banco con *A. colemani* para el control de varios áfidos importantes en cultivos ornamentales, concluyen que para que este sistema sea eficiente, las plantas banco deben estar bien mantenidas (plantas sanas, bien nutridas, etc.), el áfido plaga debe ser susceptible a *A. colemani* y el invernadero no debe tener temperaturas mayores a los 32ºC. Estos autores sostienen que en general, los parasitoides son más efectivos cuando las plagas son escasas (se encuentran en el cultivo con bajas densidades). En este escenario, las liberaciones logran su proporción más alta de enemigo natural:plaga. La utilización de plantas banco entonces, es una táctica efectiva para el control de plagas, ya que proporciona una herramienta de pre-establecimiento de un enemigo natural: el parasitoide se encuentra presente en el agroecosistema aún antes de la invasión del cultivo por la plaga.

Estos resultados concuerdan con lo mencionado por otros autores para estudios similares. Así por ejemplo, Jacobson y Croft (1998) hallaron que ambos métodos de liberación (liberaciones de adultos del parasitoide y utilización de plantas banco) mantenían densidades del áfido muy inferiores respecto a los invernaderos sin parasitoides. Sin embargo, el nivel de control dependió de la

densidad de las plantas banco, la tasa de liberación y la temporada. Además, el control no fue siempre por debajo de los umbrales aceptables para los productores. Resultados similares fueron hallados por Van Driesche et al. (2008) quienes observaron que *A. colemani* suprimió el crecimiento poblacional de *A. gossypii* en plantas de margarita y de *M. persicae* en plantas de pensamiento, en comparación con las poblaciones en ausencia de plantas banco.

Sin embargo, la utilización de plantas banco no controló las poblaciones de *A. gossypii* en pensamiento y de *M. persicae* en margarita. Estos autores mencionaron tres problemas asociados con la utilización de plantas banco en primavera, en producciones bajo invernáculos. En primer lugar, observaron que el parasitoide no parasita todas las especies de áfidos plaga. En este aspecto, Pineda y Marcos-García (2008) sugirieron la utilización del parasitoide *A. colemani* para el control de áfidos pequeños tales como las especies *M. persicae* y *A. gossypii,* mientras que para el control de áfidos de mayor tamaño como es el caso de *Macrosiphum euphorbiae* y *Aulacorthum solani* mencionan al parasitoide *A. ervi*. En segundo lugar Van Driesche *et al.* (2008) remarcan la importancia del cuidado que debe tener la planta banco. Las plantas banco requieren riego y en algunas ocasiones deben ser fertilizadas. Además son susceptibles a enfermedades como micosis*,* razón por la cual pueden morir y también puede cesar la producción de parasitoides si todos los áfidos alternativos son parasitados o atacados por otros enemigos naturales. Por último, estos autores señalaron que, temperaturas superiores a los 28ºC por períodos extensos de tiempo dentro del invernadero no son favorables para los parasitoides aunque continúan siendo favorables para los áfidos.

Pineda y Marcos-García (2008) evaluaron la introducción de cebada en cultivo de pimiento para aumentar la densidad de sírfidos. Estos autores remarcaron algunos aspectos a considerar para la implementación y uso de plantas banco como por ejemplo: establecer dichas plantas antes del inicio del cultivo, inocular

con áfidos varias veces hasta lograr que la población se mantenga sobre la planta banco, distribuir 20 puntos en un área de 1000 m^2 y observar cuidadosamente el estado sanitario de las mismas.
Con respecto al número de plantas banco utilizadas, Van Driesche *et al.* (2008) observaron que en invernaderos comerciales el número de plantas banco por unidad de área cubierta (m^2) debiera ser superior al utilizado en ensayos experimentales.

Al comparar los dos cultivos evaluados, puede observarse que han sido necesarias prácticas distintas debido a las diferentes características de los cultivos y épocas de producción. El éxito del control biológico de plagas para un cultivo y una zona, no garantiza su aplicación en otro cultivo u otra zona y otra época del año (De Bach, 1974; Smith, 1996; Bielza *et al.* 2001 y 2007). Ya que el control biológico se basa en el manejo de las poblaciones de las plagas y sus enemigos naturales y algunas características de los cultivos estudiados (rúcula y pimiento) y épocas de producción (invierno y primavera-verano, respectivamente) hicieron necesarios la utilización de prácticas diferentes. Por ejemplo, se planificó con antelación la utilización de insecticidas en el cultivo de pimiento cuando la densidad de la plaga superó un cierto umbral de daño. Este mismo manejo resultó dificultoso para el cultivo de rúcula, ya que, en un cultivo de tan corta duración (2 meses), el manejo de los intervalos entre aplicaciones de insecticidas y liberaciones de parasitoides debiera ajustarse en una ventana de tiempo reducida, permitiendo solo la utilización de productos poco persistentes en el cultivo.

CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO 5

En el cultivo de rúcula se compararon dos estrategias distintas de control biológico, liberaciones inoculativas de adultos del parasitoide (T3) y utilización de

un sistema de planta hospedera alternativa-áfido alternativo- parasitoide = planta banco (T4) para el control del áfido plaga *M. persicae*.
Se observaron diferencias significativas en la población de la plaga entre ambas estrategias de control biológico, observándose las menores densidades de plaga en el tratamiento con introducción de planta banco (T4).

En el cultivo de pimiento se compararon las mismas estrategias de control biológico probadas en el cultivo de rúcula. No se observaron diferencias en la población de la plaga entre ambas estrategias de control biológico (T3 y T4). Sólo se observaron diferencias en los porcentajes de parasitismo entre T3 y T4 en las tres primeras fechas de muestreo y luego estos valores se igualaron hasta finalizar el ensayo. En este cultivo ambas estrategias de control biológico mostraron los mismos resultados en el control ejercido sobre la plaga.

CONSIDERACIONES GENERALES Y CONCLUSIONES

Consideraciones generales

El conocimiento de la biodiversidad de un agroecosistema, constituye un requisito fundamental para implementar de manera adecuada estrategias de manejo para las poblaciones de artrópodos que afectan a los cultivos de interés.

Al modificar el ambiente (introduciendo plantas y huéspedes alternativos), cada situación debe ser analizada independientemente, dado que en cada zona los complejos herbívoros - enemigos naturales varían, entre otros factores, de acuerdo con: la vegetación presente dentro y fuera del cultivo, la intensidad del manejo agrícola, la calidad del suelo, las condiciones climáticas, etc.

Conocer las especies plaga, sus enemigos naturales y sus interacciones con el ambiente, facilita el diseño y la aplicación de procedimientos de manejo que sean eficientes para controlar a las plagas.

Las investigaciones desarrolladas contribuyen al conocimiento del sistema tri-trófico: rúcula – avena / *M. persicae* – *R. padi* / *A. colemani*, lo que permitirá disponer de nuevas estrategias de control biológico de áfidos en el ámbito local basadas en estas interacciones tróficas.

Asimismo, los estudios de interacción entre el enemigo natural y su respuesta a los insecticidas, aportan una valiosa información de utilidad para integrar al parasitoide en sistemas de MIP.

Si bien los estudios que conforman esta tesis, se han desarrollado en ambientes experimentales que difieren de los sistemas comerciales de producción, permiten disponer de una aproximación válida para analizar la potencialidad de las tácticas de control biológico evaluadas.

Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten las siguientes conclusiones generales:

- ✓ Se aportaron nuevos conocimientos sobre las asociaciones áfidos - enemigos naturales parasitoides en cultivos hortícolas y plantas hospederas no cultivadas. Esta información no disponible hasta el momento, será de utilidad, para comprender aspectos de las interacciones multitróficas involucradas en el agroecosistema.

- ✓ El estudio de la biología y parámetros poblacionales de *M. persicae* reflejó que este áfido plaga es capaz de desarrollarse y aumentar su densidad sobre el cultivo de rúcula a las temperaturas de 15 y 25°C. Esto constituye un aporte inédito hasta el momento.

- ✓ El estudio de las características biológicas del parasitoide *A. colemani* permitió acceder a información esencial respecto de la preferencia entre las asociaciones: cultivo - plaga y planta hospedera alternativa - áfido alternativo no exploradas en el sistema tri-trófico estudiado.

- ✓ Los estudios de preferencia de huéspedes mostraron en las pruebas de opción doble que existe una preferencia del parasitoide en favor de la asociación planta – áfido huésped de origen.

- ✓ Aun existiendo preferencia por un determinado huésped, *A. colemani* fue capaz de sobrevivir, desarrollarse y dejar descendencia utilizando ambos huéspedes en las asociaciones planta hospedera – áfido huésped utilizadas en el sistema propuesto.

- ✓ Los estudios de compatibilidad con insecticidas utilizados en cultivos hortícolas mostraron que todos los productos evaluados, en mayor o menor medida afectaron la supervivencia y el parasitismo de los adultos de *A. colemani*.

- ✓ El empleo del sistema de planta hospedera alternativa - áfido alternativo - parasitoide (= plantas banco) en el cultivo de rúcula resultó ser más eficiente para el control de *M. persicae* que el basado en las liberaciones inoculativas de adultos del parasitoide en el cultivo de rúcula.

- ✓ El empleo de plantas banco y las liberaciones inoculativas de parasitoides, en el cultivo de pimiento mostraron resultados similares siendo ambas estrategias eficaces para el control de *M. persicae*.

Se considera necesario ampliar el estudio del sistema tri-trófico analizado a una mayor escala (estudios en cultivos de rúcula a campo) pudiendo así integrar con otras estrategias de control como por ejemplo la utilización de insecticidas. Es importante además, validar el método para otros cultivos considerando diversas zonas de producción y diferentes épocas del año.

BIBLIOGRAFÍA

ACHEAMPONG, S. y J. D. STARK. 2004. Effects of the agricultural adjuvant Sylgard 309 and the insecticide pymetrozine on demographic parameters of the aphid parasitoid, *Diaeretiella rapae*. Biological Control 31:133-137

AGARWALA, B. K. 2007. Phenotypic plasticity in aphids (Homoptera: Insecta): Components of variation and causative factors. Current Science 93 (3): 308-313.

ALCÁZAR, M. D., J. E. BELDA, P. BARRANCO y T. CABELLO. 2000. Lucha integrada en cultivos hortícolas bajo plástico en Almería. Vida Rural nro. 118: 51-55.

ALTIERI, M. A. 1995. Manejo integrado de plagas. En: Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. Ed. Clades, pp: 199-209.

ALTIERI, M. A. y C. I. NICHOLLS. 1999. Biodiversity, ecosystem function and insect pest management in agricultural systems. En: Biodiversity in Agroecosystem. Collins W. and Qualset C. (eds.) CRC Press, pp: 69-84.

ALTIERI, M. A., C. I. NICHOLLS y M. S. WOLFE. 1996. Biodiversity- a central concept in organic agriculture: Restraining pests and diseases. En: Fundamentals of Organic Agriculture. 11th IFOAM International Scientific Conference, Copenhagen. Proceedings Vol. 1, pp: 91-112.

ANDORNO, A.V., E.N. BOTTO, F.R. LA ROSSA y R. MÖHLE. 2004. Estudios preliminares sobre la diversidad biológica de áfidos y sus enemigos naturales asociados a cultivos orgánicos de hortalizas bajo cubierta. Implicancias para su empleo en el desarrollo de estrategias de control biológico. En resúmenes del XXVII Congreso Argentino de Horticultura, San Luis, Argentina.

ANDOW, D. 1991. Vegetational diversity and arthropod population response. Annual Review of Entomology 36: 561-586.

APARICIO, V., J. E. BELDA, E. CASADO, M. GARCÍA, V. GÓMEZ, J. LASTRES, E. MIRASOL, E. ROLDAN, E. SÁEZ, A. SÁNCHEZ y M.TORRES. 1998. Plagas y enfermedades en cultivos hortícolas de la provincia de Almería: control racional. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla: 356 p.

ARAGÓN, J. 1997. Plagas del trigo y su control. En: Trigo. Actualización técnica 1996/1997. INTA, E.E.A. Marcos Juárez y SAPyA, pp: 41-45.

ASLAN, M. M., N. UYGUN y P. STARÝ. 2004. A Survey of Aphid Parasitoids in Kahramanmaras, Turkey (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; and Hymenoptera: Aphelinidae). Phytoparasítica 32 (3): 255-263.

BADII, M. H., A. E. FLORES, G. PONCE, H. QUIROZ, J. A. GARCÍA SALAS y R. FOROUGHBAKHCH. 2004. Formas de evaluar los enemigos naturales en control biológico. CULCYT 1(2): 3-11.

BAGGEN, L., G. M. GURR y A. MEATS. 1999. Flowers in tri-trophic systems: mechanisms allowing selective explotation by insect natural enemies for conservation biological control. Entomologia Experimentalis et Applicata 91:155-161.

BAI, B. B. 1991. Conspecific and heterospecific interactions in two species of aphid parasitoids, *Aphidius ervi* and *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphidiidae, Aphelinidae). Tesis de Doctorado, Simon Fraser University, Canadá.

BARLOW, C. A. 1962. The influence of temperature on the growth of experimental population of *Myzus persicae* (Sulzer) and *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Aphididae). Canadian Journal of Zoology 40:145-156.

BEGON, M., J. L. HARPER Y C. R. COLIN. 1988. Ecología: individuos, poblaciones y comunidades. Ediciones Omega. S. A. 886 p.

BENNISON, J. A. 1992. Biological control of aphid on cucumber, use of open rearing systems or banker plants to aid establishmen of *Aphidius matricariae* and *Aphidoletes aphidimyza*. Med Fac Landbouw Univ Gent 57:457-466.

BERMEJILLO, A. I., M. F. FILIPPINI, F. PIMPINI, E. R. ANTONIOLLI, G. NARANJO, V. NOVELLO y P. RODRÍGUEZ. 2006. Una alternativa de producción sustentable en Mendoza: Cultivo de rúcula y otras aromáticas en sistema de raíz flotante. Universidad Nacional de Cuyo, Luján de Cuyo, Mendoza. Argentina.

BERTA D. C., M. V.COLOMBO y N. E.OVRUSKI. 2002. Interrelaciones entre los áfidos colonizadores del tomate y sus himenópteros parasitoides en Tucumán (Argentina). Boletín Sanidad Vegetal. Plagas 28:67-77.

BIELZA, P., J. CONTRERAS, M. M. GUERRERO, J. IZQUIERDO, A. LACASA, V. MANSANET. 2001. Effects of Confidor 20 LS and Nemacur CS on bumblebees pollinating greenhouse tomatoes. IOBC/wprs Bulletin 24:83-88.

BIELZA, P. 2007. Compatibilidad activa de plaguicidas y fauna auxiliar. http://www.horticom.com/pd/imagenes/67/099/67099.pdf Revisado el 27/04/11.

BILU, E., K. R. HOPPER y M. COLL. 2006. Host choice by *Aphidius colemani*: effects of plants, plant - aphid combinations and the presence of intra-guild predators.

Ecological Entomology, 31: 331–336.

BLACKMAN, R. L. y V. F. EASTOP. 1985. Aphids on the world´s crops. An identification guide. John Wiley y Sons. Chichester. UK. 466 p.

BOTTRELL, D.G., P. BARBOSA y F. GOULD. 1998. Manipulating natural enemies by plant variety selection and modification: A realistic strategy? Annual Review Entomology, 43: 347-367.

BOTTO, E. N., M. C. HERNÁNDEZ, M. E. BOGGIATTO y I. S. De CROUZEL. 1979. Resultados preliminares de los estudios bioecológicos sobre el pulgón amarillo de los cereales *Metopolophium dirhodum* (Walker). Estudios de campo. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 38 (1-4): 37-46.

BOTTO, E. N. y M. C. HERNÁNDEZ. 1989. Contribución al conocimiento de los enemigos naturales de los áfidos de los cereales en la República Argentina. Clave para la identificación de los áfidos momificados y los parasitoides primarios. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 46 (1-4): 75-85.

BOTTO, E. N. 1995. Control biológico de plagas en la República Argentina. Informe de la situación actual. En: El Control Biológico en América Latina. Actas III Mesa Redonda sobre Control Biológico en el Neotrópico. M. Zapater (ed.) FAO-IOBC/SRNT, pp: 15-20.

BOTTO, E. N., M.B. RIQUELME, A. FOLCIA, S.N. LOPEZ, A.V. ANDORNO y E. SAINI. 2003. Implementación práctica del Control Biológico de Plagas Hortícolas en Invernaderos. En: Plagas y Enfermedades en Manejo Orgánico: Una mirada Latinoamericana. IFOAM. Ed. Dina Foguelman. ISBN 3-934055-30-3.

BOTTO, E. N. 2005. Control Biológico Aplicado en la Argentina: Una visión desde el INTA. VI Congreso Argentino Entomología 12-15 Septiembre de 2005. SM de Tucumán. Libro Resúmenes. Mesa Paneles: Control Biológico, p: 58.

BRAIMAH, H. y H. F. VAN EMDEN. 1994. The role of the plant in host acceptance by the parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Braconidae). Bulletin of Entomological Research, 84: 303-306.

CABELLO GARCÍA, T. y J. BELDA SUÁREZ. 1994. Áfidos plaga (Homoptera: Aphididae) en cultivos hortícolas bajo plásticos. En: Moreno Vázquez R. (ed.). Sanidad Vegetal en la Horticultura Protegida. Cursos Superiores. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Pp: 157-177.

CANDOLFI, M.P., F. BAKKER, V. CAÑEZ, M. MILES, CH. NEUMANN, E. PILLING, M. PRIMIANI, K. ROMIJN, R. SCHMUCK, S. STORCK-WEYHERMÜLLER, A. UFER y A. WALTERSDORFER. 1999. Sensitivity of non-target arthropods to plant protection products: Could *Typhlodromus pyri* and *Aphidius* spp. be used as indicator species? Chemosphere 39(8): 1357-1370.

CASAFE, 2007. Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes de la República Argentina, Buenos Aires, Argentina.

CASTLE, S. J. y P. H. BERGER. 1993. Rates of growth and increase of *Myzus persicae* on virus infected potatoes according to type of virus-vector relationship. Entomologia Experimentalis et Applicata 69 (1): 51-57.

CEBALLOS G. 1956. Catálogo de los Himenópteros de España. 554 p. Familia Aphidiidae, pp: 160-161.

CIVIDANES, F. J. y V. P. SOUZA. 2003. Exigências térmicas e tabelas de vida de fertilidade de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) em laboratorio. Neotropical Entomology 32 (3): 413-419.

CLOYD, R. A. Y BETHKE J. A. 2010. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. Pest Management Science 67: 3-9.

CONTE, L., F. CHIARINI, A. ZANCANARO y L.D. MONTÁ. 2000. Biological control of *Aphis gossypii* Glover (Rhynchota, Aphididae) in organic greenhouse cucumbers using “banker plants” as open rearing units of beneficials: two years of trials. In: Alfoldi, T., Lockeretz, W., Niggli, U. (Eds.), IFOAM 2000: the world grows organic. Proceedings 13th International IFOAM Scientific Conference, Basel, Switzerland, 28 to 31 August, 2000. Zurich, Switzerland, p: 124.

CORBETT, A. y J. A. ROSENHEIM. 1996. Impact of natural enemy overwintering refuge and its interaction with the surrounding landscape. Ecological Entomology 21: 155-164.

CORDO, H. A., G. LOGARZO, K. BRAUN y O. DI IORIO. 2004. Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina y sus Plantas Asociadas. Sociedad Entomológica Argentina ediciones. Buenos Aires, Argentina. ISBN 987-21319-1-0. 720 p.

CHI, H. y H. Y. SU. 2006. Age-Stage, Two-Sex Life Tables of *Aphidius gifuensis*

(Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and Its Host *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) with Mathematical Proof of the Relationship Between Female Fecundity and the Net Reproductive Rate. Environmental Entomology, 35(1): 10-21.

CHORNEY R. J. y M. MACKAUER. 1979. The larval instars of *Aphidius smithi* (Hymenoptera: Aphidiidae). The Canadian Entomologist 111: 631-4

DE BACH, P. 1974. Biological Control by natural enemies. Cambridge University Press. London. 323 p.

DELFINO, M. A. 1983. Reconocimiento de los pulgones (Homoptera: Aphididae) frecuentes en cultivos de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en la República Argentina. Revista de Investigación del CIRPON 1(3):123-134.

DELFINO, M. A. y L. M. BUFFA. 2004. Diversidad de plantas, áfidos, parasitoides y hormigas melívoras en dos ambientes de las Altas Cumbres de Córdoba, Argentina. En: Actas de la XXI Reunión Argentina de Ecología, Mendoza, Argentina, 2004.

DE SANTIS, L. 1967. Catálogo de los himenópteros argentinos de la serie Parasítica, incluyendo Bethyloidea. Com. Invest. Cient. Prov. Buenos Aires, 337 p.

DE SANTIS, L. y L. ESQUIVEL. 1966. Tercera lista de himenópteros parasitos y predadores de los insectos de la República Argentina. Rev. Mus. La Plata, Zoología 9:45-215.

DEVI P. B. y T. K. SINGH. 2007. Studies on the morphometry of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). Entomological Research 37:81-85.

DIXON A. F. G. 1985. Structure of aphid populations. Annual Review Entomology 30:155-174.

DIXON A. F. G. 1998. Aphid ecology. Second edition. Chapman & Hall, London, pp: 221-246.

DOULOUMPAKA, S. y H. F. VAN EMDEN. 2003. A maternal influence on the conditioning to plant cues of *Aphidius colemani* Viereck, parasitizing the aphid *Myzus persicae* Sulzer. Physiological Entomology 28: 108-113.

EDWARDS, P.B. 1999. The use of choice tests in host-specificity testing of herbivorous insects. En: WITHERS, T. M., L. BARTON BROWNE y J. STANLEY (eds). Host

specificity testing in Australia: Towards improved assays for biological control. Pp: 35-43.

EILERS, E. J. y A. M. KLEIN. 2009. Landscape context and management effects on an important insect pest and its natural enemies in almond. Biological Control 51: 388-394.

EL DIN N. S. 1976. Effects of temperatura on the aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), with special reference to critically low and high temperature. Zeitschrift für Angewandte Entomologie 80:1976. 7–14.

ELLIOTT, N. C., B. W. FRENCH, D. K. REED, J. D. BURD y S. D. KINDLER. 1994. Host species effects on parasitization by asyrian population of *Diaeretiella rapae* M´Intosh (Hymenoptera: Aphidiidae). The Canadian Entomologist 126: 1515-1517.

ESCOBAR, H. 2003. Análisis de costos para hortalizas ecológicas. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. ISBN 958-9029.

ESPUR, J. C. y P. S. MANSUR. 1968. Reproducción sexual del "pulgón verde del duraznero" *Myzus persicae* (Sulz.) en Mendoza (Argentina). Revista de Investigaciones Agropecuarias 5(6):63-71.

FRANK, S. D. 2010. Biological control of arthropod pests using banker plant systems: Past progress and future directions. Biological Control 52: 8-16.

GASSEN, D. N. y F. J. TAMBASCO. 1983. Controle biologico dos pulgones do trigo no Brasil. Informe Agropecuario 104:49-51.

GRAMATGES ORTIZ, A. 2002. Aplicación y técnicas del análisis de supervivencia en las investigaciones clínicas. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia vol. 8 nro.2.

GRASSWITZ, T. R. 1998. Effect of adult experience on the host-location behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). Biological Control 12:177-181.

GUILLEBEAU, P. 2004. The pesticide paradox in IPM: Risk-Benefit Analysis. En: Integrated Pest Management. Potencial, Constraints and Challenges. Koul O., Dhaliwal G.S. and Cuperus G. W. (eds.) pp: 169-184.

GURR, G. M., S. D. WRATTEN y P. BARBOSA. 2000. Success in Conservation Biological Control of Arthropods. En: Biological Control: Measures of success.

Gurr G. and Wratten S. (eds.) Kluwer Academic Publishers. Chapter 4, pp: 105-132.

HAGVAR, E. B. y T. HOFSVANG. 1991. Aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphidiidae): Biology, host selection and use in biological control. Biocontrol News and Information 12(1): 13-41.

HAJEK, A. 2004. Natural enemies. An introduction to biological control. Cambridge University Press. 378 p.

HANSEN L. S. 1983. Introduction of *Aphidoletes aphidimyza* (Rond.) (Diptera: Cecidomyiidae) from an open rearing unit for the control of aphids in greenhouses. IOBC/WPRS Bulletin 6(3): 146-150.

HASSAN, S. A., F. BIGLER, P. BLAISINGER, H. BOGENSCHUTZ, J. BRUN, P. CHIVERTON, E. DICKLER, M. A. EASTERBROOK, P. J. EDWARDS, W. D. ENGLERT, S. I. FIRTH, P. HUANG, C. INGLESFIELD, F. KLINGAUF, C. KUHNER, M. S. LEDIEU, E. NATON, P. A. OOMEN, W. P. J. OVERMEER, S. W. SHIRES, A. STAUBLI, J. STEVENSON, J. J. TUSET, G. VANWETSWINKEL, A. Q. VAN ZON P. PLEVOETS, J. N. REBOULET, W. RIECKMANN, L. SAMS0E-PETERSEN, S. W. SHIRES, A. STAUBLI, J. STEVENSON, J. J. TUSET, G. VANWETSWINKEL, A. Q. VAN ZON. 1985. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the lOBC/WPRS Working Group Pesticides and Beneficial Organisms. Bulletin OEPP/EPPO 5:214-255.

HASSAN, S. A. 1997. Métodos padronizados para testes de selectividad, com ênfase em *Trichogramma*. In: Trichogramma e o Controle biologico Aplicado. Ed FEALQ, Brasil, pp: 207-233.

HENN, T., R. WEINZIERL y P. G. KOEHLER. 1995. Beneficial insects and mites. University of Florida. IFAS Extension ENY-276 (IN078).

HILL, R. L. 1999. Minimising uncertainty - in support of no-choice tests. En: WITHERS, T.M., L. BARTON BROWNE y J. STANLEY (Eds). Host specificity testing in Australia: Towards improved assays for biological control. Pp. 1-10.

HODDLE, M. S., R. G. VAN DRIESCHE y J. P. SANDERSON. 1998. Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. Annual Review of Entomology 43: 645-669.

HODDLE, M. S., R. G. VAN DRIESCHE, S. M. LYON y J. P. SANDERSON. 2001. Compatibility of insect growth regulators with *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae) for withefly (Homoptera: Aleyrodidae) control on poinsettias. Biological Control 20:122-131.

HWANG, J. S. y F. K. HSIEH. 1983. Development biology and population growth of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). Plant Protetion. Bulletin 25: 77-86.

INDEC. 2002. Censo Nacional Agropecuario.www.indec.gov.ar.

INFOSTAT, 2010. InfoStat versión 2010. Manual del usuario. Brujas, Córdoba, Argentina.

ISHAAYA, I., A. BARAZANI, S. KONTSEDALOV y A. R. HOROWITZ. 2007. Insecticides with novel modes of action: Mechanism, selectivity and cross-ressitance. Entomological Research 37: 148-152.

IVES, A.R., S.S. SCHOOLER, V.J. JAGAR, S.E. KNUTESON, M. GRBIC y W.H. SETTLE. 1999. Variability and Parasitoid Foraging Efficiency: A Case Study of Pea Aphids and *Aphidius ervi*. The American Naturalist 154 (6): 652-673.

JACOBSON y P. CROFT. 1998. Strategies for the control of Aphis gossypii Glover (Hom: Aphididae) with *Aphidius colemani* Viereck (Hym: Braconidae) in protected cucumbers, Biocontrol Science and Technology 8:377–387.

JANSEN, J. P., T. DEFRANCE y A. M. WARNIER. 2011. Side effects of flonicamide and pymetrozine on five aphid natural enemy species. BioControl DOI 10.1007/s10526-011-9342-1 http://www.springerlink.com/content/f802511vr1855770/fulltext.pdf Revisado el 12/03/11.

KANEGAE, A. P. y C. LOMÔNACO. 2003. Plasticidade morfológica, reproductiva e assimetria flutuante de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) sob diferentes temperaturas. Neotropical Entomology 32 (1): 37-43.

KAVALLIERATOS, N. G., D. P. LYKOURESSIS, G. P. SARLIS, G. J. STATHAS, A. SANCHIS SEGOVIA y C. G. ATHANASSIOU. 2001. The Aphidiinae (Hymenoptera: Ichneumonoidea: Braconidae) of Greece. Phytoparasitica 29(4):306-340.

KAVALLIERATOS, N. G., G. J. STATHAS, C. G. ATHANASSIOU y G. T. PAPADOULIS. 2002. *Dittrichia viscosa* and *Rubus ulmifolius* as reservoirs of aphid parasitoids

(Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) and the role of certain coccinellid species. Phytoparasitica 30(3):231-242.

KAVALLIERATOS, N. G., Ž. TOMANOVIĆ, C. G. ATHANASSIOU, P. STARÝ, V. ŽIKIĆ, G. P. SARLIS y C. FASSEAS. 2005. Aphid parasitoids infesting cotton, citrus, tobacco, and cereal crops in southeastern Europe: aphid-plant associations and keys. Cannadian Entomology 137: 516-531.

KIM, Y. y J. KIM. 2004. Biological control of *Aphis gossypii* using barley banker plants in greenhouse grown oriental melon. In: Hoddle, M.S. (ed.), California Conference on Biological Control IV, Berkeley, California, USA, 13–15 July, 2004. Center for Biological Control, College of Natural Resources, University of California, Berkeley, USA.

KOGAN, M. 1998. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. Annual Review of Entomology 43:243-270.

LANDIS, D. A., S. D. WRATTEN y G. M. GURR. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual Review Entomology 45: 175-201.

LA ROSSA, F.R. y N. KAHN. 2003. Dos programas de computadora para confeccionar tablas de vida de fertilidad y calcular parámetros biológicos y demográficos en áfidos (Homoptera, Aphidoidea). RIA 32 (3):127-142.

LA ROSSA, F. R., A. VASICEK, P. MENDY, A. MORENO KIERNAN y A. PAGLIONI. 2005. Biología y demografía de *Diuraphis noxia* (Mordv.), *Rhopalosiphum padi* (L.) y *Metopolophium dirhodum* (Wlk.) sobre trigo en condiciones de laboratorio (Hemiptera: Aphididae). Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa 36: 327–331.

LAUGHLIN, R. 1965. Capacity for increase: a useful population statistic. Journal Animal Ecology 34:77-91.

LEATHER S. R. y F. G. DIXON. 1981. Growth, survival and reproduction of the bird-cherry aphid, *Rhopalosiphum padi*, on its primary host. Annals of Applied Biology 99:115-118.

LEATHER S. R. y F. G. DIXON. 1982. Secondary host preferences and reproductive activity of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*. Annals of Applied

Biology 101:219-228.

LO PINTO, M., E. WAJNBERG, S. COLAZZA, C. CURTY y X. FAUVERGUE. 2004. Olfactory response of two aphid parasitoids, *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani*, to aphid-infested plants from a distance. The Netherlands Entomological Society, Entomologia Experimentalis et Applicata 110:159-64.

MARKKULA, M. y K. TIITTANEN. 1976. “Pest in first” and “natural infestation” methods in the control of *Tetranychus urticae* Koch with *Phytoseiulus persimilis* A.-H. on glasshouse – cucumbers (Acari). Annales Agriculturae Fenniae 15:81-85.

MARINO, P. y D. LANDIS. 1996. Effects of landscape structure on parasitoid diversity and parasitism in agroecosystems. Ecological Applications 6(1): 276-284.

MAIENFISCH, P., H. HUERLIMANN, A. RINDLISBACHER, L. GSELL, H. DETTWILER, J. HAETTENSCHWILER, E. SIEGER y M. WALTI. 2001. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. Pest Management Science, 57: 165-176.

MEAD-BRIGGS, M. A., K. BROWN, M. P. CANDOLFI, M. J. M. COULSON, M. MILES, M. MOLL, K. NIENSTEDT, M. SCHULD, A. UFER y E. McINDOE. 2000. A laboratory test for evaluating the effects of plant protection products on the parasitic wasp, *Aphidius rhopalosiphi* (DeStephani-Perez) (Hymenoptera: Braconidae). In: Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. IOBC, BART and EPPO Joint Initiative. IOBC/WPRS. Candolfi M. P., Blumel S., Forster R., Bakker F. M., Grimm G., Hassan S. A., Heimbach U., Mead-Briggs M. A., Reber B., Schmuck R., Vogt H. (eds.) 158 p.

MEAD-BRIGGS, M. A., M. MOLL, C. GRIMM, M. SCHULD, A. UFER y H. WALKER. 2010. An extended laboratory test for evaluating the effects of plant protection products on the parasitic wasp, *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Braconidae). BioControl 55:329-338.

MENALLED, F., P. MARINO, S. GAGE y D. LANDIS. 1999. Does agricultural landscape structure affect parasitism and parasitoid diversity? Ecological Applications 9(2): 634-641.

MESSENGER, P. S. 1964. Use of life tables in a bioclimatic study of and experimental

aphid-braconid wasp host-parasite system. Ecology 45:119-131.

MORALES, M. y J. JANICK. 2002. Arugula: A promising speciality leaf vegetable. Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA.

MORAN, N. A. 1992. The evolution of aphid life cycles. Annual Review Entomology. 37: 321-348.

MORENO, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T manuales y tesis SEA. Vol.1. Zaragoza, 84 p.

MOSHE, C. y D. G. BOTTRELL. 1996. Movement of an insect parasitoid in simple and diverse plant assemblages. Ecological Entomology 21: 141-149.

MURATORI F., J.L. LANNIC, J.P. NÉNON y T. HANCE. 2004. Larval morphology and development of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). The Canadian Entomologist 136:169-180.

NAUEN, R., U. EBBINGHAUS-KINTSCHER, V.L. SALGADO y M. KAUSSMANN. 2003. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. Pesticide Biochemistry & Physiology, 76: 55-69.

NEMEC, V. y P. STARỲ. 1984. Population diversity of *Diaeretiella rapae* (M´Int.) (Hym., Aphidiidae), an aphid parasitoid in agroecosystems. Zeitschrift für Angewandte Entomologie 97:223-233.

NEUDORFF. 2002. Handbuch 2002 für den Erwerbsgartenbau. 35 pp.

ODE, P. J., K. R. HOPPER Y M. COLL. 2005. Oviposition vs. offspring fitness in *Aphidius colemani* parasitizing different aphid species. Entomologia Experimentalis et Applicata 115: 303-310.

O´DONNELL. 1987. Larval development and determination of the number of instars in aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae). International Journal of Insect Morphology and Embryology 16(1): 3-15.

OJEDA, M., L. RODRÍGUEZ y H. NIEMEYER. 2001. Evaluación olfatométrica del parasitoide *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae), de diferentes proveniencias y niveles de experiencia de oviposición, frente a volátiles de plantas y complejos planta-hospedero. Revista Chilena de Entomología 28: 63-69.

ORTEGO, J. y R. CARRILLO. 1995. Origen de formas aladas de *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) en áreas de producción de papa en Malargüe, Argentina.

Revista Chilena de Entomología 22:9-15.

ORTEGO, J. y M. E. DIFABIO. 2002. Primer registro de *Sipha* (Rungsia) *maydis* Passerini 1860 (Hemiptera: Aphididae) potencial plaga de cereales en Argentina. XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Facultad de Agronomía y Veterinaria. U.N. Río Cuarto, Córdoba. p.126.

OVRUSKI, N. E., D. C. BERTA y M. V. COLOMBO. 1998. Pulgones colonizadores del cultivo del tomate y sus himenópteros parasitoides, en Tucumán. Revista Avance Agroindustrial 19(75):43-45.

PALADA, M. C. y S. CROSSMAN. 1999. Evaluation of tropical leaf vegetables in Virgin Islands. Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, VA.

PARE F., C. CLOUTIER, L. HUOT y J. N. MCNEIL. 1979. Description of egg and larval stages of *Aphidius nigripes*. Annals of the Entomological Society of America 72: 620–6

PARODI, L. R. 1959. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Volumen I. Descripción de las plantas cultivadas. Editorial Acme.

PARR W. J., H. J. GOULD, N. H. JESSOP y F. A. LUDLAM. 1976. Progress towards a biological control programme for glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) on tomatoes. Annals of Applied Biology 83:349-363.

PATCH E. M. 1917. The aphid of choke cherry and grain.Maine Agricultural Experiment Station. Bulletin 267:293-297.

PENNACHIO, F. y M. C. DIGILIO. 1990. Morphology and development of larval instars of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri 46:163-174.

PEREIRA, E. R. 2002. Cultivo da rúcula e do rabanete sob túneis baixos cobertos com plástico com diferentes níveis de perfuração. Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil.

PEROVIC D. J., G. M. GURR, A. RAMAN y H. I. NICOL. 2010. Effect of landscape composition and arrangement on biological control agents in a simplified agricultural system: A cost-distance approach. Biological Control 52: 263-270.

PETERMANN, J. S., C. B. MÜLLER, A. WEIGELT, W. WEISSER y B. SCHMID. 2010. Effect of plant species loss on aphid-parasitoid communities. Journal of Animal Ecology 79:709-720.

PIGNONE, D. 1996. Rocket: A mediterranean crop for the world. Project on underutilized mediterranean species. IPGRI.

PIKE, K. S., P. STARÝ, T. MILLER, D. ALLISON, L. BOYDSTON, G. GRAF y R. GILLESPIE. 1997. Small-Grain Aphid Parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae and Aphidiidae) of Washington: Distribution, Relative Abundance, Seasonal Occurrence and Key to known North American Species. Environmental Entomology 26(6): 1299-1311.

PIKE, K. S., P. STARÝ, T. MILLER, D. ALLISON, G. GRAF, L. BOYDSTON, R. MILLER y R. GILLESPIE. 1999. Host range and habitat of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) in Washington State. Environmental Entomology 28(1): 61-71.

PIMM, S. L. 1979. The structure of Food Webs. Theoretical Population Biology 16:144-158.

PIMM, S. L. 1980. Properties of Food Webs. Ecology 61(2): 219-225.

PIMM, S. L., J. H. LAWTON y J. E. COHEN. 1991. Food web patterns and their consequences. Nature 350:669-674.

PIMPINI, F. y M. ENZO. 1996. Rocket: A mediterranean crop for the world. Project on underutilized mediterranean species. IPGRI.

PINEDA, A. y M. A. MARCOS-GARCÍA. 2008. Introducing barley as aphid reservoir in sweet-pepper greeenhouses: Effects on native and released hoverflies (Diptera: Syrphidae). European Journal of Entomology 105: 531-535.

RABINOVICH, J. E. 1980. Introducción a la Ecología de poblaciones animales. Compañía Editora Continental, S. A., México. 313 p.

RAFFA, K. F., N. P. HAVILL y E. V. NORDHEIM. 2002. How many choices can your test animal compare effectively? Evaluating a critical assumption of behavioral preference tests. Oecologia, 133: 422-429.

RAMAN K. V. 1985. Transmission of Potato Viruses by Aphids. Technical Information Bulletin 2. International Potato Center Lima, Peru. 23 p.

READ, D. P., P. FEENY y R. ROOT. 1970. Habitat selection by the aphid parasite

Diaeretiella rapae (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: Cynipidae). The Canadian Entomologist 102: 1567-1578.

REBEK, E. J., C. S. SADOF y L. M. HANKS. 2005. Manipulating the abundance of natural enemies in ornamental landscapes with floral resource plants. Biological Control 33: 203-216.

RICCI, E.M., F.R. LA ROSSA y A. VASICEK. 1999. Estadísticos vitales de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) en tres cultivares de lechuga. Ceiba 40 (1): 69-71.

RICCI, E.M., F.R. LA ROSSA y A. VASICEK. 2000. Demografía del "pulgón verde del duraznero" *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphidoidea) sobre pimiento (*Capsicum annum*) en condiciones de laboratorio. Ceiba 41(1):17-20.

RILL, S. M., E. E. GRAFTON-CARDWELL y J. G. MORSE. 2008. Effects of two insect growth regulators and a neonicotinoid on various life stages of *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). BioControl 53: 579-587.

RIQUELME, M. B. 2009. Evaluación del parasitoide oófago T*richogrammatoidea bactrae* Nagaraja, 1979 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) como agente de control biológico de la polilla del tomate, T*uta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera, Gelechiidae) en cultivo de tomate en invernadero. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 169 p.

RISCH, S., D. ANDOW y M. ALTIERI. 1983. Agroecosystem diversity and pest control: data, tentative conclusions and new research directions. Environmental Entomology 12: 625-629.

RODRIGUEZ, S. M., S. BADO, A. M. FOLCIA y A. B. DELLA PENNA. 1996. Incidencia de *Metopolophium dirhodum* (Walk.) en los factores de rendimiento de *Triticum aestivum*. Revista de la Facultad de Agronomía (UBA), 16(1-2): 49-53.

RODRÍGUEZ, M. P., M. M. SÁNCHEZ, M. NAVARRO y V. APARICIO. 2003. *Aphidius colemani* enemigo natural de pulgones. Revista Horticultura 171: 50-53.

ROLLINS, R. C. 1993. The Cruciferae of Continental North America. Stanford University Press, Stanford, California.

ROOT, R. B. 1973. Organization of plant arthropod associations in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). Ecological Monographs 43:95-

124.

ROTT A. S. y H. C. J. GODFRAY. 2000. The structure of a leafminer-parasitoid community. Journal of Animal Ecology, 69:274-289.

RUTLEDGE, C. E. y R. N. WIEDENMANN. 1999. Habitat Preferences of Three Congeneric Braconoid Parasitoids: Implications for Host-Range Testing in Biological Control. Biological Control 16: 144-154.

RUÍZ C., J. A., G. MEDINA, G., A. GONZÁLEZ, T. ORTIZ, L. FLORES, P. MARTÍNEZ y M. BYERLY. 1999. Requerimientos agroecológicos de cultivos. INIFAP. CIRPAC. Libro Técnico Número 3. Guadalajara, México. 324 p.

SAMPAIO, M. V., V. BUENO y J. C. VAN LENTEREN. 2001a. Prefêrencia de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) por *Myzus persicae* (Sulzer) e *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Neotropical Entomology 30 (4): 655-660.

SAMPAIO, M. V., V. BUENO y R. PEREZ-MALUF. 2001b. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Neotropical Entomology 30 (1): 81-87.

SAMPAIO, M. V., V. H. P. BUENO, S. M. M. RODRIGUES y M.C.M. SOGLIA. 2005. Resposta à temperatura de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) originário de três regiões climáticas de Minas Gerais, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia 49(1): 141-147.

SAMPAIO, M. V., V. H. P. BUENO, S. M. M. RODRIGUES, M. C. M. SOGLIA y B. F. DE CONTI. 2007. Desenvolvimento do *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) e alterações causadas pelo parasitismo no hospedeiro *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em diferentes temperaturas. Neotropical Entomology 36(3):436-444.

SAMPAIO, M. V., V. H. P. BUENO y B. F. DE CONTI. 2008. The effect of the quality and size of host aphid species on the biological characteristics of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). European Journal of Entomology 105: 489-494.

SANDS, D. y R. G. VAN DRIESCHE. 2002. Host range testing techniques for parasitoids and predators. 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods. Honolulu, Hawaii, pp: 41-53.

SCHLINGER E. I. y J. C. HALL. 1960. The biology, behavior, and morphology of *Praon palitans* Muesebeck, an internal parasite of the spotted alfalfa aphid, *Therioaphis maculata* (Buckton) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). Annals of the Entomological Society of America 53:144–160.

SEQUEIRA, R. y M. MACKAUER. 1992. Nutritional ecology of an insect host-parasitoid association: The pea aphid - *Aphidius ervi* system. Ecological Society of America 73: 183-189.

SIMON, J. C., D. MARTÍNEZ, A. LATORRE, A. MOYA y P. D. N. HEBERT. 1996. Molecular Characterization of Cyclic and Obligate Parthenogens in the Aphid *Rhopalosiphum padi* (L.). Biological Sciences 263 (1369): 481-486.

SMITH, S. M. 1996. Biological Control with Trichogramma: Advances, Succeses, and Potential of their use. Annual Review of Entomology 41: 375-406.

SOGLIA, M.C.M., V.H.P. BUENO, M.V. SAMPAIO, S.M.M. RODRIGUES y C.A.S. LEDO. 2006. Desenvolvimento e Parasitismo de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) e *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) em *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em Duas Cultivares de Crisântemo. Neotropical Entomology 35(3): 364-370.

SOKAL, R. R. y J. F. ROHLF. 1981. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 2nd ed., W. H. Freeman and Company, San Francisco, 859 p.

SOUTHWOOD, T. R. E. 1994. Ecological methods. Chapman y Hall, 524 p.

STACEY D. L. 1977. Banker plant production of *Encarsia formosa* Gahan and its use in the Control of glasshouse whitefly on tomatoes. Plant Pathology 26:63-66.

STARỲ, P. 1962. Hymenopterous parasites of the pea aphid *Acyrthosiphon onobrychis* (Boyes) in Czechoslovakia.I. Bionomics and ecology of *Aphidius ervi*. Folia Zoologica 11: 265–78.

STARỲ, P., 1975. *Aphidius colemani* Viereck: its taxonomy, distribution and host range (Hymenoptera, Aphidiidae). Acta Entomologica Bohemoslovaca 72: 156-163.

STARỲ, P. 1976. Aphid Parasities (Hymenoptera, Aphidiidae) of the Mediterranean Area. Academia Nakladatelstvi Ceskoslovenske Akademie Ved.

STARỲ, P. 1993. Alternative host and parasitoid in first method in aphid pest

management in glasshouses. Journal of Applied Entomology 116: 187-191.

STARỲ, P. y M. A. DELFINO. 1986. Parasitoids (Hym., Aphidiidae) of aphids (Hom., Aphididae) in Tucumán, Argentina. Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri, 43:41-50.

STARỲ, P. y V. NEMEC. 1986. Common elder, *Sambucus nigra*, as a reservoir of aphids and parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae). Acta Entomologica. Bohemoslovaca 83:271-278.

STARỲ, P. y M. CERMELI. 1989. Parasitoides (Hymenoptera, Aphidiidae) de áfidos en plantas cultivadas de Venezuela. Boletín de Entomología Venezolana 5(10):77-80.

STARỲ, P., M. GERDING y H. NORAMBUENA. 1991. Identificación de parasitoides de áfidos de los cereales. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Quilamapu, Chillán, Chile. 8 p.

STARỲ, P., M. GERDING, H. NORAMBUENA y G. REMAUDIÈRE. 1993. Environmental research on aphid parasitoid biocontrol agents in Chile (Hym., Aphidiidae; Hom., Aphidoidea). Journal of Applied Entomology 115: 292-306.

STARỲ, P., F. RODRIGUEZ y G. REMAUDIÈRE. 1994. Asociación planta-áfido-parasitoide (Hom., Aphidoidea; Hym., Aphidiidae), en la zona central de Chile. Agricultura Técnica 54(1):46-53.

STARỲ, P. y K. S. PIKE. 1999. Uses of beneficial insect diversity in agroecosystem management. En: Biodiversity in Agroecosystem. Collins W. y Qualset C. (eds.) CRC Press, pp: 49-68.

STATSOFT INC. 2000. Statistica for Windows (computer program manual), Tulsa, OK, USA.

SYLLER, J. 1994. The effects of temperature on the availability and acquisition of potato leaf roll luteovirus by *Myzus persicae*. Annals of Applied Biology 124(3):141-149.

TAKADA, H. 2002. Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; Aphelinidae) of four principal pest aphids (Homoptera: Aphididae) on greenhouse vegetable crops in Japan. Applied Entomology and Zoology 37(2): 237-249.

TAMAKI, G, B. ANNIS, L. FOX, R. K. GUPTA y A. MESZLENY. 1982. Comparison of yellow holocyclic and green anholocyclic strains of *Myzus persicae* (Sulzer): low temperature adaptability. Environmental Entomology 11: 231-233.

TIZADO MORALES, E. J., E. NÚÑEZ PÉREZ y J. M. NIETO NAFRÍA. 1992. Reservorios silvestres de parasitoides de pulgones del género *Aphis* con interés agrícola en la provincia de León (Hym., Braconidae: Aphidiinae; Hom., Aphididae). Boletín Sanidad Vegetal Plagas 18:309-313.

TOMANOVIĆ, Ž., N. G. KAVALLIERATOS, P. STARÝ, C. G. ATHANASSIOU, V. ŽIKIĆ, O. PETROVIĆ-OBRADOVIĆ y G. P. SARLIS. 2003. *Aphidius* Nees aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) in Serbia and Montenegro: tritropic associations and key. Acta Entomologica Serbica 8(1-2):15-39.

TORRES, A., V. BUENO, M. SAMPAIO y B. DE CONTI. 2007. Tabela de Vida de Fertilidade de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) em Aphis gossypii Glover (Hemiptera: Aphididae). Neotropical Entomology 36 (4): 532-536.

THACKER, J. R. M. 2002. An introduction to arthropod pest control. Cambridge University press, UK. 450 p.

VAN DEN BOSCH, R. y A. D. TELFORD. 1964. Modificación del ambiente y control biológico. En: El alcance del control biológico. De Bach P. y E. Schlinger (eds.) Chapman y Hall, London, pp: 547-581.

VAN DER HOEK, G. 1971. The larval instars of *Aphidius pulcher* Baker (Hymenoptera: Aphidiidae). Proceedings of the Entomological Society of Ontario 101: 55–9.

VAN DRIESCHE, R. G. y T. S. BELLOWS. 1996. Biological Control. Chapman y Hall, 539 p.

VAN DRIESCHE, R. G., M. S. HODDLE y T. D. CENTER. 2007. Control de Plagas y Malezas por Enemigos Naturales, 751 p.

VAN DRIESCHE, R. G., S. LYON, J. P. SANDERSON, K. C. BENNETT, E. J. STANEK y R.T. ZHANG. 2008. Greenhouse trials of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) banker plants for control of aphids (Hemiptera: Aphididae) in greenhouse spring floral crops. Florida Entomologist 91: 583-591.

VAN EMDEN, H. F. 1995. Host-plant-aphidophaga interactions. Agriculture, Ecosystems & Environment 52: 3-11.

VAN LENTEREN, J. C. 1997. Biological control. P.1-34 En: J.C.van Lenteren (ed) Integrated Pest Management in protected cultivation. Wageningen: Agricultural University Wageningen, 339 p.

VAN LENTEREN, J. C. y J. WOETS. 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. Annual Review of Entomology 33:239-269.

VAN STEENIS, M. J. 1993a. Suitability of *Aphis gossypii* Glov., *Macrosiphum euphorbiae* (Thom.) and *Myzus persicae* Sulz. (Hom.: Aphididae) as host for several aphid parasitoid species (Hym.; Braconidae). Bulletin IOBC/WPRS, XVI/2: 157-160.

VAN STEENIS, M. J. 1993b. Intrinsic rate of increase of Aphidius colemani Vier. (Hymenoptera, Braconidae), a parasitoid of Aphis gossypii Glov. (Homoptera, Aphididae), at different temperatures. Journal of Applied Entomology 116: 192-198.

VAN STEENIS, M. J. 1995. Evaluation of four aphidiine parasitoids for biological control of *Aphis gossypii*. Entomologia Experimentalis et Applicata 75: 151-157.

VAN STEENIS, M. J. y K. EL-KHAWASS.1995. Life history of *Aphis gossypii* on cucumber: influence of temperature, host plant and parasitism. Entomologia Experimentalis et Applicata 76: 121-131.

VAN STEENIS, M. J. y K. EL-KHAWASS.1996. Different parasitoid introdution schemes determine the success of biological control of *Aphis gossypii* with parasitoid *Aphidius colemani*. Bulletin IOBC/W PRS 19:159-162.

VASICEK, A., F.R. LA ROSSA y A. PAGLIONI. 2001. Aspectos biológicos y poblacionales de *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera, Aphidoidea) en pimiento (*Capsicum annun* L.). Boletín Sanidad Vegetal. Plagas 27: 439-446.

VASICEK, A. F.R. LA ROSSA, A. PAGLIONI y L. FOSTEL. 2003. Biología y demografía de *Myzus persicae* (Sulz.) y *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphidaidae) sobre dos variedades de *Brassica oleracea* L. Agro-Ciencia 19 (1): 25-29.

VERKERK, R. H., S. R. LEATHER y D. J. WRIGHT. 1998. The potential for manipulating

crop-pest-natural enemy interactions for improved insect pest management. Bulletin of Entomological Research 88: 493-501.

VERKERK, R. H. 2004. Manipulation of tritrophic interactions for IPM. En: Integrated Pest Management. Potential, Constraints and Challenges. Koul O., Dhaliwal G. y Cuperus G. Eds. CABI Publish pp: 55-71.

VIVAN, L.M., J.B. TORRES, R. BARROS y A. VEIGA. 2002. Tasa de crecimiento poblacional de la chinche depredador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) y de la presa *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en invernadero. Revista de Biología Tropical 50(1): 145-153.

VOLLHARDT, I. M., T. TSCHARNTKE, F. WÄCKERS, F. BIANCHI y C. THIES. 2008. Diversity of cereal aphid parasitoids in simple and complex landscapes. Agriculture, Ecosystems & Environment 126:289-292.

WALE, M., J. BEKELE Y S. EMIRU. 2000. Biology of the pea aphid, Acyrthosiphon pisum (Harris) (Homoptera: Aphididae) on cool-season legumes. Insect Science and its Application 20: 171-180.

YANO, E. 2006. Ecological considerations for biological control of aphids in protected culture. Population Ecology 48: 333-339.

ZAMANI, A. A., A. A. TALEBI, Y. FATHIPOUR Y V. BANIAMERI. 2006. Temperature-dependent funtional response of two aphid parasitoids, *Aphidius colemani* and *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Aphidiidae) on the cotton aphid. Journal of Pest Science 79:183-188.

ZEHNDER, G., G. M. GURR, S. KÜHNE, M. R. WADE, S. D. WRATTEN y E. WYSS. 2007. Arthropod pest management in organic crops. Annual Review of Entomology 52: 57-80.

ANEXOS

Anexo 1: Planificación de las rotaciones de cultivos. Campaña 2004. Establecimiento ROCO S.H.

MACROTÚNEL / MESES	1 (madera 100x4m)	2 (madera 100x4m)	3 (madera 100x4m)	4 (madera 100x4m)	5 (madera 85x4m)	6 (madera 50x4m)	7 (metálica 100x4m)	8 (metálica 100x4m)	9 (metálica 100x4m)	10 (metálica 100x4m)	11 (metálica 100x4m)	12 (metálica 100x4m)
Enero	lechuga	rúcula	SOLARIZACIÓN	plantines salvia 1/4	radicheta	albahaca	tomate	rúcula	rúcula	radicheta	albahaca 1/2 tomate 1/2	?
Febrero	lechuga	rúcula	SOLARIZACIÓN	plantines salvia 1/4	radicheta	albahaca	tomate	rúcula	rúcula	radicheta	albahaca 1/2 tomate 1/2	?
Marzo	lechuga 3/4 perejil 1/4	rúcula	albahaca	plantines salvia 1/4	radicheta	albahaca	tomate 1/2 menta 1/2	albahaca	rúcula	radicheta	albahaca 1/2 tomate 1/2	?
Abril	lechuga 3/4 perejil 1/4	rúcula	albahaca	plantines salvia 1/4 eneldo 1/4	radicheta	albahaca	tomate 1/2 menta 1/2	albahaca	rúcula	radicheta	albahaca 1/2 tomate 1/2	?
Mayo	cilantro 3/4 perejil 1/4	radicheta	albahaca	plantines salvia 1/4 eneldo 1/4	eneldo 1/4 frutilla 1/2 espinaca 1/4	radicheta	tomate 1/2 menta 1/2	albahaca	lechuga	rúcula	rúcula	rúcula
Junio	cilantro 3/4 perejil 1/4	radicheta	albahaca	plantines salvia 1/4 eneldo 1/4	eneldo 1/4 frutilla 1/2 espinaca 1/4	radicheta	cebollín 1/2 menta 1/2 plantines?	albahaca	lechuga	rúcula	rúcula	rúcula
Julio	cilantro 3/4 perejil 1/4	radicheta	albahaca 1/2 tomate 1/2	plantines salvia 1/4 eneldo 1/4	eneldo 1/4 frutilla 1/2 espinaca 1/4	radicheta	cebollín 1/2 menta 1/2 plantines?	albahaca	lechuga	rúcula	rúcula	rúcula
Agosto	cilantro 3/4 perejil 1/4	radicheta	albahaca 1/2 tomate 1/2	plantines salvia 1/4 eneldo 1/4	eneldo 1/4 frutilla 1/2 espinaca 1/4	radicheta	cebollín 1/2 menta 1/2 plantines?	albahaca	lechuga	rúcula	rúcula	rúcula
Septiembre	lechuga 1/2 cilantro 1/4 perejil 1/4	rúcula	albahaca 1/2 tomate 1/2	plantines salvia 1/4 eneldo 1/4	frutilla	rúcula	cebollín 1/2 menta 1/2 plantines?	albahaca	rúcula	radicheta	?	radicheta
Octubre	lechuga	rúcula	albahaca 1/2 tomate 1/2	plantines salvia 1/4	albahaca 1/2 tomate 1/4 frutilla 1/4	rúcula	melilotus?	albahaca	rúcula	radicheta	?	radicheta
Noviembre	lechuga	rúcula	tomate	plantines salvia 1/4	albahaca 1/2 tomate 1/4 frutilla 1/4	rúcula	melilotus?	rúcula	rúcula	radicheta	SOLARIZACIÓN	radicheta
Diciembre	lechuga	rúcula	tomate	plantines salvia 1/4	albahaca 1/2 tomate 1/4 frutilla 1/4	rúcula	melilotus?	rúcula	rúcula	radicheta	SOLARIZACIÓN	radicheta

Anexo 2: Banco simulador de movimiento de 1 pico. Utilizado para realizar las pulverizaciones correspondientes a los ensayos de compatibilidad de *A. colemani* con insecticidas utilizados en producciones hortícolas. Instituto de Ingeniería Rural- INTA Castelar.