

Tesis Doctoral

Evaluación de Pseudapanteles dignus (Hymenoptera-Braconidae) como posible agente de control biológico de Tuta Absoluta (Lepidoptera-Gelechiidae), plaga clave del cultivo de tomate en los alrededores del Gran Buenos Aires

Folcia, Ana María

2013

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:

Folcia, Ana María. (2013). Evaluación de Pseudapanteles dignus (Hymenoptera-Braconidae) como posible agente de control biológico de Tuta Absoluta (Lepidoptera-Gelechiidae), plaga clave del cultivo de tomate en los alrededores del Gran Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Folcia, Ana María. "Evaluación de Pseudapanteles dignus (Hymenoptera-Braconidae) como posible agente de control biológico de Tuta Absoluta (Lepidoptera-Gelechiidae), plaga clave del cultivo de tomate en los alrededores del Gran Buenos Aires". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2013.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Evaluación de *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera-Braconidae) como
posible agente de control biológico de *Tuta absoluta* (Lepidoptera-
Gelechiidae), plaga clave del cultivo de tomate en los alrededores del Gran
Buenos Aires.**

**Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos
Aires en el área de las Ciencias Biológicas.**

Ing. Agr. Ana María Folcia

Directores de tesis: Dr. Axel O. Bachmann y Dr. Eduardo N. Botto

Consejero de estudios: Dr. Axel O. Bachmann

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

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2013.

INDICE

Resumen	4
Abstract.....	5
Agradecimientos.....	6
CAPITULO 1- Introducción general y objetivos.....	7
CAPITULO 2- La plaga: <i>Tuta absoluta</i>, la “polilla del tomate”.....	18
<u>INTRODUCCIÓN</u>	19
<u>MATERIALES Y METODO</u>	21
<u>RESULTADOS</u>	25
<u>DISCUSION</u>	27
CAPITULO 3- El parasitoide: <i>Pseudapanteles dignus</i>.....	32
<u>INTRODUCCIÓN</u>	33
<u>3.1- PARÁMETROS POBLACIONALES DE <i>Pseudapanteles dignus</i></u>	35
<u>MATERIALES Y METODOS</u>	38
<u>RESULTADOS</u>	42
<u>DISCUSION</u>	49
<u>3.2- ATRIBUTOS COMPORTAMENTALES: postemergencia de los adultos</u>	50
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	51
<u>RESULTADOS</u>	52
<u>3.3- ATRIBUTOS COMPORTAMENTALES: selección de hospedero</u>	54
<u>MATERIALES Y METODOS</u>	58
<u>RESULTADOS</u>	60
<u>DISCUSIÓN</u>	64
<u>3.4- RESPUESTA FUNCIONAL</u>	67
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	71
<u>RESULTADOS</u>	74
<u>DISCUSION</u>	76
CAPÍTULO 4- Impacto de <i>Pseudapanteles dignus</i> sobre <i>Tuta absoluta</i> “polilla del tomate”	78
<u>INTRODUCCION</u>	79
<u>4.1- ESTUDIOS EN LABORATORIO</u>	82
<u>4.1.1 Efecto del parasitismo sobre el consumo de <i>Tuta absoluta</i></u>	82
<u>MATERIALES Y METODOS</u>	82

RESULTADOS.....	83
DISCUSION.....	85
4.1.2 Efecto sobre los parámetros poblacionales de <i>Tuta absoluta</i>	86
MATERIALES Y MÉTODOS	86
RESULTADOS.....	87
DISCUSIÓN.....	89
4.2- EVALUACIÓN DE LIBERACIONES EN CULTIVOS DE TOMATE.....	90
MATERIALES Y MÉTODOS	
ENSAYO 1 (Liberación única de parasitoides).....	90
ENSAYO 2 (Liberación múltiple del parasitoides).....	93
RESULTADOS	
ENSAYO 1.....	94
ENSAYO 2.....	94
DISCUSION.....	96
CAPITULO 5- Compatibilidad de tácticas químicas y biológicas en el manejo de la polilla del tomate <i>Tuta absoluta</i>.....	99
INTRODUCCIÓN.....	100
Control químico de la polilla del tomate.....	101
Inhibidores de quitina.....	103
Insecticidas de origen natural.....	104
Insecticidas microbiológicos.....	105
MATERIALES Y METODOS.....	108
RESULTADOS.....	109
DISCUSION.....	111
CAPITULO 6- Compatibilidad con insecticidas botánicos	114
INTRODUCCION	115
Eucalipto (<i>Eucalyptus sp.</i>).....	116
Paraiso (<i>Melia azedarach L.</i>).....	117
<i>Trichilia pallida Sw.</i>	120
<i>Ricinus communis L.</i>	121
MATERIALES Y MÉTODOS.....	123
Bioactividad sobre <i>Tuta absoluta</i>	123
Bioactividad sobre <i>Pseudapanteles dignus</i>	123
RESULTADOS	
Efecto sobre adultos de <i>Tuta absoluta</i>	125
Efecto sobre adultos de <i>Pseudapanteles dignus</i>	130
DISCUSIÓN.....	134
Conclusiones y Consideraciones finales.....	137
Bibliografía.....	141

EVALUACIÓN DE *PSEUDAPANTELES DIGNUS* (HYMENOPTERA-BRACONIDAE) COMO POSIBLE AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE *TUTA ABSOLUTA* (LEPIDOPTERA-GELECHIDAE), PLAGA CLAVE DEL CULTIVO DE TOMATE EN LOS ALREDEDORES DEL GRAN BUENOS AIRES.

RESUMEN

La polilla del tomate (*Tuta absoluta*) es considerada plaga clave del cultivo de tomate producido bajo cubierta en los alrededores de Buenos Aires debido a los daños que causa, en hojas, brotes y frutos, y a requerir permanentes medidas de control. Tanto el corto ciclo de vida que ocurre en los cultivos protegidos como la elevada cantidad de medidas de control requeridas han generado problemas de resistencia a insecticidas. Una de las alternativas al control químico es el control biológico. Hacia 1995 fue detectada la presencia natural de un parasitoide de larvas de *T. absoluta*, *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae).

El objetivo general de esta tesis fue determinar la eficacia de *Ps. dignus* como agente de control biológico aumentativo de *Tuta absoluta* y evaluar su compatibilidad con la estrategia de control químico de la plaga. Para ello se determinó su potencialidad mediante la evaluación de sus atributos biológicos en condiciones de laboratorio (supervivencia y fecundidad) y comparación con los de la plaga. Se estimó su tasa de ataque en relación con la densidad de la presa (respuesta funcional). Se evaluó su eficacia en el control por medio de liberaciones controladas en laboratorio e invernáculos experimentales. Además, se analizó la compatibilidad de su empleo con estrategias de control químico aceptadas en manejo convencional (insecticidas) y orgánico (extractos vegetales) de plagas.

Estos estudios resultan fundamentales para la implementación de una estrategia de manejo integrado de *T. absoluta* en cultivos de tomate en ambientes protegidos, que incluyan el empleo de liberaciones inoculativas de *Ps. dignus* en un contexto productivo.

PALABRAS CLAVE: parasitoide, polilla del tomate, tomate, liberación inoculativa, compatibilidad con insecticidas

EVALUATION OF *PSEUDAPANTELES DIGNUS* (HYMENOPTERA, BRACONIDAE) AS A POTENTIAL BIOLOGICAL CONTROL AGENT OF *TUTA ABSOLUTA* (LEPIDOPTERA-GELECHIDAE), TOMATO CROP KEY PEST IN GRAN BUENOS AIRES.

ABSTRACT

The tomato moth (*Tuta absoluta*) is considered a key pest of tomato crops produced under cover near Buenos Aires due to the damage it causes, in leaves, shoots and fruits, and require permanent control measures. Both the short life cycle that occurs in protected crops and the high number of required control measures have led to problems of insecticide resistance. One alternative to chemical control is biological control. By 1995 it was detected naturally occurring larval parasitoid *T. absoluta*, *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae).

The aim of this thesis was to evaluate the effectiveness of *Ps. dignus* as augmentative biological control agent of *Tuta absoluta* and to assess their compatibility with the chemical control strategy of the pest. This was determined by evaluating potential biological attributes in laboratory conditions (survival and fecundity) and compared with those of the pest. Estimated its attack rate relative to the density of prey (functional response). Evaluated its efficacy in control through releases controlled in laboratory and experimental greenhouses. Further analyzed the compatibility of use with chemical control strategies accepted in conventional (insecticides) and organic (plant extracts) pest management.

These studies are essential for the implementation of an integrated pest management strategy of *T. absoluta* in tomato crop under protected environment, with the use of *Ps dignus* inoculative releases in a productive context.

KEY WORDS: parasitoid, tomato moth, tomato, inoculative release, insecticide compatibility

AGRADECIMIENTOS

A mi Director Dr. Axel Bachmann por abrirme las puertas de la FCEN, enseñarme que los “bichos” son algo más que plagas agrícolas y animarme a terminar lo incabable.

A mi Director Dr. Eduardo Botto por abrirme las puertas del INTA e intentar abrir las de mi cabeza.

A mis compañeras de la Cátedra de Zoología Agrícola de la FAUBA por cubrime montones de veces, brindarme su ayuda y contención: Paola Carrizo, Silvia Rodriguez, Lina Russo y Alicia Pelicano.

A las Doctoras del I.I.L.B. del IMYZA (INTA Castelar), donde desarrollé mis experimentos, por sus consejos teóricos, prácticos, estadísticos, personales, etc. etc.: Silvia López, Mariana Viscarret, Maria Riquelme y Cecilia Horny.

A Alexis Cerezo de la Cátedra de Métodos Cuantitativos y Sistemas de Información, de la FAUBA por su ayuda con los ajustes matemáticos.

A los Jurados por sus observaciones y sugerencias.

A mi papá, Carlos, que pudo ver el inicio de esto.

A mi mamá, “Anita”, que aún me da aliento a pesar de todo.

A Dani, Pablo y Ana Laura, por aguantarme y empujarme a que termine, de una vez... Los amo y “no se olviden de tender la ropa”...

CAPITULO 1
INTRODUCCION
GENERAL
Y
OBJETIVOS

CAPITULO 1- INTRODUCCION GENERAL Y OBJETIVOS

Muchas especies de insectos herbívoros se han comportado como plaga de los cultivos agrícolas desde tiempos inmemoriales. Se puede considerar que una población de determinada especie de insecto se convierte en plaga cuando al actuar, ya sea por alimentación u oviposición, afecta el rendimiento y/o calidad del producto cosechado y, en consecuencia, el resultado económico del cultivo (Mareggiani & Pelicano, 2008).

Las necesidades alimentarias generadas por el aumento de la población humana han contribuido a una gradual intensificación de la agricultura a través del aumento de la superficie cultivada, la uniformidad genética de los cultivos, el aumento de la densidad de siembra y el desarrollo de nuevas técnicas para aumentar la producción (Zadoks, 1993). Entre estas técnicas se encuentran las tácticas de control de plagas.

A partir de 1950, el desarrollo de insecticidas químicos sintéticos generó, en principio, un control eficaz y simple de muchas plagas convirtiéndose durante varias décadas en el principal método de control (Dent, 1995).

Dentro de los primeros 10 años posteriores al uso masivo de insecticidas, comenzaron a aparecer algunos problemas asociados a su uso (Romero, 2004). Estos incluyen a los relacionados con el control mismo y a los que se originan como consecuencia de su utilización.

La resistencia a insecticidas es la principal causa de fallas en el control de plagas. Resulta de la presión selectiva ejercida sobre una población de insectos por exposición a los productos (Thacker, 2002). La supervivencia diferencial de individuos de dicha población, que pueden detoxificar o evitar la exposición al

insecticida, genera un cambio heredable en su susceptibilidad a éste. Desde 1950 se ha detectado resistencia a más de 500 insecticidas (Brent, 1987).

Los insecticidas pueden generar resurgencia de la plaga blanco (aquellas sobre la que va dirigido el control) o la generación de nuevas plagas por la destrucción de los enemigos naturales dado que muchos de estos son más sensibles a los productos que las plagas mismas (Croft, 1990).

En zonas agrícolas los insecticidas pueden contaminar el ambiente tanto suelo como agua, plantas silvestres y, en consecuencia, pájaros y otros animales homeotermos. La salud humana puede ser afectada tanto por intoxicación accidental durante las aplicaciones como por la ingestión de residuos de plaguicidas que persistan en el producto cosechado hasta el momento de consumo (Thacker, 2002).

Estos problemas son especialmente graves en cultivos hortícolas producidos cerca de las grandes ciudades donde se utilizan altas dosis de agroquímicos debido al alto precio de la producción y a la preferencia de los consumidores por hortalizas limpias y sin daños por insectos (Escaff & Giaconi, 2004).

En los cinturones hortícolas de Buenos Aires y La Plata se producen anualmente unos 5812.54 tn de tomate, de los cuales 65 % provienen de cultivos bajo cubierta. La superficie ocupada por este tipo de producción llega a 311 ha, casi un tercio del total del país (CHFBA, 2005).

Si bien las condiciones físico-ambientales que genera el invernáculo son las que hacen posible la producción hortícola a lo largo de todo el año, resultan óptimas para el rápido desarrollo de plagas y enfermedades que constituyen las principales limitaciones para la producción bajo cubierta (Botto, 1999).

La polilla del tomate es considerada plaga clave del cultivo de tomate producido bajo cubierta en los alrededores de Buenos Aires. En la Argentina, se la detectó por primera vez en Mendoza en una partida de tomate proveniente de Chile, en abril de 1964 (Bahamondes & Mallea, 1969).

En 1976 ya se encontraba difundida en los alrededores de Buenos Aires, noroeste (Tucumán, Salta y Jujuy), La Rioja, San Juan y norte de Mendoza, Santa Fe y Misiones (Bimboni, 1977). En la actualidad es la principal plaga de cultivos de tomate en invernáculo en el cinturón hortícola del Gran Buenos Aires (Botto, 1999). También se ha extendido a Uruguay a partir de 1968 (Carballo, 1995) y Brasil, donde fue citado por primera vez en el Estado de Paraná en 1979 (Muszinski *et al.*, 1982).

En Europa fue plaga cuarentenaria hasta finales del año 2006, cuando se registró su presencia en España en cultivos de tomate de Valencia y, posteriormente en la costa mediterránea y las islas Baleares (Ibiza) extendiéndose actualmente hasta Grecia al este y Túnez al sur (OEPP/EPPO, 2005).

Las plantas hospederas están limitadas a solanáceas en toda su área de distribución. Entre las cultivadas se la señala sobre papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), pepino dulce (*Solanum muricatum*), berenjena (*Solanum melongena*) y solanáceas silvestres (*S. sisymbriifolium*, *S. saponaceum*, *S. guiloense*, *S. elongnifolium* L., *S. nigrum* L., *L. puberulum* Ph., *Datura stramonium*, *D. ferox*, *Lycium chilense*) (Vargas, 1970; Povolný, 1975; Larraín, 1987; Carballo, 1995; Galarza, 1984; Estay, 2000). Sin embargo, en presencia de tomate los restantes hospederos son rechazados. Cuando las hembras de *T. absoluta* son expuestas a plantas de distintas especies de solanáceas prefieren oviponer en tomate (Fernández & Montagne, 1990).

La larva produce daños importantes desde el almácigo (García & Espul, 1982). Se alimenta tanto de frutos como de hojas y brotes. En frutos el daño consiste en galerías que se evidencian por la acumulación de excrementos. La zona de penetración es, principalmente, por debajo del cáliz. El ataque en frutos sólo ocurre hasta comienzos del envero (comienzo de la maduración) de estos por lo que los daños que se observan en tomates maduros son el resultado de ataques en etapas anteriores. El daño lleva a la putrefacción de las zonas afectadas, con la consiguiente pérdida de calidad e imposibilidad de comercializar el producto. Esto ocurre aún con bajas densidades de adultos presentes (Dughetti, 1993; Caffarini *et al.*, 1999).

Las larvas consumen enteramente el mesófilo de las hojas dejando las epidermis intactas, a través de las cuales es posible observarlas como también a sus excrementos. En ataques severos pueden disminuir su capacidad fotosintetizante. En los brotes, las galerías destruyen la yema apical, abortando el crecimiento simpodial de la planta (Carballo, 1995).

El ciclo de vida de la polilla se acorta con las temperaturas elevadas de los invernáculos por lo que se produce superposición de generaciones lo que, sumado a los hábitos minadores de la especie, determina dificultades en el control (Carballo, 1995). El control químico debe ser repetido muchas veces para ser eficaz, con el consiguiente aumento de costos económicos y ambientales (Ripa *et al.*, 1992). Se han registrado entre 10 y 17 aplicaciones durante el ciclo en la zona de Rosario y Bella Vista (Chaco) (Lietti *et al.*, 2002).

Desde la década del 80, se ha observado una disminución en la efectividad de algunos productos químicos usados para el control de la polilla del tomate. En Brasil se ha registrado la aparición de biotipos resistentes a la abamectina y al

cartap, dos insecticidas muy usados en esta plaga (Siqueira *et al.*, 2000a; Siqueira *et al.*, 2000b). En la Argentina se ha detectado un aumento importante de la DL50 (dosis letal media) de la deltametrina y de la abamectina en poblaciones sometidas a intenso control en relación con poblaciones susceptibles (Lietti *et al.*, 2002).

Además de estos problemas relacionados con el mantenimiento de la productividad actual, se debe tener en cuenta que es un cultivo con amplias posibilidades de encontrar mercados externos. Esto trae aparejada la necesidad de resolver los problemas relacionados con la sanidad y el ambiente. El manejo integrado de plagas (MIP) y el control biológico son temas clave, ya que los mercados exigen la aplicación de productos con menor toxicidad y sin residuos de plaguicidas. Por ese motivo se requiere capacitación e investigación para generar una ingeniería del MIP (Ghezan, 2002).

Una de las soluciones a los problemas de plagas de insectos, de manera más sustentable, es la modificación de los sistemas agrícolas para conservar o introducir enemigos naturales de las plagas agrícolas para reestablecer o generar la relación herbívoros-presa (van Driesche & Bellows, 1996).

El control biológico (CB), método basado en el manejo racional de los enemigos naturales (EN) de las plagas, se ha empleado exitosamente en Europa desde principios del siglo XX y actualmente juega un papel central en el manejo de plagas de cultivos protegidos (Hussey & Scopes, 1985; van Lenteren & Woetts, 1988). Las principales ventajas que tiene sobre el control químico son su selectividad, su baja probabilidad de generación de resistencia y la ausencia de contaminación ambiental (van Emden, 1985).

Los EN se clasifican en dos grandes categorías: los entomófagos (parasitoides y predadores) y los entomopatógenos (bacterias, hongos, nematodos,

microsporidios, virus). El CB puede implementarse según tres estrategias en función, entre otras cosas, del tipo de cultivo (extensivo/intensivo), las características de la plaga (exótica/nativa) y los EN presentes y/o disponibles.

El control biológico clásico está dirigido al control de plagas introducidas; utiliza EN importados desde el área de origen de la plaga. El control biológico aumentativo, aplicable a plagas exóticas y/o nativas, consiste en aumentar la cantidad de EN disponibles en el ambiente. El control biológico por conservación es utilizado para controlar plagas exóticas/nativas y procura favorecer la eficiencia de los EN proveyéndoles un ambiente más favorable (Botto *et al.*, 2003).

El incremento o aumento de enemigos naturales se ha desarrollado como táctica de CB desde hace aproximadamente 40 años (DeBach, 1985). Cuando un enemigo natural ha desaparecido (invernáculo, etc) o tarda en arribar a la nueva plantación o es escaso para generar control, su número puede ser aumentado a través de liberaciones (Ridgway & Vinson, 1977; King *et al.*, 1985). Dicha táctica puede involucrar dos estrategias: inoculación o inundación.

Las liberaciones inoculativas se realizan con unos pocos individuos a determinados intervalos durante la aparición de la plaga, comenzando cuando la población es muy baja. Se espera que los enemigos naturales se reproduzcan y provean un mayor control. El éxito de una liberación inoculativa es mantener una baja abundancia de la plaga, no permitiendo llegar al umbral de daño económico; por lo tanto debe considerarse, en cierto modo, una medida preventiva (Ridgway & Vinson, 1977).

Las liberaciones inundativas se realizan con elevadas cantidades del entomófago para lograr un control inmediato de la población del hospedero, sin aspirar a mantenerlo en el tiempo; por lo tanto es una medida correctiva a modo de

un insecticida biológico (Huffaker & Messenger, 1976; DeBach, 1985.; Hoffann & Frodsham, 1993; Wiebere *et al.*, 1995).

El aumento puede ser dirigido contra especies indígenas o adventicias. La principal limitación tiene que ver con el costo, calidad y efectividad en el campo de los individuos criados. El costo de la cría de un EN puede limitar su uso a situaciones donde es barato de criar, o en cultivos con alto valor, o cuando no hay otras alternativas disponibles (De Bach, 1985).

La experiencia en control biológico a lo largo de los tiempos ha sido abundante y con resultados muy variados. Se menciona muchas veces la palabra “falla” o “fracaso” en los intentos de desarrollar este método de control pero, en realidad, se debe hablar de “falta de conocimiento” . En general, estas situaciones van acompañadas de una falta de investigación adecuada para hacer una implementación exitosa fundamentalmente en lo que se refiere a biología de la plaga, sus enemigos naturales y el ambiente (Mahr & Ridway, 2004).

Para hacer liberaciones periódicas es necesario contar con un método de cría masiva que permita obtener suficientes individuos necesarios en el momento preciso de su dispersión en el cultivo. La meta de los programas de cultivos masivos es la de producir, con un mínimo de esfuerzo y costo, el número máximo de hembras fértiles de una especie entomófaga dentro de un período de tiempo dado (De Bach, 1985). Un punto clave consiste en tratar de alcanzar la fecundidad potencial de las hembras de entomófagos. Para llegar a ella es indispensable el conocimiento de la bionomía tanto del parasitoide como del hospedero, ciclo de desarrollo, preferencia por tamaño de hospedero, y las respuestas numérica y funcional de las hembras de entomófagos y sus presas, dado que su

desconocimiento puede ocasionar la extinción de la población (Ives & Settle, 1996; Lane *et al.*, 1999; Kairo & Murphy, 1999).

Asimismo, es necesaria la evaluación del efecto del parasitismo sobre la población de la plaga, no sólo en cuanto a su abundancia sino también en cuanto a la disminución de sus daños. El número de insectos entomófagos que debe ser introducidos dentro de un ambiente en el cual existe una cierta densidad de población de la plaga también está determinado por la respuesta funcional entre parasitoide y hospedero, dado que la tasa de oviposición (tasa de ataque) de un parasitoide depende de la densidad de la presa (Holling, 1959).

Además, debido a que el CB se considera una táctica fundamental en manejos orgánicos del cultivo o con bajo uso de agroquímicos, es indispensable evaluar su compatibilidad con los insecticidas permitidos en estos sistemas de producción (Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca, 2001). Tanto el uso de inhibidores de crecimiento como de entomopatógenos (por ej. *Bacillus thuringiensis*) pueden mostrar un sinergismo entre la acción de parasitoides braconídeos y el producto, aunque la supervivencia del entomófago se vea afectada (Atwood *et al.*, 1997; Schuler *et al.*, 1999). Esta disminución de la supervivencia depende del tiempo entre la parasitación y el tratamiento de control, siendo máxima cuando dichos sucesos son simultáneos (Chenot & Raffa, 1998; Chilcutt & Tabashnik, 1997).

En la zona de cultivo del cinturón hortícola de La Plata se ha detectado la presencia de varios enemigos naturales. Se han identificado los parasitoides de huevos *Trichogramma pretiosum* y *T. rojasi* y el predador *Chrysoperla externa*. Las larvas de la plaga son atacadas por numerosas avispas parasitoides (*Pseudapanteles dignus*, *Dineulophus phthorimaeae*, betílidos y calcididos) (Botto,

1995, Botto *et al.*, 2000). Entre ellos se destaca por su aparente abundancia natural, *Ps. dignus* (Muesebeck, 1938) (Hymenoptera- Ichneumonoidea- Braconidae- Microgastrinae), un parasitoide que afecta al estado larval de la plaga. Aunque no existen datos acerca del impacto de este entomófago sobre la abundancia de *Tuta absoluta*, se piensa que puede ser importante ya que en otros países (Brasil) se ha determinado que la máxima mortalidad de esta plaga se produce en el estado larval (Miranda *et al.*, 1998).

Esta observaciones conducen a pensar que *Ps. dignus* sería un buen candidato para realizar liberaciones inoculativas en momentos previos al posible brote de la plaga, como modo de adelantar su aparición en el sistema y evitar el aumento de la población de la plaga. Resulta indispensable, además, evaluar el efecto de otras estrategias de control de la plaga que se puedan utilizar simultáneamente. Con el marco de estas ideas se proponen como hipótesis de esta tesis:

Hipótesis:

- *Ps. dignus* es un parasitoide eficaz en el control biológico de la polilla del tomate mediante liberaciones inoculativas.
- Existen insecticidas naturales y sintéticos para el control de la polilla compatibles con las liberaciones de este parasitoide

El objetivo general de este trabajo fue determinar la eficacia de *Ps. dignus* como agente de control biológico aumentativo inoculativo de *Tuta absoluta* y evaluar su compatibilidad con la estrategia de control químico de la plaga. Esto implicará el cumplimiento de una serie de objetivos específicos:

- Estimar los parámetros biológicos de la plaga, *Tuta absoluta*, para compararlos con los del parasitoide.
- Determinar la potencialidad de *Ps. dignus* mediante la evaluación de sus atributos biológicos en condiciones de laboratorio (supervivencia y fecundidad).
- Estimar la tasa de ataque del parasitoide en relación con la densidad de la presa (respuesta funcional)
- Evaluar la eficacia de *Ps. dignus* en el control por medio de liberaciones controladas en laboratorio e invernáculos experimentales.
- Analizar la compatibilidad de *Ps. dignus* con estrategias de control químico aceptadas en el manejo convencional y orgánico de plagas.

CAPITULO 2

La plaga: *Tuta absoluta*,
la “polilla del tomate”

CAPITULO 2- La plaga: *Tuta absoluta*, la “polilla del tomate”

INTRODUCCIÓN

La “polilla del tomate” es un pequeño lepidóptero de la familia Gelechiidae (Figura 2.1) originario de América del Sur, cuya larva se alimenta exclusivamente de solanáceas (Carballo, 1995). Fue descrita por primera vez como *Phthorimaea absoluta* por Meyrick (1917) a partir de un ejemplar macho colectado en Huancayo, Perú. Posteriormente, la pasó al género *Gnorimoschema* (1923). Luego fue transferida sucesivamente a los géneros *Scrobipalpula* y *Scrobipalpuloides* por Povolný (1975). Su actual nombre válido es *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Povolný, 1994).

Los adultos son mariposas de 5-6 mm de longitud y 10-11 mm de expansión alar. Su coloración es castaña clara con numerosas manchas grises distribuidas en las alas anteriores. La región apical es de color castaño. Las antenas son largas y filiformes, alternando anillos de escamas gris oscuro con anillos de escamas color crema (Vargas, 1970). Las hembras presentan el abdomen castaño claro, más ancho y voluminoso que el de los machos (Estay, 2000).



Figura 2.1- Adulto de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Foto Saini, 2006)

Los huevos son elípticos, inicialmente amarillos pálidos hasta castaños rojizos cuando están cercanos a la eclosión de las larvas. Miden 0.38 x 0.24 mm (Bahamondes & Mallea, 1969).

Las larvas de primer estadio son blancas amarillentas con cabeza oscura. En el segundo estadio adquieren una coloración verdosa que se vuelve más intensa a medida que el insecto se alimenta de hojas. Al finalizar su desarrollo llegan a medir 8 mm y presentan una franja dorsal longitudinal rosada (González, 1989).

La pupa mide aproximadamente 6 mm de longitud; recién formada es de color verde cambiando a castaño oscuro al final del estado. Se sostiene de hojas y tallos pudiendo formar o no pequeños capullos.

Es una especie de reproducción bisexual y ovípara. Las hembras colocan los huevos aisladamente, entre 40 y 70 en zonas templadas, preferentemente en el tercio apical de la planta (Quiroz, 1976; Botto, 1999; Estay, 2000). Se pueden encontrar en ambas caras de los folíolos, cerca de las nervaduras, en el pecíolo, tallo, brotes y brácteas del fruto. Esto genera que, con el rápido crecimiento de la planta en invernáculo, la distribución de las larvas muestra mayor abundancia en la parte media (Botto, 1999; Haji *et al.*, 1988).

Luego de la eclosión, las larvas comienzan a alimentarse primero de las partes en que fueron depositados los huevos para luego dirigirse a otras partes de la planta. Pasa por cuatro estadios larvales luego de los cuales se transforma en pupa, formando un capullo sedoso entre las hojas secas, cintas de conducción del cultivo, debajo del cáliz de los frutos u en otras zonas protegidas de la planta y también en la hojarasca del suelo. Su ciclo dura entre 20 y 50 días según la temperatura (Quiroz, 1976; Haiji *et al.*, 1988 y Estay 2000).

La longevidad de los adultos es de aproximadamente 10-24 días, aunque el período de oviposición es corto desde tres días (Quiróz, 1976) a 10 a 11 días (Haiji *et al.*, 1988). Se estima que por debajo de 10°C hay inactividad de los adultos (Botto, 1999). En nuestra latitud se encuentra presente todo el año, aumentando su abundancia con la de su principal hospedero, el tomate, y las temperaturas más altas de febrero-marzo (Riquelme Virgala *et al.*, 2006).

En este capítulo se estimaron los parámetros biológicos y poblacionales de *Tuta absoluta* para contrastarlos con los del enemigo natural en estudio.

Se cumplieron los siguientes objetivos:

- Elaborar la curva de supervivencia y de fecundidad de *Tuta absoluta* en condiciones de laboratorio
- Estimar los parámetros biológicos y demográficos de *Tuta absoluta*

MATERIALES Y METODOS

Cría masiva de *T. absoluta*: se llevó a cabo en una cámara del insectario de Lucha Biológica del CNIA-INTA (Castelar, Buenos Aires, Argentina). El proceso comenzaba con la liberación de adultos de la polilla en una jaula de 60 cm de altura x 30 cm de lado con puerta de vidrio y paredes de voile (jaula de oviposición) en la que se colocaba, día por medio, una planta de tomate de 4-5 hojas. Dicha planta era retirada, fechada, y colocada en un estante de la cámara durante 2-3 días hasta que se produjera la eclosión de las larvas, lo que era evidenciado por la presencia de pequeñas galerías en los folíolos de tomate. En ese momento, la planta era colocada en una jaula de estructura metálica (1 x 0,90 x 0,40 m) (Figura 2.2)

cubierta por tela de voile. En su interior se colocaban de 4 a 10 plantas de tomate en macetas, de 4-5 hojas, sobre una cama de arena para facilitar la colecta de pupas (capullos pupales). Una vez por semana, se tamizaba la arena para recolectar las pupas que eran guardadas en cámara fría para ser usadas según los requerimientos experimentales.

Las plantas fueron producidas en el invernáculo del IILB (Instituto de Lucha Biológica, INTA, Castelar), en macetas de plástico negro de 12 cm de diámetro.

Los experimentos se realizaron en cámaras de cría con las siguientes condiciones ambientales: temperatura 27.4 ± 1.25 °C, HR: 60-75% y fotoperíodo de 14L: 10D.



Figura 2.2- Jaula para la cría masiva de *Tuta absoluta*, detrás cajas de cría de larvas para la eclosión de adultos

Obtención de la cohorte: Se colocaron dos plantas de tomate con 5-6 hojas en la jaula de oviposición donde se liberaron 200 adultos de *T. absoluta*. Estas plantas fueron retiradas a las 24 h, y colocadas en jaulas de acrílico (de 0.40 m de lado de base y 0.50 de altura) previo recuento de los huevos presentes (n).

Tabla de vida: para determinar la supervivencia y fecundidad de *T. absoluta* se emplearon técnicas de tabla de vida y de fecundidad (Southwood, 1994). El estudio se realizó sobre cohortes de larvas neonatas de *T. absoluta* (n =120). Una vez que las larvas de la cohorte seleccionada eclosionaron, se registró diariamente el número de individuos sobrevivientes y su estado de desarrollo, agregando plantas sanas para alimentación si era necesario. A medida que las larvas mudaron al estado de pupa, fueron retiradas de la jaula, separadas por sexo y guardadas en cajas de petri con fecha; se registró en cada caso el momento de la emergencia de los adultos.

La tabla de fecundidad fue realizada a partir de parejas coetáneas (n=6) que se colocaron en cajas cilíndricas de acrílico de 8.5 cm de diámetro y 10 cm de altura, con tapa con ventana de voile. Diariamente se colocaron folíolos de tomate dentro de cada caja como sustrato para la oviposición y trazas de miel en la superficie interna de la caja. Se registró la cantidad de huevos colocados por día hasta la muerte de todos los adultos. La fecundidad se expresó como el n° de huevos/hembra/día.

Con los datos obtenidos se calculó el tiempo de desarrollo preimaginal (tiempo transcurrido entre la oviposición y la eclosión del adulto), expresado en días (d).

Se estimaron los siguientes parámetros demográficos: tasa neta de reproducción (R_0), tiempo generacional (T_g) y tasa intrínseca de crecimiento

poblacional (r_m) a partir de la obtención de la tasa intrínseca de la cohorte (r_c), mediante el programa TABLAVI (La Rossa & Kahn, 2003). Este programa calcula el error estandar de cada estimador mediante el procedimiento “Jackknife” (Tukey, 1958).

La tasa neta de reproducción o tasa de reemplazo (R_0), es el número promedio de progenie hembra capaz de producir cada hembra de la población en toda su vida.

$$R_0 = \sum l_x \cdot m_x$$

El tiempo generacional medio (T_g) el tiempo promedio que transcurre entre dos generaciones sucesivas.

$$T_g = \frac{\sum x \cdot l_x \cdot m_x}{\sum l_x \cdot m_x}$$

La tasa de incremento o tasa de incremento de la cohorte (r_c), es un valor aproximado de la tasa intrínseca de incremento natural r_m y sirve como “inicio” para el cálculo de la segunda.

$$r_c = \frac{\ln(R_0)}{T_g}$$

El parámetro r_m representa el crecimiento poblacional de tipo instantáneo, y se calcula mediante un proceso interactivo utilizando la ecuación de Lotka (Southwood, 1994), a partir de r_c :

$$\sum l_x \cdot m_x \cdot e^{-r_m \cdot x} = 1$$

El valor reproductivo (V_x), que es el número relativo de progenie femenina que todavía le queda por producir a cada una de las hembras de edad x de una población, fue calculado mediante:

$$V_x = \frac{e^{r \cdot x}}{l_x \cdot \sum e^{-r \cdot y \cdot l_y \cdot m_y}}$$

donde:

r : tasa intrínseca de crecimiento

x : edad

y : edades que las hembras pasarán desde la edad x en adelante

l_x : supervivencia

l_y : supervivencia desde la edad x en adelante

m_y : supervivencia desde la edad x en adelante

(Rabinovich, 1980)

RESULTADOS

La duración del estado larval fue de 13.92 d (e.e.= 0.1124) d y la del estado pupal de 7.37 d (e.e.= 0.069) .

La curva de supervivencia (Figura 2.3) se asemeja a una curva de tipo II, observándose tres zonas definidas. La primera se extendió desde el inicio de la cohorte hasta el día 14, período que se correspondió con los estados pre-reproductivos. En este lapso, la supervivencia se ajustó a la siguiente función: $y = 1.0862 \cdot X^{-0.3123}$ ($r^2 = 0.9601$). Durante el período reproductivo, la supervivencia se ajustó una recta ($Y = -0.0186X + 0.4247$; $r^2 = 0.9601$) con mínima pendiente. En la etapa postreproductiva, también se ajusta a una recta ($Y = -0.0364X + 0.3397$; $r^2 = 0.9761$).

No se logró un ajuste significativo a la distribución de Weibull ni a la de Gompertz.

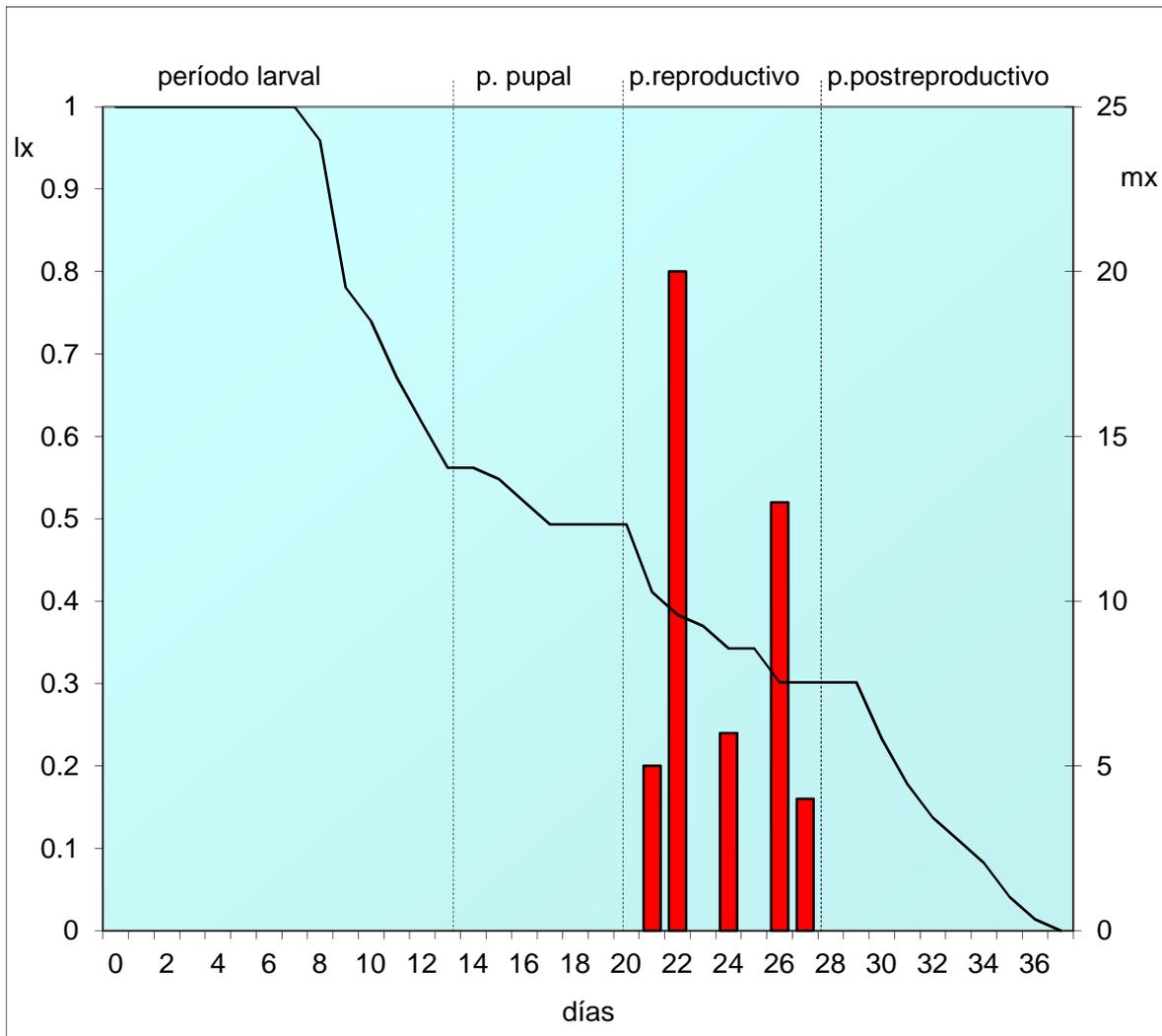


Figura 2.3- Supervivencia y fecundidad media de *Tuta absoluta* a partir de larvas recién nacidas.

El estado larval de la cohorte no presentó mortalidad durante su primera semana de desarrollo llegando a una mortalidad del 43,84 % al finalizar esta. El 49.32 % de los individuos llegaron a completar el estado pupal. El 10 % de los individuos culminaron su período reproductivo que se extendió a lo largo de 7 días. La longevidad media de la cohorte fue de 21 días y el último individuo vivió 36 días. La cantidad de huevos colocados por hembra fue de 48 (e.e.= 6.01).

En cuanto a los parámetros poblacionales, con su error estandar, la tasa neta reproductiva (R_0) fue de 18.53 ± 3.949 hembras/hembra, el tiempo generacional (T_g)

fue de 24.11 ± 0.119 días y la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) fue de 0.123 hembras/hembra/día ($r_{jack} = 0.124 \pm 0.0092$; límite inferior=0.124 y límite superior=0.142) para las condiciones en las que se realizó la experiencia. El valor reproductivo total (V_x) fue de 289.898 ± 21.094 .

DISCUSION

Las características de *T. absoluta* han sido medidas en numerosas condiciones y con distintos objetivos debido a su importancia como plaga clave del tomate. La mayoría de estas investigaciones estiman distintos parámetros biológicos como duración de los distintos estados de desarrollo y la fecundidad (Tabla 2.1). Este tipo de estudios se realizan en función del papel del insecto como plaga para determinar la frecuencia de su ataque en relación al cultivo o su duración. Son abundantes los trabajos en que se compara el efecto de la temperatura sobre el desarrollo con el fin de lograr modelos de pronóstico basados en la suma de temperaturas del ambiente (Barrientos et al., 1997, Sridhar & Poluru Venkatasami, 2013).

La duración de los estados larval y pupal presentan pocas variaciones en la literatura cuando se comparan condiciones de temperatura similares. Los resultados obtenidos en este aspecto son similares a los hallados por Vargas (1970), Carballo (1978) y Pereyra (2002).

El número de huevos colocados por hembra fue bajo en comparación a otros trabajos, aunque es la característica con mayores discrepancias aún en experiencias con temperaturas similares. Es posible que el fotoperíodo, dato no siempre presentado en los artículos, sea el responsable.

Los parámetros poblacionales de *T. absoluta* han sido determinados en muy pocos trabajos. Vivan *et al.* (2001) estimaron los estadísticos demográficos de *T. absoluta* para compararlos con los de un predador generalista, *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae), mientras que Pereyra y Sanchez (2006) los utilizan para comparar la adecuabilidad de distintos hospederos.

El tiempo generacional fue el estadístico que presentó mayor estabilidad con respecto a lo hallado por dichos autores (Tabla 2.2). Tanto la tasa neta de reemplazo como la tasa intrínseca de desarrollo obtenidas fueron muy distintas aún para cohortes alimentadas con tomate. Los valores obtenidos en esta tesis son intermedios siendo menores que los de Pereyra y Sanchez y mayores que los de Vivan (Tabla 2.2).

En toda experiencia de estimación de estadísticos demográficos cada cohorte está afectada principalmente por factores ambientales, como la temperatura, humedad, fotoperíodo y por factores intrínsecos de las condiciones experimentales que pueden generar competencia intraespecífica de distinta magnitud que determinen las tasas calculadas.

En la experiencia realizada por Pereyra y Sanchez (2006), los individuos de las cohortes estudiadas fueron criados individualmente en cajas de petri de 10 cm de diámetro y alimentadas "*ad libitum*" con hojas cortadas de tomate y papa. Estas condiciones generan ausencia de competencia intraespecífica, confinamiento, alta humedad relativa y, probablemente, una mejor nutrición debido a que las hojas cortadas pueden tener disminuído el mecanismo de defensas químicas disponibles en la planta entera (Gatehouse, 2002). Esto puede explicar el alto valor obtenido de tasa neta reproductiva y tasa intrínseca de crecimiento obtenidas.

Las menores tasas obtenidas por Vivan *et al.* (2002) posiblemente se explican por las condiciones de semicampo en que se desarrollo la experiencia en donde las larvas fueron mantenidas en plantas enteras en macetas, sin alteración de los mecanismos de defensa vegetal y, aunque individualizadas en la planta, sometidas a competencia intraespecífica por compartir la planta hospedera.

Los valores intermedios obtenidos en esta tesis se explican por las condiciones experimentales intermedias entre las experiencias de los autores mencionados.

Sin duda que el cálculo de estos estadísticos son útiles para comparar tratamientos realizados en las mismas condiciones, ya sea presencia o no de enemigos naturales, resistencia vegetal entre otros, pero la comparación de experiencias distintas debe incluir un profundo análisis de las condiciones experimentales.

Los estadísticos demográficos de *Tuta absoluta* aqui calculados fueron comparados con los de *Pseudapanteles dignus* en capítulos posteriores obtenidos bajo las mismas condiciones esperimentales .

HUEVO	LARVA	PUPA	Adulto	Nº HUEVOS	PO	Cond	AUTOR
Días	días	días	días		días		
14.1	38.1	24.2				14°C	
7.8	19.8	12.1				20°C	Barrientos et al,
5.13	12.2	6.5				27°C	1997
4.41	17.45	9.33				20-25°	
3.10	14.86	7.4				25-30°	Carballo, 1978
	11	5.9		45.2±9.1	6.7	25±5°C 70%	Ecole et al, 1999
						24-26°C	Fernandez y
4.5	12	7	24.851	241.8±70	17.2	70-76 % HR	Montagne, 1990
5	14.2	7.8		112.8	8.8	Verano (Perú)	Herrera, 1963
10.12	41.7	20.64	23.43	139.1		15°C, 85.96%	
6.99	25	11.97	17.08	167.3		20°C, 79.61	
4.02	17.65	7.5	12.93	168.8		25°C, 76.92	
3.10	13.14	5.74	8.63	21.7		30°C, 80.95	Marcano, 1995
							Mihsfeldt y Parra,
	10.18	7.44	12.38	183.35±9.88		25°, 70%	1999
	14.84			121.5±40		25°C	Pereyra, 2002
							Pereyra y
	12.14			132±14.12		25°C 60%	Sanchez, 2006
6	27	16	10	40		14.5°C	Quiroz 1976
							Razuri y Vargas,
4	12.1	8.14		145.45±90	12.2	24+1°C 71%	1975
							Sanchez y Bravo,
11	26.9	27.7		144±70		17 (13-19°C)	1969
4.2	14.6	8.2		52 ±30	3.7	25°C 75%	Vargas, 1970

Tabla 2.1- Duración de los distintos estados de desarrollo y del período de oviposición (PO) (en días) y del número de huevos por hembra de *Tuta absoluta* según distintos autores
Cond: condiciones del experimento descritas en los trabajos

Planta hospedante	Condiciones	Tasa neta de reproducción	Tiempo generacional	Tasa intrínseca	Tasa finita	Autor
Tomate	30°C 23% HR, 12-13L	4.5	24.98	0.0607		Vivan <i>et al.</i> , 2001
Tomate	25°C±1, 60±5HR 16L	48.92±5.62	27.98±0.23	0.14		Pereyra y Sanchez 2006
Papa		14.43±1.06	32.35±0.09	0.08		
Tomate	27.4 ±1.25 °C, HR: 60-75% 14L: 10D	18.53±3.949	24.11±0.119	0.11585		Propios

Tabla 2.2- Estadísticos demográficos de *Tuta absoluta* según distintos autores

CAPITULO 3

El parasitoide:

Pseudapanteles dignus

CAPITULO 3- El parasitoide: *Pseudapanteles dignus*

INTRODUCCIÓN

Pseudapanteles dignus es un braconido de la subfamilia Microgastrinae. Esta subfamilia es el grupo más importante de parasitoides de Lepidoptera en el mundo tanto en términos económicos como en números de especies. Todas son koinobiontes, endoparasitoides de larva y salen del hospedero para empupar (Austin & Dowton, 2000).

Pseudapanteles dignus fue descrita de California, EEUU (Muesebeck, 1938). El autor la registra parasitando a *Keiferia lycopersiella* (Walsingham) y a *Phthorimaea gudmannella* (Walsingham), ambos geléquidos. Es una especie Neártica y Neotropical, existiendo citas de la costa sur de California (Muesebeck, 1938; Oatman *et al.*, 1979), México (Oatman, 1970; Alvarado-Rodriguez, 1988), y Cuba (Castineiras & Hernandez, 1980) parasitando a *K. lycopersicella* en tomate, y en Florida (EEUU) sobre *Symmetrischema capsica* (Bradley & Polovný) en pimiento (Bennett, 1995), ambos lepidópteros geléquidos.

En la Argentina, ha sido detectado en la zona hortícola platense (Botto *et al.*, 1999) y en Tucumán (Colombo *et al.*, 2002). En muestreos realizados en esta última provincia, *Ps. dignus* representa 53,39% del total de parasitoides que conforman el complejo que controla a *T. absoluta*. En esa latitud, en el campo, fue hallado con mayor frecuencia en larvas del hospedador de 3^o y 4^o estadio. Empupan en un capullo blanco compacto; este estado posee una duración promedio de 9.39 días (Colombo *et al.*, 2002).

Cardona y Oatman (1971) realizaron estudios biológicos en laboratorio sobre ejemplares que parasitaban a *K. lycopersicella*, "tomato pinworm", el equivalente ecológico de la "polilla del tomate" (*T. absoluta*) en América del Norte. Estos autores determinaron que se trata de una especie con reproducción bisexual aunque las hembras vírgenes son arrenotóquicas, no existiendo período de preoviposición. Según los autores, bajo las condiciones del estudio ($26,6 \pm 1^{\circ}\text{C}$) la duración media del ciclo de vida de huevo a emergencia del adulto fue de 18 días, con un intervalo de 16 a 19 días. La producción total de progenie en hembras fertilizadas fue de 152,1 un poco más alto que el obtenido con hembras vírgenes (120.1). Estos resultados motivaron su inclusión dentro de programas de control biológico en cultivos de tomate en California, pero no logró un buen control debido principalmente a la interferencia de los insecticidas que los agricultores usan en este cultivo (Cardona, com. per.).

Los criterios para evaluar y seleccionar agentes de control biológico son muchos y diversos (Waage, 1990). Entre ellos se destaca el análisis de los atributos biológicos del enemigo natural (Doutt & DeBach, 1964; Huffaker, 1974). Según este concepto, los atributos más importantes a tener en cuenta son la capacidad de búsqueda (respuesta funcional) elevada, el poder de incremento relativo en relación a su hospedero, la sincronización con el ciclo de vida del hospedero y su especificidad por el huésped.

En el caso de control biológico inoculativo a estos atributos se suma que los agentes sean capaces de causar una rápida y alta mortalidad de la plaga bajo las condiciones de un sistema dado (Rabb *et al.*, 1976).

Los estudios básicos para estudiar el potencial de un enemigo natural como agente de biocontrol incluyen la supervivencia, longevidad y capacidad reproductiva, dado que estas características permitirán estimar el tiempo y la magnitud de su actividad controladora. Un enemigo natural óptimo deberá tener un tiempo de desarrollo menor o igual que el de la plaga, su ciclo sincronizado con la misma, poseer una elevada capacidad de búsqueda y una tasa intrínseca de crecimiento poblacional similar a la de su hospedero. Los estadísticos demográficos que cuantifican estos atributos son fundamentales para analizar las características de la historia de vida de cada agente benéfico a evaluar.

3.1- PARÁMETROS POBLACIONALES DE *Pseudapanteles dignus*

La supervivencia puede ser analizada mediante el estudio de la “curva de supervivencia”, que es la probabilidad de un individuo de permanecer vivo a una cierta edad, en relación al número inicial, en función de la edad. Deevey (1947) reconoció cuatro tipos fundamentales de curvas que muestran “cómo va muriendo una población”. La curva de tipo I corresponde a poblaciones en las cuales la probabilidad de morir aumenta recién a edades avanzadas de los individuos. La de tipo II representa a poblaciones con una mortalidad constante a lo largo del tiempo. La de tipo III incluye poblaciones que tienen una tasa de mortalidad decreciente, mientras que las de tipo IV corresponde a aquellas que presentan una alta mortalidad a edades tempranas para luego permanecer a una tasa casi constante.

La información que puede extraerse de estas curvas, es interpretada mejor si se ajusta a alguna distribución teórica cuyos parámetros permitan caracterizarlas. Varias distribuciones han sido probadas para el análisis de curvas de supervivencia

como la de Gompertz y la de Weibull (Dent, 1995). Según Johnson & Kotz (1970) la distribución de Weibull presenta la siguiente expresión:

$$f(t) = \exp\left[-(t/b)^c\right] \quad \text{donde } t \geq 0 \text{ y } c, b > 0$$

donde $f(t)$ es la probabilidad de que un insecto viva al menos el tiempo t , b es un parámetro de escala que está inversamente relacionado con la tasa de mortalidad, y c es el parámetro de forma que permite al modelo representar los distintos tipos de curvas. Un c mayor a 1 indica una curva de tipo I, un c igual a 1, de tipo II, y menor que 1 de tipo III (Sgrillo, 1981).

La longevidad es otro aspecto de la mortalidad que debe ser evaluado. Se define como longevidad media de una población a la edad promedio que puede alcanzar un individuo al morir (Rabinovich, 1980). La longevidad media del estado adulto puede contrastarse con el patrón de fecundidad para conocer el aporte real de la cohorte parental de la progenie.

La capacidad reproductiva implica varios aspectos que permiten una mejor predicción del nivel de eficacia de un controlador de plagas. La fecundidad se refiere al número total de huevos producidos puestas y su distribución a lo largo del tiempo genera la fecundidad específica por edades de la especie (m_x). Este patrón permite calcular el período reproductivo y la fecundidad acumulada del parasitoide en función de la edad de las hembras. Esta última medida explica en qué momento la hembra alcanza su máxima fecundidad (Jervis & Copland, 1996).

En términos de *fitness* un parámetro importante es el valor reproductivo (Fisher, 1930). Conceptualmente indica la contribución de un individuo a la población de la siguiente generación y varía con la edad. Es por lo general máximo

para las hembras que están en la edad precisa de comenzar el esfuerzo reproductor y mínimo en individuos viejos. Es un parámetro de importancia al analizar el proceso de colonización. Dado que las poblaciones que se establecen como colonizadoras en un hábitat nuevo por lo general están iniciadas por unos pocos individuos, el destino de tal población colonizadora estará afectado con fuerza por el valor reproductivo de sus miembros (Rabinovich, 1980).

En este sentido, un parámetro importante es la proporción sexual (*sex-ratio*). Su cambio a través del tiempo genera una modificación del crecimiento poblacional del parasitoide en función de la proporción de hembras de la progenie (Hu Cui *et al.*, 1986; Mozaddelul & Copland, 2002) por lo que su conocimiento es importante en el diseño de programas de control biológico (Waage, 1986).

Los atributos mencionados pueden ser descritos por la tasa intrínseca de incremento poblacional r_m (Southwood, 1994), en condiciones no limitantes y asumiendo una población con estructura estable de edades. La estimación de r_m para los entomófagos es útil para conocer el potencial de crecimiento de las poblaciones en las condiciones en que se la determine y para comparar su crecimiento y el de su hospedero (Messenger, 1964).

La r_m de un parasitoide puede ser comparada, aunque con limitaciones, con la de otros parasitoides (Iziquel & Le Ru, 1992), de los hiperparasitoides (Singh & Srivastava, 1989), de su hospedero fitófago (Messenger, 1964), o de los hospederos afines taxonómicamente (Hagvar & Hofsvang, 1990). En control biológico, algunos autores consideran que un parasitoide puede ser efectivo cuando entre otros criterios su r_m es la misma o mayor que la de su hospedero (Huffaker *et al.*, 1976).

La escasez de trabajos acerca de los atributos biológicos de *Pseudapanteles dignus*, dificulta la evaluación adecuada de su capacidad controladora. Sólo el trabajo de Cardona y Oatman (1971) brinda características biológicas básicas de *P. dignus*, obtenidas en laboratorio parasitando a *Keiferia lycopersicella*, el “tomato pinworm” (“gusano aguja o alfiler”), equivalente ecológica de *T. absoluta* en América del Norte. Por ello resulta indispensable profundizar los conocimientos sobre este sobre este parasitoide sobre su hospedero local, *T. absoluta*, la “polilla del tomate” con miras a implementar un programa de control biológico inoculativo.

El objetivo de esta investigación fue determinar la potencialidad de *Ps. dignus* como agente biocontrolador de *T. absoluta* mediante la evaluación de sus atributos biológicos en condiciones de laboratorio

MATERIALES Y METODOS

Para determinar la supervivencia y fecundidad de *Ps. dignus* se emplearon técnicas de tabla de vida y de fecundidad (Southwood, 1994).

Los experimentos se realizaron en cámaras de cría con las siguientes condiciones ambientales: temperatura 27.4 ± 1.25 °C, HR: 60-75% y fotoperíodo de 14L: 10D, en idénticas condiciones que para *T. absoluta*.

Plantas de tomate, desarrolladas en invernáculo, infestadas con larvas de *T. absoluta* de 2 días de edad (n=100) fueron expuestas a 4 parejas de *Ps. dignus* de menos de 24 h de edad, sin experiencia previa en parasitación o “naive” en las jaulas de cría. Luego de 48 h de exposición a los parasitoides, las larvas de polilla se colocaron individualmente en cajas de petri de plástico, donde fueron

alimentadas con hojas de tomate (Figura 3.1.1). Se registró el momento en que las larvas alcanzaron el estado de pupa, el de nacimiento de los adultos y su sexo.



Figura 3.1.1- Cría individual de larvas de *Tuta absoluta* expuestas al parasitoides (*Pseudapanteles dignus*)

Una vez emergidos los adultos de *Ps. dignus* se elaboró una tabla de fertilidad. Esta se realizó utilizando como unidad experimental un ramillete de hojas de tomate infestado con 20-30 larvas (de menos de 12 h de nacidas) de *T. absoluta*, cubierto por un cilindro de acetato de 20 cm de altura y 6 cm de diámetro, provisto de dos ventanas cerradas con tela de voile. En cada unidad (n=8) se liberó una pareja del parasitoide de menos de 24 h de edad. El ramillete fue cambiado diariamente en cada unidad hasta la muerte de la hembra de *Ps. dignus*, y las larvas de *T. absoluta* expuestas fueron retiradas y alimentadas hasta la emergencia de los adultos del parasitoide. Así se obtuvo el número de progenie de cada sexo

producida por día y por hembra de *Ps. dignus*. Con estos datos se calculó la progenie femenina promedio producida por las hembras a cada edad (m_x).

Se calculó el tiempo de desarrollo preimaginal (tiempo transcurrido entre la exposición de las larvas de *T. absoluta* al parasitoide y la emergencia del adulto de *Ps. dignus*) para ambos sexos. Estos fueron separados por sexo una vez emergidos. Se realizó un ANVA para detectar diferencias de dicho tiempo entre hembras y machos; las medias fueron comparadas con el test de Tukey ($\alpha=0.05$). Se calculó para cada unidad experimental la proporción sexual mediante la fórmula:

$$\text{Proporción sexual} = n^{\circ} \text{ ♂} / n^{\circ} \text{ ♂} + n^{\circ} \text{ ♀}$$

La supervivencia (l_x) de los adultos se estimó mediante una experiencia paralela, en la que se liberaron 50 parejas (hembra: macho) del parasitoide de menos de 24 h de edad en una jaula de estructura metálica (1 x 0,90 x 0,40 m) cubierta por tela de voile. En su interior se colocaron macetas con plantas de tomate infestadas con larvas de *T. absoluta* en las mismas condiciones ambientales que la experiencia anterior. Se registró diariamente el número de hembras sobrevivientes.

Las curvas de supervivencia de hembras y machos fueron analizadas mediante su ajuste a la distribución de Weibull (Sgrillo, 1982). Los valores observados fueron ajustados a la distribución teórica mediante el método de mínimos cuadrados.

Se compararon, además, las curvas de supervivencia de ambos sexos mediante el test de Gehan Wilcoxon y el test F de Cox, mediante el programa Statistica 99).

Se estimaron los siguientes parámetros demográficos: tasa neta de reproducción (R_0), tiempo generacional (T_g) y tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m), mediante el programa TABLAVI (La Rossa & Kahn, 2003). Este programa calcula el error estandar de cada estimador mediante el procedimiento “Jackknife” (Tukey, 1958).

La tasa neta de reproducción o tasa de reemplazo, es el número promedio de progenie hembra capaz de producir cada hembra de la población en toda su vida.

$$R_0 = \sum l_x \cdot m_x$$

El tiempo generacional medio es el tiempo promedio que transcurre entre dos generaciones sucesivas.

$$T_g = \frac{\sum x \cdot l_x \cdot m_x}{\sum l_x \cdot m_x}$$

La tasa de incremento o tasa de incremento de la cohorte, rc , es un valor aproximado de la tasa intrínseca de incremento natural r_m y sirve como “inicio” para el cálculo de la segunda.

$$rc = \frac{\ln(R_0)}{T_g}$$

El parámetro r_m , tasa intrínseca de crecimiento poblacional, representa el crecimiento poblacional de tipo instantáneo, y se calcula mediante un proceso interactivo utilizando la ecuación de Lotka (Southwood, 1994), a partir de rc :

$$\sum l_x \cdot m_x \cdot e^{-r_m \cdot x} = 1$$

El valor reproductivo (V_x), que es el número relativo de progenie femenina que todavía le queda por producir a cada una de las hembras de edad x de una población, fue calculado mediante:

$$V_x = \frac{e^{m.x}}{l_x \sum e^{-r.y.l_y.m_y}}$$

donde:

r: tasa intrínseca de crecimiento

x: edad

y: edades que las hembras pasarán desde la edad *x* en adelante

l_x: supervivencia

l_y: supervivencia desde la edad *x* en adelante

m_y: supervivencia desde la edad *x* en adelante

(Rabinovich, 1980)

Dado que Cardona y Oatman (1971) presentan resultados detallados de la fecundidad de *P. dignus*, obtenidas en laboratorio parasitando a *Keiferia lycopersicella*, la “tomato pinworm”, fue posible calcular los parámetros poblacionales, no presentados en dicho trabajo, con el fin de contrastar los resultados de esta tesis.

RESULTADOS

El tiempo de desarrollo preimaginal fue de 22,64 días para las hembras (e.e.=1.1517; n=48) y de 21.28 días para los machos (e.e.=1.0986; n=53), diferencia estadísticamente significativa (Tukey, p=0.00).

Las curvas de supervivencia de machos y hembras (Fig. 3.1.2) resultaron significativamente diferentes (estadístico Gehan Wilcoxon: -3.169, p=0.00153) (F Cox: F= 1.807063, p=0.00169).

De acuerdo al parámetro *c* de la distribución de Weibull, la curva de supervivencia de hembras y machos es de tipo I (*c*=2.3 y 2.05 respectivamente; χ^2 : 17 gl; 5.1; p=0.999).

Las hembras comienzan a morir en el quinto día desde su emergencia y luego declinan hasta el día 19 en el cual muere el último individuo. Los machos comienzan a morir en el segundo día de su eclosión.

La longevidad media de las hembras fue de 13.39 días con una tasa media de mortalidad de 0.4219. La longevidad media de los machos fue de 10.59 días siendo la tasa de mortalidad de 0.4878.

Las hembras de *Ps. dignus* no presentan período de pre-oviposición o, al menos, es menor de 24 h. El período reproductivo medio fue de 12.8 días (e.e.=0.745; n=8; intervalo=12-15). La cantidad de progenie producida por hembra fue en promedio de 154.375 (e.e.= 2.1789), progenie femenina: 108.125 (e.e.= 1.8169), y progenie masculina: 46.25 (e.e.= 2.603). La progenie del primer día está compuesta exclusivamente por machos.

La fecundidad promedio en función de la edad de las hembras se muestra en la figura 3.1.3. El patrón de fecundidad presenta un pico en el cuarto día con una declinación más o menos constante y un segundo pico, menor, formado sólo por la descendencia femenina en el octavo día.

La fecundidad acumulada, en porcentaje, se observa en la figura 3.1.4. Las hembras de *Ps. dignus* logran 50% de su progenie luego de cinco días de eclosionadas cuando aún no ha comenzado a disminuir su supervivencia. Un día después se alcanza la edad de mayor valor reproductivo (Fig. 3.1.9).

En lo referido a la proporción sexual de la descendencia, en la figura 3.1.4 se observa su variación a lo largo de la vida de la hembra. En el primer día no hay progenie femenina pero desde el día 3 al 15 la progenie femenina supera a la masculina.

En cuanto a los parámetros poblacionales, la tasa neta reproductiva (R_0) fue de 87.2775 hembras/hembra, el tiempo generacional (T_g) fue de 28,195 d y la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) fue de 0.15850651 hembras/hembra/día para las condiciones en las que se realizó la experiencia. En la figura 3.1.7 se muestra la curva de supervivencia de las hembras parentales y el patrón de progenie femenina con la que se calcularon los estadísticos.

El la figura 3.1.8 se observa la contribución de cada edad de la hembra al valor de r_m .

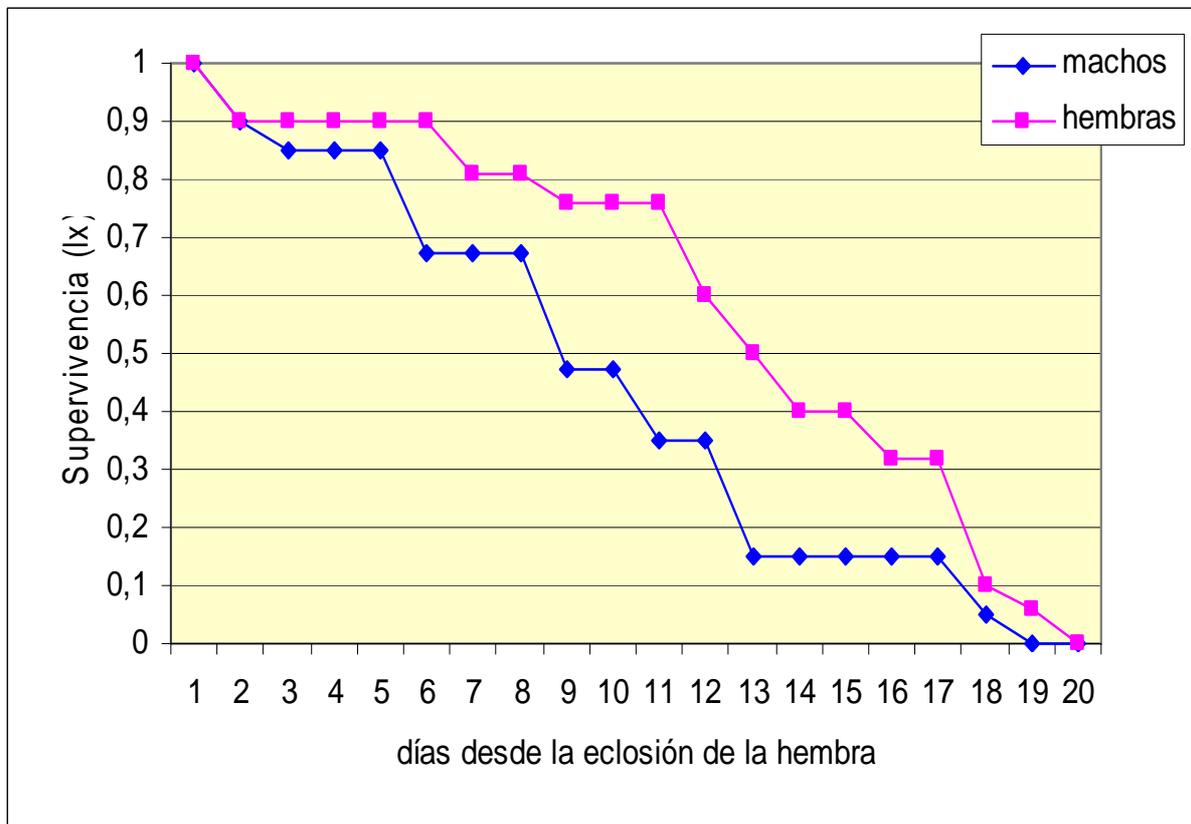


Figura 3.1.2- Curvas de supervivencia de hembras y machos de *Pseudapanteles dignus*

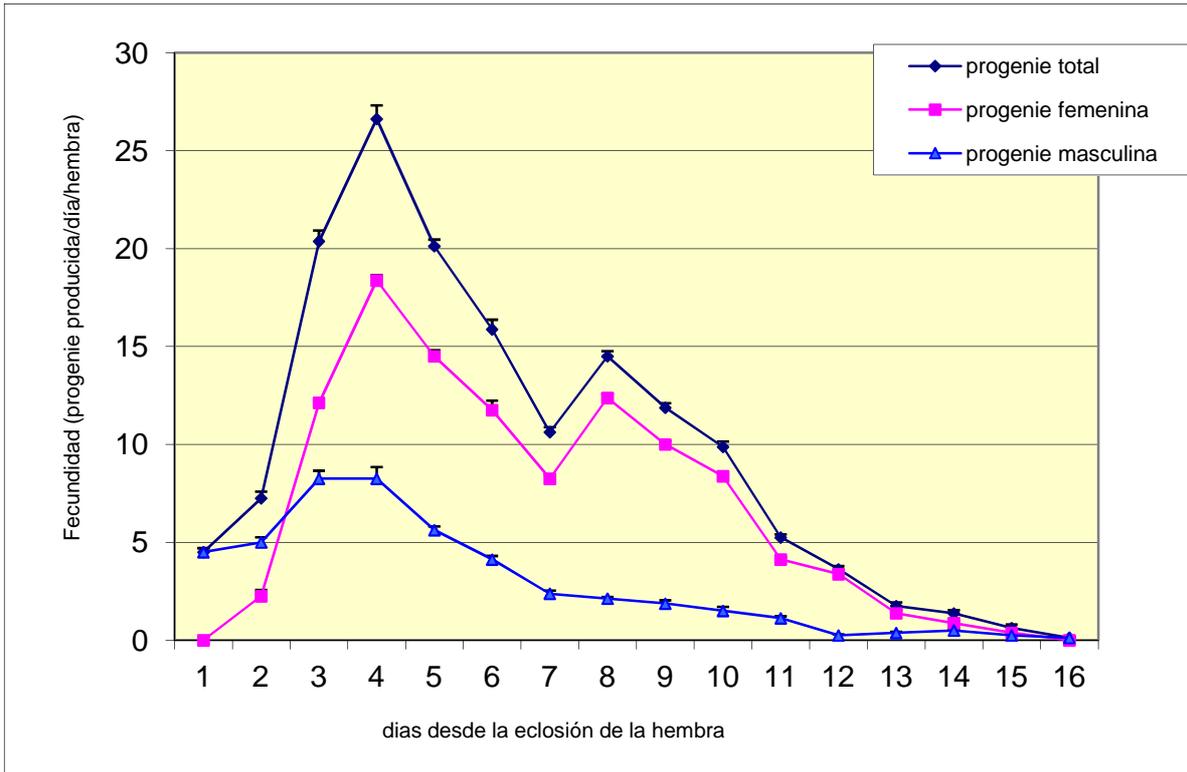


Figura 3.1.3- Fecundidad específica por edades de *Pseudapanteles dignus*

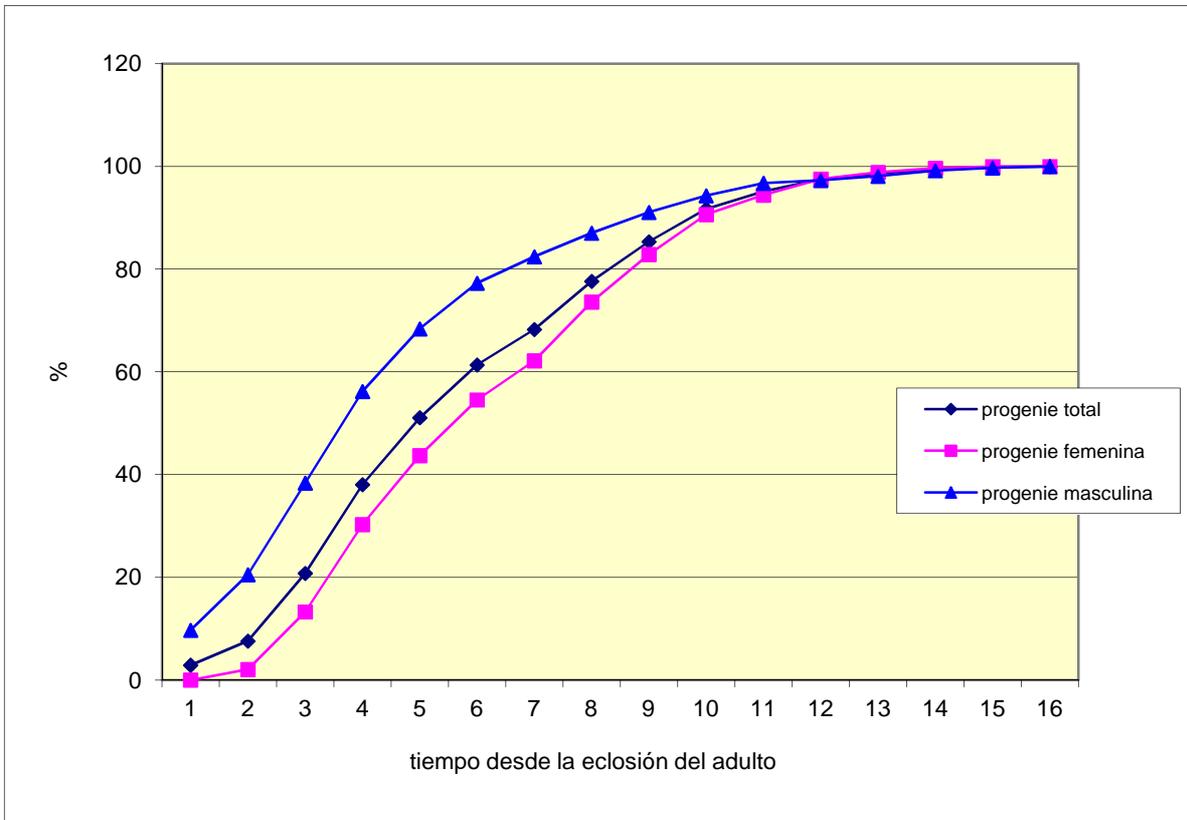


Figura 3.1.4- Fecundidad de hembras *Pseudapanteles dignus* (en porcentaje)

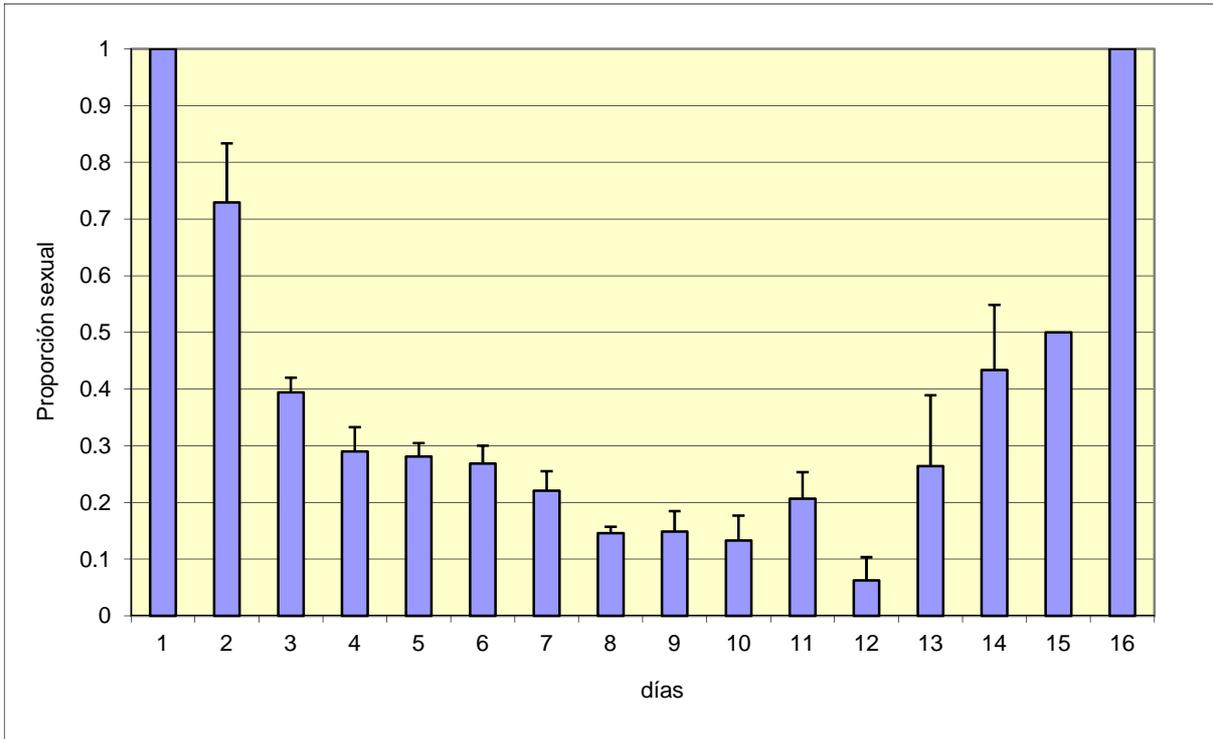


Figura 3.1.5- Variación de la proporción sexual ($\frac{\sigma}{\sigma+\sigma}$) de la progenie con la edad de las hembras de *Pseudapanteles dignus*

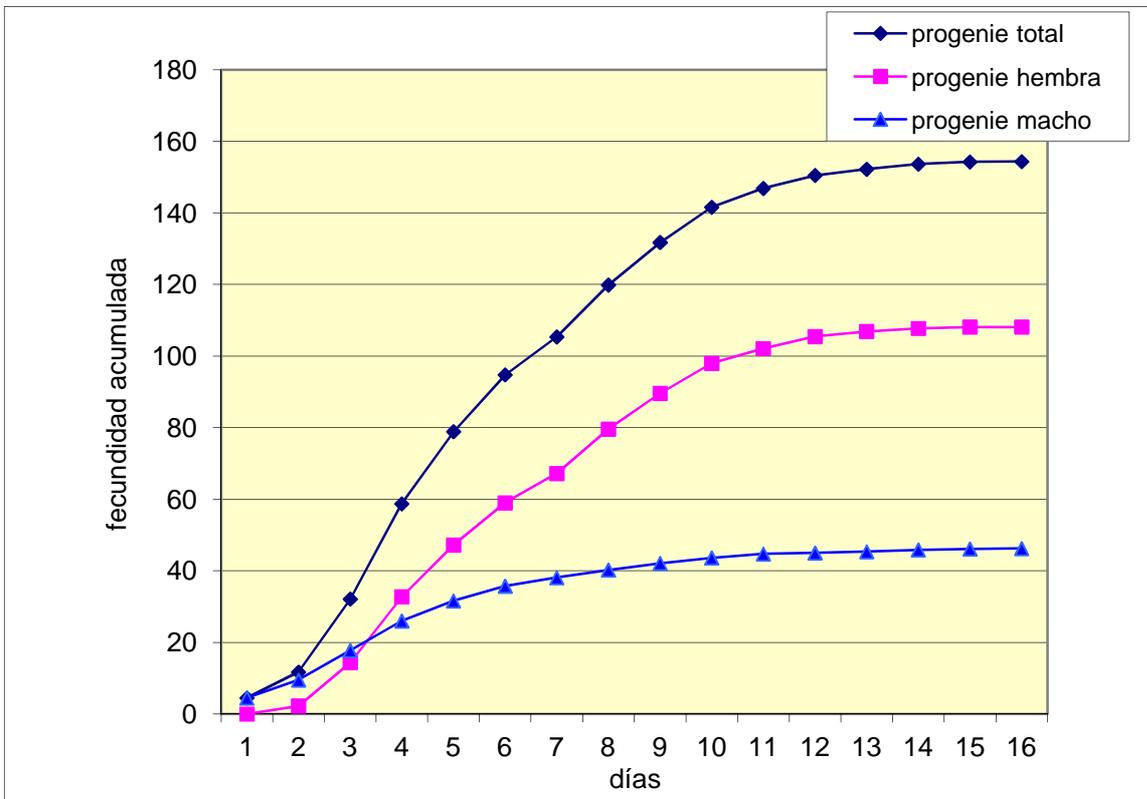


Figura 3.1.6- Fecundidad acumulada de *Pseudapanteles dignus* (en individuos)

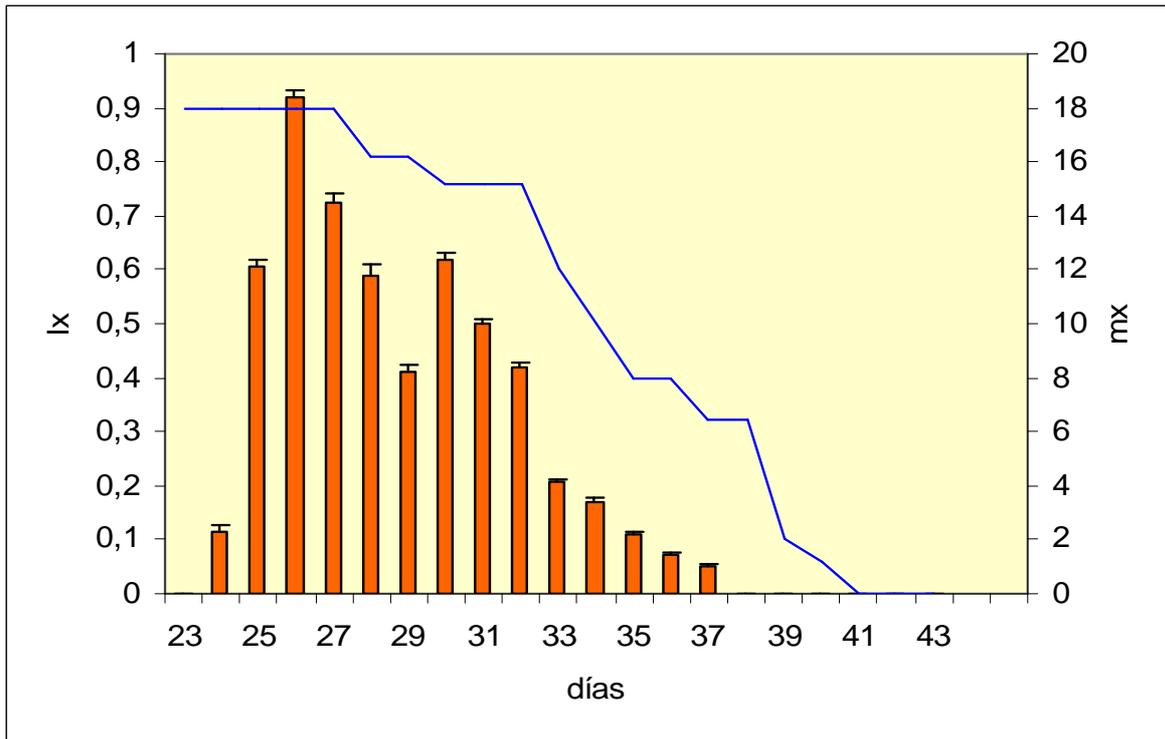


Figura 3.1.7- Supervivencia y fecundidad de *Pseudapanteles dignus* (progenie femenina)

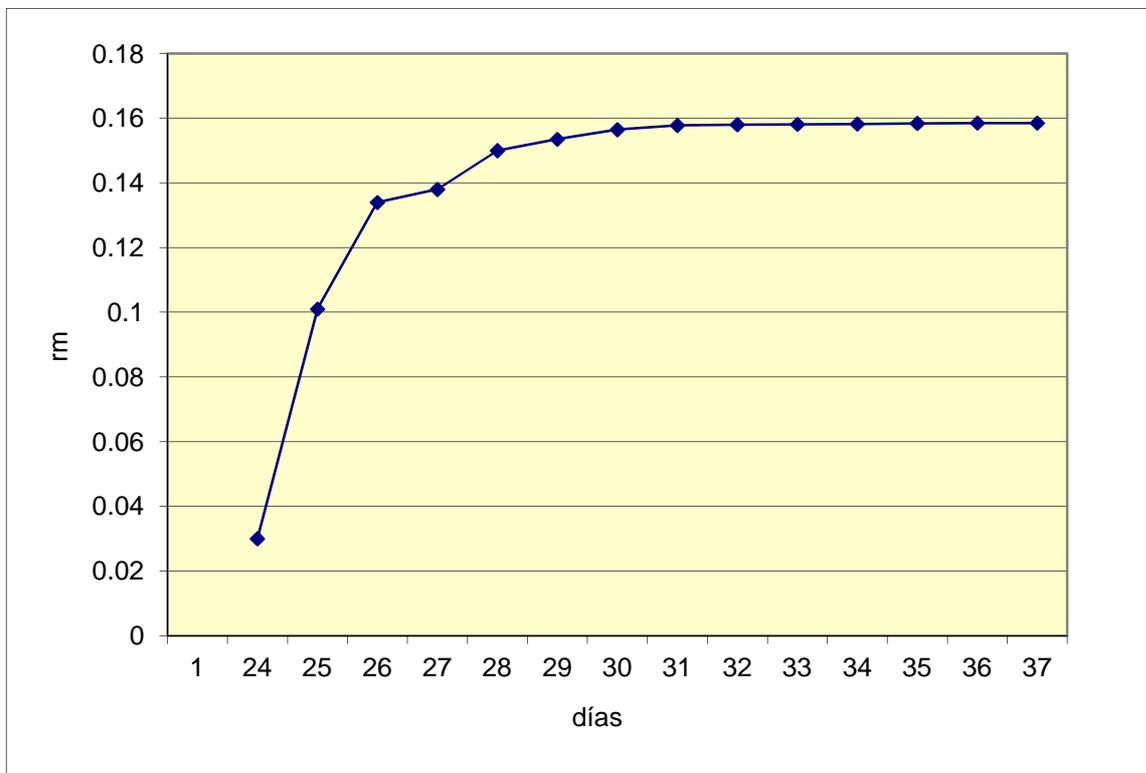


Figura 3.1.8- Tasa intrínseca de crecimiento acumulada de *Pseudapanteles dignus*

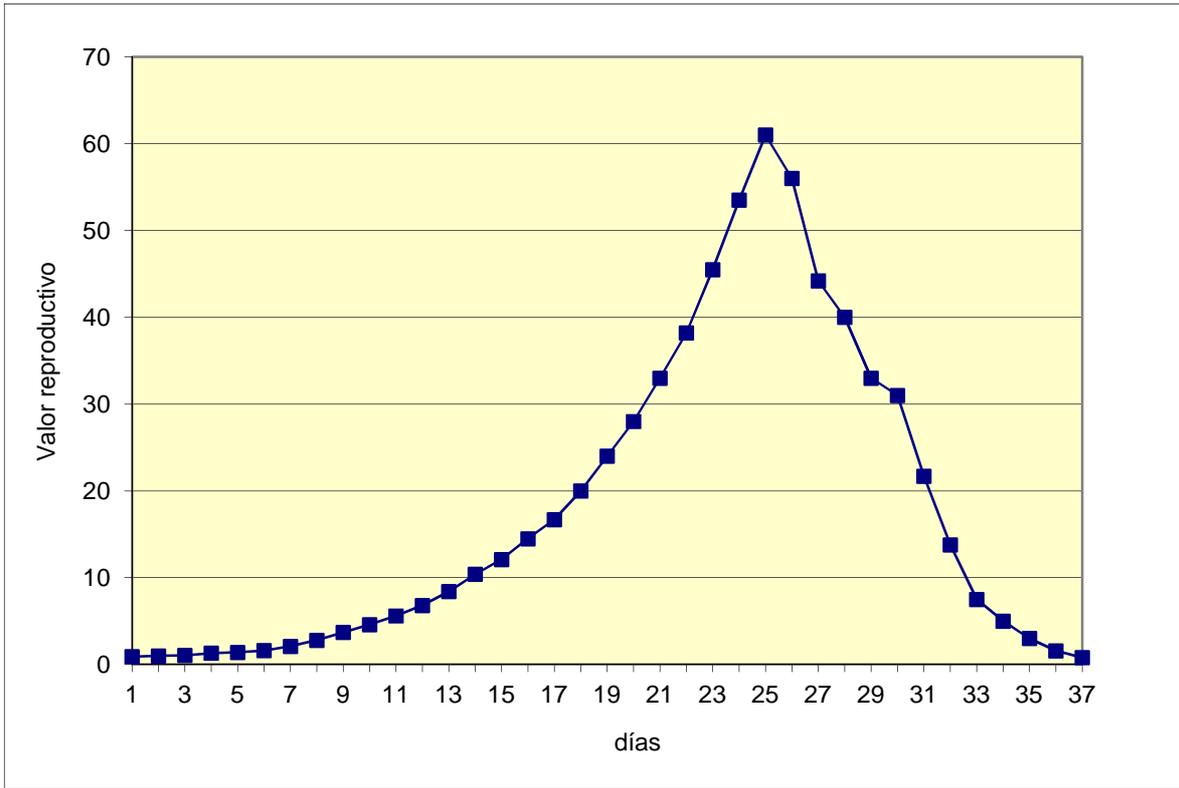


Figura 3.1.9- Variación del valor reproductivo de *Pseudapanteles dignus* con la edad de las hembras

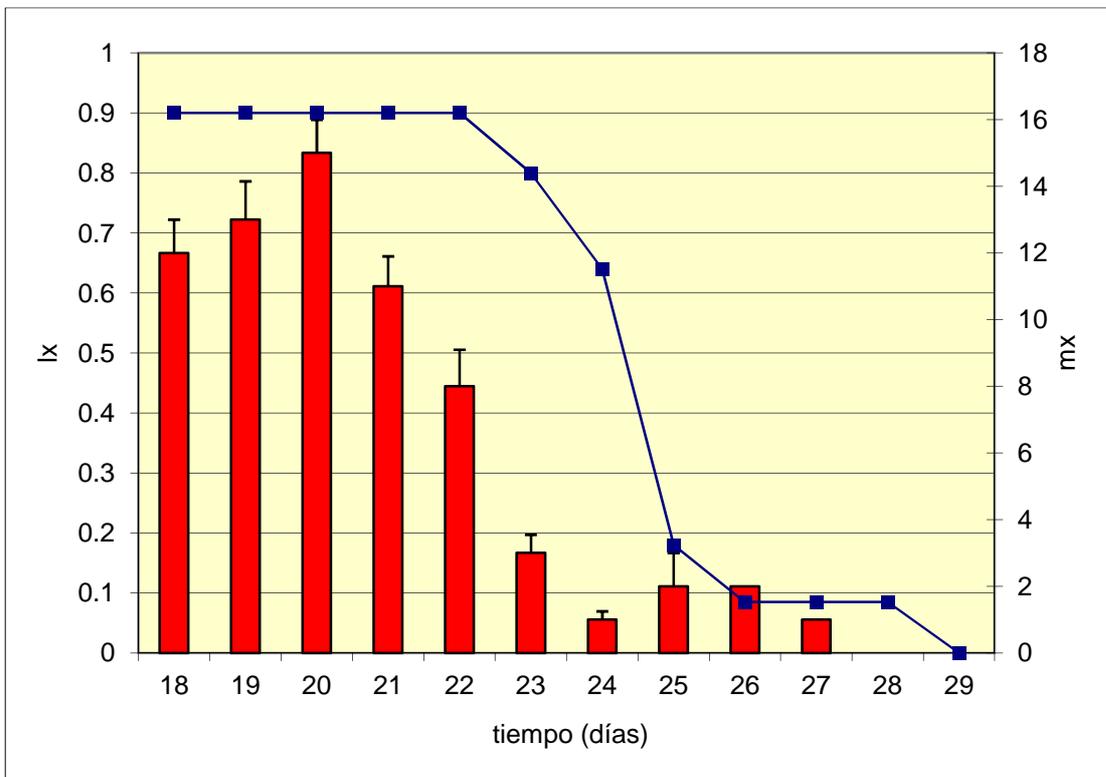


Figura 3.1.10- Supervivencia y fecundidad de *Apanteles dignus* en *Keifferia lycopersicella* (calculado con datos de Cardona y Oatman, 1971)

En la figura 3.1.10 se presenta las curva de supervivencia y fecundidad de *P. dignus* parasitando a *K. lycopersicella*. Los parámetros poblacionales calculados con los datos de Cardona & Oatman (1971) se muestran en la tabla 3.1.1 junto con los obtenidos en esta tesis.

	Ro	Tg	r _m	Λ
<i>Tuta absoluta</i>	87.25 ♀/♀	28.19	0.158506	1.123
<i>Keiferia lycopersicella</i>	56.77 ♀/♀	19.296	0.21	1.234

Tabla 3.1.1- Estadísticos poblacionales de *Pseudapanteles dignus* con dos especies de geléquidos como hospedero

DISCUSION

La ausencia de período de pre-oviposición (o menor a 1 hora) confirma lo hallado por Cardona y Oatman (1971) que observaron que las hembras comienzan a oviponer a la hora de eclosionadas y copuladas. El tiempo de desarrollo fue mayor que los hallados por estos autores a la misma temperatura pudiendo deberse esto al diferente hospedero utilizado. El desarrollo preimaginal fue cinco días mayor, el período reproductivo fue casi el doble del hallado por ellos, pero con una vida más corta.

La progenie producida durante el primer día estuvo compuesta exclusivamente por machos.. El modo más común de reproducción en himenópteros parasitoides es la arrenotoquia, en la cual la progenie masculina desarrolla partenogénicamente de huevos no fertilizados (haploides) y la femenina desarrolla de huevos fertilizados (diploides) (Jervis & Copland,1996). Es bastante común en himenópteros la emergencia previa de machos (protandria) para asegurar la fecundación de las hembras.

La progenie total producida por hembra fue muy similar a lo registrado por Cardona y Oatman, y distribuida en el mismo patrón correspondiente a una especie sinovigénica, o sea a la cual los oocitos van madurando con la edad.

Si bien la tasa neta reproductiva R_0 obtenida con los datos de Cardona y Oatman fue menor a la obtenida en esta tesis, el menor tiempo generacional genera una mayor tasa intrínseca de crecimiento que la lograda sobre *Tuta absoluta*.

Los valores de R_0 , T y r_m representan el potencial intrínseco de la especie en una situación dada (Rabinovich, 1980). Pueden sugerir un potencial de control por parte de los enemigos naturales cuando lo relacionamos con la plaga, especialmente cuando se calcula en las mismas condiciones experimentales.

3.2- ATRIBUTOS COMPORTAMENTALES: postemergencia de los adultos

Otro de los aspectos biológicos a estudiar es el comportamiento de los adultos de un parasitoide en las distintas etapas de su vida. El estudio del comportamiento de un parasitoide es un punto clave para entender cómo viven estos insectos y cómo influyen sobre la ecología de las comunidades de insectos con los cuales viven (van Alphen & Jervis, 1996). Es un requisito necesario para la selección de enemigos naturales para programas de control biológico previo a su liberación (Luck, 1990).

Una vez que los adultos emergen de su cutícula pupal comienzan una serie de conductas llevadas a cabo con el objetivo de reproducirse (Vinson, 1998). El cortejo de muchos himenópteros consiste en movimientos de alas, patas, antenas y piezas bucales del insecto macho. La secuencia de estos movimientos es variable dependiendo de la especie, y es repetida hasta que la hembra esté apta para el acto

copulatorio (van dem Assem, 1986). A pesar de que los estímulos responsables de la atracción sexual de muchos insectos son específicos, generalmente se requiere de un reconocimiento prolongado por parte de ambos sexos hasta que lleguen a un estado de disposición fisiológica adecuado en el cual pueda realizarse la cópula (Carthy & Howse, 1980, Chapman, 1982).

El objetivo de esta parte de la investigación es conocer el comportamiento posterior a la emergencia de adultos de *Ps. dignus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron pupas de *P. dignus* de la jaula de cría masiva. Para ello se dispusieron como sustrato para la formación de las pupas, tarjetas de cartulina corrugada negra 1/8, de 6 x 10 cm en la base de las plantas. La mayoría de las larvas se introducen entre las dos láminas del material y empupa ahí luego de tejer un capullo de seda.

Las pupas fueron retiradas de la cartulina mediante el despegue manual de las dos capas. Fueron separadas por sexo, marcadas y ubicadas en cajas de plástico de 10 x 10 x 5 cm, identificadas por fecha de recolección (n= 50).

Se mantuvieron en condiciones de laboratorio de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y 40-50% HR con una traza de miel en la pared.

La caja se observó diariamente y cuando comenzó la emergencia del primer adulto, se retiraba y se observaba durante todo el día registrándose los comportamientos señalados por Assen (1986) y mencionados en la introducción.

RESULTADOS

Los machos (Figura 3.2.1) nacieron antes que las hembras (protandria). Luego de la emergencia, los adultos repasaron su cuerpo con sus patas. Se alimentaron inmediatamente de la traza de miel aportada. Si estuvieron presentes ambos sexos, la cópula podía ocurrir mientras la hembra se alimentaba. Antes de la eclosión de la hembra, los machos movían las alas rápidamente, sin desplazarse en el aire, e iban de esta manera hacia la hembra.

Cuando la hembra (Figura 3.2.2) aceptaba al macho, la cópula tardó 50 segundos (intervalo: 45-67). Ambos permanecieron quietos. Luego de la separación, los machos comenzaron a buscar otra hembra y copularon con varias de ellas. La hembra aparentemente solo copuló con un macho. Observaciones sobre hembras copuladas indican que rechazan un nuevo intento de cópula.



Figura 3.2.1- Macho de *Pseudapanteles dignus*



Figura 3.2.2- Hembra de *Pseudapanteles dignus*

3.3- ATRIBUTOS COMPORTAMENTALES: selección de hospedero

El proceso de selección de hospedero que realiza una especie de parasitoide constituye uno de los aspectos comportamentales más importantes para comprender la dinámica de su población y la de su presa en determinadas condiciones (Luck, 1990). En control biológico de plagas este aspecto toma relevancia desde dos puntos de vista. El primero es su utilización para el ajuste de un método de cría masiva más eficiente, y el segundo, es tener una pauta para la elección de los momentos adecuados para la liberación en función de las distribuciones de edades de la plaga a controlar presentes en el campo.

Los aspectos más importantes de este proceso, según Douth (1959), incluyen: (a) Localización del hábitat de los hospederos, (b) encuentro con el hospedero, (c) aceptación del hospedero y (d) evaluación de su adecuabilidad. Vinson (1976) agrega un quinto paso: (e) regulación de la fisiología y sistemas de defensa del hospedero con el fin de maximizar su éxito reproductiv (Vinson & Iwantsch, 1980).

Inicialmente, un parasitoide debe encontrar el hábitat del hospedero (Vinson, 1981). Este es detectado mediante señales perceptibles a cierta distancia. Estas señales pueden cambiar según la escala de la búsqueda. Así, la visión juega un rol importante en la localización de macrohábitat, reconociendo grandes grupos de vegetación como bosques o pastizales (Van Driesche *et al.*, 2007).

La localización de microhábitats es una respuesta a compuestos químicos volátiles producidos por las plantas de las que se alimentan los hospederos o por otras señales químicas propias del herbívoro o sus huéspedes.

Muchas plantas responden al daño producido por los herbívoros aumentando la emisión de compuestos volátiles (respuesta inducida) que actúan como

atrayentes de las hembras de los parasitoides (Ode, 2006; Gatehouse, 2002; Walling, 2000).

El encuentro de los hospederos por parte de los parasitoides ha sido investigado intensamente a niveles comportamentales y químicos (Vinson, 1984; 1998; Vet, & Dicke, 1992; Mattiacci & Dicke, 1995; Dicke & Grostal, 2001; Ode, 2006). Las hembras presentan un cambio de conducta de búsqueda y locomoción cuando arriban a áreas específicas con señales indicadoras de la presencia del hospedero. Estas señales pueden derivar de compuestos no volátiles encontrados en los sitios de alimentación (Darwish *et al*, 2003; Lewis & Tumlinson, 1988), productos de desecho como heces con tejido vegetal (Weiss, 2006), azúcares excretados (Hågvar & Hofsvang, 1989), partes del cuerpo (escamas, setas, exuvias), y secreciones (saliva, seda, feromonas) (Lewis *et al*, 1976; Vinson, 1984; Vet & Dicke, 1992).

Estos materiales son percibidos por los parasitoides por medio de las antenas o los tarsos de las patas una vez que comienzan a caminar por las plantas (Walling, 2000). Las señales provocan cambios en el parasitoide que involucran un aumento de trayectorias circulares, detenciones, búsqueda de rastros y sondeos con el ovipositor en zonas con señales más fuertes (Waage, 1978; 1979; Loke & Ashley, 1984).

Los parasitoides que atacan hospederos ocultos dentro de madera, frutas o minas en hojas, pueden detectar las vibraciones que produce el movimiento de las larvas en el interior de los tejidos vegetales (Vet & Bakker, 1985; Sugimoto *et al.*, 1988; Meyhöfer & Casas, 1999; Djemai *et al.*, 2004).

Una vez que el parasitoide reconoce a un posible hospedero comienza el proceso de evaluación de la calidad del mismo. En general, se vuelve selectivo de

las presas que ataca, y la frecuencia relativa de los tipos de hospederos parasitados elegidos comparados con la frecuencia de los disponibles ha sido definida como preferencia de hospedero (Hopper & King, 1984).

La adecuabilidad del hospedero está asociada con el desarrollo exitoso y la emergencia de la progenie en el proceso de parasitismo (Mackauer & Sequeira, 1993). Las condiciones del hospedero (tamaño, estado de desarrollo, condición fisiológica y de parasitismo previo) pueden afectar la tasa de crecimiento y desarrollo del parasitoide y, por lo tanto, su aptitud reproductiva (Sequeira y Mackauer, 1994). Los endoparasitoides obtienen información de su ovipositor antes de la oviposición.

Se han realizado numerosos estudios para establecer si la decisión de oviposición de la hembra del parasitoide satisfacen las predicciones de la teoría de forrajeo óptimo o hipótesis de preferencia de oviposición (Charnov, 1976; Stephen & Krebs, 1986). Cuando es aplicada a la selección del tamaño del hospedero por las hembras del parasitoide, predice que las hembras parasitan preferentemente los de mayor calidad de modo de hacer máximo su *fitness* (r_m) (Bell, 1991; Kouamé & Mackauer, 1991).

Sin embargo, los hospederos de peor calidad no siempre son rechazados. Así, si la tasa de encuentro de hospederos de mejor calidad es baja, los parasitoides también pueden aceptar tamaños subóptimos para maximizar su éxito reproductivo (van Alphen & Vet, 1986; Godfray, 1994; Harvey *et al.*, 2001).

La selección de hospederos óptimos es especialmente crítico para parasitoides idiobiontes. Cuando estos son muy pequeños, los recursos para el desarrollo del parasitoide pueden ser escasos provocando malformaciones o la muerte del parasitoide (Godfray, 1994). El tiempo de desarrollo puede ser afectado

por el tamaño del hospedero existiendo ejemplos en los que el desarrollo es más rápido con mayor tamaño del mismo (King, 1987, Sequeira y Mackauer, 1992). En koinobiontes el panorama es complejo, existiendo ejemplos en los que el tiempo requerido para el desarrollo con distintos tamaños de hospederos es aproximadamente constante, menor o mayor, debido a numerosos factores involucrados (Mackauer, 1986).

El parasitoide también debe contrarrestar los mecanismos inmunes de la larva del hospedero y también obtener suficientes nutrientes para un desarrollo exitoso (Warton, 1993).

La elección del hospedero también puede estar influenciada por comportamientos defensivos de hospedantes muy móviles como movimientos violentos, retorcimientos del cuerpo, mordidas u otro tipo de ataques (Gross, 1993).

En esta sección se analizan aspectos biológicos y del comportamiento parasítico de las hembras de este braconídeo:

- localización de hospedero en microambiente
- preferencia de larvas de *T. absoluta* en diferente estadio de desarrollo ha parasitar.
- adecuabilidad de los distintos tamaños.

El objetivo de esta sección fue determinar la adecuabilidad de los distintos tamaños de larva de polilla del tomate como hospedero de *Ps. dignus*, y la preferencia de este parasitoide por dichas larvas.

MATERIALES Y METODOS

Se realizaron dos experimentos, con y sin libre elección, por parte del parasitoide, para determinar la preferencia y adecuabilidad respectivamente.

En el experimento con libre elección, larvas de distintos tamaños se colocaron simultáneamente en cada unidad experimental. Esta unidad consistió en una planta de tomate de 42 cm de altura media, con 6-7 hojas, ubicada en una maceta de polietileno negro. La planta fue ubicada en una jaula de acrílico de 40 x 40 x 50 cm de altura (Figura 3.3.1), provista de dos ventanas cubiertas con tela de voile y una puerta corrediza. Cada una fue infestada con 8 larvas de cada uno de los siguientes tamaños elegidos por su correspondencia con los 4 estadios larvales de la polilla:

Tratamiento (estadio larval)	Denominación	Tamaño
1	larva chica	< 2 mm
2	larva mediana	2-4 mm
3	larva grande	>4 mm
4	Larva grande madura	>4mm (dorso rosado)

En cada jaula (n= 6) fue liberada una pareja del parasitoide, sin experiencia previa (*naive*), que fue retirada a las 6 horas (tiempo de exposición) al igual que las larvas de polilla, las que fueron llevadas a cámara de cría hasta la pupación. Se evaluó la emergencia de adultos (% de emergencia = Total adultos nacidos/ Total de larvas expuestas) del parasitoide resultante de cada tamaño. Los datos se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.



Figura 3.3.2- Jaula de exposición de larvas de *Tuta absoluta* a adultos de *Ps. dignus*

En el segundo caso, sin libre elección, se ofrecieron separadamente larvas de tamaños similares a los del experimento anterior. La unidad experimental fue similar a la descrita anteriormente. Se utilizaron 10 larvas de *T. absoluta* de cada uno de los tamaños mencionados antes.

Se realizaron cuatro réplicas (n=4). En cada jaula se liberó una pareja *naive* de *P. dignus* de 24-48 h de edad. Esta fue retirada a las 6 h, al igual que las larvas de polilla las que fueron colocadas en cajas de plástico con hojas de tomate y llevadas a cámara de cría hasta la pupación. Se evaluó la emergencia del parasitoide (% de emergencia = Total adultos nacidos/ Total de larvas expuestas), su tiempo de desarrollo y la proporción de sexos según el tamaño del hospedero.

Los datos se analizaron mediante un Anova y test de comparaciones de medias (Tukey) con el programa Statistica 99.

Paralelamente se realizó la observación del comportamiento de las hembras en ambas experiencias. Se realizaron observaciones cronometradas del comportamiento de búsqueda, localización y parasitación de hospedero. Se utilizó el esquema propuesto por Vinson (1998) basado en el comportamiento de localización del hábitat del herbívoro, localización de su larva, reconocimiento, aceptación y comportamiento posterior a la oviposición.

Las experiencias se llevaron a cabo en un laboratorio con condiciones controladas de temperatura ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (50-60%).

RESULTADOS

En la experiencia con libre elección de hospederos se observó una disminución del porcentaje de parasitismo en la medida que aumentó el tamaño de la larva hospedante. Pero estas diferencias no resultaron significativas (Fig 3.3.3) ($F= 2.35$; 21 gl; $p= 0.103$).

En la experiencia sin libre elección no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de emergencia de adultos de *Ps. dignus* de larvas de *T. absoluta* de diferentes tamaños expuestas a *Ps. dignus* ($F=1.0919$; 15 gl; $p: 0.39$) (Fig 3.3.4).

La duración de los estados de huevo y larva de *Ps. dignus* fue significativamente mayor en hospederos chicos que en los medianos y grandes ($p=0.0000$; $F=94.82$; 36 gl) (Fig. 3.3.5).

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de sexos de la progenie de *Ps. dignus* obtenida.

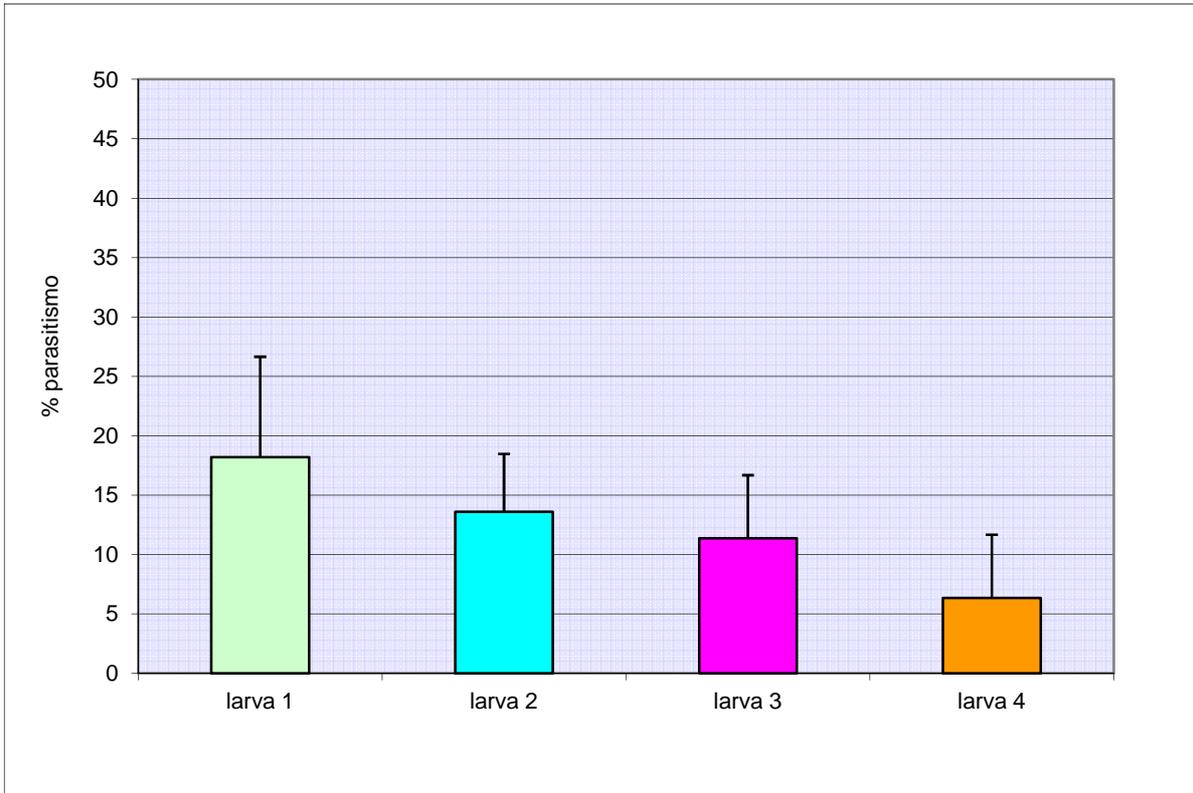


Fig.3.3.3- Porcentaje de parasitismo por *Pseudapanteles dignus* en larvas de *Tuta absoluta* (con libre elección). No difieren significativamente (Tukey, $p=0.103$)

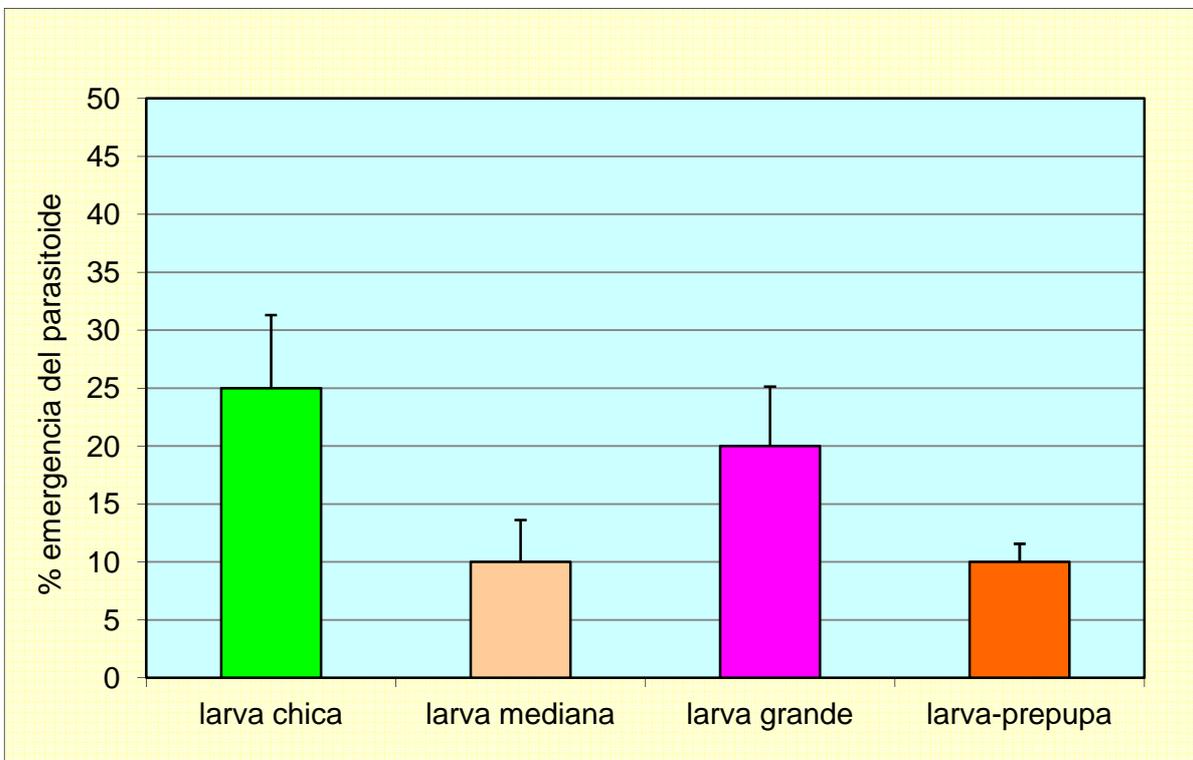


Fig.3.3.4- Porcentaje de parasitismo por *Pseudapanteles dignus* en larvas de *Tuta absoluta* (sin libre elección). No difieren significativamente (Tukey, $p=0.39$)

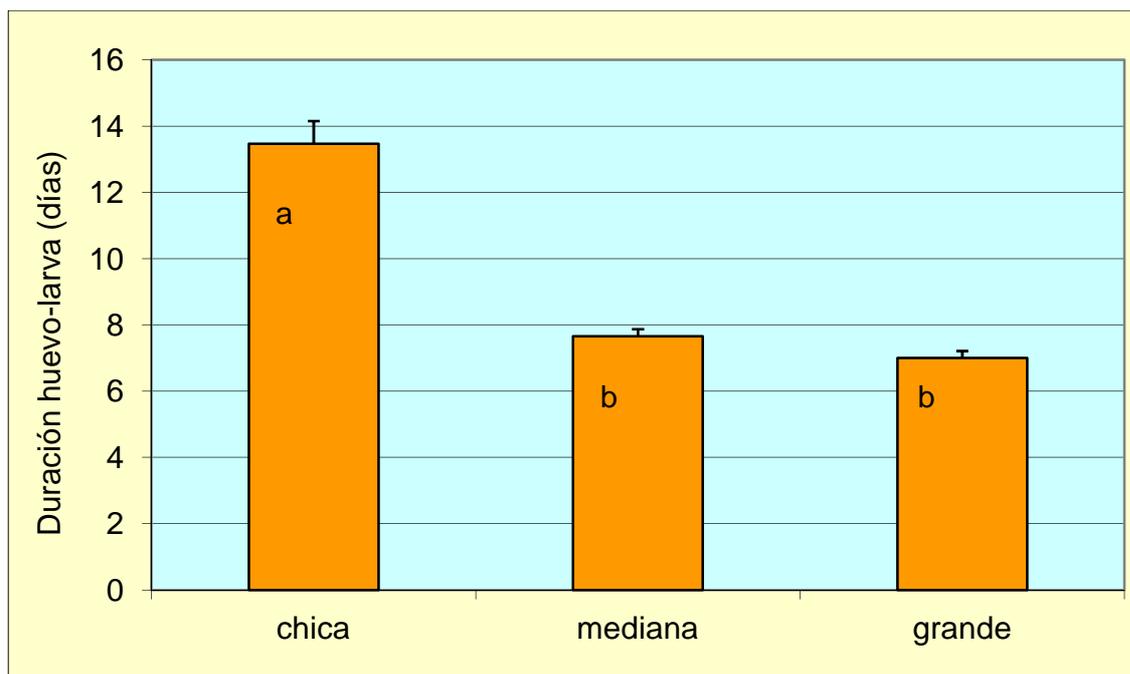


Fig. 3.3.5- Duración de los estados de desarrollo juveniles de *Pseudapanteles dignus* criados sobre larvas de *Tuta absoluta* de distinto tamaño. Letras iguales indican diferencias no significativas (Tukey, $p=0.000$)

En cuanto al comportamiento de las hembras de *Ps. dignus* en el microhábitat formado por las jaulas, se observaron diferencias según los tamaños de las larvas de *T. absoluta* ofrecidas (Fig. 3.3.6 a y b).

Una vez finalizada la cópula, la hembra comienza a buscar activamente a su larva hospedera. Al alcanzar los foliolos de tomate, la hembra camina moviendo las antenas, subiéndolas y bajándolas, tocando suavemente la superficie foliar. Cuando llega a una mina, la hembra se detiene y comienza a hacer movimiento circulares, tocando la superficie de la mina con alta frecuencia (tamborileo). La hembra continúa examinando la mina hasta que localiza la probable posición de la larva hospedera. En ese momento inserta rápidamente su ovipositor en la mina apuntando a la larva de polilla. Si la larva fue contactada, el parasitoide deposita un huevo en la larva, requiriendo menos de 2-3 segundos para hacerlo. Si el hospedero no fue contactado, la hembra retira su ovipositor y lo inserta en un nuevo lugar. Se

pudo observar que la operación de prueba fue repetida persistentemente hasta que se concretó la oviposición.

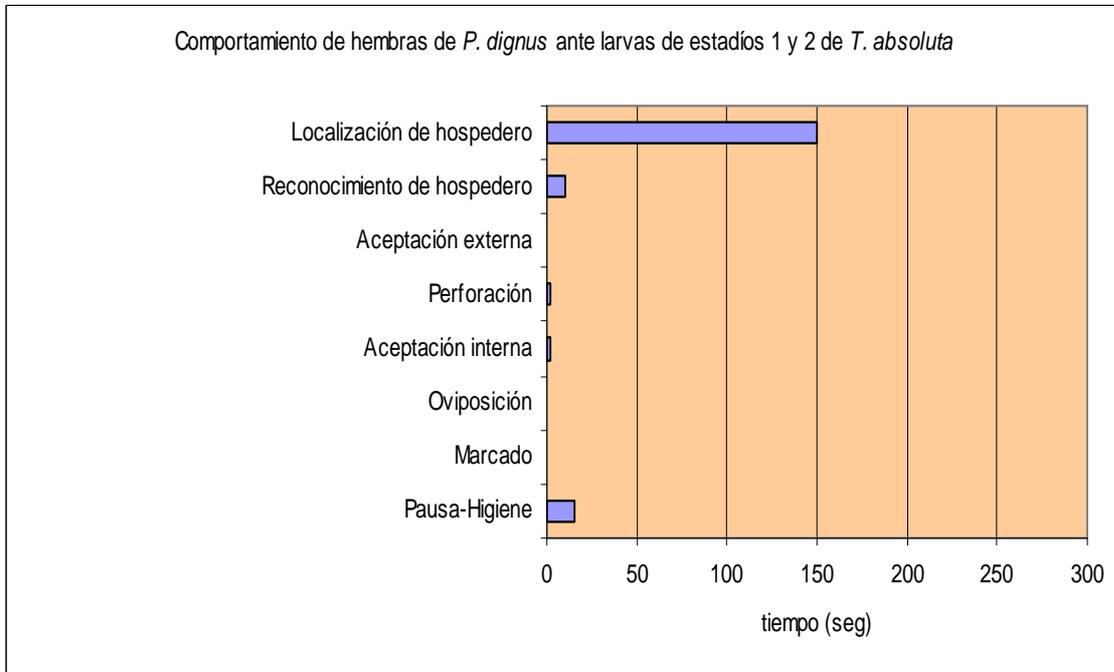


Fig.3.3.6a- Comportamiento de parasitación de hembras de *Pseudapanteles dignus* con larvas chicas de *Tuta absoluta*

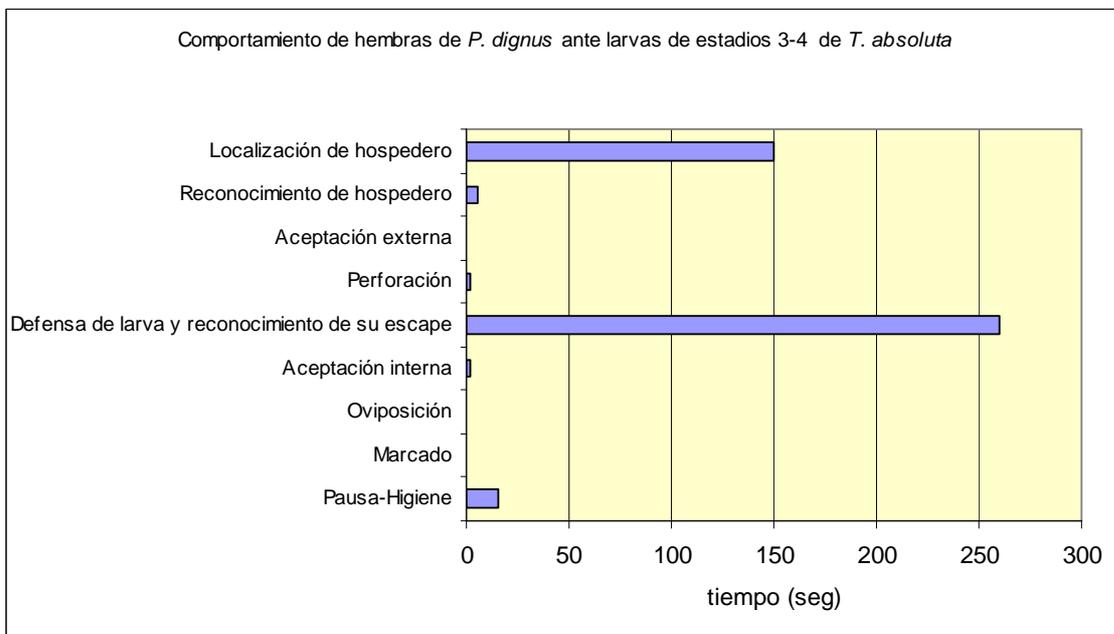


Fig.3.3.6b- Comportamiento de parasitación de hembras de *Pseudapanteles dignus* con larvas medianas y grandes de *Tuta absoluta*

Inmediatamente después de la oviposición, la hembra busca otra mina caminando por ambas superficies de la hoja y recorriéndola completamente. Cuando la hoja fue completamente revisada, la avispa vuela o camina hasta un foliolo cercano y repite el proceso. Observaciones realizadas sobre 20 hembras indica que la hembra raramente revisita un foliolo que ya ha sido examinado. No muestra interés por larvas de *T. absoluta* ubicadas fuera de las minas.

DISCUSIÓN

Todos los tamaños de larva de *T. absoluta* fueron susceptibles y adecuados para el desarrollo completo del parasitoide *Ps. dignus*. En esta experiencia, el tiempo de desarrollo del *Ps. dignus* no se modificó por la edad de la larva del hospedero. Su acción no impidió que las larvas pequeñas continuaran alimentándose y desarrollándose hasta llegar a su máximo tamaño en un tiempo acorde con el de larvas no parasitadas confirmando su condición de koinobionte. Las larvas parasitadas, cuando fueron más grandes, retrasaron su pupación, lo que permitió que la duración del estado larval del parasitoide fuera igual al generado en larvas pequeñas.

Los parasitoides pueden manipular la fisiología de su hospedero causando una maduración prematura o retrasada con tamaños anormalmente pequeños o grandes (Godfray, 1994). La ventaja de prolongar el estado larval del hospedero ha sido, según el mismo autor, producir larvas con más recursos alimentarios. Al interferir el sistema endócrino inducen al hospedero a permanecer más tiempo en el estado larval. En otro koinobionte, *Microplitis demolitor* (Hymenoptera: Braconidae), el tiempo de desarrollo fue más rápido en hospederos de edades intermedias, y más

prolongados en hospederos con edades extremas en el *continuum* de edades. Además, la mortalidad del parasitoide se modificó de manera no lineal con el estadio del hospedero, y fue generalmente mayor en hospederos muy jóvenes o muy viejos (Harvey et al, 2004).

Este fenómeno ha sido estudiado en otro braconido *Cotesia* (= *Apanteles*) *congregatus* que ataca la larva del *marandová* de las solanáceas (*Manduca sexta*; Lepidoptera-Sphingidae). El parasitoide puede alargar el estado larval mediante el aumento de la producción de hormona juvenil debido a interferencias en la regulación neurohormonal (Beckage & Templeton, 1985; Beckage & Gelman, 2013).

Los ciclos endócrinos asociados con la muda y la pupación pueden influir sobre la adecuabilidad de un hospedero. El parasitismo puede fallar luego del final del pico de ecdisona que marca la pupación, porque la larva del parasitoide falla en recibir el correcto estímulo hormonal (Smilowitz & Iwantsch, 1975). Además, la inyección de diversas sustancias (factores virales, venenos, proteínas ováricas y teratocitos provenientes del corión del huevo del parasitoide) pueden provocar la falla del parasitismo (Ramjan et al. 2013).

Además, la respuesta del sistema inmune del hospedero para defenderse del ataque (encapsulación por hemocitos) a menudo depende del tamaño del hospedero, siendo más efectiva en estadios pequeños (Salt, 1968).

La hembra de *Ps. dignus* muestra, en principio, mayor preferencia por las larvas chicas que las grandes y a las que están por empupar. Si bien esto surge de los resultados, podría ser consecuencia de la conducta evasiva más marcada de las larvas de polilla que han llegado al final de su desarrollo. Esta conducta genera que el tiempo requerido para cada oviposición del parasitoide aumente de 3-4 segundos

a 2 minutos, provocando un mayor tiempo de manipuleo necesario para atacar a este tamaño de larva.

En definitiva, hay numerosos procesos que facilitan o entorpecen la parasitación de cada uno de los distintos tamaños de hospedero. Esto llevaría a un “balance” entre ellos, que explica que *Ps. dignus* no muestre mayores diferencias en la parasitación de distintos estadios de desarrollo de larvas de polilla del tomate.

Si bien es posible que la distinta duración del estado larval del braconido para cada tamaño de larva de la polilla compense el desarrollo del parasitoide, es probable que los adultos de *Ps. Dignus* provenientes de larvas hospedantes más chicas tengan un menor *fitness* debido a un menor tamaño o una nutrición más pobre (Kant et al., 2011). Es probable que existan diferencias a lo largo de las generaciones dado que el *fitness* de la descendencia pueda ser diferente según el tamaño del hospedero aunque, a nivel poblacional, pueda ser compensado por factores de mortalidad que actúen en forma diferencial según dichos tamaños, por ejemplo, una mayor probabilidad de ataque por otros enemigos naturales.

Estos resultados implican que todos los tamaños son adecuados para programas de cría masiva.

En cuanto a su uso en control biológico, la distribución de edades de la plaga en el cultivo no sería determinante del momento de realizar liberaciones inoculativas aunque, debido a la gravedad del daño producido por la plaga, sería necesario hacerlo al inicio del ataque.

3.4- RESPUESTA FUNCIONAL

La respuesta funcional de un enemigo natural estima el número de presas consumidas por un predador en función de la densidad de presa disponible (Solomon, 1949; Holling, 1959). Este atributo es central para la descripción de cualquier enemigo natural ya que sirve para evaluar su potencialidad como agente de control biológico de plagas (Huffacker *et al*, 1976).

En el caso de los parasitoides, en los que solo en su estado larval se alimentan de otros insectos, la búsqueda de huéspedes para oviponer por parte de las hembras puede ser considerada como una búsqueda de presas. Según este concepto, un aumento en la disponibilidad de larvas huéspedes ocasionará que cada hembra produzca un ataque proporcionalmente mayor durante un período determinado (Fernandez-Arhex & Corley, 2004).

Existen varios tipos de respuestas funcionales posibles (Fig 3.4.1). En la respuesta de tipo 1 se observa un aumento lineal de la tasa de ataque del enemigo natural con el aumento de la densidad de la presa (con una pendiente igual a la eficiencia de búsqueda), hasta llegar a un punto a partir del cual la máxima tasa de ataque permanece constante. La respuesta es descrita por la siguiente ecuación:

$$N_a = a' \times T \times N \quad (1)$$

Donde N_a es el número de hospederos parasitados o presas comidas, N el número ofrecido, T es el tiempo total disponible para la búsqueda a' es una constante, la tasa de ataque instantánea.

Este tipo de respuesta es frecuente en animales filtradores acuáticos como *Daphnia magna* (Porter *et al*, 1983).

En la respuesta funcional de tipo 2, la curva se eleva con una tasa constantemente decreciente hacia un valor máximo. Holling (1959) predice tal respuesta debido al llamado “tiempo de manipuleo” (T_m) definido como el tiempo dedicado a perseguir, dominar, consumir y digerir las presas, y a prepararse para la siguiente búsqueda. Dado que el tiempo de búsqueda se reduce (debido al tiempo de manipulación), este tipo de respuesta resulta en un aumento desacelerado a medida que aumentan las presas consumidas hasta llegar a una asíntota en la cual se expresa la máxima tasa de ataque (T/T_m) (Fernández-Arhex & Corley, 2003). A esta densidad, el tiempo disponible por el predador es usado para manipular la presa y el tiempo de búsqueda resulta entonces despreciable.

$$T_s = T - T_h \times N_a$$

Donde T_s es el tiempo de búsqueda actual y T_h es el tiempo de manipuleo.

Las respuestas de tipo 2 suelen aparecer en predadores invertebrados incluidos los parasitoides. La ecuación que la representa se conoce como la ecuación de Holling:

$$N_a = \frac{N \times T \times a}{1 + a \times T_m \times N} \quad (2)$$

En el caso de la respuesta funcional de tipo 3 el número de presas consumidas por unidad de tiempo se acelera con el aumento de la densidad de presas, hasta que el tiempo de manipuleo comienza a limitar su consumo. Una vez superado el punto de inflexión, la curva se parece a la descrita para la respuesta de tipo 2.

Este tipo de respuesta es más característica de predadores vertebrados, ya que suelen explicarse por el aprendizaje o por la posibilidad de cambiar una presa por

otra ("switching") (Holling, 1965; Berryman, 1999; Gullan & Cranston, 2000). Sin embargo, ciertos artrópodos predadores y parasitoides poseen respuestas de tipo 3 aunque puede ser generadas por una preferencia diferencial por distintas especies de presas ofrecidas, por actividades no relacionadas con el proceso de búsqueda o, en el caso de parasitoides, por algún tipo de alimentación por parte del adulto del hospedero previo a la oviposición "host-feeding" (Hassell *et al.*, 1977; van Alphen & Jervis, 1996). Una de las ecuaciones más sencillas que representan este tipo de respuesta es la siguiente:

$$Nc = \frac{T \times b \times N^2}{1 + b \times N^2 \times Tm} \quad (3)$$

La respuesta de tipo 4 se asemeja a la de tipo 2 excepto que decrece a altas densidades generando una forma de domo. Puede darse cuando las presas interfieren con el ataque y causan el fracaso del mismo. De cualquier manera, muchas veces el tipo de respuesta funcional de un enemigo natural depende del diseño experimental adoptado (van Alphen & Jervis, 1996).

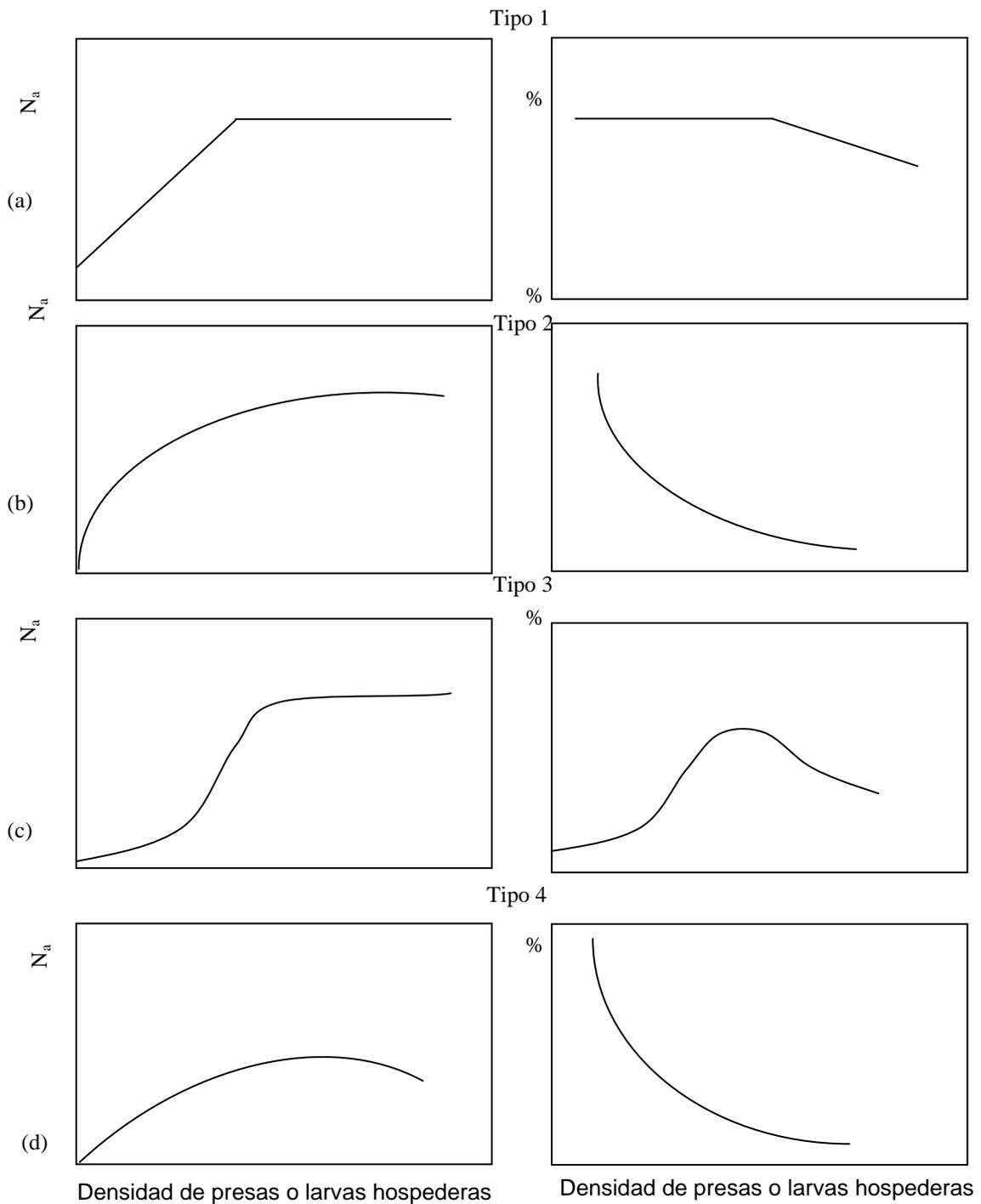


Figura 3.4.1- Los cuatro tipos de respuesta funcional observadas en predadores y parasitoides: (a) Tipo 1; (b) Tipo 2; (c) Tipo 3; (d) Tipo 4. N_a = número de hospederos parasitados o presas comidas; % = porcentaje de hospederos parasitados o presas comidas. (Tomado de: van Alphen & Jervis, 1996)

Más allá de los patrones a los que es posible ajustar esta respuesta, lo cierto es que cuando el objetivo es seleccionar a un enemigo natural para lograr un control

eficiente de la plagas, es deseable que se produzca una parasitación importante aún a bajas densidades de la presa.

El objetivo de este capítulo fue estimar la respuesta funcional a la densidad de la presa de *Ps. dignus* en condiciones de invernáculo a efectos de evaluar su capacidad de búsqueda con miras a su utilización como agente de control biológico inundativo de la ‘Polilla del tomate’ *Tuta absoluta*.

MATERIALES Y MÉTODOS

La experiencia se realizó en un invernáculo de vidrio ubicado en el predio del CICA-INTA, en Castelar, pcia. de Buenos Aires. Los adultos de *Ps.dignus* de hasta 24 h de emergidos se obtuvieron de la cría del Insectario de Lucha Biológica del IMIZA.

Cada unidad experimental consistió en una jaula de 0,60 x 0,60 x 0,80 m de altura, con marcos de hierro redondo de 6 mm de diámetro cubiertas con tela de voile (Figura 3.4.2). Dentro de ella se dispusieron tres plantas de tomate de aproximadamente 6 hojas y 0,60 m de altura las que fueron infestadas con huevos de *T. absoluta*. Una vez nacidas las larvas de *T. absoluta* fueron expuestas durante 24 h a 1 pareja (macho y hembra) del parasitoide. Se seleccionaron cuatro densidades de larvas: 5, 15, 30 y 60 larvas. Por cada densidad se realizaron cuatro repeticiones. El invernáculo tuvo una temperatura máxima de 33°C y una mínima de 21°C durante el día de la exposición a los parasitoides.

Completado el tiempo de exposición, los foliolos de tomate con larvas huéspedes fueron retirados, colocados en cajas plásticas de 12 x 5 x 3 cm y

llevados a una cámara de cría ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) hasta el nacimiento de los adultos de *P. dignus* o de *T. absoluta*.



Figura 3.4.2- Unidad experimental para estudiar la respuesta funcional



Figura 3.4.3- Vista general del experimento de respuesta funcional

La cantidad de larvas parasitadas por cada hembra del parasitoide en función de la densidad de larvas de *T.absoluta* fue analizada mediante un ANVA de un factor. Previamente se comprobó el cumplimiento de los supuestos que implica. Para verificar la homogeneidad de varianzas se utilizó el test de Cochran ($c=0.4$ y $p=0.18$) . Para detectar si la distribución de los datos se ajustaba a una normal se realizó el test de Shapiro-Wilk. La diferencia entre tratamientos se analizó mediante un test de Tukey (0.05).

La proporción de parasitismo fue calculado mediante la relación entre el número de larvas parasitadas y el número total de larvas disponibles (densidades ofrecidas). También fue analizada mediante un ANVA de un factor (Test de Cochran: $p=0.44$ y Kolmogorov-Smirnov: $p=0.15$). El programa estadístico utilizado fue el Statistica 99 (Statsoft,Inc).

Para hallar el tipo de respuesta funcional se realizó una regresión logística (modelo logit binomial) mediante el programa Infostat. Posteriormente, una vez que se determinó una curva de tipo 2, se realizó un análisis de regresión no lineal justada por cuadrados mínimos. La función general que se utilizó fue la dos que involucra la estimación de los parámetros: a y T_m .

RESULTADOS

De acuerdo a los estudios realizados, el aumento de la densidad de hospederos provoca un nivel de parasitación significativamente mayor parte del *Ps. dignus*.

Al analizar la proporción de parasitismo de este braconido cuando aumentó la disponibilidad del hospedero (Figura 3.4.4) se puede notar que la densidad de 5 larvas por planta presentó la proporción significativamente más alta (0.95) disminuyendo abruptamente con densidades mayores. Dicha eficiencia fue mínima a partir de 30 larvas por planta, debido presumiblemente a la fecundidad diaria del microhimenóptero. A partir de aproximadamente 50 larvas prácticamente desaparece la respuesta denso-dependiente.

En la figura 3.4.5 se observa la respuesta funcional de la especie. Los resultados de la regresión no lineal para el modelo de tipo II de Holling indicaron resultados significativos ($r^2=0.79$). La tasa de ataque promedio (\pm e.e.) fue de 1,02 (0.29), ($p= 0.0033$). El tiempo de manipuleo fue de 0.08 (0.01), ($p < 0.0001$), equivalente a 1.55 h.

$$Na = \frac{N \times T_x \times 1.02}{1 + 1.02 \times 0.08 \times N}$$

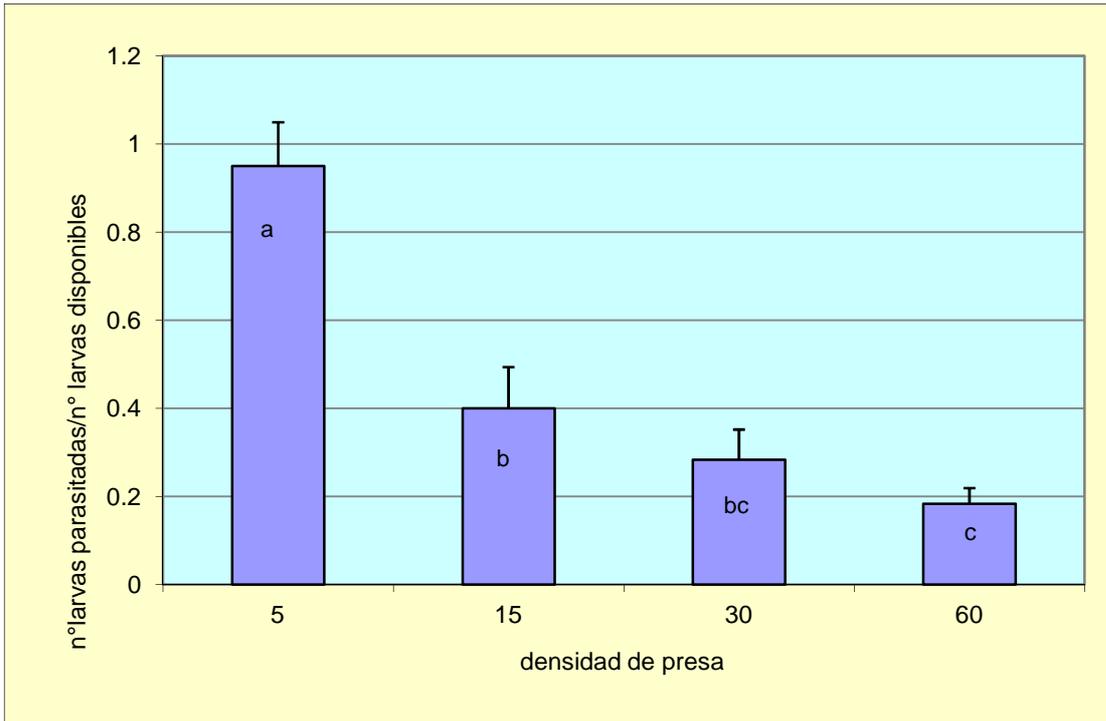


Fig 3.4.4- Proporción de larvas de *Tuta absoluta* parasitadas por hembras de *Pseudapanteles dignus* en función a la densidad de hospederos ofrecidos (Eficiencia de parasitismo).

Letras iguales indican diferencias no significativas (Tukey=0.05)

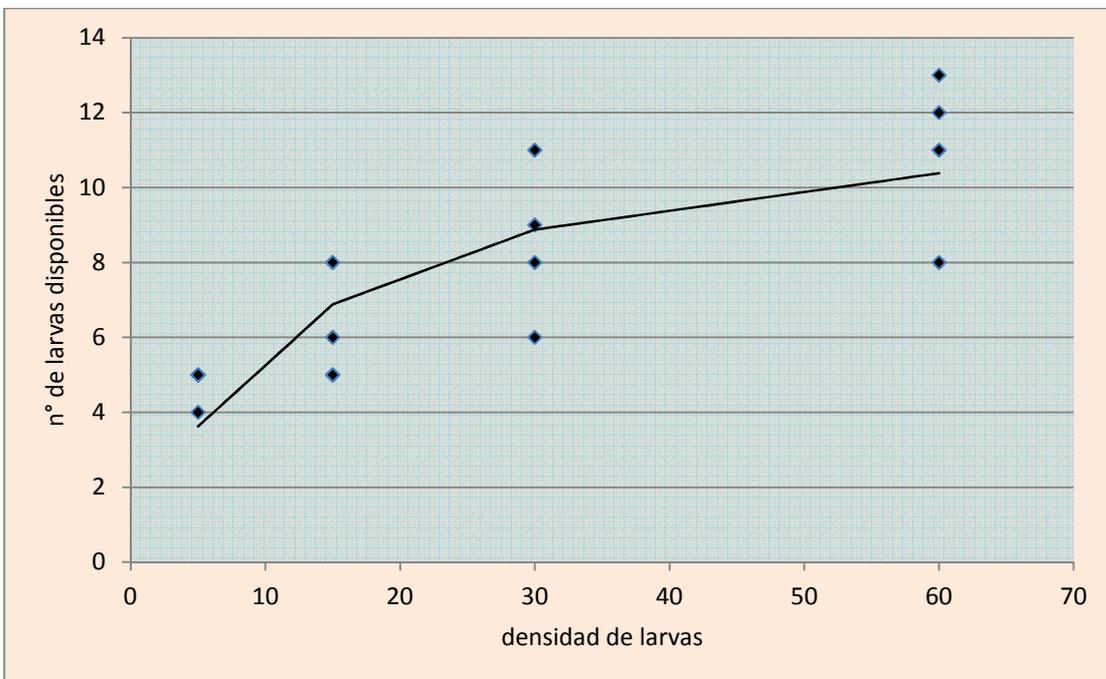


Fig 3.4.5- Respuesta funcional de *Pseudapanteles dignus* sobre larvas de *Tuta absoluta* de dos días de edad.

La línea representa el valor de la ecuación de ajuste hallada para las distintas densidades

DISCUSION

Los resultados obtenidos durante el estudio de la respuesta funcional de *Ps.dignus* con diferentes densidades de hospedero permitió describir aspectos interesantes de la interacción huésped-parasitoide. Se detectó una respuesta funcional de tipo 2, típica de parasitoides debido tanto al tiempo de manipuleo constante como a la limitación por escasez de huevos como ha señalado Ivlev (1961) (citado por Fernández-Arhex & Corley, 2004). Este tipo de curva implica que las presas tendrán una mayor probabilidad de ser atacadas cuando están a bajas densidades que cuando están a mayores (Holling, 1959; Fernández-Arhex & Corley, 2004).

Trabajos realizados en Argentina por Luna *et al.* (2007) sobre *Ps. dignus* en *T. absoluta* hallaron una respuesta funcional de tipo 1 que se puede explicar por las bajas densidades de larvas de la polilla ofrecidas (3 a 30). Por otro lado, Cardona & Oatman (1971) en California, estudiaron la relación del efecto de la densidad de presas sobre el parasitismo de *Ps. dignus* sobre otro geléquido, *Keiferia lycopersicella*, hallando una estabilización del parasitismo a partir de las 90 larvas ofrecidas, valor muy superior al encontrado en esta tesis. Se puede asumir que *Ps. dignus* exhibe una eficiencia de forrajeo diferente entre las dos especies huéspedes, o que las poblaciones del parasitoide o condiciones ambientales favorecieron un elevado parasitismo sobre *K. lycopersicella*.

Pseudapanteles dignus actuó eficazmente a bajas densidades del hospedero (menos de 15 larvas por planta). Esto estaría indicando una buena capacidad de búsqueda, característica que figura entre los atributos más importantes de un enemigo natural eficiente (Huffaker *et al.*, 1976) ya que le permitiría actuar en las etapas iniciales de la colonización de la plaga cuando la densidad de esta es aún

baja. Esto favorecería su empleo en tácticas inoculativas con liberaciones previas a que la plaga alcance altos valores poblacionales.

CAPÍTULO 4

Impacto de *Pseudapanteles dignus*
sobre *Tuta absoluta* “polilla del
tomate”

CAPÍTULO 4- Impacto de *Pseudapanteles dignus* sobre *Tuta absoluta* “polilla del tomate”

INTRODUCCION

El objetivo final de cualquier estrategia de control de plagas, incluido el biológico, es bajar su población por debajo de su nivel de daño económico (FAO, 2006). Por lo tanto, para evaluar la eficacia del control biológico es necesario la valoración del impacto que produce sobre la plaga el enemigo natural utilizado, tanto en su capacidad de producir daño como en su nivel poblacional.

Los parasitoides koinobiontes, como *Pseudapanteles dignus*, actúan de modo que sus larvas hospedantes continúan alimentándose y mudando a lo largo de su estado larval (Vinson, 1998). Por lo tanto, las larvas parasitadas podrían mantener su capacidad de producir daños a los cultivos incluso aumentar su consumo del vegetal debido a la mayor demanda nutricional de la relación que se establece (Parker & Pinnel, 1973; Hazan & Ansari, 2012).

El efecto del parasitismo sobre el ciclo de vida y la alimentación de la larva hospedera ha sido estudiado para otras especies de lepidópteros. Las larvas de *Spodoptera frugiperda* parasitadas por otro braconido, *Chelonus insularis*, consumieron un 10 % menos que las no parasitadas mientras que la duración de su estado larval fue un 25% más corto lo que indica una importante reducción del daño a corto plazo (Rezende *et al.*, 1994). Resultados similares se obtuvieron con larvas de la misma especie parasitadas por un ichneumonido, *Campoletis flavicincta*, que consumieron el 8% menos que las larvas sanas (Cruz *et al.*, 1995). En cambio, el parasitismo de *Cyrtophloeba sp.* (Diptera-Tachinidae) sobre *Spodoptera eridania* redujo el consumo de las larvas parasitadas sólo un 15% mientras que el estado larval duró un 25% más (Lopes *et al.*, 1997).

Por otro lado, el impacto de los agentes de control sobre los insectos plaga involucra típicamente el incremento de la mortalidad de la misma o, en algunos casos, la disminución de la fecundidad conduciendo a una menor densidad.

Los métodos utilizados para medir el impacto de los enemigos naturales (EN) pueden tener dos aproximaciones básicas (Kidd & Jervis, 1996; Mills, 1997). La primera está basada en su impacto sobre la densidad de la plaga (estimando por ejemplo el porcentaje de parasitismo o predación). La segunda involucra el empleo de métodos experimentales que permitan la comparación de una población plaga sola versus otra población con la presencia del EN.

Entre las estimaciones directas de la mortalidad debida a un enemigo natural, la más convencional es el porcentaje de población huésped que es parasitada por el mismo. Este porcentaje es estimado, frecuentemente, tomando una muestra de la población susceptible de ser parasitada y determinando el número de huéspedes parasitados en relación al número total de la muestra, manteniéndola mediante técnicas de cría hasta el nacimiento de las parasitoides (van Driesche, 1983).

El método más extendido para evaluar el impacto de los enemigos naturales sobre la densidad de una población de insectos está basado en la comparación directa de la densidad de la plaga en poblaciones de la misma con y sin los enemigos naturales de interés (Luck *et al.*, 1988 y 1999).

El uso de este método requiere la capacidad de encontrar, establecer o crear parcelas con y sin los enemigos naturales que van a ser evaluados. Esto se puede hacer usando jaulas, insecticidas o parcelas experimentales separadas espacialmente (De Bach, 1985; Huffacker *et al.*, 1976; van Driesche & Bellows, 1996; van Driesche *et al.*, 2007). El caso de la polilla del tomate, dado que es una

plaga típica de cultivos protegidos, permite el diseño de módulos experimentales que incluyen la presencia de la plaga con y sin liberación del parasitoide.

Además del análisis de la densidad entre poblaciones de la plaga con y sin el EN, es posible la construcción de tablas de vida emparejadas de la plaga que permitan comparar los parámetros demográficos de la misma ante las dos situaciones (van Driesche *et al.*, 2007). La tasa de crecimiento de una población puede ser expresada como tasa neta de reproducción (R_0) intergeneracional o como tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) instantánea (Southwood, 1994). La estimación de la diferencia entre estos parámetros para poblaciones con y sin el enemigo natural de interés es una medida eficaz y directa del impacto del EN (van Driesche, 1994).

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos en experiencias de laboratorio y semicampo cuyo objetivo es evaluar aspectos de la interacción del parasitoide y su huésped con miras a su empleo en liberaciones inoculativas de *Pseudapanteles dignus*.

4.1- ESTUDIOS EN LABORATORIO

4.1.1 Efecto del parasitismo sobre el consumo de *Tuta absoluta*

El objetivo de esta experiencia fue determinar el efecto del parasitismo por *Ps. dignus* sobre el consumo foliar y la duración del estado larval de *Tuta absoluta*

MATERIALES Y METODOS

Plantas de tomate infestadas con larvas de *T. absoluta* de dos días de edad, fueron expuestas a adultos (machos y hembras) de *Ps. dignus* durante dos días en la jaula de cría del parasitoide. Las plantas se colocaron en jaulas con paredes de malla metálica y vidrio de 60 cm de alto por 20 cm de base con un dispositivo para proveer de miel a los adultos parasitoides para su alimentación. Luego de la exposición a los mismos, las larvas de la polilla fueron ubicadas individualmente en cajas de petri donde se las alimentó con foliolos frescos de tomate colocados sobre un papel de filtro humedecido los que fueron cambiados diariamente. Las larvas se mantuvieron en cámaras de cría a una temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 30-45%. Se estimó (1) la duración del estado larval parasitados y no parasitados (en días) y (2) el consumo de las larvas parasitadas y no parasitadas. Para ello se midió la superficie de mesófilo dañada calcándola sobre un papel milimetrado. Para su análisis se sumó el área consumida acumulada en tres momentos: (1) entre el inicio y los primeros tres días, (2) entre los tres y cinco días y, (3) entre los cinco y ocho días desde el inicio, como así el total consumido en ocho días.

Los datos fueron analizados, para cada momento, mediante una prueba t para dos muestras con varianzas desiguales ($\alpha = 0.05$) .

RESULTADOS

No se detectaron diferencias significativas en la duración del período larval entre larvas parasitadas y no parasitadas ($p=0.08587506$; 24 gl) (Figura 4.1).

Respecto al consumo, los resultados indican que si bien el consumo total de larvas parasitadas fue notable (375.21 mm^2), fue significativamente menor ($p: 0.0012$; 27 gl) que el de larvas no parasitadas (515.93 mm^2) (Figura 4.2).

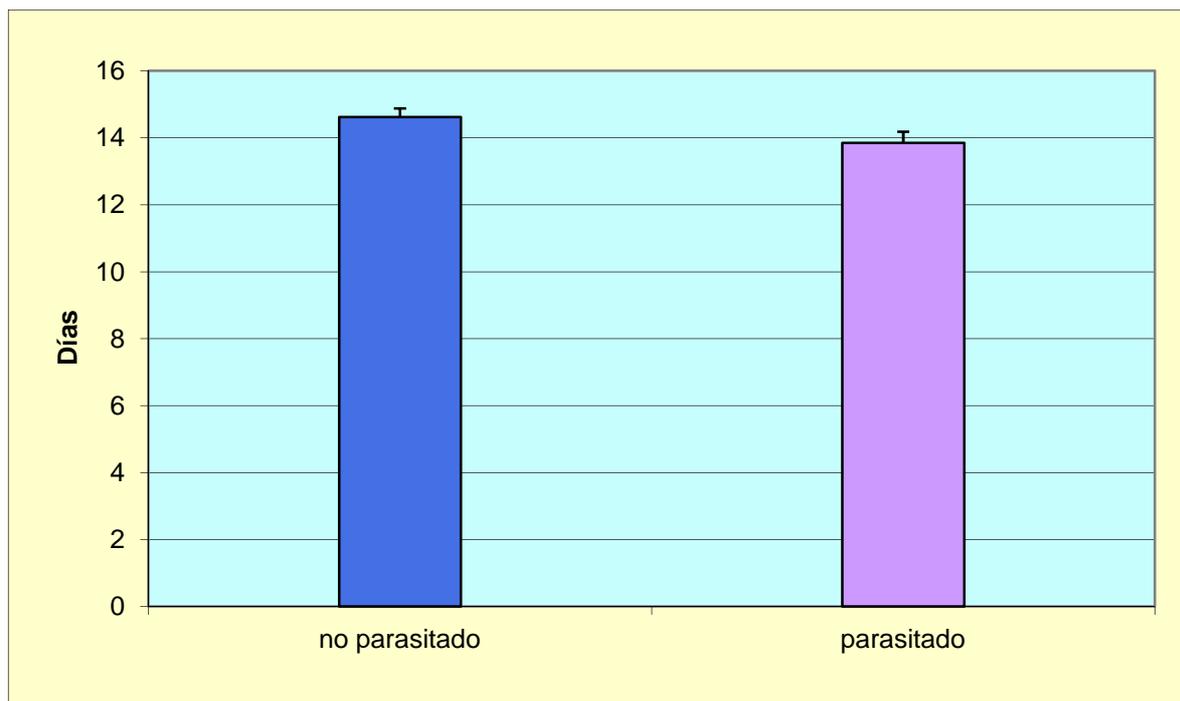


Figura 4.1- Efecto del parasitismo de *Ps. dignus* sobre la duración del período larval de *T. absoluta*. (Prueba t, $p= 0.08587506$)

El consumo a lo largo del tiempo mostró que durante los tres primeros días las larvas parasitadas y no parasitadas tienen consumo similares ($p = 0.963$). Posteriormente, entre los tres y cinco días de la parasitación las diferencias se hacen significativas ($p = 0.03864$) (Figura 4.3) y, entre los cinco y ocho días vuelve

a ser no significativa ($p = 0.2918$), aunque el consumo de las larvas de *T. absoluta* no parasitadas sigue siendo mayor.

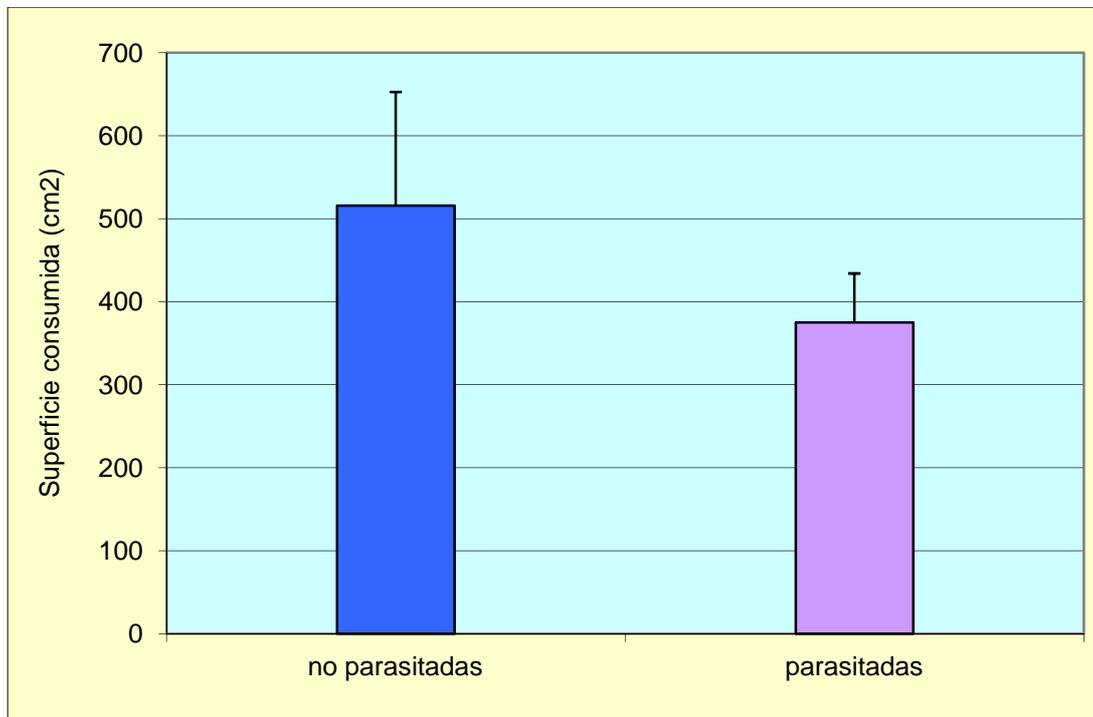


Figura 4.2- Consumo total de larvas de *Tuta absoluta* no parasitadas y parasitadas por *Pseudapanteles dignus* (Prueba t, $p=0.0012$)

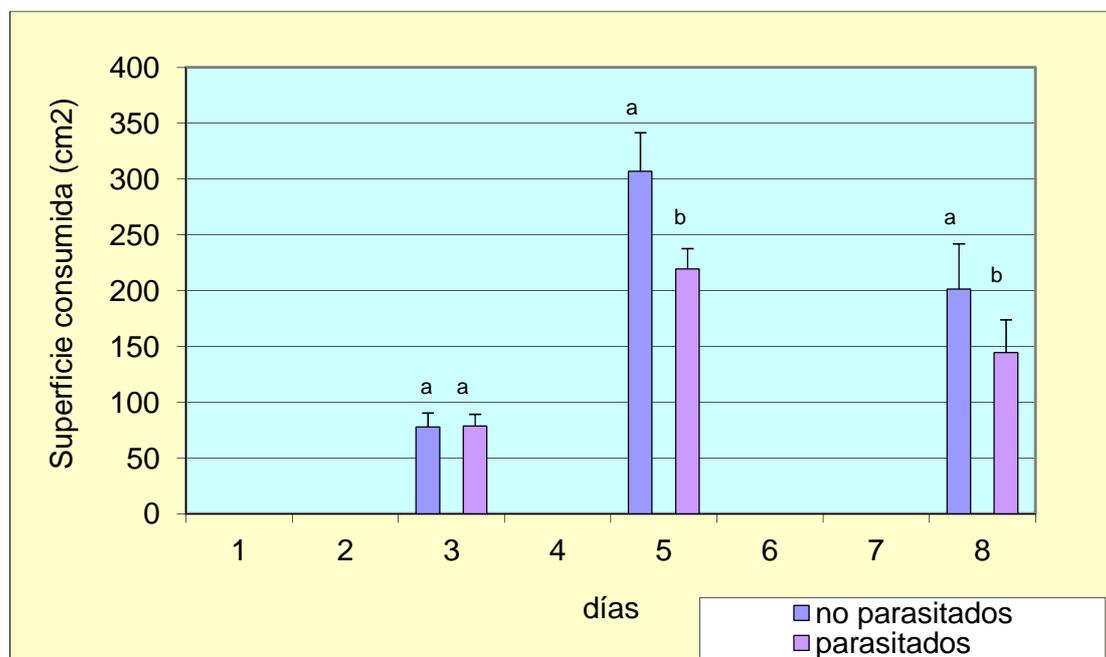


Figura 4.3- Consumo acumulado de larvas de *Tuta absoluta* no parasitadas y parasitadas por *Pseudapanteles dignus*

Letras iguales indican diferencias no significativas, prueba t (3 días $p=0.963$; 5 días $p=0.03864$; $p=8$ días $p=0.2918$)

DISCUSION

El parasitismo por *Ps. dignus* afecta significativamente el comportamiento alimentario de las larvas de *T. absoluta*, disminuyendo su capacidad de consumo en un 27.3% respecto de las no parasitadas durante el mismo tiempo de alimentación. Esta reducción es aún mayor que las detectadas en larvas de *Spodoptera frugiperda* parasitadas (Rezende *et al.*, 1994; Cruz *et al.*, 1997).

Desde la perspectiva del manejo de la plaga y la acción del parasitoide habría un doble efecto positivo. Por un lado el parasitoide reduciría la población de la plaga (por parasitismo) y, al mismo tiempo, reduce la fitofagia de la plaga por su desarrollo koinobionte y el efecto detrimental del consumo. El impacto cuantitativo que implica este resultado en términos de reducción del daño por la polilla no es fácil de evaluar experimentalmente. De cualquier manera, en términos de “control económico”, este efecto no tendría acción inmediata dado que el daño producido por las larvas parasitadas podría no disminuir en forma económicamente significativa durante la generación en la que el parasitismo tiene lugar, sino en la siguiente a través de una menor abundancia poblacional. Además, el impacto de la plaga sobre el fruto es más limitante para la producción que el daño en hoja, dado que afecta directamente el órgano de cosecha y, en fructificación, suele ser más temprano en fruto que en hoja (Caffarini *et al.*, 1999).

4.1.2 Efecto sobre los parámetros poblacionales de *Tuta absoluta*

El objetivo de esta experiencia fue evaluar el impacto del parasitismo por *Ps. dignus* en los parámetros vitales *T. absoluta*

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó utilizando técnicas de tabla de vida. Se trabajó con dos cohortes (n =120) de larvas neonatas de la polilla criadas en plantas de tomate de 5-6 hojas desarrolladas en macetas (a una temperatura de $25.4\pm 1.7^{\circ}\text{C}$, HR de $70\pm 10\%$ y Fotoperíodo de 12L:12^o con iluminación natural difusa) en jaulas de acrílico de 40 x 40 x 50 cm de altura provista de dos ventanas cubiertas con tela de voile y una puerta corrediza.

En una de las jaulas se liberaron 5 parejas de *Ps. dignus* de menos de 24 hs de edad y sin experiencia previa (*naïves*) manteniéndose la restante como testigo. Diariamente se realizó el recuento de las larvas vivas; a medida que pasaban al estado de pupa fueron retiradas, sexadas y mantenidas en cajas plásticas rotuladas por fecha hasta la eclosión del adulto de la polilla o del parasitoide. A medida que los adultos de la polilla nacían, fueron ubicados formando parejas en cajas plásticas cilíndricas de 10 cm de diámetro x 10 cm de altura provistas de una tapa calada cubierta de tela de voile. Diariamente se colocaron en la caja una hoja chica de tomate que se retiró al día siguiente y fue reemplazada por otra, y sobre la que se contaban los huevos colocados por hembra/día.

Se estimaron los siguientes parámetros poblacionales para *T. absoluta* en las situaciones *sin* y *con* parasitismo de acuerdo con la terminología utilizada por Southwood (1994): Tasa neta de reproducción (R_0), Tiempo generacional (T_g) y tasa

intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) explicados en capítulos anteriores. Los parámetros fueron estimados mediante el programa TABLAVI 2.2.1 (La Rossa & Kahn, 2003).

RESULTADOS

El parasitismo de *Ps. dignus* afectó significativamente a los principales parámetros poblacionales de *T. absoluta*. La Tasa neta de reproducción (R_0) fue de 18.53 ♀/♀ (e.e.=3.949) sin parasitismo y de 5.672 (e.e.=3.152) ♀/♀ con parasitismo. La tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) fue de 0.123 y de 0.072 para las situaciones *sin* y *con parasitismo*, respectivamente (r_{jack} en Tabla 4.1).

	Sin parasitismo	Con parasitismo
r_{jack}	0.124 (e.e.=0.0092)	0.077 (e.e.=0.0272)
Límite inferior	0.105	0.022
Límite superior	0.142	0.133

Tabla 4.1- Tasa intrínseca de crecimiento poblacional (Jacknife) de *Tuta absoluta*, con y sin parasitismo por *Pseudapanteles dignus*

El tiempo generacional fue similar para ambas situaciones: 24.11 (e.e.=0.119) días y 24.265 (e.e.=0.045) días sin y con parasitismo respectivamente.

Respecto a la supervivencia y fecundidad (fig 4.4 y 4.5) en la situación sin parasitismo, como era esperable, las larvas sobreviven más que cuando se exponen al parasitoide. La supervivencia media (l_{x50}), en la que murió el 50% de la población, en la condición sin parasitismo se alcanzó a los 17,2 días y, en presencia del parasitoide se acortó en aproximadamente 3,3 días ($l_{x50} = 13,9$ días). La fecundidad total de la cohorte parasitada fue mayor (64) que la no parasitada (48).

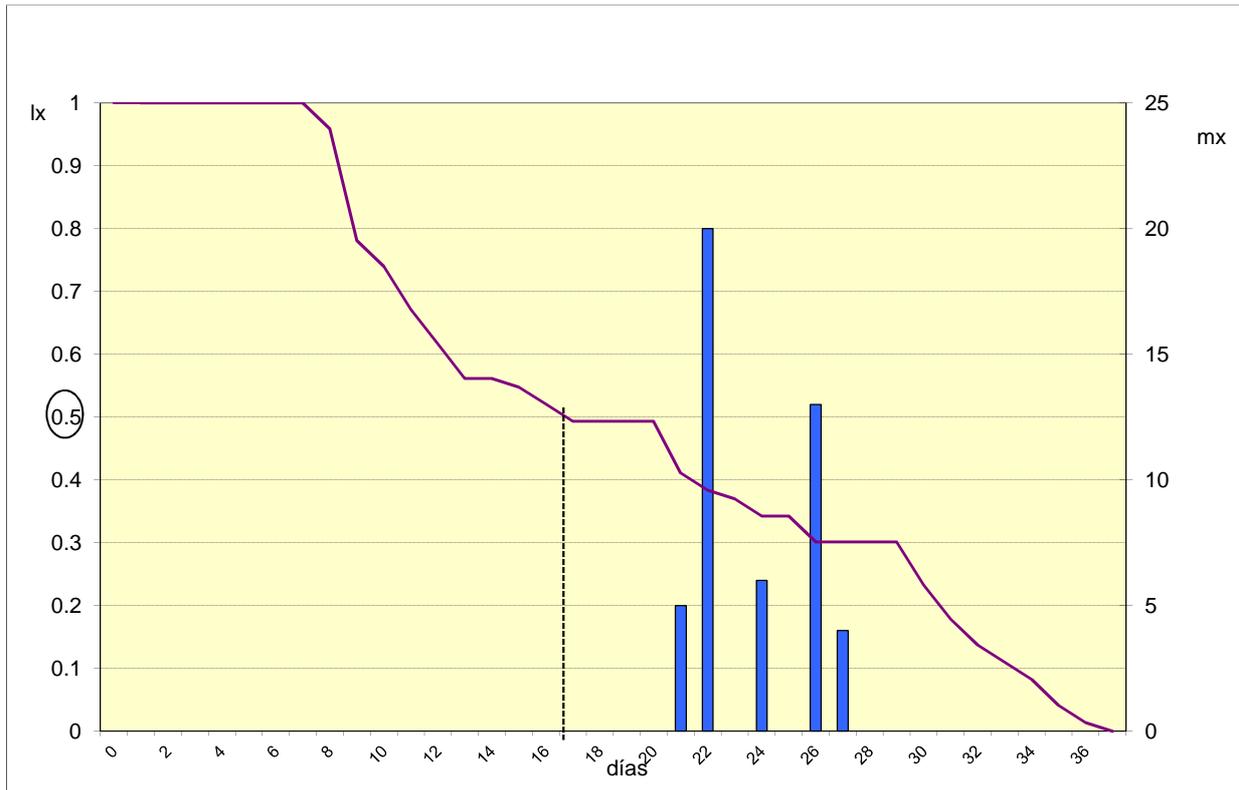


Fig. 4.4- Supervivencia (l_x) (líneas) y fecundidad (m_x) (barras) de la cohorte de *Tuta absoluta* no parasitada

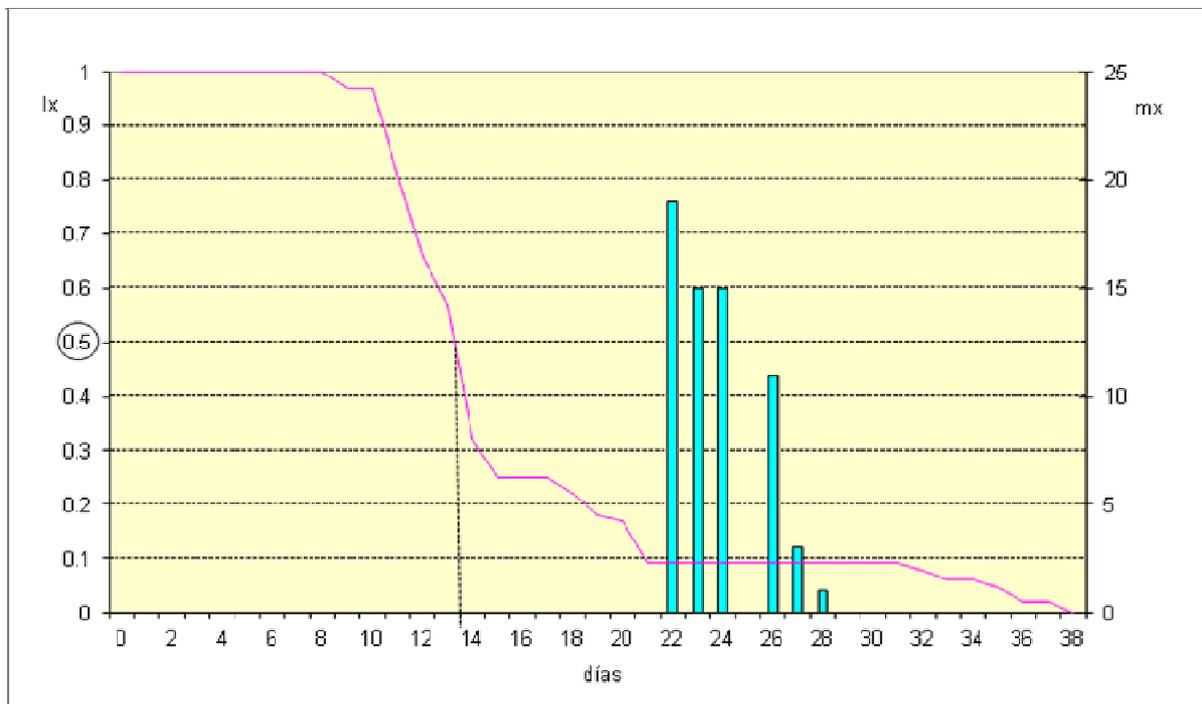


Fig. 4.5- Supervivencia (l_x) (líneas) y fecundidad (m_x) (barras) de la cohorte *Tuta absoluta* parasitada por *Pseudapanteles dignus*

DISCUSIÓN

No se han encontrado estudios previos acerca de la comparación de los parámetros biológicos de *Tuta* absoluta con y sin parasitismo por *P. dignus*. Como es de esperar, la elevada mortalidad larval que provoca el parasitismo determina que la cantidad de adultos que sobreviven sea significativamente menor en la situación con parasitismo; esto influye sobre los demás parámetros poblacionales como la R_0 y, obviamente, en la r_m .

Esta situación es indicativa de que las poblaciones de la polilla en presencia del parasitoide verán disminuido substancialmente su crecimiento poblacional y esto debe redundar en un menor nivel de daño.

4.2- EVALUACIÓN DE LIBERACIONES EN CULTIVOS DE TOMATE

Uno de los aspectos de mayor importancia en la implementación práctica del control biológico se basan en la correcta selección de la táctica de manejo del enemigo natural seleccionado, las características de plaga y el medio ambiente en el que se producen las interacciones entre biocontrolador-plaga las que determinan en este sentido cual táctica sea la mas conveniente.

Para el caso de *Pseudapanteles dignus*, su estrategia reproductiva y desarrollo koinobionte, su presencia espontánea (natural) en el medio (invernaderos comerciales y campo abierto) y una asociación (plaga-parasitoide) casi específica permite pensar que una táctica basada en liberaciones inoculativas del parasitoide en aquellos momentos en que sus niveles poblacionales aún no son consistentes (inicio de los cultivos en primavera) pueden contribuir a mejorar el crecimiento poblacional del enemigo natural (aumento del inóculo) y evitar así que su hospedante (*Tuta absoluta*) alcance niveles de abundancia peligrosos.

En base a lo expuesto, el objetivo de los estudios que se presentan a continuación fue evaluar el efecto de liberaciones inoculativas del parasitoide sobre el comportamiento poblacional de la polilla del tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos de liberaciones de *Ps. dignus* utilizando los cultivos protegidos existentes en el campo experimental del IMIZA INTA-Castelar.

ENSAYO 1 (Liberación única de parasitoides)

Se realizó en un macrotúnel de polietileno de 240 m² (Figura 4.6) subdividido mediante paredes de polietileno en seis módulos (Figura 4.7). Se utilizaron plantas de tomate de la variedad Lider (de crecimiento indeterminado) las que fueron

transplantadas a medianos de septiembre a una densidad de 2 plantas por m². Fueron conducidas a un tallo mediante una poda semanal de brotes axilares, sujetándolas mediante un hilo de prolipropileno desde la zona basal hasta una alambre tendido horizontalmente a dos metros de altura. El riego se realizó por goteo y el suelo se mantuvo cubierto con material vegetal seco (mulching orgánico). Este tipo de manejo es similar al empleado en establecimientos de producción comercial.

Se compararon dos tipos de tratamientos: Testigo (sin liberación de parasitoides) y CB (con liberaciones inoculativas del parasitoide *Ps. dignus*). Estos tratamientos fueron asignados al azar a tres módulos (n= 3 réplicas). La infestación de larvas de polilla era elevada superando el umbral de daño económico (2 folíolos con daño fresco/planta) según Polack & Mitidieri (2002), en los tres módulos experimentales.

En el tratamiento CB se liberaron 40 hembras de *Ps. dignus* de menos de 24 hs de edad provenientes de la cría masiva del parasitoide, en cada uno de los módulos asignados en una única liberación. A los 4 días posteriores a la liberación se extrajeron 5 hojas/planta, entre la hoja 6 y la 7, de cinco plantas (n= 25 hojas) que fueron llevadas a laboratorio hasta la emergencia de los adultos de la polilla o del parasitoide.



Figura 4.6- Macrotúnel con cultivo de tomate

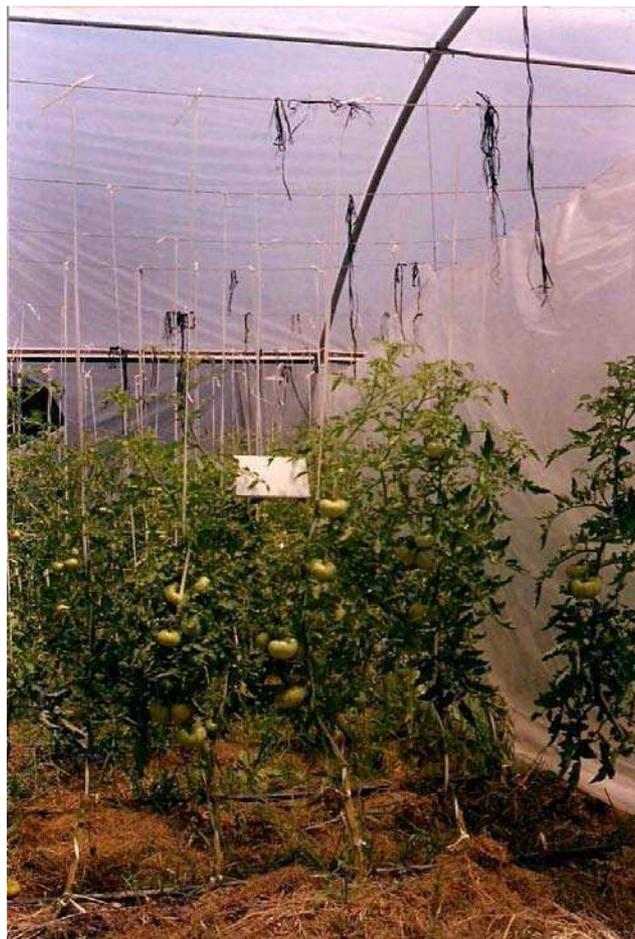


Figura 4.7- Módulo dentro del macrotúnel

Se obtuvieron de las hojas recolectadas la siguiente cantidad de larvas por módulo:

Módulo	Tratamiento	Nº de larvas Recolectadas
1	CB	100
2	CB	100
3	Testigo	60
4	Testigo	50
5	CB	60
6	Testigo	80

El material obtenido fue criado en el laboratorio de manera similar a como se cría *T. absoluta* e el laboratorio, hasta el nacimiento de los adultos ya sea de la polilla como del parasitoide. Las diferencias en el porcentaje de adultos nacidos para cada situación experimental (con y sin liberaciones) se analizó mediante ANVA. Las medias de cada tratamiento se compararon con el test de Tukey (alfa= 0.05).

ENSAYO 2 (Liberación múltiple del parasitoides)

Se condujeron en cultivos de tomate realizados en dos macrotúneles de plástico de 240 m² siguiendo las prácticas agronómicas del ensayo anterior. En esta oportunidad, cada macrotúnel fue dividido en dos módulos cada uno.

Los tratamientos testigo y control biológico (CB), al igual que el ensayo anterior, fueron asignados al azar (dos módulos por tratamiento) en el macrotúnel.

En los módulos CB se liberaron 50 hembras del parasitoide, provenientes de la cría masiva del mismo, semanalmente durante cuatro semanas. A los tres días de

la primera liberación, y luego semanalmente, se recolectaron cinco hojas infestadas con polilla/planta, en 10 plantas elegidas al azar (n= 50 hojas) en cada módulo. Las hojas fueron llevadas al laboratorio y acondicionadas en modo similar al descrito para el ensayo 1. Se registró la cantidad total de adultos de polilla y de parasitoides nacidos en cada módulo para cada fecha de liberación. El parasitismo (% de *Ps. dignus* emergidos) se evaluó mediante un ANVA y un test de Tukey.

La temperatura media del macrotúnel a lo largo del estudio fue de 24,26 °C y la humedad relativa fue de 25.8 % (Termohigrógrafo digital, HOBO®).

RESULTADOS

ENSAYO 1

El porcentaje de larvas parasitadas fue en promedio de 25% en los módulos de control biológico y de 1.67% en los módulos testigos. La diferencia fue estadísticamente significativa ($F= 144.12$; 5 gl; $p= 0.0003$). En la Figura 4.8 se observa el porcentaje de parasitismo obtenido luego de cuatro días desde la liberación, para cada tratamiento, y el número de larvas de polilla recolectadas. La presencia de parasitismo en los módulos testigo pudo deberse a contaminación, ya que los módulos no estaban herméticamente aislados o a la presencia espontánea del parasitoide.

ENSAYO 2

En los módulos de liberación el parasitismo alcanzó los siguientes valores promedio: 9,5 - 17,5 - 25 y 22.5% para cada fecha de liberación (Figura 4.9). En los

testigos éste fue de 3-5,5- 9 y 7.5 %, difiriendo estadísticamente en todas las fechas respecto de los tratados ($p= 0.028, 0.042, 0.037$ y 0.045 , respectivamente).

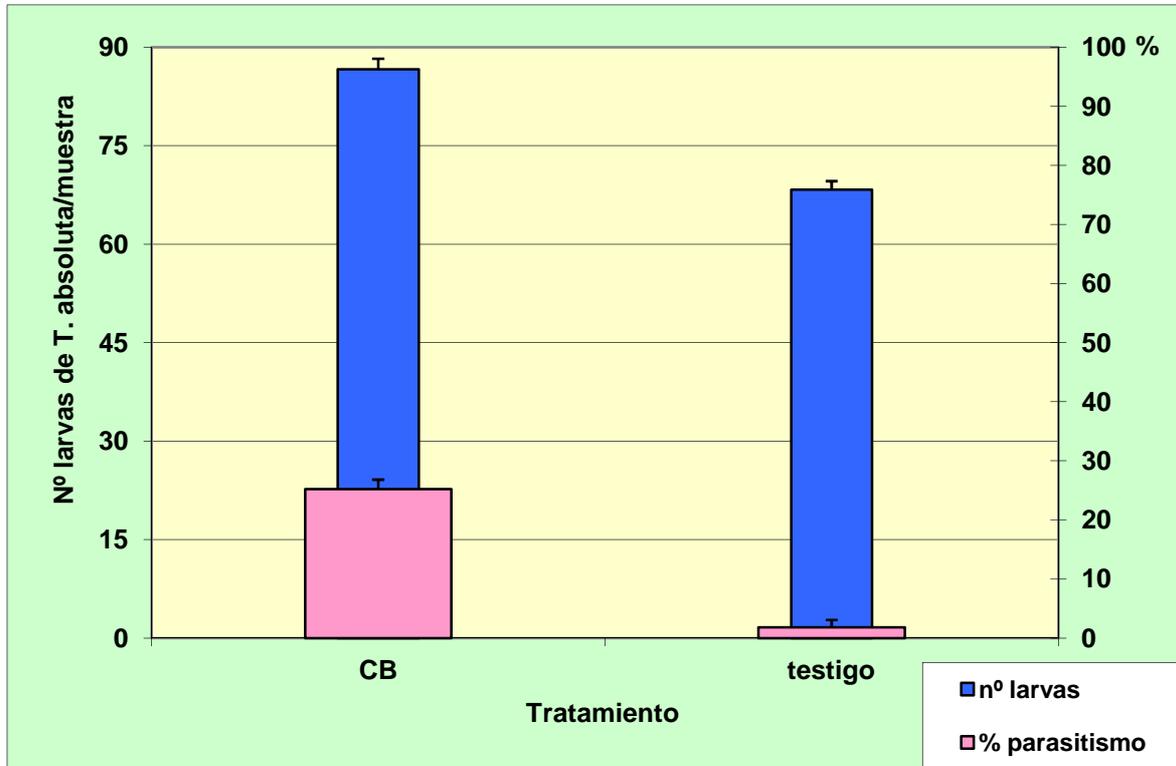


Figura 4.8 - Número de larvas de *Tuta absoluta* y parasitismo por *Pseudapanteles dignus* (%). 1º ensayo.

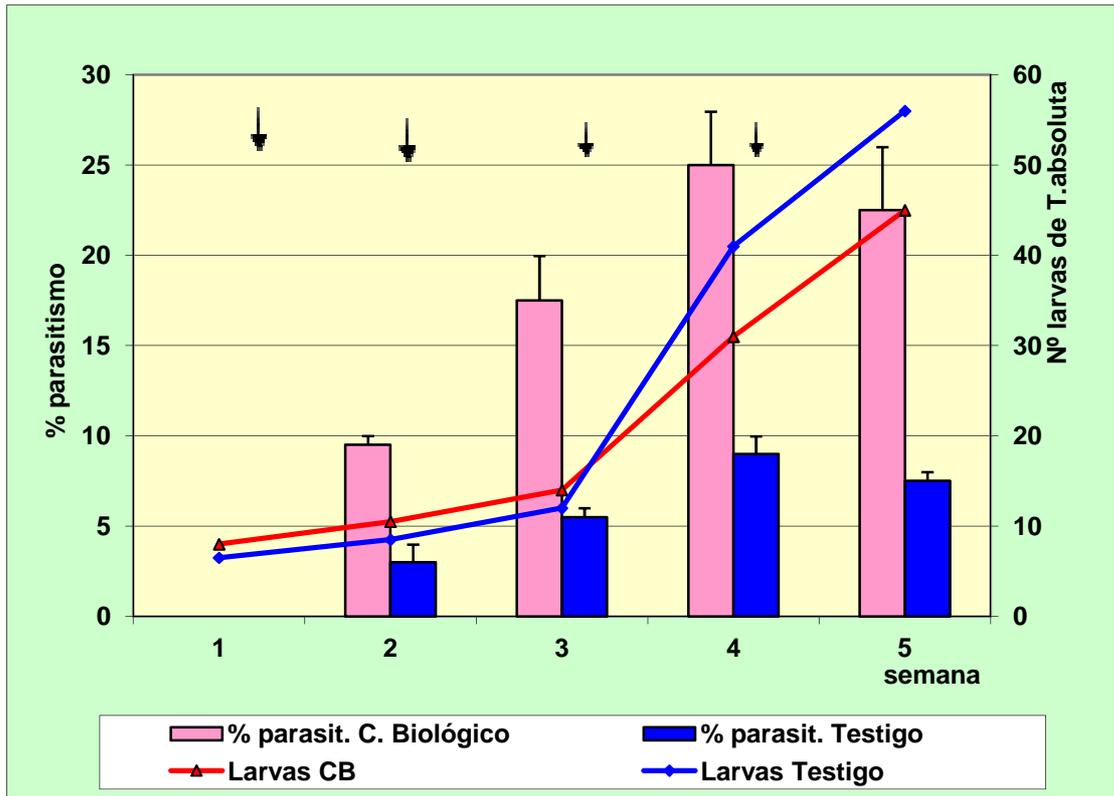


Figura 4.9- Evolución de la abundancia de larvas de *Tuta absoluta* y del % de parasitismo por *Pseudapanteles dignus* (las flechas indican el momento de la liberación)

DISCUSION

Los resultados obtenidos muestran que el parasitismo de *Tuta absoluta* por *Ps. dignus* tiene un efecto negativo sobre la población de la polilla reduciendo su abundancia a lo largo del tiempo.

En el primer ensayo exploratorio, fueron parasitadas el 25% de las larvas de polilla presentes en los módulos de control biológico. Este valor de parasitismo, si bien no sería suficiente como para evitar que la población de la polilla ocasionara serios daños (debido a sus niveles de abundancia al momento de la liberación), resultan alentadores considerando el posible efecto del parasitismo si se liberaran inóculos de *Ps. dignus* más conspicuos y antes de que la polilla alcance su nivel de daño económico. De acuerdo con los resultados de los aspectos biológicos

descritos en capítulos anteriores si bien *Ps. dignus* no presenta una fecundidad muy elevada, tiene una excelente capacidad de búsqueda a niveles bajos de la población de la plaga por cual sería de esperar una disminución en el impacto de las larvas de *T. absoluta* adecuando el momento de la liberación y el tamaño del inóculo a ser liberado. Lamentablemente por cuestiones operativas esta no fue la situación en las que este ensayo pudo ser realizado.

Las condiciones del segundo ensayo fueron más favorables para la acción del parasitoide dado que se inició con una menor infestación de la plaga, con una mayor cantidad de hembras liberadas y con varias repeticiones de la liberación en el tiempo. Si bien raramente se superó el 25 % de parasitismo, se observó una disminución en el tiempo de la población de la polilla del 18.2 %.

En cultivos manejados mediante protocolos de manejo integrado de plaga, con aplicaciones de fitoterápicos “amigables” con el ambiente como abamectina y *Bacillus thuringiensis*, que mantuvieron una baja población de polilla, fueron detectados niveles de parasitación natural por *Ps. dignus* de un 70 % al finalizar el ciclo (Polack & Brambilla, 2000). En cultivos orgánicos de tomate, en forma natural, se han observado porcentajes de parasitismo de entre un 5 hasta un 30 %, aumentando significativamente el mismo con una disminución en la densidad de larvas de *T. absoluta* (Luna *et al.*, 2010).

Estas experiencias y los resultados obtenidos se consideran promisorios para ajustar una estrategia de liberaciones (cantidad, momento, frecuencia) del parasitoide. De cualquier manera, el momento de la liberación parece ser un factor más importante en la maximización de la eficacia del control biológico que la cantidad de liberaciones (Crowder, 2007).

La liberación con bajas densidades de la plaga, ya sea a comienzo de la estación o mediante el uso de insecticidas compatibles con los enemigos naturales, resulta fundamental para lograr una sincronía entre el parasitoide y la plaga que conduzca a un bajo nivel de daño en la producción de tomate. Así será posible la incorporación del control biológico en programas de manejo integrado de plagas en conjunto con insecticidas.

CAPITULO 5

Compatibilidad de tácticas químicas y biológicas en el manejo de la polilla del tomate *Tuta absoluta*

CAPITULO 5- Compatibilidad de tácticas químicas y biológicas en el manejo de la polilla del tomate *Tuta absoluta*

INTRODUCCIÓN

El control químico de la polilla del tomate está basado en la aplicación múltiple de insecticidas. El uso indiscriminado de este método aumenta la posibilidad del desarrollo de poblaciones de plaga resistentes a los insecticidas y tiene un gran impacto sobre la densidad poblacional de los enemigos naturales.

La cercanía taxonómica existente entre las plagas y los insectos benéficos genera dificultades para encontrar productos selectivos que permitan controlar la plaga sin afectar a los benéficos y, por lo tanto, integrar el control químico con el biológico. Los insecticidas provocan una mortalidad severa tanto a las plagas como a sus enemigos naturales debido a sus rasgos fisiológicos similares e, indirectamente, por alterar las relaciones interespecíficas entre ambos.

Los insectos benéficos toman contacto con los productos mediante una variedad de medios que incluyen la exposición directa al producto, el contacto con residuos del mismo o a través de las cadenas alimentarias en las que participan (Croft, 1990). Pueden recibirlo sobre las plantas, la superficie del suelo, mientras vuelan o comen o parasitan a sus hospederos (Charlet, 1995).

La selectividad es el uso de insecticidas para matar a las plagas y no afectar a sus enemigos naturales. Se habla de selectividad fisiológica cuando existe una propiedad inherente del principio activo, a una dosis determinada, que no afecta al benéfico. Se han identificado diversos mecanismos mediante los cuales los insecticidas pueden tener selectividad fisiológica a los enemigos naturales sobre sus hospederos o plagas. Estos incluyen penetración, sequestro, excreción, detoxificación e insensibilidad en el sitio de acción (Croft, 1990).

Según Blanco y Bernal (2003) existen tres posibilidades para que el control químico y el biológico no se contrapongan: 1) el uso de insecticidas tóxicos para la fauna benéfica pero de baja persistencia, 2) su uso en determinado tiempo y espacio y 3) la utilización de insecticidas selectivos. El primer caso consiste en realizar liberaciones una vez que la acción del producto haya pasado, para controlar la población remanente de la plaga y evitar un brote. Sin embargo, la persistencia de un insecticida es difícil de predecir debido a que los modos de degradación del

mismo están influenciados por factores bióticos (microorganismos) y abióticos (clima y luz) variables.

La utilización de control biológico inoculativo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta*, requiere el estudio de su compatibilidad con otras tácticas de control empleadas. Estas tácticas varían según el sistema de producción utilizado.

Los cultivos de tomate orgánicos son ideales para implementar la práctica de control biológico ya que está prohibido el uso de compuestos de síntesis aunque las medidas de control permitidas, como el uso de extractos vegetales, también pueden producir un impacto negativo sobre los enemigos naturales.

En sistemas de producción hortícola convencionales que llevan a cabo programas de manejo integrado de plagas, el uso de control biológico es un componente más a ser utilizado, pero es necesaria una profunda investigación para lograr una integración eficaz (van Lenteren, 2012).

En este capítulo se analiza la compatibilidad del control químico con liberaciones inoculativas de *Pseudapanteles dignus*, endoparásitoide larval de *T. absoluta*.

Control químico de la polilla del tomate

Desde la introducción de la polilla, en 1964, el control químico ha sido el único método utilizado contra *T. absoluta* en todas las regiones de producción de la Argentina. El control efectivo es difícil de alcanzar debido al comportamiento minador de la larva, la falta de umbrales de acción y la deficiente tecnología de aplicación de insecticidas (Lietti *et al.*, 2005).

Inicialmente, los únicos insecticidas utilizados contra la polilla del tomate eran organofosforados, los que fueron gradualmente reemplazados por piretroides a partir de 1970. En la década del 80, el cartap (carbamato) alternado con piretroides y thiaciclam (nereistoxina) fueron utilizados con alta eficacia en ese momento.

Los primeros datos publicados acerca de la disminución de la eficacia de organofosforados en el control de la polilla se originaron en Bolivia y Chile (Moore, 1983; Larrain, 1987), mientras que los problemas con piretroides y carbamatos aparecieron un poco después en Brasil (Salazar & Araya, 1997; Siqueira *et al.*, 2000, a y b).

En la década del 90 se introdujeron insecticidas con modos de acción novedosos y efectivos como la abamectin, spinosad, benzoilureas, teflubenzide

(Galarza y Larroque, 1984; Polack, 1999; Cáceres, 2000). En 1997 se encontraban registrados para el control de polilla del tomate siete organofosforados, un carbamato (cartap), ocho piretroides, tres benzoilureas, una benzohidracida y una nereistoxina. En 2003, continuó la tendencia del aumento de registros de insecticidas de modos de acción novedosos (cuadro nº 5.1) (Casafe, 2003).

Insecticida	Clasificación química	Modo de acción
Abamectin	Biológico	C, I
Acefato A	Organofosforado	C
Cartap	Carbamato	C, I
Ciflutrina	Piretroide	C, I
Cipermetrina	Piretroide	C, I
Cipermetrina + clorpirifos	Piretroide+org. fosf.	C, I, Inh.
Cipermetrina low Cis	Piretroide	C, I.
Clorfenapir	Pirrol	C, I
Clorfluazuron	Benzoilurea	I
Clorpirifos A	Organofosforado	C, I, Inh
Deltametrina	Piretroide	C, I
Fenitroton+Fenvalerato	Org. fosf.+piretroide	C, I,
Lambdacialotrina	Piretroide	C, I
Lufenuron	Benzamida	C
Metamidofos	Organo fosforado	C, I
Permetrina	Piretroide	C, I
Piridafention	Organo fosforado	C, I
Spinosad	Naturaliyte	C, I
Tebufenuzide	Benzohidracida	C, I
Teflubenzuron	Benzoilurea	C, I
Tiociclám	Hidrogenoxalato	C, I
Triazofos	Organo fosforado	C, I
Truflumuron	Benzoliiiurea	C, I

Cuadro 5.1- Insecticidas registrados para el control de *Tuta absoluta* C: acción por contacto; I: acción por ingestión; Inh: por inhalación.

Actualmente, debido a la aparición de poblaciones resistentes a insecticidas tradicionales, se utilizan en mayor medida productos que actúan como inhibidores de la síntesis de quitina (benzoilureas), de origen natural (pirroles) y microbiológicos (*Bacillus thuringiensis*) que son los que han sido considerados para su estudio en esta tesis.

Inhibidores de la síntesis quitina

Las benzoilureas (figura 5.1) actúan como reguladores de crecimiento en los insectos. La primera benzoilurea sintetizada fue triflumuron, en 1978. Posteriormente aparecieron chlorfluazuron, teflubenzuron, hexaflumuron, flufenoxuron y flucycloxuron. Las nuevas adiciones a este grupo corresponden a flurazuron, novaluron, diafenthiuron y lufenuron. Ingresan al cuerpo del insecto por ingestión directa y menos por contacto (Tarlochan *et al.*, 1998).

Estos compuestos interfieren con la síntesis de quitina. Alrededor del 50 % de la cutícula está compuesta por quitina, la cual es un polisacárido de N-acetilglucosamina. La polimerización es bloqueada por las benzoilureas por medio de la inhibición de un paso en el transporte en las membranas que involucra la UDP-N-acetilglucosamina, por lo que se produce una deficiencia de quitina. De este modo la cutícula se torna delgada y quebradiza, y no es capaz de soportar el peso del insecto o resistir el rigor de la muda. De acuerdo a esto, las benzoilureas serían efectivas cuando son aplicadas justo antes de la muda (Ware & Whiteacre, 2004).

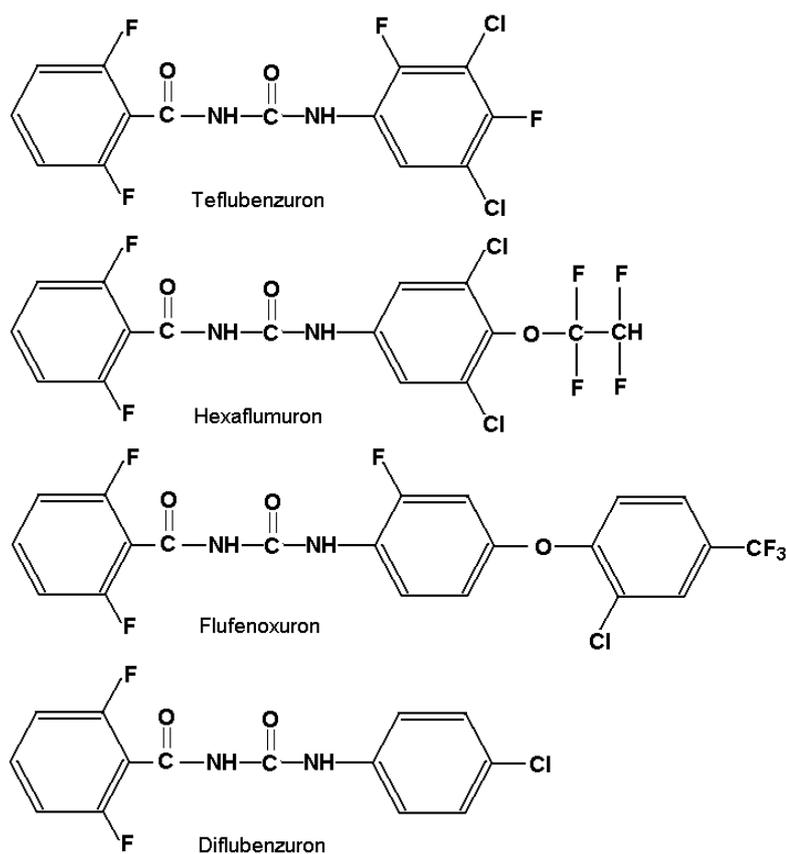


Figura 5.1- Estructura química de inhibidores de quitina (Benzoilureas)

Insecticidas de origen natural

Pirroles

El único miembro de este grupo es clorfenapir (figura 5.2). Fue sintetizado en 1985, a partir de una toxina aislada del actinomicete *Streptomyces fumanus*. Ingresa al insecto por ingestión y actúa sobre un amplio rango de insectos y ácaros plaga. Su modo de acción consiste en desacoplar la fosforilación oxidativa, impidiendo la formación de ATP. Se caracteriza por su baja persistencia debido a que es degradado rápidamente por la luz ultravioleta (Lasota & Dybas, 1991).

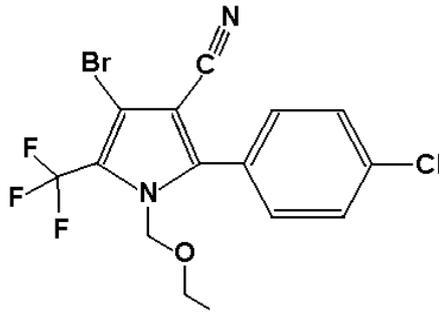


Figura 5.2- Estructura química del insecticida clorfenapir

Estudios realizados indican que produce alta mortalidad a adultos de los parasitoides *Aphidius gifuensis*, parasitoide de pulgones, (Kobori & Amano, 2004), *Encarsia formosa* (Sterk *et al.*, 2002), *Diadegma semiclausum* (Haseeb *et al.*, 2000), *Cotesia plutella* y *Cotesia marginiventris*, y leve de los predadores *Orius insidiosus* (Pietrantonio & Benedict, 1999) y *Orius laevigatus* (Sterk *et al.*, 2002), alta para *Phytosiulus persimilis*, *Macrolophus caliginosus* (Sterk *et al.*, 2002). Luego de 7 días no afecta a adultos de *Aphidius gifuensis* (Kobori & Amano, 2004) ni a *Diadegma semiclausum*, parasitoide de *Plutella xylostella* (Haseeb *et al.*, 2000).

Otros estudios, sin embargo, lo consideran un insecticida benigno para los enemigos naturales. Legaspi *et al.* (2000) indican ausencia de efectos nocivos por contacto en adultos de los parasitoides *Cotesia flavipes* y *Allorhogas pyralophagus*, ni del predador *Chilocorus cacti*. Afecta solo levemente al estado pupal de *Cotesia plutellae* (Haseeb & Amano, 2002) y poco a pupas de *E. formosa* (Sterk *et al.*, 2002).

Insecticidas microbiológicos

El *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) es una bacteria abastionada, aeróbica, gram positivo y que forma esporas. Pertenece a la familia Bacillaceae y se caracteriza por formar un cuerpo cristalino de inclusión durante la esporulación el cual contiene ciertas proteínas que son insecticidas. Cuando es consumido por el insecto, la inclusión se disuelve en el mesenterón y libera las d-endotoxinas. Las proteínas tóxicas contienen desde unos pocos cientos hasta más de 1000 aminoácidos. Después de ser ingeridas, las d-endotoxinas son divididas en una forma activa por proteasas que hay en el estómago medio. Las toxinas activas se

ligan a membranas específicas de los tejidos epiteliales del estómago medio y alteran sus propiedades de permeabilidad iónica al formar un poro o canal de cationes. El movimiento de iones por este poro altera el pH y los gradientes de potasio y lleva a una lisis del epitelio, parálisis de todo el estómago y muerte (Sauka & Benintende, 2008).

Es el insecticida microbiológico de mayor uso comercial contra plagas de lepidópteros. Las formulaciones de la bacteria poseen gran potencial por su seguridad ambiental y selectividad. Su combinación con el control biológico es una estrategia efectiva en programas de manejo integrado y en agricultura orgánica (Blumberg *et al.*, 1997).

Existen numerosos estudios sobre los efectos del Bt sobre los enemigos naturales de las plantas. Numerosas especies de parasitoides de huevos, como *Trichogramma*, son altamente compatibles con aplicaciones del Bt, dado que no son afectadas por el mismo (Bull & Coleman, 1985; Trumbler & Alvarado-Rodriguez, 1993; Ksentini *et al.*, 2010).

La combinación del Bt con parasitoides de larvas necesita un cuidadoso análisis de compatibilidad dado que el nivel de intoxicación del hospedero tiene un impacto directo sobre el parasitoide (Navon, 2000). Se ha demostrado que puede afectar el potencial reproductivo y la longevidad de adultos de *Meteorus laeviventris*, parasitoide braconídeo de larvas de *Agrotis ypsilon* (Hafez *et al.*, 1997) y de *Apanteles litae* y *Bracon instabilis*, dos parasitoides de *Phthorimaea operculella* (Salama *et al.*, 1995). Contrariamente, investigaciones realizadas a campo parecen indicar un sinergismo entre el control biológico por parasitoides y la aplicación de Bt (Chenot & Raffa, 1998).

Aunque los mecanismos de estas diferencias no están claros, existen algunos factores que permiten mejorar la integración entre la bacteria entomopatógena y los parasitoides.

El comportamiento y el crecimiento de la larva hospedera es sumamente modificado por la enfermedad que le causa el Bt. Schoenmaker *et al.* (2001) señalan que las larvas de *Choristoneura fumiferana* que sobreviven a la exposición al Bt presentan un tiempo de desarrollo más prolongado en su último estadio que posibilita el aumento de la tasa de ataque por sus parasitoides. Observaciones realizadas en el laboratorio también sugieren que larvas de varios lepidópteros

alimentadas con una dieta con la toxina del Bt facilitan la parasitación posterior por los síntomas de parálisis ocasionados, lo que llevaría a un aumento del porcentaje de parasitismo (Liu *et al.*, 2005). Estos autores también suponen que las larvas enfermas pueden tener afectada la respuesta inmunológica y tener una baja tasa de encapsulamiento de huevos de parasitoides que llevaría a un mayor porcentaje de parasitismo. Por otra parte, las larvas parasitadas sobreviven más la exposición al Bt porque se alimentan menos que las no parasitadas y, por lo tanto, tardan más en adquirir la dosis letal de la bacteria (Nealis & Frankenhuyzen, 1990).

El comportamiento del parasitoide también puede mejorar la integración de ambas prácticas. Los adultos del ichneumónido *Tranosema rostrale rostrale* pueden discriminar entre larvas de *Ch. fumiferana* sanas o enfermas prefiriendo parasitar a las sanas, dependiendo de la dosis y del tiempo transcurrido desde la aplicación (Schoenmaker *et al.*, 2001).

Por todo esto resulta claro que el resultado de la interacción está determinado por la secuencia del uso del producto en relación al momento de aplicación del mismo y de la liberación del parasitoide. Nealis & Frankenhuyzen (1990) señalan que si bien el Bt podría reducir la población del parasitoide *Apanteles fumiferanae* entre un 50-60% por muerte de las larvas hospedadas de *Ch. fumiferana* antes de la emergencia del parasitoide, ambas prácticas podrían complementarse si la aplicación del Bt se realizara en el momento del pico poblacional del cuarto estadio o posterior de la plaga.

El objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de algunos insecticidas de mayor uso contra *Tuta absoluta* y su efecto sobre el parasitismo por *Pseudapanteles dignus*

MATERIALES Y METODOS

La experiencia se realizó en el insectario de la cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la UBA.

Los adultos de *Ps. dignus* y los huevos de *T. absoluta* procedieron de las crías masivas del laboratorio de Lucha Biológica del IMYZA, INTA Castelar.

Se evaluó el efecto de los tres insecticidas más relevantes para el control de la polilla:

- 1- Triflumuron (Alsystin-Bayer) (inhibidor de la síntesis de quitina), dosis 30 cc/100 l de agua
- 2- Clorfenapir (Sunfire-Basf) (proinsecticida), dosis: 50cc/100 l de agua
- 3- *Bacillus thuringiensis* (Dipel-SummitAgro) (insecticida biológico), 350 gr/100 l de agua

La unidad experimental consistió en una planta de tomate de 4-5 hojas, en maceta de polietileno negro, cubierta con una jaula de voile de 20 x 20 x 40 cm. Cada planta fue infestada con 10 huevos de *T. absoluta* y la aplicación de los productos se realizó cuando las larvas eclosionaron y formaron la mina en el mesófilo de la hoja. Los productos fueron aplicados con pulverizador manual hasta punto de goteo. La temperatura a lo largo del ensayo fue de 25 ± 3 °C con una humedad relativa de 40 ± 18 % y una iluminación difusa natural a través de ventanales.

Cada tratamiento más el testigo fueron replicado 9 veces (n=9).

A los cinco días de la pulverización se realizó el recuento de las larvas de *T. absoluta* que seguían vivas en cada tratamiento.

Para analizar el efecto de los productos sobre las larvas de la polilla del tomate fue realizado un ANVA y test de Tukey del n° de larvas sobrevivientes de *T. absoluta* a los cinco días ($\alpha= 0.05$).

Se calculó la eficacia de control los productos insecticidas mediante la fórmula de Abbot (Abbot, 1925).

$$Eficacia = \left[1 - \frac{N_t}{N_c}\right] \times 100$$

Donde N_t es el n° promedio de individuos en las plantas tratadas
y N_c es el n° promedio de individuos de las plantas testigo

Para determinar el efecto de los productos sobre el parasitismo en cada unidad experimental se liberaron dos hembras y un macho del parasitoide *Ps. dignus* en tres momentos:

- a- 24 h antes de la aplicación
- b- Inmediatamente después de la aplicación
- c- 72 h después de la aplicación

Para ello, se separaron las unidades experimentales en grupos de tres de manera que cada momento de liberación tuviera tres réplicas por tratamiento.

A los cinco días, las larvas de *T. absoluta* fueron retiradas y acondicionadas en cámara de cría hasta el nacimiento del adulto de la polilla o del parasitoide.

Se analizó el n° de adultos del parasitoide nacidos para cada tratamiento mediante ANVA y test de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS

Los resultados mostraron (Figura 5.3) que los tres productos afectaron significativamente la supervivencia de las larvas de polilla ($p: 0.0001$; $F: 25.65$; $35gl$) resultando el clorfenapir el más eficaz en el control de la misma. No se detectaron diferencias significativas en la supervivencia de las larvas tratadas con cada producto entre los distintos momentos de liberación del parasitoide ($p: 0.3456$) ni en la interacción entre cada insecticida y el momento de la liberación ($p: 0.3853$).

En la figura 5.4 se grafican los índices de Abbot obtenidos para cada producto.

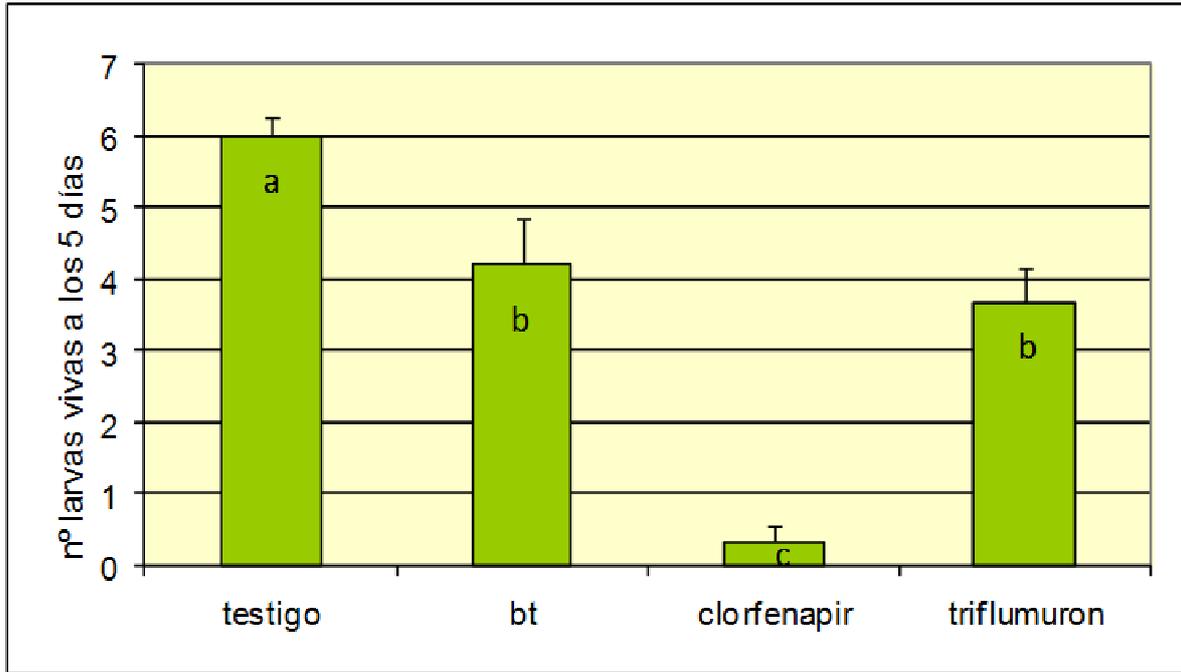


Figura 5.3- Efecto de los insecticidas sobre la sobrevivencia de larvas de *Tuta absoluta* a los cinco días del tratamiento. Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa, Tukey: 0.05)

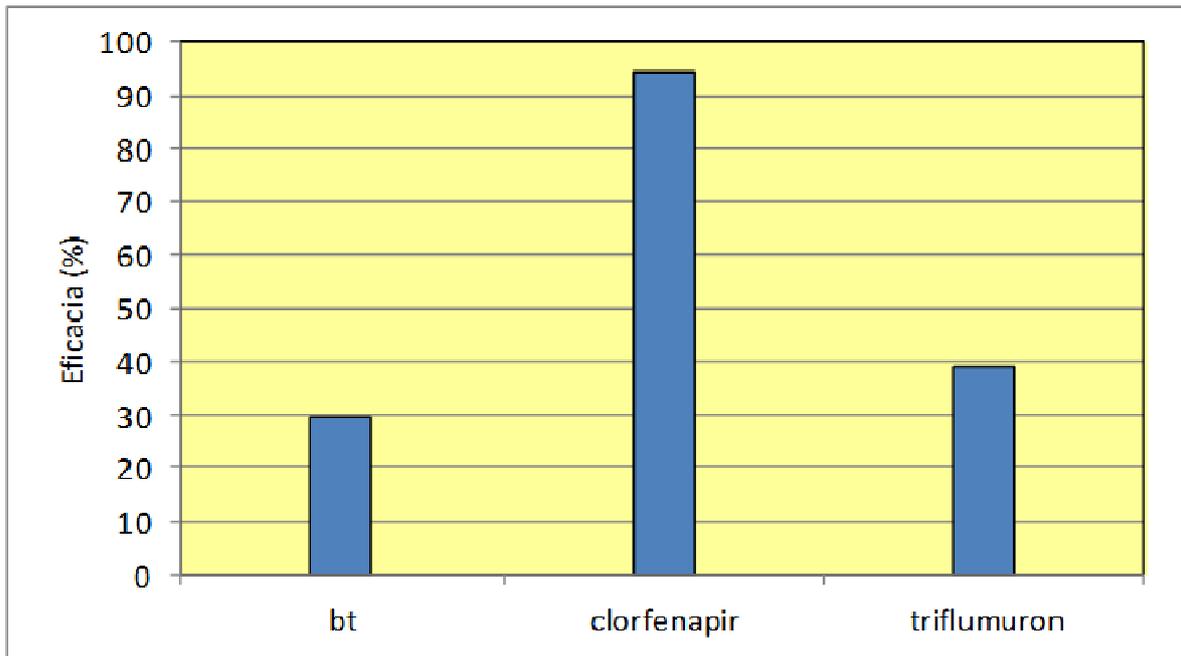


Figura 5.4- Índice de eficacia de control de los insecticidas sobre larvas de *Tuta absoluta* a los 5 días del tratamiento (Abbot)

De las plantas tratadas con clorfenapir no se produjo la emergencia de ningún adulto de *Ps. dignus*. En la figura 5.5 se muestra el promedio de adultos del parasitoide emergidos de cada tratamiento. El control (sin insecticida) fue el que

presentó el mayor número de adultos nacidos (5.33). Dicho valor difirió significativamente del resto de los tratamientos ($p: 0.00001$).

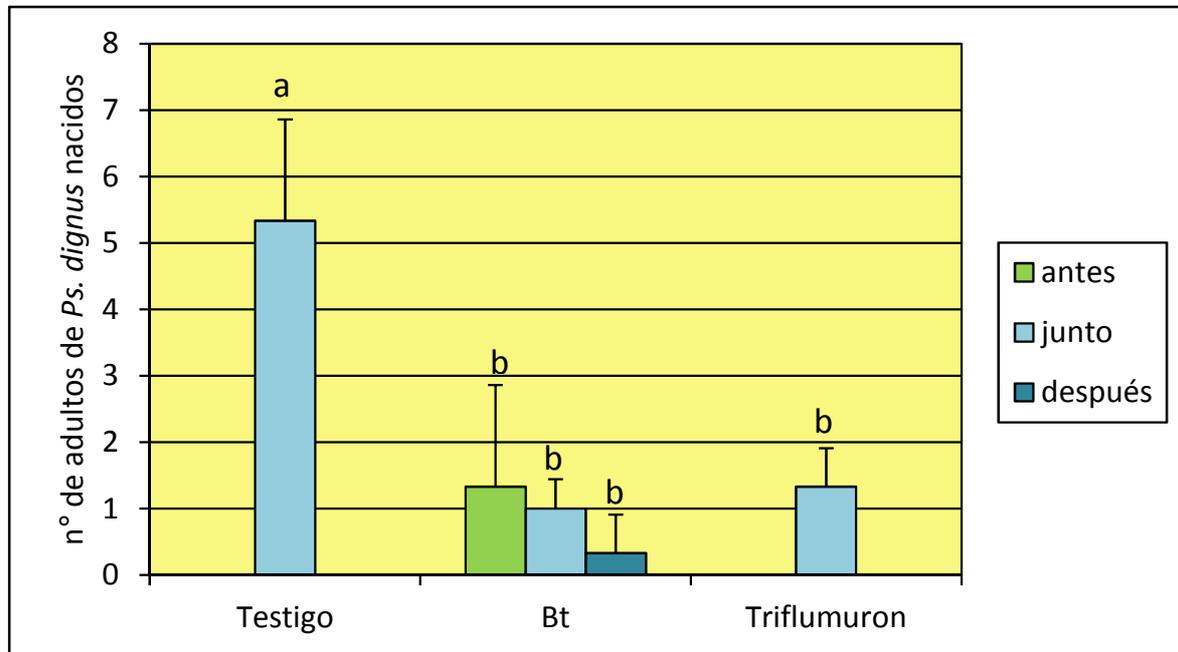


Figura 5.5- Número de adultos de *Pseudapanteles dignus* nacidos de las larvas de *Tuta absoluta* tratadas con distintos insecticidas, en tres momentos de liberación de los parasitoides parentales. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey: 0.05)

DISCUSION

El insectida que resultó más eficaz en el control de las larvas de “polilla del tomate” fue el clorfenapir, seguido por el triflumuron y el *Bacillus thuringiensis*.

El clorfenapir produjo un 96,7 % de mortalidad de larvas de *Tuta absoluta*, resultado que coincide con lo hallado por otros autores (Riquelme Virgala *et al*, 2006) que lo señalan como de “alta eficacia”. Es un proinsecticida que se convierte a su forma activa mediante las enzimas del insecto, inhibiendo la fosforilación oxidativa en las mitocondrias celulares impidiendo la formación de ATP; en los insectos que entran en contacto con el producto causa inactividad, parálisis, y muerte (Vazquez & Ceballos, 2009).

El *Bacillus thuringiensis* produjo una mortalidad de larvas de *T. absoluta* de 58,7 % y el triflumenuron del 63,3 %, valores coincidentes con los hallados por Riquelme Virgala *et al.*, 2006.

La menor eficacia del triflumurón en relación al clorfenapir puede deberse a su acción más lenta al ser un inhibidor de la síntesis de quitina que actúa sobre la muda. Castelo Branco *et al.* (2003), en ensayos a campo en Brasil, observaron que 13 aplicaciones de triflumurón durante el ciclo del cultivo de tomate, no fueron eficientes para disminuir el daño en el fruto ocasionado por *Tuta absoluta* posiblemente debido a la falta de acción traslaminar. También el triflumurón ha sido señalado como uno de los insecticidas a que la polilla ha adquirido resistencia (Silva *et al.*, 2011).

La no emergencia de ningún adulto de *Ps. dignus* de las plantas tratadas con clorfenapir indica la falta de compatibilidad de este producto con el control biológico de la polilla del tomate con este parasitoide. Por el diseño de este experimento no es posible saber si la causa de esto es el efecto nocivo del producto sobre el parasitoide, como ha sido mencionado para otros braconidos (Kobori & Amano, 2004; Hasseb *et al.*, 2000; Pietrantonio & Benedict, 1999) o por la baja densidad de larvas de polillas sobrevivientes.

El número de adultos de *Ps. dignus* emergidos de larvas de polilla tratadas con Bt, fue significativamente menor al testigo lo que indica un efecto nocivo sobre el parasitoide. Distintos estudios realizados en laboratorio han mostrado un efecto negativo sobre el porcentaje de emergencia de adultos de *Microplitis croceipes* desde larvas hospederas enfermas de *Helicoverpa armigera* (Atwood *et al.*, 1999; Blumberg *et al.*, 1997). Si bien no se detectaron diferencias significativas en relación al momento de liberación del parasitoide, la emergencia de adultos fue mayor cuando dicha liberación se produjo antes de la aplicación del producto. Probablemente esto se debió a que se logró el establecimiento de la parasitación antes de que las larvas hospedantes fueran afectadas, aunque esto contradice lo esperado acerca de cierta facilitación inmunológica que puede producir el Bt en las mismas (Schulthess *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005). Sin embargo, otros autores hallaron que la emergencia de otro braconido, *Cotesia marginiventris*, de larvas de *Heliothis virescens* fue mayor cuando la exposición al Bt fue demorada 48 hs luego de la liberación del parasitoide (Atwood *et al.*, 1997).

Con el triflumurón, solo se produjo emergencia del parasitoide cuando se aplicó en el momento de la liberación. Los efectos secundarios de este producto sobre los parasitoides son distintos según la especie. Fue totalmente inócuo para adultos de *Psytalia concolor*, braconido parasitoide del tefrítido *Bactrocera olea* (Zapata *et al.*, 2005) y para *Trichogramma pretiosum* (Carvalho *et al.*, 1994) mientras resultó ser altamente tóxico para el pteromárido *Sphalangia cameroni*, parasitoide de mosca común (Vazirianzadeh *et al.*, 2002) y para el parasitoide de huevos *Trichogramma chilonis* (Narayama & Baru, 1992). Si bien puede haber diferencias fisiológicas entre dichas especies es más probable que dichos efectos secundarios se deban a distintas metodologías de experimentación que hallan afectado la llegada del producto a los parasitoides.

CAPITULO 6

Compatibilidad con insecticidas botánicos

CAPITULO 6- Compatibilidad con insecticidas botánicos

INTRODUCCION

Los productos derivados de las plantas han sido utilizados desde hace milenios en todo el mundo para minimizar el daño ocasionados por las plagas (Isman, 2006). Extractos, jugos, polvos, resinas, aceites, cenizas, humos y desechos de extracción han ayudado a proteger los cultivos desde la antigüedad. A mediados del siglo XX fueron desplazados por los insecticidas sintéticos en gran parte de los cultivos comerciales del mundo quedando restringido su uso a pequeño productores de áreas de agricultura de subsistencia de países en vías de desarrollo (Rodríguez Hernández *et al.*, 2007).

Los problemas ambientales que ha generado el control químico con insecticidas organosintéticos han revalorizado el uso de productos bioracionales cuyo fin sea proteger al cultivo y no matar a la plaga. La visión de insecticidas basados en plantas como fue descrita por Rosenthal (1986) podría ser menos tóxica para el hombre, fácilmente biodegradable, adecuada para su uso en pequeños productores y capaz de proteger cultivos del ataque de un amplio rango de insectos plaga (Tapondonjou, 2005).

Heal *et al.* (1950) han citado más de 2500 especies vegetales de 247 familias con alguna propiedad insecticida o tóxica para los insectos. Estas propiedades derivan de productos del metabolismo secundario de las plantas como alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoides, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos y terpenoides entre otros. Estos compuestos constituyen señales químicas importantes en las interrelaciones que ocurre en los ecosistemas.

La mayoría de los productos vegetales que se utilizan en protección vegetal afectan el crecimiento de los insectos, tanto por su acción inhibitoria de la alimentación como por la disminución de la digestibilidad del alimento. Además, algunos compuestos pueden afectar las hormonas que regulan el proceso de muda, inhibir la oviposición o disminuir la viabilidad de pupas y adultos (Rodríguez Hernández *et al.*, 2007).

La selección de las especies a utilizar no sólo debe involucrar el efecto sobre los insectos, sino también características que respeten la sustentabilidad de esta

práctica de control. Silva Aguayo (2001) menciona que una planta insecticida ideal deber ser perenne, estar ampliamente distribuida, que sus órganos a usar sean rápidamente renovables (hojas, flores y frutos), que requiera poco espacio, escasa agua y fertilización, que no constituya una maleza para plantas de importancia económica, que sea efectiva a bajas dosis y que no sea tóxica para animales de sangre caliente ni peces. Este último aspecto es de suma importancia ya que muchas veces se toma por inocuos a los productos de origen vegetal sólo por ser naturales y no hay que olvidar que el potencial tóxico de una molécula se debe a su estructura química y no a su origen (Coats, 1994).

En la actualidad existen cuatro tipo de productos botánicos principalmente comercializados a nivel mundial: el piretro, la rotenona, el neem y aceites esenciales y otros tres de uso más limitado: ryania, la nicotina y la sabadilla. El uso de extractos vegetales está limitado a regiones de algunos países (Isman, 2006). Sin embargo, estos últimos serían los más adecuados para saltar limitaciones económicas, ecológicas y toxicológicas mencionadas dado que los más importantes son extremadamente tóxicos (nicotina y la rotenona) o han sido extraídos por solventes y no son permitidos en producciones orgánicas (azadirachtina del neem y el piretro) (Rodríguez, 1997).

Los insecticidas botánicos han mostrado poco impacto sobre los enemigos naturales (Schmutterer, 1997) y por lo tanto tienen potencial para ser usados en combinación con el control biológico en el desarrollo de un sistema de manejo integrado de plagas (Charleston *et al.*, 2001).

Eucalipto (*Eucalyptus sp*)

Los principales constituyentes de las plantas aromáticas, principalmente monoterpenos, son de especial interés para el mercado por su potente actividad biológica y su toxicidad a los insectos (Isman, 2000; El Atta & Ahmend, 2002; Pandey *et al.*, 2000; Tapondjou *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2004).

Las hojas de eucalipto (*Eucalyptus sp.*) están compuestas de una mezcla de compuestos orgánicos volátiles que incluyen hidrocarburos, alcoholes, cetonas, ácidos, éteres y ésteres. La mayoría son monoterpenos y sesquiterpenos. Los terpenos pueden poseer propiedades tóxicas para los insectos debido, en principio, a sus propiedades lipofílicas.

El eucaliptol o 1,8-cineole es un monoterpeno componente principal del aceite de eucalipto. Es seguro para los humanos y ha sido usado como medicina y aromaterapico desde hace largo tiempo.

Southwell *et al.* (2003) menciona que tiene gran bioactividad tanto en mamíferos como en insectos (crisomélidos y curculiónidos) siendo el único terpenoide proveniente del eucalipto que es excretado por dichos insectos, con cambios en sus constitución química, lo que indicaría una acción metabólica determinada. El metabolismo del 1,8 cineol es altamente variable en insectos, incluso entre distintos estados de desarrollo aunque no se sabe en la actualidad su efecto.

Su modo de acción no está totalmente claro. Ryan & Byrne (1988) determinaron que cinco monoterpenos, especialmente el 1,8 cineol, inhibieron la actividad de la acetilcolinesterasa y mataron a adultos de *Tribolium castaneum*. Pero otros autores señalan que esta acción sólo es levemente importante a concentraciones relativamente altas del cineol en insectos de granos almacenados (*Rhyzoperta dominica* y *Tribolium confusum* (Greenberg-Levy *et al.*, 1993). Según Kostyukovsky *et al.* (2002) la principal acción del aceite de eucalipto sería sobre otro neurotransmisor, la octopamina, dado que su acción fue reversible mediante tratamiento con fentolamina, un antagonista octopaminérgico.

El eucaliptol comercial fue probado sobre mosca doméstica (*Musca domestica*) por topicación de adultos determinándose una LC50 de 118 a 177 microgr/mosca y, de 101 microgr/larva en larvas del tercer estadio (Sukontason *et al.*, 2004).

No se han encontrado antecedentes de la acción de los derivados del eucalipto sobre enemigos naturales.

Paraíso (*Melia azedarach* L.)

Las meliáceas poseen gran variedad de compuestos con propiedades insecticidas. En particular el árbol de neem, *Azadirachta indica* Juss, y el árbol de paraíso, *Melia azedarach* L. han demostrado ser particularmente promisorios (Ismann, 1999).

Melia azedarach L. (Sapindales: Meliaceae) es un árbol de hoja caduca nativo del noroeste de la India. Conocido como paraíso, santa barbara, jasmín-de-soldado,

pára-raios, cardamomo, chinabery, syringa tree, persian lilac tree y bakain, crece en áreas tropicales y subtropicales de Asia, pero es cultivado en otras regiones cálidas del mundo por su considerable tolerancia climática.

Los extractos de frutos de *M. azedarach* poseen efectos diversos sobre los insectos; son antialimentarios, retardadores del crecimiento, reductores de la fecundidad, promotores de defectos morfogénéticos y generan desórdenes en el proceso de muda y cambios de comportamiento (Breuer *et al.*, 2003).

Su acción está relacionada con la presencia de triterpenoides llamados limonoides (Akhtar & Isman, 2004). Además, posee dos potentes insecticidas tetraterpenoides que han sido aislados de su fruto verde, una meliacina nueva llamada 1-cinamoil melianona y un derivado de meliocarpin: 1-cinamoil 1-3,11-dihidroxi meliacarpin (Lee *et al.*, 1991). Posee propiedades de inhibición del crecimiento y efectos antialimentarios comparables a la azadiractina, componente del neem. El 1-cinamoil melianona también fue aislado de hojas de paraíso (Ascher *et al.*, 1995).

Otras partes de la plantas también han demostrado poseer propiedades que afectan a los insectos. La toosendamina, extraída de corteza de paraíso, es otro ejemplo de limonoide usado comercialmente por sus propiedades insecticidas (Akhtar & Isman, 2004). Extractos crudos metanólicos de hojas, frutos y tallo exhibieron actividad insecticida cuando fueron incorporados a dieta artificial de larvas de *Spodoptera littoralis* (Bohnenstengel *et al.*, 1999).

Breuer *et al.* (2003) estudiaron el efecto de extractos de frutos de *M. azedarach* sobre *Spodoptera frugiperda* para determinar los mecanismos de acción involucrados. Analizaron el efecto de dietas con 0.01% de extracto sobre la actividad de la colinesterasa. Los resultados muestran una inhibición de la enzima de alrededor del 31 % comparada con el control. La colinesterasa inactiva al neurotransmisor acetil colina, involucrado en la contracción muscular, por un mecanismo de hidrólisis. Esto podría resultar en larvas inactivas o letárgicas típicas luego de la aplicación del extracto. Sin embargo, esta reducción de la actividad locomotora podría ser debida a la disminución de la alimentación.

Schmidt *et al.* (1998) determinaron el efecto que tienen extractos metanólicos de frutos de *M. azedarach* sobre el control neuroendocrino en los insectos *Spodoptera littoralis* y *Agrotis ipsilon*. Determinaron un aumento en la cantidad de

hormona juvenil en la hemolinfa de insectos alimentados con dicho extracto y una reducción del tamaño del cuerpo alado.

Las propiedades del paraíso han sido probadas contra un gran número de especies plaga. Si bien los resultados son promisorios, se nota una variabilidad en los resultados que dependería, no sólo del órgano vegetal utilizado sino también de los métodos de preparación de los extractos que originan distintos productos finales.

Los extractos acuosos de frutos fueron repelentes a la oviposición de adultos de *Plutella xylostella* (Chen *et al.*, 1996a) y tóxicos para huevos y larvas generando pupas de menor peso y una menor emergencia de adultos (Chen *et al.*, 1996b). También alargaron la duración del estado larval y disminuyeron la viabilidad de pupas a partir de larvas alimentadas con repollo tratado con dichos extractos (Torres *et al.*, 2001).

Estos extractos también fueron probados sobre huevos y ninfas de *Bemisia tabaci* con resultados alentadores. Los extractos de frutos verdes causaron una mortalidad superior al 55 % de los huevos, siendo un poco menor la obtenida con frutos maduros (Souza & Vendramim, 2001). Las ninfas respondieron en forma variable aún por los mismos autores. Según Souza y Vendramim (2000) no fueron afectadas por los extractos mientras que en otros experimentos detectan una mortalidad de las ninfas superior al 55% (Souza & Vendramim, 2001).

Las aplicaciones a campo de este tipo de extractos también resultaron positivas. La abundancia y el daño de *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae), una plaga importante del maíz y sorgo del sur de Africa, se redujo en un 60% con resultados comparables a los obtenidos por un piretroide, la lambdacialotrina (Gebre-Amlak & Azerefegne, 1999). También causaron una reducción de la tasa de oviposición de hembras de *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) sin reducir el porcentaje de parasitismo natural sugiriendo una acción selectiva (Banchio *et al.*, 2003).

Extractos metanólicos y acetónicos también mostraron actividad nematicida sobre *Meloidogyne incognita*, especialmente los obtenidos de frutos verdes (Mareggiani *et al.*, 1996). Los de mayor actividad fueron las fracciones con mayor contenido de esteroides y terpenoides (Mareggiani *et al.*, 1998).

Son escasas las investigaciones acerca de la compatibilidad de estos compuestos sobre los enemigos naturales, pero los resultados obtenidos con neem indican una buena probabilidad de uso combinado con el control biológico. Estudios

realizados indican que no fue afectado ni la longevidad ni el comportamiento de forrajeo de *Diadegma molliplia*, un ichneumonido parasitoide de *Plutella xylostella* (Akol *et al.*, 2002). Tampoco la fecundidad de hembras de *Diadegma semiclausum* emergidas de larvas tratadas con neem (Schneider & Madel, 1992).

Trichilia pallida Sw

Trichilia pallida Sw, es un árbol perteneciente a la familia de las Meliáceas, nativo de sudamerica, que ocupa estratos bajos en zonas tropicales y subtropicales.

Debido a los buenos resultados obtenidos con el neem y otras meliáceas, los investigadores despertaron su interés en otras especies de dicha familia. El género *Trichilia* presenta compuestos con actividad insecticida conocida (triquilinas) (Nakatani *et al.*, 1981) y es bastante abundante en regiones tropicales de América con más de 550 especies conocidas.

Los extractos del género *Trichilia* L. (Meliaceae) han sido citados por poseer una variedad de propiedades biológicas, incluyendo antiviral, analgésico, insecticida, antialimentario e inhibidor del crecimiento de los insectos (Ortego *et al.*, 1999; Ramirez *et al.*, 2000, Simmonds *et al.*, 2001).

Estas propiedades han sido atribuidas a un grupo de tetranoterpenoides que incluyen las hirtinas y las trichilinas (Simmonds *et al.*, 2001). Estos investigadores han aislado varios compuestos de raíces de *Trichilia pallida*, de los cuales el metil 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilbutanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato fue el que presentó una elevada actividad antialimentaria en larvas de *Spodoptera littoralis*, *S. exigua*, *Heliothis virescens* y *Helicoverpa armigera*.

Los efectos comportamentales y fisiológicos de extractos crudos de varias especie de *Trichilia* fueron evaluados sobre los lepidópteros polífagos *Peridroma saucia* y *Spodoptera litura*. Varias especies fueron activas especialmente *T. connaroides* cuyos extractos de corteza, en dietas, redujeron el crecimiento larval.

El limonoide hirtina, un constituyente de *T. hirta*, inhibe la tasa de consumo, la utilización de la dieta y el crecimiento larval de *P. saucia* con una CE₅₀ de 13 ppm (Xie *et al.*, 1994).

Rodriguez & Vendramim (1996, 1997) evaluaron la bioactividad de varias especies de este género sobre *Spodoptera frugiperda*. Probaron extractos acuoso

al 5% de distintas estructura vegetales, incorporados a dieta artificial, Fue mayor la actividad de hojas de *T. pallens* y menor la de *T. pallida*. Vendramim & Torrecillas (1998) determinaron un 100% de mortalidad en larva alimentadas con extractos de rama al 5% antes de siete días del inicio del tratamiento.

Se probaron los extractos metanólicos crudos de seis especies de trichilia incorporada a dieta artificial contra *S. litura* (Wheeler & Isman, 2001). Todas redujeron el crecimiento larval luego de siete días. La más activa fue la proveniente de *T. americana* que además redujo el peso de las pupas y adultos. Concentraciones elevadas (50 y 75 ppm) generan un o dos estadios supernumerarios antes de la pupación. No está claro si es debido a la inanición provocada por el efecto antialimentario o a una actividad post-ingestiva del extracto.

Se evaluó la actividad insecticida de extractos acuosos y orgánicos de *T. pallida* sobre *Tuta absoluta*. Extractos acuosos liofilizados de hojas aplicados sobre hojas de tomate, causaron un 57,5% de mortalidad en larvas cinco días luego de la aplicación (da Cunha *et al.*, 2005). La fracción extraída con diclorometano y luego metanol fue la más eficaz dentro de las orgánicas. Thomazini *et al.* (2000) comprobaron que el extracto de hojas ocasionó un 80,6% de mortalidad al final de le estado larval de *T. absoluta*. En otros estudios se determinó que causan un alargamiento del estado larval y una disminución en la viabilidad de larvas y pupas ((Vendramim & Thomazini, 2001).

Son escasas las investigaciones acerca del efecto de extractos de Trichilia sobre enemigos naturales. Gonzalve-Gervasio & Vendramim (2004) demuestra que son totalmente inocuos para el parasioide de huevos *Trichogramma pretiosum*, independientemente del momento de aplicación, antes o después del parasitismo señalando la compatibilidad para la utilización de extractos con el control biológico.

Ricinus communis L.

El *Ricinus communis* es una euforbiacea conocida vulgarmente como ricino, higuera del diablo, higuierilla, tártago, mamona, castor-oil plant. Es una planta originaria de la India, naturalizada desde tiempos inmemoriales en zonas templadas y cálidas de África, hoy día se halla naturalizado en climas templados de todo el mundo. En estado silvestre es un árbol que alcanza los 10 metros de altura. Cultivado, en cambio, es un arbusto que apenas llega a los 4 m (Dimitri, 1980).

Muy utilizada como planta medicinal, sus semillas contienen vitamina E y un aceite soluble en alcohol muy valorado en cosmética y utilizado como laxante. Las semillas y cáscaras de ricino contienen elementos tóxicos y antialimentarios. El principal elemento es la ricina, una albúmina muy tóxica, y ricinina, un alcaloide (Kitamura *et al.*, 1999). Ha demostrado tener una toxicidad mayor a la del neem contra termitas (Sharma & Trivedi, 2002).

La hojas de ricino afectaron directamente la fisiología de las hormigas y el crecimiento de su hongo simbionte (*Leucoagaricus gongylophorus*) en nidos experimentales de *Atta sexdens rubropilosa* lo que sugiere la presencia de componentes que tóxicos (Hebling *et al.*, 1996). Dichos compuestos serían la ricinina y ciertos ácidos grasos (Bigi *et al.*, 2004).

Extractos metanólicos de hojas adicionados a dieta artificial, afectaron fuertemente la supervivencia de obreras de *Acromirmex lundii*, disminuyendo la longevidad media de 20 a 5 días (Pelicano *et al.*, 1999; Ferro, 2001)

Extractos acuosos de hojas, mostraron una excelente actividad insecticida contra *Callosobruchus chinensis*, posiblemente debida a la presencia de flavonoides que poseen propiedades insecticidas, ovicidas y repelentes de la oviposición (Upasani *et al.*, 2003).

Extractos afectaron la mortalidad de *Nacobbus aberrans* en pimiento y disminuyeron el número de agallas producidos luego de 60 días (Mareggiani *et al.*, 2005). Organismos no blanco testeados, los oligoquetos *Eisenia foetida* y *Dendrobaena octaedra* no fueron afectados por dicho tratamiento.

No se encontraron datos de su efecto sobre enemigos naturales.

El objetivo de este capítulo es analizar el efecto de la aplicación de insecticidas botánicos sobre la polilla del tomate (*Tuta absoluta*) y su parasitoide (*Pseudapanteles dignus*)

MATERIALES Y MÉTODOS

La obtención de los extractos se realizó a partir de hojas frescas, libres de agroquímicos, de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Ricinus comunis* (ricino), *Melia azedarach* (paraíso) y *Trichilia pallida* (triquila) recolectadas de plantas ubicadas en el parque de la Facultad de Agronomía-UBA de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (34°36'30"S; 58°22'19"O).

Las hojas fueron secadas en estufa a 40°C durante 72 hs y luego molidas. Fueron tratadas en un extractor Soxhlet, a razón de 12 gr de hojas secas con 120 ml de acetona como solvente, durante 4 hs. Posteriormente, el solvente fue evaporado mediante un Rotovap. Se determinó la concentración de sólidos totales mediante una balanza analítica (aproximadamente 3.8% p/p).

El aceite esencial de eucalipto fueron obtenidos mediante destilación rápida de vapor (European Pharmacopoeia, 2013).

Los extractos fueron disueltos con acetona hasta obtener diluciones del 10% y 50%.

Bioactividad de los extractos vegetales sobre *Tuta absoluta*:

La unidad experimental consistió en una caja de petri cuyo fondo fue cubierto con 1ml de solución del tratamiento a aplicar. Luego de evaporada la solución, fueron colocados 10 adultos de *T. absoluta* y la caja fue tapada para evitar su escape.

Los tratamientos fueron: extractos de ricino, trichila, eucalipto y aceite esencial de eucalipto. Cada uno de estos productos fue probado con diluciones del 10% y 50%.

Se realizaron 5 réplicas por tratamiento.

Cada 24 hs fue registrado el número de individuos sobrevivientes y se calculó el porcentaje de mortalidad diario.

Bioactividad de los extractos vegetales sobre *Pseudapanteles dignus*:

La unidad experimental fue similar a la utilizada para *T. absoluta*. En cada caja fueron colocados 10 adultos de *P. dignus* luego de la evaporación del solvente.

Los tratamientos fueron: extractos de ricino, trichila, eucalipto y aceite esencial de eucalipto (cineol). Cada uno de estos productos fue probado con una dilución del 10%.

Se realizaron 5 réplicas por tratamiento.

Cada 24 hs fue registrado el número de individuos sobreviviente y se calculó el porcentaje de mortalidad diario.

La mortalidad diaria de los adultos fue analizada mediante análisis de varianza y test de Tukey de comparaciones de medias (0.05).

También se calculó el un índice de eficacia de la acción insecticida en relación al testigo, el Índice de Schneider-Orelli :

$$\% \cdot \text{eficacia} = \frac{b - k}{100 - k} \cdot 100$$

donde:

b = % individuos muertos en la unidad tratada

k = % individuos muertos en la unidad testigo

Con esta fórmula se obtiene exactamente el mismo valor que el más conocido Índice de Abbott dado que es su complementaria utilizando el porcentaje de mortalidad en lugar que el porcentaje de supervivientes.

Con los datos diarios de individuos sobrevivientes se construyeron las curvas de supervivencia. La curva de cada tratamiento fue comparadas con las del testigo mediante el test de Gehan's Wilcoxon con el programa Statistica 99. La longevidad media de las cohortes fue extrapolada de cada curva de supervivencia (supervivencia de 0.5).

Para analizar el impacto de los extractos sobre el parasitoide ante un eventual control de la plaga, se calculó el siguiente índice de selectividad:

$$IS = \frac{EPa}{Epre}$$

donde:

EPa = Eficacia sobre el parasitoide

Epre = Eficacia sobre la presa

Cuando el índice es menor que 1 el producto es más eficaz sobre la presa que sobre el parasitoide, presentando entonces selectividad. Cuando es mayor o igual que 1 el producto no es selectivo.

RESULTADOS

Efecto sobre adultos de *Tuta absoluta*

Luego de las primeras 24 hs de aplicación, la mortalidad de adultos de *Tuta absoluta* fue significativamente mayor en los tratamientos con extracto de eucalipto, aceite esencial de eucalipto, ricino y trichilia al 50 %, mientras que el resto no difirió significativamente del testigo (cuadro 5.1). Esta diferencia se mantuvo a las 48 hs para el eucalipto, aceite, y ricino al 50%, y hasta el 3º y 4º día solo para el eucalipto y su aceite esencial (figura 5.1).

Si se considera como aceptable una eficacia superior al 50 % solo el tratamiento con extracto de eucalipto (50%) y su aceite esencial (50 %) resultan prometedores para el control de *T. absoluta* (cuadro 5.2).

Cuando se analiza la acción de cada uno de los extractos con respecto al testigo sobre la supervivencia de los adultos, se observa que solo los extractos de paraiso y el de trichilia al 10% no difirieron significativamente del testigo (figuras 5.2 a 5.5).

En el cuadro 5.3 se muestra la variación en la longevidad media de los adultos sometidos a los distintos tratamientos. Tanto el extracto de paraíso como el aceite esencial (50%) fueron los que redujeron la longevidad media en forma más notables.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
TESTIGO	6 a	26 a	48 a	62 a	74 ab	86 ab	86 a	92 ab	92 a
Eucalipto10%	34 abcd	52 abcd	58 ab	70 abc	80 ab	92 ab	94 a	94 ab	96 a
Eucalipto 50%	64 d	80 cd	86 b	98 c	100 b	100 b	100 a	100 b	100 a
Ac.esencial10%	36abcd	50 abcd	60 ab	72 abc	84 ab	92 ab	94 a	94 ab	98 a
Ac. esencial 50%	64 d	82 d	88 b	96 cd	100 b	100 b	100 a	100 b	100 a
Ricino 10%	26abc	48 abc	60 ab	66 ab	80 ab	92 ab	94a	94 ab	94 a
Ricino 50%	50 cd	68 bcd	70ab	76 abc	80 ab	80 ab	84a	90 ab	94 a
Paraiso 10%	12 ab	32 a	56ab	64 a	78 ab	94 ab	94a	96 ab	96 a
Paraiso 50%	36 abcd	46ab	58ab	62 a	68 a	76 a	86a	82 a	86 a
Triquila 10%	16 ab	28a	46a	72 abc	82 ab	88 ab	96a	96 ab	96 a
Triquila 50%	42 bcd	54 abcd	68ab	86 abc	88 ab	92 ab	96a	96ab	98 a
P	0.00	0.00	0.002	0.0005	0.01444	0.0098	0.0295	0.0521	0.0881
F	9.1	7.54	3.47	4.09	2.6	2.76	2.28	2.04	1.8

Cuadro 5.1- Mortalidad (%) de adultos de *Tuta absoluta* a lo largo del tiempo. 54gl
Letras iguales indican diferencias no significativas (Tukey 0.05)

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
Eucalipto 10%	29,79	35,14	19,23	21,05	23,08	42,86	57,14
Eucalipto 50%	61,70	72,97	73,08	94,74	100	100	100
Aceite esencial 10%	31,92	32,43	23,08	26,32	38,46	42,86	57,14
Aceite esencial 50%	61,70	75,68	76,92	89,47	100	100	100
Ricino 10%	21,28	29,73	23,08	10,53	23,08	42,86	57,14
Ricino 50%	46,81	56,76	42,31	36,84	23,08	-42,86	-14,29
Paraiso 10%	6,38	8,11	15,38	5,26	15,39	57,14	57,14
Paraiso 50%	31,92	27,03	19,23	0	-23,08	-71,43	0
Triquila 10%	10,64	2,70	-3,85	26,32	30,77	14,29	71,43
Triquila 50%	38,30	37,84	38,46	63,16	53,85	42,86	71,43

Cuadro 5.2- Eficacia de los extractos probados sobre *T. absoluta* (Mortalidad corregida por fórmula de Schneider-Orelli)

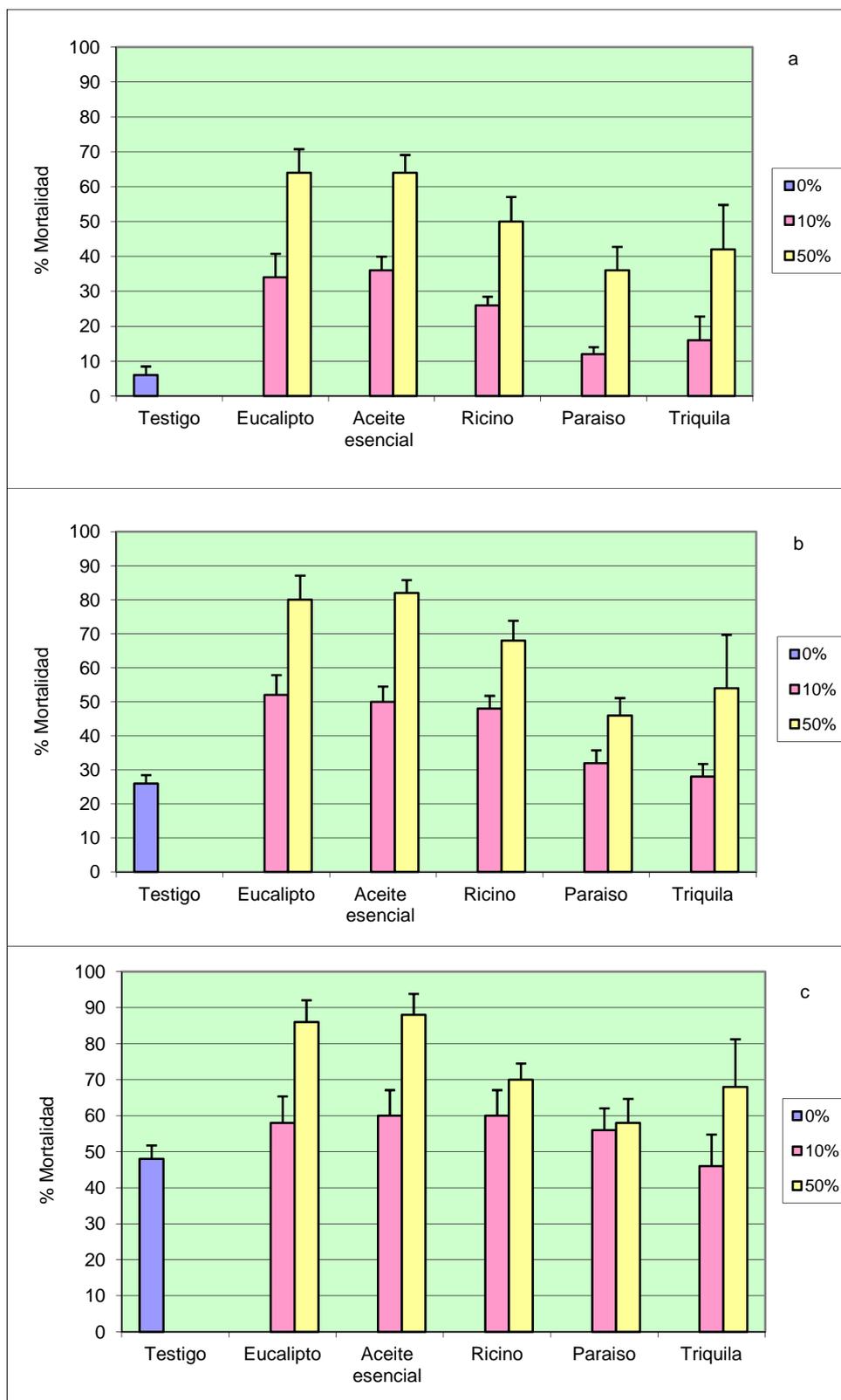


Figura 5.1- Mortalidad de *Tuta absoluta* tratada con extractos a distintas concentraciones. a) 24 hs, b) 48 hs y c) 72 hs.

Tratamientos	Días
Testigo	3,2
Eucalipto 10%	1,98
Eucalipto 50%	0,95
Aceite esencial 10%	2,05
Aceite esencial 50%	0,95
Ricino 10%	2,2
Ricino 50%	1,1
Paraiso 10%	2,85
Paraiso 50%	2,3
Triquilia 10%	3,2
Triquilia 50%	1,8

Cuadro 5.3- Longevidad media de adultos de *Tuta absoluta* (en días)

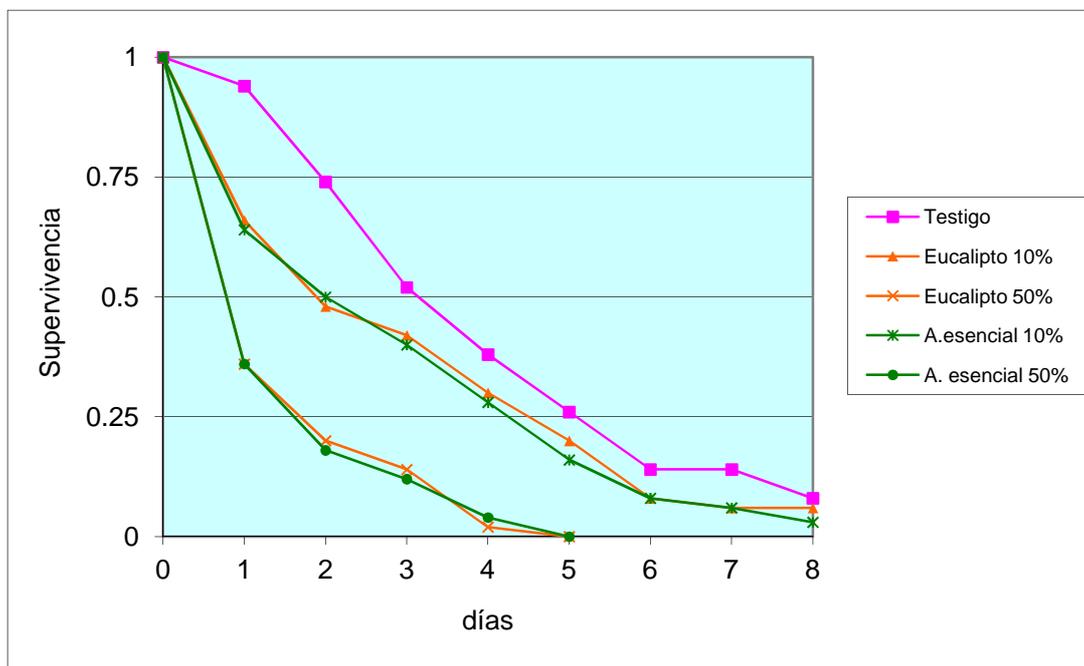


Figura 5.2- Curvas de supervivencia de adultos de *Tuta absoluta* tratados con extracto y aceite esencial de Eucalipto.

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon:

Eucalipto 10%	0.02339	2.267
Eucalipto 50%	0.00000	6.26007
Aceite esencial 10%	0.0131	2.48
Aceite esencial 50%	0.0000	6.353

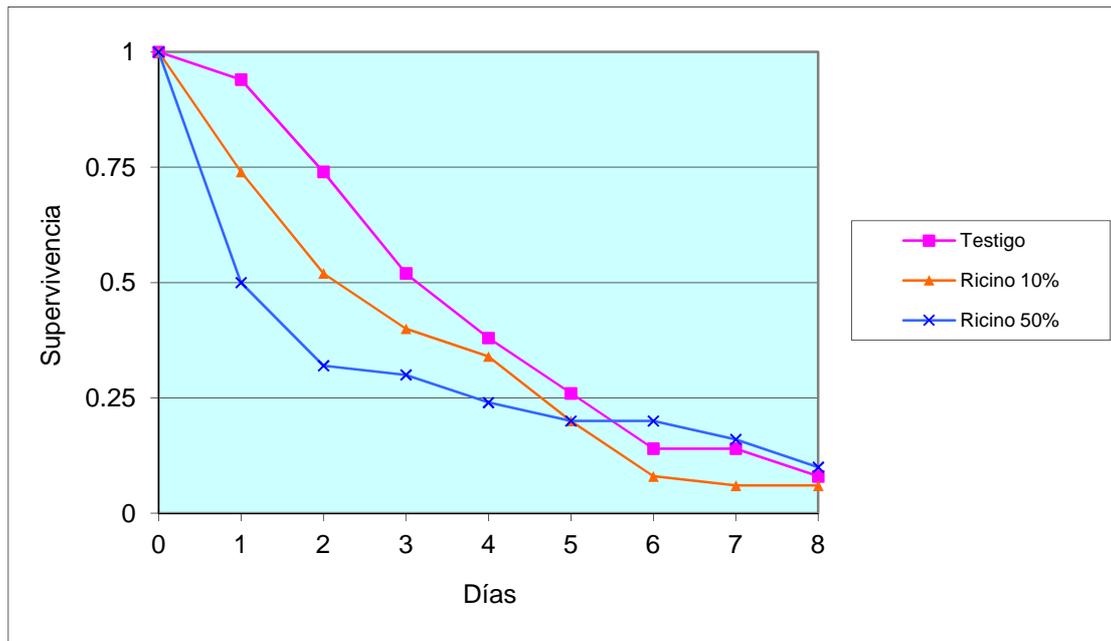


Figura 5.3- Curvas de supervivencia de adultos de *Tuta absoluta* tratados con extracto de Ricino

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon:

Ricino 10%	0.0475	1.981858
Ricino 50%	0.0008	3.351714

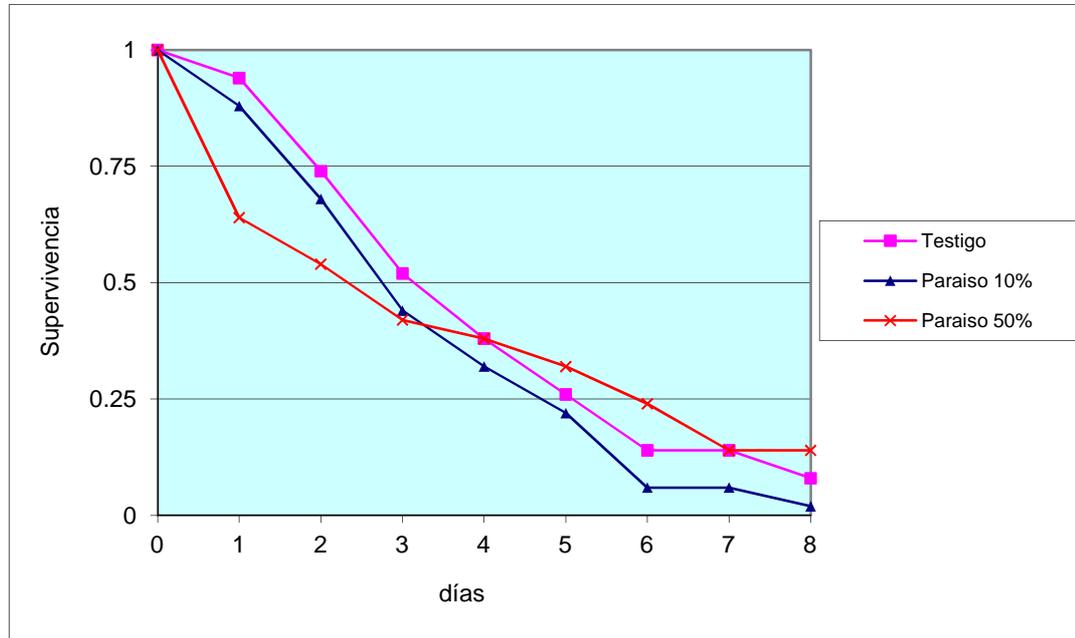


Figura 5.4 - Curvas de supervivencia de adultos de *Tuta absoluta* tratados con extracto de Paraiso

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon:

Paraiso 10%	0.3596	0.9160389
Paraiso 50%	0.23053	1.198987

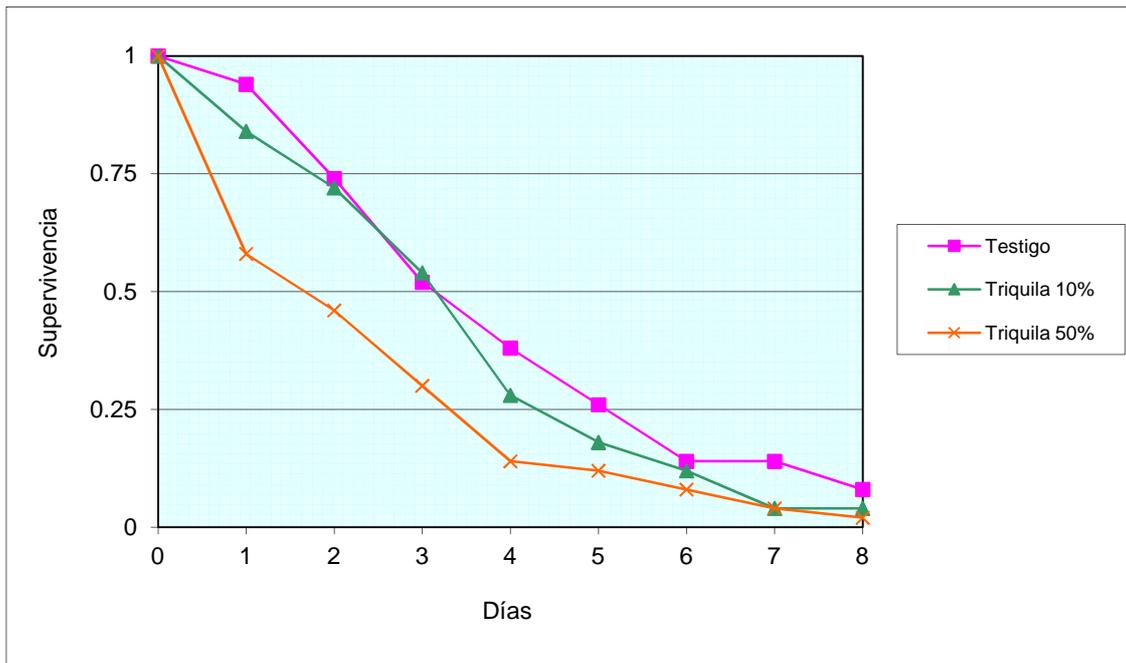


Figura 5.5- Curvas de supervivencia de adultos de *Tuta absoluta* tratados con extracto de Triquila

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon:

Triquila 10%	0.22543	1.212221
Triquila 50%	0.00053	3.464182

Efecto sobre adultos de *Pseudopanteles dignus*

Luego de las primeras 24 hs desde la aplicación, la mortalidad de adultos de *Ps. dignus* fue significativamente mayor en los tratamientos con el aceite esencial, extracto de eucalipto y trichilia mientras que el resto no difirió del testigo (Cuadro 5.4). Esta diferencia se mantuvo en el tiempo, transformándose en significativo el tratamiento con extracto de ricino a partir de las 72 h. El extracto de paraíso no presentó efecto sobre la mortalidad.

Todos los extractos, excepto el de paraíso, afectaron significativamente las curvas de supervivencia de los adultos de *Ps. dignus* (figuras 5.7 a 5.9).

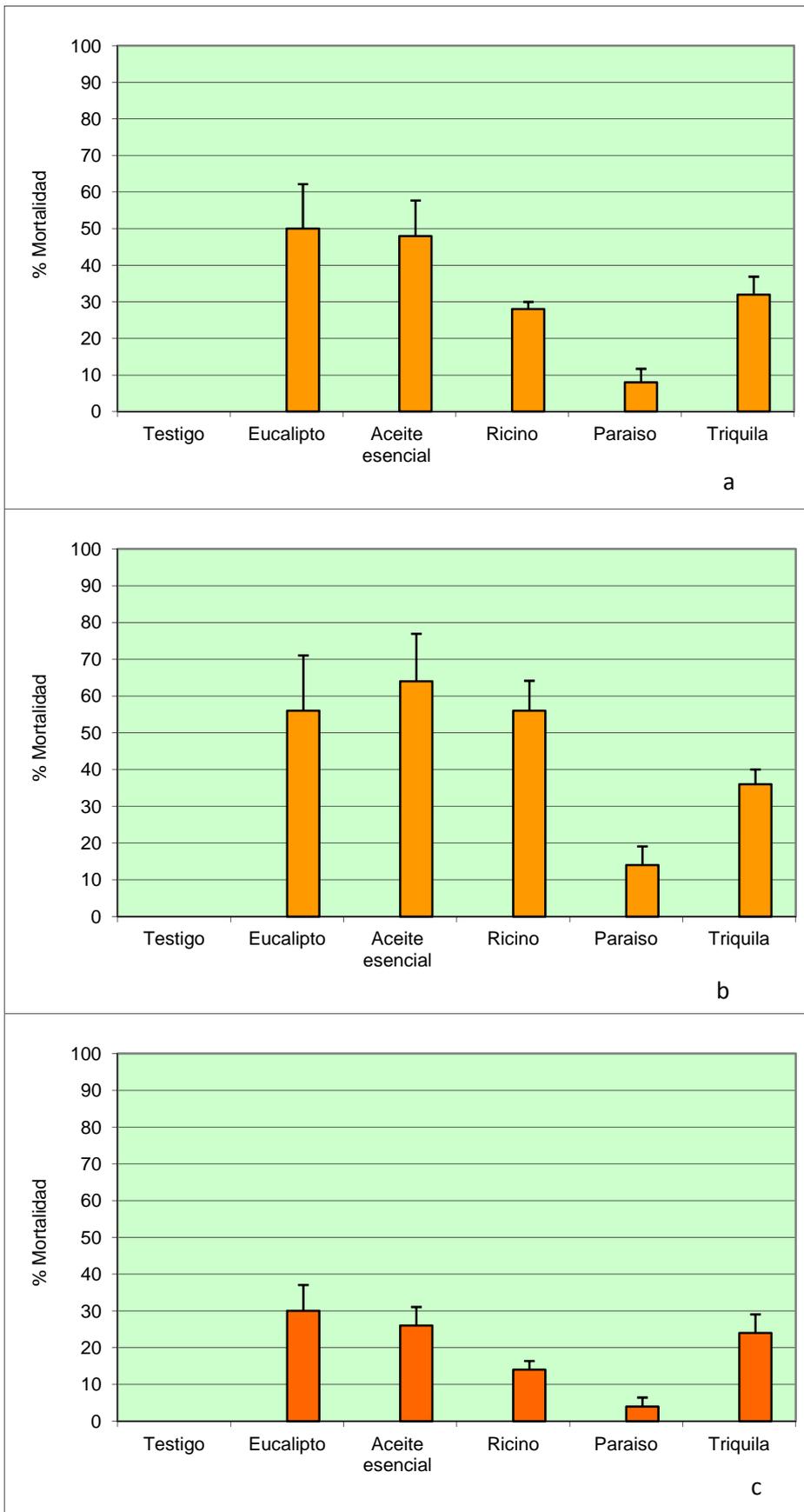


Figura 5.6- Mortalidad de adultos de *Pseudapanteles dignus* tratados con distintos extractos al 10%. . a) 24 hs, b) 48 hs y c) 72 hs.

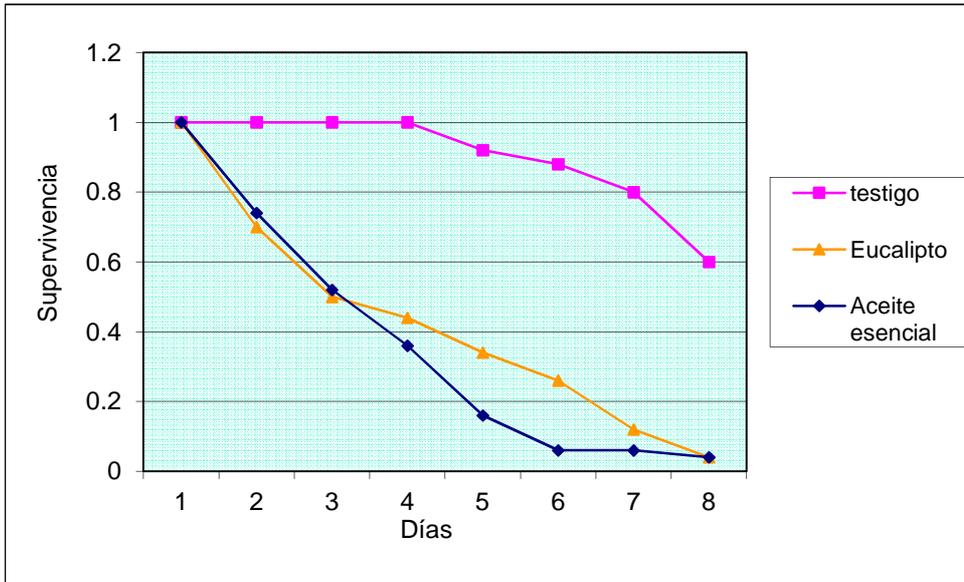


Figura 5.7- Curvas de supervivencia de adultos de *Pseudapanteles dignus* tratados con extracto y aceite esencial de eucalipto al 10%.

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon:

Extracto eucalipto	0.0000	7.28138
Aceite esencia;	0.0000	7.8834

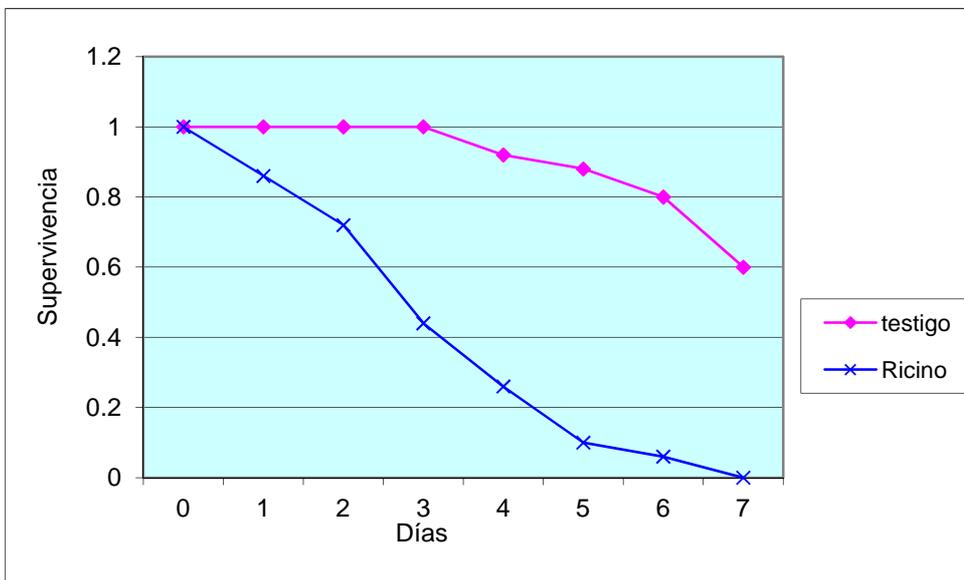


Figura 5.8- Curvas de supervivencia de adultos de *Pseudapanteles dignus* tratados con extractos de ricino

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon: $p= 0.0000$; $GW= 7.939174$

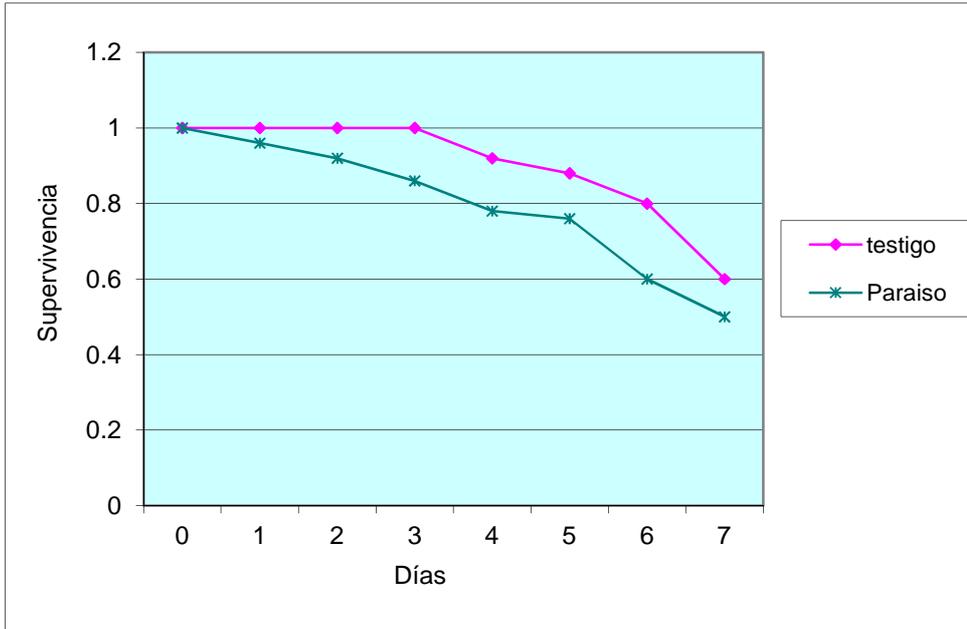


Figura 5.9- Curvas de supervivencia de adultos de *Pseudapanteles dignus* tratados con extracto de paraíso al 10 %

Probabilidad de la comparación de cada tratamiento con el testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon: $p= 0.0915$; $GW= 1.6875$

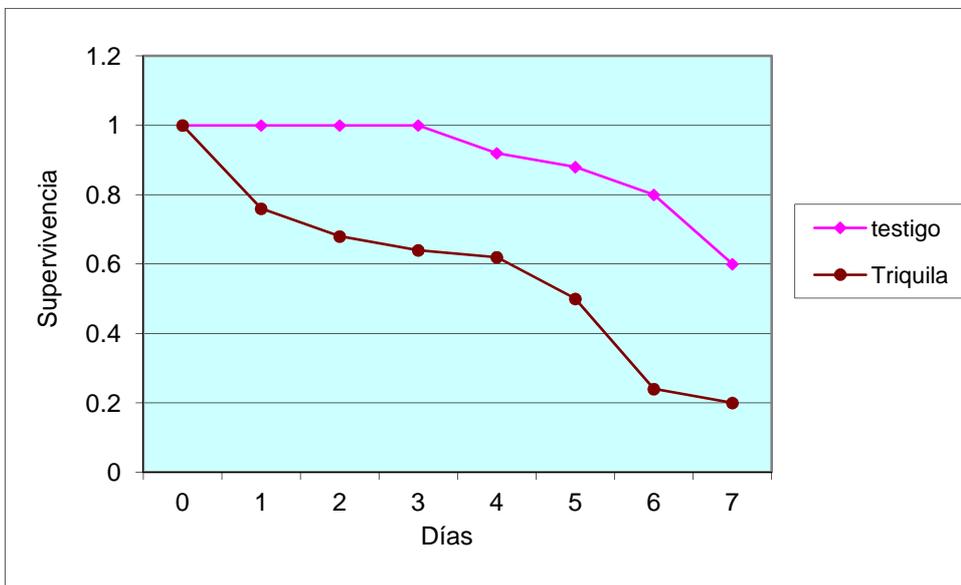


Figura 5.10- Curvas de supervivencia de adultos de *Pseudapanteles dignus* tratados con extracto de triquila al 10 %

Probabilidad de la comparación entre tratamiento y testigo y estadístico Gehan's Wilcoxon: $p= 0.0000$; $GW= 4.5$

tratamiento	día 1	día 2	día 3	día 4	día 5	día 6	día 7
Testigo	0 a	0 a	0 a	8 a	12 a	20 a	40 a
eucalipto	30 b	50 c	56 b	66 bc	74 cd	88 bc	96 c
Cineol	26 b	48 c	64 b	84 c	94 d	94 b	96 c
Ricino	14 ab	28 abc	56 b	74 bc	90 d	94 b	100 c
Paraiso	4 a	8 ab	14 a	22 a	24 ab	40 a	50 ab
Trichilia	24 b	32 bc	36 ab	38 ab	50 bc	76 b	80 bc
P	0.0001	0.0001	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
F	8.04	8.74	8.03	11.92	24.28	18.87	10.02
Gl	29	29	29	29	29	29	29

Cuadro 5.4- Mortalidad (%) de adultos de *Ps. dignus* a lo largo del tiempo

Letras iguales indican diferencia no significativas (Tukey 0.05)

tratamiento	día 1	día 2	día 3	día 4	día 5	día 6	día 7
Eucalipto	30	50	56	63,04	70,45	85	93,33
Aceite esencial	26	48	64	82,61	93,18	92,5	93,33
Ricino	14	28	56	71,74	88,64	92,5	100
Paraiso	4	8	14	15,22	13,64	25	16,67
Trichilia	24	32	36	32,61	43,18	70	66,67

Cuadro 5.5- Eficacia de los extractos probados (al 10%) sobre *Ps. dignus* (Mortalidad corregida por fórmula de Schneider-Orelli)

En el cuadro 5.6 se muestra el índice de selectividad (IS) calculado para *Ps. dignus*.

tratamiento	día 1	día 2	día 3	día 4	día 5	día 6	día 7
Eucalipto	1,007	1,423	2,912	2,995	3,053	1,983	1,633
Cineol	0,815	1,48	2,773	3,139	2,423	2,158	1,633
Ricino	0,658	0,942	2,427	6,815	3,841	2,158	1,75
Paraiso	0,627	0,987	0,91	2,891	0,886	0,438	0,292
Trichilia	2,256	11,84	-9,36	1,239	1,403	4,9	0,933

Cuadro 5.6- Índice de selectividad para la dupla *T. absoluta*-*Ps.dignus*

DISCUSIÓN

Los resultados indican que los extractos que tuvieron más efecto sobre la mortalidad y supervivencia de adultos de la polilla del tomate fueron los de eucalipto y su aceite esencial, y el extracto de ricino.

Si bien no se encontraron antecedentes del efecto de extractos de *Eucalyptus globulus* sobre *Tuta absoluta*, existen numerosas investigaciones que encontraron actividad de los mismos sobre varias plagas insectiles. Los extractos de *E. globulus*

fueron activos contra en brúquido *Acanthoscelides obtectus* que infesta porotos (Regnault & Hamraoui, 1995). Extractos cetónicos de sus hojas redujeron la supervivencia de *Myzus persicae* en un 50% en ensayos realizados en laboratorio (Carrizo *et al.*, 2004). Extractos metanólicos de las hojas de *E. globulus* adicionados a la dieta redujeron cinco veces la longevidad de obreras de *Acromirmex lundí* (Ferro, 2001). También afectaron la supervivencia y disminuyeron el número de agallas producidas por el nematode *Nacobus aberrans* (Mareggiani *et al.*, 2005).

En cuanto a los efectos del ricino, los extractos de sus hojas fueron efectivos en proteger semilla de trigo del ataque de *Tribolium castaneum*, principalmente por repelencia (Haq *et al.*, 2005). Polvos al 10% afectaron notablemente la supervivencia de *Sitophilus oryzae* en trigo y *Prostephanus truncatus* en maíz aunque este último se mostró más tolerante (Niber, 1994). Extractos metanólicos de hojas adicionados a dieta artificial, afectaron fuertemente la supervivencia de obreras de *Acromirmex lundí*, disminuyendo la longevidad media de 20 a 5 días (Ferro, 2001)

Con respecto a los extractos de paraíso y triquila, se concluyó que no afectaron significativamente ni la mortalidad ni la supervivencia de los adultos de *T. absoluta*. Los antecedentes indican que este extracto tiene más un efecto antialimentario que tóxico agudo. Extractos acuosos de hojas y frutos prolongaron el estado larval y pupal de *Tuta absoluta* cuando fueron pulverizadas sobre hojas de tomate alimento. La supervivencia larval también fue reducida (Brunherotto & Vendramim, 2001).

El efecto de los extractos sobre los adultos de *P. dignus* fue comparable con los sufridos por los adultos de *T. absoluta*, excepto el extracto de triquila que resultó más tóxico para el parasitoide que para la polilla.

Solo el extracto de paraíso no afecto la supervivencia de *P. dignus*. Otros estudios ya señalaron su falta de acción sobre enemigos naturales, extractos acuosos de *M. azedarach* no afectaron la longevidad de *Cotesia plutellae* ni de *Diadromus collaris*, dos microhimenópteros parasitoides de *P. xylostella* (Charleston *et al.*, 2001). Además, se detectó en invernáculo un mayor parasitismo por *C. plutellae* en las plantas tratadas respecto a las no tratadas.

De la evaluación del índice de selectividad se deduce los extractos naturales probados no son selectivos para los adultos de *Ps. dignus*, excepto en el caso de los extractos de ricino y paraíso en las primeras 24 hs. De cualquier manera, estos extractos no resultaron significativamente diferentes de los testigos.

Conclusiones y Consideraciones finales

Conclusiones y Consideraciones finales

El control biológico resulta una alternativa de control de plagas que busca reducir las aplicaciones de insecticidas para reducir sus efectos negativos: resistencia, resurgencia de plagas, contaminación ambiental e intoxicación de trabajadores y consumidores. Dicha alternativa es una herramienta poco extendida debido a las dificultades de su implementación y a resultados no siempre exitosos que dificultan su difusión. Estos resultados son generalmente consecuencia de una falta de investigación adecuada principalmente en lo que se refiere a la biología de la plaga, sus enemigos naturales su interacción y la compatibilidad con otras tácticas de control como el químico. En esta tesis se estimaron los parámetros biológicos de la “polilla del tomate” (*Tuta absoluta*) y de su parasitoide (*Pseudapanteles dignus*), se evaluó el impacto del parasitismo sobre la alimentación y la población de la plaga y se analizó la compatibilidad del uso del parasitoide con el uso de insecticidas sintéticos y botánicos.

Se destacan las siguientes conclusiones:

- La tasa neta de reproducción y la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de *Pseudapanteles dignus* fueron superiores a los de la plaga, *Tuta absoluta*, aunque el tiempo generacional fue levemente menor. Esto indica una buena sincronía entre el ciclo de vida de la plaga y el parasitoide.
- Las hembras de *Ps. dignus* no mostraron preferencias en cuanto al tamaño de la larva de polilla a parasitar, adecuándose el ciclo del parasitoide al hospedero. Esto implica que el tamaño no sería una limitante en programas de cría masiva del parasitoide con vistas a implementar un programa de control biológico. Por otra parte, la distribución de edades de la

plaga en el cultivo no sería determinante del momento de realizar liberaciones inoculativas.

- *Ps. dignus* actuó eficazmente a bajas densidades del huésped. Esto estaría indicando una buena capacidad de búsqueda, característica fundamental con vistas a un control biológico inoculativo.

- *Ps. dignus* disminuye el consumo foliar de las larvas de polilla aunque no drásticamente por lo que la disminución del daño de la plaga no sería inmediatamente apreciable hasta la siguiente generación.

- En condiciones de laboratorio, *Ps. dignus* reduce significativamente tanto la tasa neta de reproducción como la tasa intrínseca de crecimiento poblacional, como así también la longevidad media de la población del geléquido. Esto predice una disminución sustancial del crecimiento poblacional de la plaga.

- En condiciones de cultivo, *Ps. dignus* produjo hasta un 25% de parasitismo en larvas de polilla del tomate en plantas con una elevada infestación de la plaga. Se concluye que liberaciones en el cultivo de tomate cuando posee bajas densidades de la plaga o cuando recién se inicia, resulta fundamental para lograr una sincronía entre parasitoide y huésped que disminuya el daño y que sea económicamente viable.

- Se determinó la falta de compatibilidad de *Ps. dignus* con los insecticidas más habituales en el control químico de la polilla, resultando el más compatible el *Bacillus thuringiensis* en aplicaciones simultáneas con la liberación del parasitoide.

- *Ps. dignus* resultó sensible a los insecticidas botánicos evaluados que tuvieron efecto sobre los adultos de *Tuta absoluta*, por lo que su uso en planteos con control biológico debe ser cuidadoso.

Pseudapanteles dignus posee las características necesarias para ser un buen agente de control biológico inoculativo de larvas de *Tuta absoluta*. Será necesario el ajuste de la dosis y el momento de la liberación y nuevos principios activos de síntesis y naturales que complementen el control.

Bibliografía

Bibliografia

- Abbott, W. S., 1925, A method of comparing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Akol, A.M., Sithanatham, S, Njagi, P.G.N., Varela, A. & Mueke, J.M. (2002). Relative safety of sprays of two neem insecticides to *Diadegma mollipla* (Holmgren), a parasitoid of the diamondback moth: effects on adult longevity and foraging behaviour. *Crop Protection*. 21: 853-859.
- Alvarado-Rodriguez B. 1988. Larval parasites of tomato pinworm (Lepidoptera: Gelechiidae) in Sinaloa, Mexico. *Florida Entomologist*. 71(1): 84-86.
- Ascher, K.R.S., Schmutterer, H., Zebitz, C.P.W. & S.N.H. Naqvi. 1995. The Persian lilac or Chinaberry tree: *Melia azedarach* L. In: Schmutterer H, editor. *The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine. Weinheim, Germany: Industry and Other Purposes. VCH; pp. 605–642.*
- Austin, A.D. & Mark Dowton. 2000. *Hymenoptera: evolution, biodiversity and biological control*. Csiro Publishing. 468 p.
- Atwood, D. W., Young III, S.Y & T. J. Kring. 1997. Development of *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Treated with *Bacillus thuringiensis* and Thiodicarb. *Journal of Economy Entomology* 90:751-756.
- Atwood, D.W., Young III, S.Y. & T.J. Kring. 1998 . Mortality of tobacco budworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae) and emergence of *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) exposed to *Bacillus thuringiensis* and thiodicarb alone and in combination . *Journal of Entomology Science* 33: 136 – 141 .
- Atwood, D.W; Kring, T.J. & S.Y. Young. 1999. *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) development in tobacco budworm (Lepidoptera : Noctuidae) larvae treated with *Bacillus thuringiensis* and thiodicarb. *Journal of Entomology Science* 34(2): 249-259
- Banchio, E.; Valladares, G.; Defago, M.; Palacios, S. & C. Carpinella. 2003. Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer

- Liriomyza huidobrensis* (Diptera, Agromyzidae). *Annals of Applied Biology*, 143 (2): 187-193.
- Bahamondes, L.A & A.R. Mallea. 1969. Biología en Mendoza de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) Povolny (Lepidoptera-Gelechiidae) especie nueva para la República Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencia Agrarias* 15(1): 96-104
 - Barrientos, R. 1997. Determinación de la constante térmica de desarrollo para la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Tesis (Mg Sc). Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Santiago. 80 p.
 - Beckage, N.E., & T.J. Templeton. 1985. Temporal synchronization of emergence of *Hyposoter exiguae* and *H. figitivus* (Hymenoptera: Ichneumonidae) with apolysis preceding larval molting in *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78: 775-782.
 - Beckage, N.E. & D.B. Gelman. 2004. Wasp parasitoids disruption of host development: Implication for new biologically based strategies for insect control. *Annual Review of Entomology* 49: 299-330
 - Bell, W.J. 1991. *Searching Behaviour: The behavioural ecology of finding resource*. Chapman Hall. London. 358 p.
 - Bennett, F.D. 1995. Parasites of the pepper flower-Bud Mot (Lepidoptera: Gelechiidae) in Florida. *Florida Entomologist*, 78 (3): 546-549.
 - Berryman, A.A. 1999. The theoretical foundations of biological control. Pp. 3-21 en: BA Hawkins & HV Cornell (eds). *Theoretical approaches to biological control*. Cambridge University Press. Cambridge.
 - Bigi, M.F., Torkomian, V.L, de Groote, S.T., Hebling, M.J., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., da Silva, M.F. 2004. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Management Science*, 60(9):933–938
 - Bimboni, H.G. 1977. Polilla del tomate. INTA Estación Experimental de San Pedro. Asociación Cooperadora; Boletín Rural nº 104.

- Blanco, C. A. & J. S. Bernal. 2003. Insecticidas y control biológico. Pp. 71. In: Silva, G. & R. Hepp (eds). Bases para el Manejo racional de insecticidas. Concepción, Chile.
- Blumberg, D., Navon, A., Keren, S., Goldenberg, S., & S.M. Ferkovich. 1997. Interactions Among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), Its Larval Endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), and *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology. 90, 1181-1185.
- Bohnenstengel, F.I., Wray, V., Witte, L., Srivastava, R.P. & P.Proksch. 1999. Insecticidal meliacarpins (C-seco limonoids) from *Melia azedarach*. Phytochemistry. 50: 977-982
- Botto, E. 1995. Estudios bioecológicos sobre la polilla del tomate *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick). Resúmenes III Congreso Argentino de Entomología, Mendoza.
- Botto, E. 1999. Control Biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 58 (1-2): 58-64.
- Botto, E.N., Ceriani, S., López, S.N., Saini, E., Cédola, C., Segade, G. & M. Viscarret. 2000. Control Biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La experiencia argentina hasta el presente. Revista Investigaciones Agrícolas (RIA), 29(1): 83- 98.
- Botto, E.; Riquelme, M.; Folcia, A.; López, S. y Andorno, A. 2003. Desarrollo de estrategias de control biológico para el manejo de plagas en cultivos orgánicos de hortalizas en ambientes protegidos. Taller Latinoamericano Control Orgánico de Plagas y Enfermedades. Huerta Grande, Córdoba.
- Brent K.J & R.K. Atkin (Editors). 1987. Rational pesticide use. Cambridge University Press, Cambridge, 348 pp.
- Breuer, M. Hooste, B., Loof, A & S.N.H. Naqvi. 2003. Effect of *Melia azedarach* extract activity of nadph-cytochrome reductase and cholinesterase in insect. Pest biochemical physiology. 76: 977-982.
- Brunherotto, R. & J.D. Vendramim. 2001. Bioactividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. Neotropical Entomology. 30(3): 455-459.
- Bull, D.L. & R.J. Coleman. 1985. Effects of pesticides on *Trocogrammma* spp. Southwest. Entomol. Suppl. 8: 156-158.

- Cáceres, S. 2000. La polilla del tomate: Manejo químico-cultural. Hoja de Divulgación 15. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista, INTA, 5p.
- Caffarini, P.M., Folcia, A.M. Panzardi, S.R. & A. Pérez. 1999. Incidencia de bajos niveles de daño foliar de *Tuta absoluta* (Meyrick) en tomate. Boletín Sanidad Vegetal Plagas, 25: 75-78.
- Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la República Argentina. 2003. Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Buenos Aires, 1.597p.
- Carballo, R.P. 1978. Observaciones sobre la biología de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) plaga del tomate. In Reunión Técnica de la Facultad de Agronomía, Montevideo. Pp. 82-86.
- Carballo, R.P. 1995. *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) "polilla del tomate". In: Lepidopteros de importancia económica. Reconocimiento, biología y daños de las plagas agrícolas y forestales. Vol 1. Ed. Hemisferio Sur-Facultad de Agronomía Montevideo, Uruguay. 122 p.
- Cardona, C. & E. R. Oatman. 1971. Biology of *Apanteles dingus* (Hymenoptera: Braconidae), a primary parasite of the tomato pinworm. Ann. Ent. Soc. Amer. 64: 996-1007.
- Caron, V. 2005. Ecological interactions between the cabbage looper, a parasitoid, host plant and *Bacillus thuringiensis*. Thesis Ph.D. University of British Columbia. 86 p.
- Carrizo, P., Pelicano, A., & Caffarini, P. 2004. Evaluación de extractos cetónicos de paraíso, eucalipto y ricino sobre *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Cuyo. Tomo XXXVI. N° 1. Año 2004. 47-52 pp.
- Carthy, J.D. & P.E. Howse. 1980. Comportamiento animal. EDUSP. Sao Paulo, 79p.
- Carvalho, G.A., P. Tironi, R.L.O. Rigitano & L.O. Salgado. 1994. Selectivity of insect growth regulators to *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Annales Sociedad Entomologica Brasileira 23: 335-339.
- Castelo Branco, M., L. A. Pontes, P. S. T. Amaral & M. V. Mesquita. 2003. Insecticidas para o controle da traca-dotomateiro e broca-grande e seu impacto sobre *Trichogramma pretiosum*. Horticultura Brasileira 21: 652-654.

- Castineiras, A. & L.R. Hernandez. 1980. Nuevos hospederos de *Spilichalcis hirtifemora* (Ashmead) (Hymenoptera: Chalcididae) para Cuba. Poeyana. n° 209.
- Chapman, R.F. 1982. The insects: structure and functions. Chapman & Hall, Nueva York. 919p.
- Charleston, D. S., Dicke, M., Vet, L. E. M. & R. Kfir. 2001. Integration of biological control and botanical pesticides: Evaluation in a tritrophic context. Proceedings of the 4th International Workshop on the Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests, Melbourne, Australia, p.207-216.
- Charlet, L. 1995. The impact of pesticides on natural enemies. Midwest Biological Control News (on line). II (2). Disponible en: <http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/fea202.html>
- Charnov, E.L. 1976. Optimal foraging: the marginal value theorem. Theor. Pop. Biol. 9: 129-136
- CHFBA. 2005. Censo Hortiflorícola de Buenos Aires 2005. Ministerio de Asuntos Agrarios y Ministerio de Economía de la Prov. de Buenos Aires.
- Chen, C.C., Chang, S.J., Cheng, L. & R.F. Hou. 1996a. Deterrent effect of the chinaberry extract on oviposition of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Yponomeutidae). Journal of Applied Entomology 120(3) 165-69.
- Chen, C.C., Chang, S.J., Cheng, L. & R.F. Hou. 1996b. Effects of chinaberry extract on feeding, growth and fecundity of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lep. Yponomeutidae). Journal of Applied Entomology. 120: 341-345.
- Chenot, A. B., & K. F.Raffa. 1998. Effects of parasitoid strain and host instar on the interaction of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* with the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) larval parasitoid *Cotesia melanoscela* (Hymenoptera: Braconidae). Environmental Entomology 27: 137-147
- Chilcutt, C. F. and B. E. Tabashnik. 1997. Independent and combined effects of *Bacillus thuringiensis* and the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) on susceptible and resistant diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology 90: 397-403.
- Coats, J.R. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. Annual Review of Entomology. 39:489-515.

- Colomo, M.V., Berta, D.C. & M.J.Chocobar. 2002. El complejo de himenópteros parasitoides que atacan a la “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en la Argentina. *Acta Zoologica Lilloana* 46:81–92
- Croft, B.A. 1990. *Arthropod biological control agents and pesticides*. New York, Wiley, 723 p.
- Crowder, D.W. 2007. Impact of Release Rates on the Effectiveness of Augmentative Biological Control Agents. *Journal of Insect Science* 7: 15: 1-15.
- Cruz, I., Lima, D.A., Figueiredo, M.L. & F.H. Valicente. 1995. Aspectos biológicos do parasitoide *Campoletis flavicincta* (Ashmead) criado em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 24: 201-208.
- Darwish, E., El-Shazly, M., & H. El-Sherif. 2003. The choice of probing sites by *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) foraging *Ephestia Kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal Stored Products Reserch* 39: 265-276.
- da Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC & P.C.Vieira. 2005. Potential of *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) as a source of substances with insecticidal activity against the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 34:667–673
- De Bach P. 1985. *Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. Cia. Editorial Continental, S.A. de C.V., Mexico. 949 p.
- Deevey, E. S. Jr. 1947. Life tables for natural populations of animals. *Quart. Rev. Biol.* 22:283-314.
- Dent, D. 1995. *Integrated pest management*. Chapman & Hall. London. 356 p
- Dicke, M. & P. Grostal. 2001. Chemical detection of natural enemies by arthropods: an ecological perspective. *Annual Review of Ecology and Systematic.* 32: 1-23.
- Dimitri, M. (Ed). 1980. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardineria*. Tomo1 (vol.2). Ed. ACME. Bs. As. 1116 p.
- Djemai, I., Casas, J., & C. Magal. 2001. Parasitoid foraging decisions mediated by artificial vibrations. *Animal Behaviour* 67: 567-571.
- Douth, R. L. & De Bach, P., 1964: Algunos conceptos y preguntas sobre control biológico. Cap. 5.: En: *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. De Bach, P. (Ed.; C.E.C.S.A.) México. Pp 151-175

- Doutt, R.L. 1959. The biology of parasitic Hymenoptera. Annual Review of Entomology. 4: 161-182.
- Dughetti, A.C. 1993. Trabajos preliminares sobre la incidencia de daño y programas de control químico de la polilla del tomate en el cinturón verde del Gran Buenos Aires. Actas del XVI Congreso Argentino de Horticultura.
- Ecole, C.C., M. Picanço, G.N. Jham & R.N.C. Guedes. 1999. Variability of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* and possible compounds involved in its resistance to *Tuta absoluta*. Agricultural and Forest Entomology. 1: 249-254.
- El Atta, H.A. & A. Ahmed (2002). Comparative effects of some botanicals for the control of the seed weevil *Caryedon serratus* Olivier (Col., Bruchidae). Journal of Applied Entomology 126, 577-583.
- Escaff, M. & V. Giacconi. 2004. Cultivo de hortalizas. Ed. Universitaria. Chile. 342 p.
- Estay, P. 2000. Polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick). Informativo La Platina (INIA, Chile). (9): 1-7.
- European Pharmacopoeia. 2013. 7^{ma} Ed. C.E. edqm on line.
- FAO, 2006. NORMAS INTERNACIONALES PARA MEDIDAS FITOSANITARIAS NIMF n.º 5 GLOSARIO DE TÉRMINOS FITOSANITARIOS. Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria FAO. 23 p.
- Fernandez, S. & A. Montagne. 1990. Biología del minador del tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Boletín de Entomología de Venezuela 5(12): 89-99.
- Fernández-Arhex, V. & J.C. Corley. 2003. The functional response of parasitoids and its implications for biological control. Biocontrol Science and Technology 13:403-413.
- Fernández-Arhex, V. & J. Corley. 2004. La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. Ecología Austral. 14(1): 83-93.
- Ferro, M. 2001. Eficacia de sustancias de origen vegetal sobre la hormiga negra común *Acromyrmex lundii* Guérin. Trabajo de Intensificación. UBA.FA, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía, Carrera de Agronomía. Ingeniero Agrónomo. 16 p.

- Fisher, R.A. 1930. The genetical theory of natural selection. Clarendon Press.
- Galarza, J. 1984. Laboratory assessment of some solanaceous plants as possible food plants of the tomato moth *Scrobipalpula absoluta*. IDIA 421/424, 30–32.
- Galarza, J. & O. Larroque. 1984. Control de *Scrobipalpula absoluta* (Meyr.) (Lepidoptera: Gelechiidae) en tomate. IDIA 421-424: 15-18.
- Garcia, M.F. & J.C. Espul. 1982. Bioecología de la polilla del tomate (*Scrobipalpula absoluta*) en Mendoza, República Argentina. Revista de Investigaciones Agropecuarias, INTA, XVII (2): 135-146.
- Gatehouse, J.A. 2002. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytologist* 156:145–169
- Gebre-Amlak, A. & Azerefegne, F. 1999. Insecticidal activity of Chinaberry, endod and pepper tree against the maize stalk borer (Lepidoptera: Noctuidae) in southern Ethiopia. *International Journal of Pest Management* 45: 9-13.
- Ghezán, G. 2002. Trayectoria y Demandas Tecnológicas de las Cadenas Agroindustriales en el MERCOSUR: Hortalizas.
<http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/econo/mercado/ghezan.pdf>.
Acceso: 23-05-2006.
- González, R. 1989. Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile. Universidad de Chile. Ed. Vértice comunicación publicitaria. 310 p.
- Goncalves-Gervasio RdCR, Vendramim JD (2004) Effect of Meliaceae extracts on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotropical Entomology* 33, 607-12.
- Godfray, H.C.J. 1994. Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 473 pp.
- Gross, P. 1993. Insect behavioural and morphology defences against parasitoids. *Annual Review of Entomology*. 38: 251-273.
- Greenberg-Levy, S. H., Kostyukovsky, M., Ravid, U. & Sha'aya, E. (1993). Studies to elucidate the effect of monoterpenes on acetyl cholinesterase in two stored-product insects. *Inter. Symp. on Medicinal and Aromatic Plants*, Tiberias, Israel. *Acta Hort.* 344: 138-146 (D. Palevitch and E. Putievsky, Eds).
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2000. The insects: an outline of Entomology. 2da edn. Blackwell Science. Carleton

- Hafez, M., Salama, H.S, Aboul-Ela, R., Zaki, F.N. & M. Ragaei. 1997. *Bacillus thuringiensis* affecting the larval parasite *Meteorus laeviventris* Wesm. (Hym., Braconidae) associated with *Agrotis ypsilon* (Rott.) (Lep., Noctuidae) larvae. Journal of Applied Entomology. 121(1-5): 535–538.
- Hagvar, E.B. & T. Hofsvang. 1989. Effect of honeydew and hosts on plankton colonisation by the aphid parasitoid *Ephedrus cerasicola*. Entomophaga. 34: 495-501.
- Hagvar, E.B. & T. Hofsvang. 1990. Fecundity and intrinsic rate of increase of the aphid parasitoid *Ephedrus cerasicola* Stary (Hym., Aphididae). Journal Applied Entomology 109: 262-267.
- Haji, F.N.P., J.R.P.Parra, J.P. Silva & J.G. Batista. 1988. Biologia da traça-do-tomateiro sob condições de laboratório. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 23(2): 107-110.
- Haq T, Usmani NF & T. Abbas. 2005. Screening of plant leaves as grain protectants against *Tribolium castaneum* during storage. Pakistan Journal of Botany. 37 149–15.
- Harvey, J.A., Harvey, I.F. & D.J. Thompson. 1994. Flexible larval growth allows use of a range of host sizes by a parasitoid wasp. Ecology. 75: 1420-8
- Harvey, J.A., Harvey, I.F., & D.J. Thompson. 2001. Lifetime reproductive success in the solitary endoparasitoid, *Venturia canescens*. Journal of Insect Behaviour. 14: 573-593.
- Harvey, J.A,T. M. Bezemer, J.A. Elzinga & M.R. Strand. 2004. Development of solitary endoparasitoid *Microplitis demolitor*. host quality does not increase with host age and size. Ecological Entomology. 29: 35-43
- Hasan, F. & M.S. Ansari. 2012. Superparasitism in *Cotesia glomerata* does not benefit the host plant by reduction of herbivory caused by *Pieris brassicae*. Saudi Journal of Biological Science. 19 (1): 65-71.
- Hassell, M.P., Lawton, J.H. & J.R. Beddington. 1977. Sigmoid functional responses by invertebrate predators and parasitoids. Journal of Animal Ecology 46:249-262.
- Haseeb, M. & H. Amano, 2002. Effects of contact, oral and persistent toxicity of selected insecticides on *Cotesia plutellae* (Hym., Braconidae), a potential

- parasitoid of *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae). Journal of Applied Entomology 126: 8–13
- Haseeb, M., Amano, H., & H. Nemoto, 2000, Pesticidal effects on mortality and parasitism rates of *Diadegma semiclausum*, a parasitoid of diamondback moth. BioControl 45:165-178.
 - Heal, R., E. Rogers., R.T. Wallace y O. Starnes. 1950. A survey of plants for insecticidal activity. Lloydia 13(2): 89-162
 - Heblong, M. J., Bueno, O. C., Pagnocca, F. C., Bacci JR., M., Fernández, J.B. & P.C. Vieira. 1996. A utilização de produtos naturais para o controle de formigas cortadeiras e ou fungo simbiote. Naturalia 24 (n. esp.): 311–313.
 - Herrera, J.M. 1963. Problemas insectiles del cultivo de papa en el Valle de Cañete. Revista Peruana de Entomología Agrícola 6(1): 1-9.
 - Hoffann, M.P. & A.C. Frodsham. 1993. Natural Enemies of Vegetables Insect Pests. Cooperative Extension, Cornell University, Ithaca, N.Y. 63 pp.
 - Holling, C.S. 1959. The components of predation as revealed by a study of small mammal predation of the European pine sawfly. Canadian Entomologist 91: 293-320.
 - Hopper, K.R. & E.G. King. 1984. Preference of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) for instars and species of *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae). Environmental Entomology 31: 1145-1150.
 - Hu, Cui, P. Barbosa, and P. J. Martinat. 1986. Reproductive biology and related host-parasitoid interactions between the gypsy moth, *Lymantria dispar* and *Glyptapanteles flavicoxis*, a gregarious endoparasitoid. Annual of Applied Biology 109:485-490.
 - Huffaker, C.B. 1974. Some ecological roots of pest control. Entomophaga. 19: 371-389
 - Huffaker, C. B. & P. S. Messenger. 1976. Theory and Practice of Biological Control. Academic Press Inc. London. 788 p.
 - Huffaker, C.B., F.J. Simmonds & J.E. Laing. 1976. The theoretical and empirical basis of biological control, p. 112-147. In C.B. Huffaker & P.S. Messenger (eds.). Theory and practice of biological control. Academic, Nueva York. 788p.
 - Hussey, N.W. & N.E.Scopes. 1985. The introduction of natural enemies for pest control in greenhouse: Ecological consideration. En: Ridgway & Vinson

(eds.). Biological Control by augmentation of natural enemies. Insects and mites control with parasites and predators, New York & London. Plenum Press. 357-361 p.

- Isman, M.B. 1999. Pesticides based on plant essential oils. *Pesticides Outlook* 10:68–72
- Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19: 603–8
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51:45–66
- Ives, A.R. & W. H. Settle. 1996. The failure of a parasitoid to persist with a superabundant host: the importance of the numerical response. *Oikos*. 75(2):269-278.
- Jervis M A, Copland M J W (1996) The life cycle, p.63-160. In Jervis M, Kidd N (eds) *Insect natural enemies*. London, Chapman & Hall, 491p.
- Johnson, N.L. & Kotz, S. 1970. *Continuous univariate distributions-1*. Houghton Mifflin Company, Boston. 300p.
- Iziquel, Y. & B. Le Ru. 1992. Fecundity, longevity, and intrinsic natural rate of increase of *Epidinocarsis lopezi* (De Santis) (Hymenoptera: Encyrtidae). *Canadian Entomologist* 124: 1115-1121.
- Kant, R., M.A. Minor & S.A. Trewick. 2011. Fitness gain in a koinobiont parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) by parasitising hosts of different ages. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15(1): 83-87
- Kairo, M:T:K & S.T. Murphy. 1999. Host age choice in *Pauesia juniperorum* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) and its effect on the parasitoid's biology and host population growth. *Biocontrol Science and Technology*. 9: 4, 475-486.
- King, B.H. 1987. Offspring sex ratios in parasitoid wasp. *Quarterly Review of Biology* 62: 367-396
- King, E.G., Hopper, K.R. & J.E. Powell. 1985. Analysis of systems for biological control of crop arthropod pests in the U.S. by augmentation of predators and parasites. Resource. In: *Biological control in agricultural IPM*

- systems, Hoy, M.A.Herzog, D.C. (eds.).- Orlando, Fla. (USA): Academic Press, p. 201-227
- Kitamura, A.E. Hebling, M.J., Takamashi del Bianco, M., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C.; Bacci JR., M., Fernández, J.B. & P.C.Vieira. 1999. Determinação da toxicidade da ricinina para operarias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera, Formicidae) em laboratório. *Naturalia* 24 (n. esp.): 307–309.
 - Kobori, Y. & H. Amano (2004). Effects of agrochemicals on life-history parameters of *Aphidius gifuensis* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). *Applied Entomology and Zoology* 39 (2), 255-261
 - Kostyukovsky M, Rafaeli A, Gileadi C, Demchenko N, Shaaya E. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science* 58:1101–6
 - Kouamé, K.L. & M. Mackauer. 1991. Influence of aphid size, age and behaviour on host choice by the parasitoid wasp *Ephedrus californicus*: a test of host-size models. *Oecologia* 88: 197-203.
 - Ksentini, I., Jardak, T. & N. Zeghal. 2010. *Bacillus thuringiensis*, deltamethrin and spinosad side-effects on three *Trichogramma* species. *Bulletin of Insectology* 63 (1): 31-37, 2010
 - Lane, S.D, N.J.Mills & W.M. Getz. 1999. The effects of parasitoid fecundity and host taxon on the biological control of insect pest: the relationship between theory and data. *Ecological Entomology* 24: 181-190.
 - Larraín, P. 1987. Plagas del tomate, primera parte: Descripción, fluctuación poblacional, daño, plantas hospederas, enemigos naturales de las plagas principales. *IPA La Platina* 39: 30-35.
 - La Rossa, R. & N. Kahn. 2003. Dos programas de computadora para confeccionar tablas de vida y fertilidad y calcular parámetros biológicos y demográficos de áfidos (Homoptera: Afidoidea). *RIA* 32(3):127-142
 - Lasota, J.A. & R.A. Dybas. 1991. Avermectins, a novel class of compounds: implications for use in arthropod pest control. *Annual Review of Entomology*. 36: 91-117.

- Lee, B.H., Annis, P.C., Tumaalii, F. & W.S. Choi. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*. 40(5): 553-564
- Legaspi, J. C., J. V. French, and B. C. Legaspi Jr. 2000. Toxicity of novel and conventional insecticides to selected beneficial insects. *Subtropical Plant Science* 52: 23–32.
- Lewis, W.J., Jones, R.L., Gross, H.R., & D.A. Nordlund. 1976. The role of kairomones and other behavioral chemical in host finding by parasitic insect. *Behavioral Biology* 16: 267-289.
- Lewis, W.J. & J.H. Tumlinson. 1988. Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. *Nature*. 331: 257-259
- Lietti, M., R. Alzogaray & E.N. Botto. 2002. Evaluación de la resistencia a insecticidas en dos poblaciones argentinas de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Resúmenes del V Congreso Argentino de Entomología. 18 al 22 de marzo. Buenos Aires. Argentina.
- Lietti M.M., Botto E., & Alzogaray R.A., 2005. Insecticide Resistance in Argentine Populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 34(1): 113-119.
- Liu, X. X.; Zhang, Q. W., Zhao, J-Z., Cai, Q.N., Xu, H.L. & Li, J.C. 2005. Effects of the Cry1Ac Toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) a Parasitoid of the Cotton Bollworm (*Helicoverpa armigera*) (Hubner). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114(3): 205-213.
- Loke, W.H. & T.R. Ashley. 1984. Behavioral and biological responses of *Cotesia marginiventris* to kairomones of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Journal Chemical Ecology*. 10: 521-529.
- Lopes, C., T.M.C. Della Lucia & M.C. Picanço. 1997. Consumo foliar de lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) parasitadas por *Cyrtophloeba* esp.n. (Diptera: Tachinidae). *Revista Brasileira do Biologia*. 57: 15-19.
- Luck, R. F. (1990). Evaluation of natural enemies for biological control: a behavioral approach. *Trends in Ecology & Evolution*, 5(6): 196-199.

- Luck, R.F., Shepard, B.M. & P.E. Kenmore. 1988. Experimental Methods for Evaluating Arthropod Natural Enemies. Annual Review of Entomology. 33: 367-389.
- Luck, R. F., B. M. Shepard, & P. E. Kenmore. 1999. Evaluation of biological control with experimental methods. T. S. Bellows T. W. Fisher Handbook of biological control. Academic San Diego, CA.. 225-242.
- Luna, M.G., Sanchez, N.G., & P. Pereyra. 2007. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera-Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera–Braconidae) under laboratory conditions. Environmental Entomology 36: 887-893
- Luna, M.G., Wada, V.I. & N.E. Sanchez. 2010. Biology of *Dineulophus phtorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae) and Field Interaction with *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), Larval Parasitoids of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Tomato. Annals of the Entomological Society of America 103(6):936-942.
- Mackauer, M. 1986. Growth and developmental interactions in some aphids and their hymenopteran parasites. Journal of Insect Physiology. 32: 275-280.
- Mackauer. M. & R. Sequeira. 1993. Patterns of development in insect parasites. Pp. 1-23. In: Parasites and Pathogens of Insects. Vol. 1 (ed. By N.E. Beckage, S.N. Thompson and B.A. Federici). Academic Press, New York.
- Mahr, D.L. & N.M. Ridgway. 1993. Biological control of insects and mites. An introduction to beneficial natural enemies and their use. Pest management. N.Centrall Reg. Publ. 481. Univ. Wis. Coop. Ext. Madison.
- Marcano, R. 1995. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo y la reproducción de *Scrobipalpula absoluta* Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Boletín de Entomología de Venezuela. N.S. 10(1): 69-75.
- Mareggiani, G; Pelicano, A; Frascina, A; Bilotti, G; Gorosito, N; Z i p e t o, G. 1 9 9 6 . Actividad in vitro de productos naturales de origen vegetal sobre larvas de *Meloidogyne incognita* (Nematoda, Meloidogynidae). Revista de la Facultad de Agronomía (Argentina) 16 (3):141-145.
- Mareggiani G, Leikach, S y P. Laner. 1998. Toxicidad de extractos que contienen metabolitos secundarios de distintos órganos de *Melia azedarach*

al nematodo del nudo de la raíz. Revista de la Asociación Latinoamericana de Fitopatología 33 (2): 122-126.

- Mareggiani, G., Zamuner, N., Michetti, M., Franzetti, D. and Collavino, C. (2005) Impact of natural extracts on target and non target soil organisms. Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas 31:443–448
- Mareggiani, G.S. & A. Pelicano (Dir.). 2008. Zoología Agrícola. Ed Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires. Argentina. 256 p.
- Matteacci, L. & M. Dicke. 1995. Host-age discrimination during host location by *Cotesia glomerata*, a larval parasitoid of *Pieris brassicae* 76(1): 37-48
- Messenger, P.S. 1964. Use of life tables in a bioclimatic study of an experimental aphid-braconid wasp host-parasite system. Ecology 45: 119-131.
- Meyhofer, R. & J. Casas. 1999. Vibratory stimuli in host location by parasitic wasp. Journal of Insect Physiology 45: 967-971.
- Meyrick, E. 1917. Descriptions of South American Micro-Lepidoptera. The Transactions of the Entomological Society of London For the Year 1917 (1): 1-52. 1923.
- Mihsfeldt, L.H. & J.R. Parra. 1999. Biología de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. Scientia Agricola. 56(4)
- Mills, N. 1997. Techniques to evaluate the efficacy of natural enemies. In: Methods in ecological and agricultural entomology, Dent D.R. and Walton M.P. Eds. CAB International. UK. 387 p.
- Miranda, M., M. Picanco, J.C. Zanuncio & R.N. Guedes. 1998. Ecological life table of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera; Gelechiidae). Biocontrol Science and Technology. 8: 4; 597-606.
- Moore, J. 1983. Control of tomato leafminer (*S. absoluta*) in Bolivia. Trop. Pest Management 29:231-238.
- Mozaddedul, H.N.M., Copland, M.J.W. 2002. Study on fecundity, reproductive rate, intrinsic rate of increase and effects diets on adult longevity, of a long-tailed mealy bug, *Pseudococcus longispinus* (Torgioni-Tozzetti) parasitoid, *Leptomastix nr. Epona* (Walker). Asian New Science Information 923–930
- Muesebeck, C.F.W. 1938. Three new reared species of *Apanteles* from California (Hymenoptera: Braconidae). Proc. Entomol. Soc. Wash. 40: 201-4.

- Muszinski, T., Lavendowsky, I. M. y .M. Maschio. 1982. Constatação de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) [*Gnorimoschema absoluta*] (Lepidoptera: Gelechiidae), como praga do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), no litoral do Paraná. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Jaboticabal, SP, v. 11, p. 291-292.
- Nakatani, M., J.C. James, & K. Nakanishi. 1981. Isolation and structures of trichilins, antifeedants against the Southern army worm. Journal of American Chemical Society 103: 1228-1230.
- Narayana, M.L. & T.R. Baru. 1992. Evaluation of five insect growth regulators on the egg parasitoid *Trichogramma chilonis* (Ischii) (Hym., trichogrammatidae) and the hatchability of *Corcyra cephalonica* Staint (Lep., Galleriidae). Journal of Applied Entomology 113:56-60.
- Navon, N. 2000. *Bacillus thuringiensis* application in agriculture. p. 355-369. En: Charles, J.-F.; Delecluse, A.; Nielsen-LeRoux, C. (eds.). Entomopathogenic Bacteria: from laboratory to field application. Kluwer Acadmic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Nealis, V.G. & K. van Frankeshuyzen. 1990. Interactions between *Bacillus thuringiensis* Berliner and *Apanteles fumiferanae* Vier. (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). The Canadian Entomologist. 122(4): 585-594.
- Niber, B.T. 1994. The ability of powders and slurries from ten plantspecies to protect stored grain from attack by *Prostephanus truncates* Horn. (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Product Reserch 30(4): 297-301.
- Oatman, E.R. 1970. Ecological studies of the tomato pinworm on tomato in southern California. Journal of Economic Entomology 63: 1531-4.
- Oatman, E.R.; Wyman, J.A. & Platner, G.R. 1979. Seasonal occurrence and parasitation of the tomato pinworm on fresh marked tomatoes in southern Califonia. Enviromental Entomology 8: 7, 661-664.
- Ode, P.J. 2006. Plant Chemistry and Natural Enemy Fitness: Effects on herbivore and Natural Enemy Interations. Annual Review of Entomology 51: 163-185.

- OEPP/EPPO. 2005. *Tuta absoluta*. Bulletin OEPP/EPPO. Data sheets on quarantine pests. Bulletin 35 (3): 434–435.
- Ortego, O., López-Olguín, J., Ruíz, M. & P. Castañera. 1999. Effect of toxic and deterrent terpenoids on digestive protease and detoxication enzyme activities of Colorado potato beetle larvae. Pesticide Biochemistry and Physiology 63: 76-84.
- Pandey Rakesh, Kalra, A., Tandon, S., Mehrotra, N., Singh, H. N. & S. Kumar. 2000. Essential oils as potent source of nematicidal compounds. Journal Of Phytopathology, Phytopathologische Zeitschrift 148: 501-502
- Parker, F.D & R.E.Pinnell. 1973. Effect on food consumption of the imported cabbageworm when parasitized by two species of *Apanteles*. Environmental Entomology 2: 216-219.
- Pelicano, A.; Caffarini, P. & P. Carrizo. 1999. Sobrevivencia de operarias de *Acromyrmex lundii* y *A. striatus* aisladas de hormigueros y alimentadas con dieta artificial. IDESIA 17-91:99. Universidad de Tarapacá. Chile.
- Pereyra, P.C. 2002. Evidencia de competencia intraespecífica en estadios larvales tempranos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Ecología Austral 12: 143-148.
- Pereyra, P.C. y N.E. Sanchez. 2006. Effect of two solanaceous plants on development and population parameters of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotropical Entomology 35(5): 671-676
- Pietrantonio, P. V., and J. Benedict. 1999. Effect of new cotton insecticide chemistries, tebufenozide, spinosad and chlorfenapyr on *Orius insidiosus* and two *Cotesia* species. Southwest Entomology 24: 21-29.
- Polack, L.A. 1999. Ensayos de eficacia de plaguicidas empleados contra la polilla del tomate *Tuta absoluta*(Meyrick). Buenos Aires, Centro Agrícola El Pato, INTA. 2p
- Polack, LA; Brambilla, RJ. 2000. Evaluación de un Sistema de Manejo Integrado de la Polilla del Tomate en un Cultivo de Tomate Cherry bajo Invernáculo. En XXIII Congreso Argentino de Horticultura. ASAHo. Mendoza.
- Polack, L. A. y Mitidieri, M. 2002. Producción de tomate diferenciado. Protocolo preliminar de manejo integrado de plagas y enfermedades. EEA San Pedro. IPE. Protección Vegetal n° 20.

- Povolný, D. 1975. On three neotropical species of gnorimoschemini (Lepidoptera-Gelechiidae) mining Solanacea. Acta Universitatis Agriculturae Facultas Agronomica 2: 379-393.
- Povolný, D. 1994. Gnorimoschemini of Southern America VI: Identification keys, checklist of Neotropical taxa and general considerations (Insecta, Lepidoptera, Gelechiidae). Steenstrupia, 20(1): 1-42.
- Porter, K. G., Orcutt, Jr. J. D. & J. Gerritsen. 1983. Functional Response and Fitness in a Generalist Filter Feeder, *Daphnia magna* (Cladocera: Crustacea). Ecology 64 (4): 735-742
- Quiroz. C.E. 1976. Nuevos antecedentes sobre la biología de la polilla del tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick). Agricultura Técnica (Chile) 36. 82-86.
- Rabb, R.L., R.L. Stinner, & R. van den Bosch. 1976. Conservation and augmentation of natural enemies. In Theory and Practice of Biological Control. C.B. Huffaker & P.S. Messenger (Eds). Academic Press. 233-249 pp.
- Rabinovich, J.E. 1980. Ecología de Poblaciones Animales. OEA, Washington. 114 p.
- Ramirez, M.C., Toscano, R.A. Arnason, J., Cerda-García-Rojas, C.M. & R. Mata. 2000. Structure, conformation and absolute configuration of new antifeedant dolabellanes from *Trichilia trifolia*. Tetrahedron, 56: 5058-5091
- Ramjan, M.A., Jongboks, J., & L. Daeweon. 2013. Teratocytes secreting proteins of an endoparasitoid wasp, *Cotesia plutellae*, prevent host metamorphosis by altering signals. Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular & Integrative Physiology 166(2): 251-262
- Razuri, V. y E. Vargas. 1975. Biología y comportamiento de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) en tomatera. Revista Peruana de Entomología 18(1): 84-89.
- Regnault Roger C, Hamraoui A (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Stored Products Research 31(4): 291-299
- Rezende, M. A. A, I. Cruz & T. M. C. Delia Lúcia. 1994. Consumo foliar de milho e desenvolvimento de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith)

- parasitadas por *Chelonus insularis* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 23:473-478.
- Ridgway, R.L., and Vinson, S.B. 1977. Biological Control by Augmentation of Natural Enemies. Plenum Press, New York. 480 pp.
 - Ripa, R., S. Rojas & F. Rodriguez. 1992. Consideraciones sobre el control de la polilla del tomate. IPA La Plata, n° 68.
 - Riquelme Virgala, M.B., E. N. Botto & C. Lafalce. 2006. Evaluación de algunos insecticidas para el control de la «polilla del tomate», *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) y su efecto residual sobre el parasitoide *Trichogrammatoidea bactrae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Revista de la Sociedad Entomologica Argentina 65 (3-4): 57-65
 - Rodríguez, B. 1997. Diterpenos de tipo clerodano y su actividad antialimentaria. Pp. 67-73 en: Insecticidas de origen natural y protección integrada y ecológica en agricultura. Serie congresos 10. Pascual- Villalobos, M. J. (coord.). Consejería de Medio Ambiente , Agricultura y Agua. Murcia, España.
 - Rodriguez, H.V. & J.D. Vendramim. 1996. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Manejo Integrado de Plagas. 42: 14-22
 - Rodriguez, H.V. & J.D. Vendramim. 1997. Avaliacao da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith). Revista de Agricultura. 72(3): 305-318.
 - Rodriguez-Hernández, C., Bauer, M.L. Valdéz-Lozano, C.G.S. & S. Sánchez-Preciado (Eds). 2007. Agricultura sostenible: Alternativas contra plagas. Colegio de Postgraduados, Mostecillos Texcoco. México. 109 p.
 - Romero R., F. 2004. Manejo Integrado de Plagas: las bases, los conceptos y su mercantilización. Universidad Autónoma de Chapingo. Colegio de Postgraduados. México. 103 p.
 - Rosenthal, G. & M. Berenbaum (Eds). 1991. Herbivores: Their Interactions with secondary plant metabolites. Academic press, INC. San Diego. USA. 467p.
 - Rosenthal, G.H. 1986. Biochemical insight into insecticidal properties of L-Canavinina, a higher plant protection allelochemical. Journal of Chemical Ecology 12(5): 1145-1156.

- Ryan, M.F. & O. Byrne. 1988. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*. 14(10): 1965-1975.
- Saini, E.D. y L. Alvarado. 2006. Insectos y ácaros perjudiciales a los cultivos de tomate y pimiento y sus enemigos naturales. INTA-IMYZA. 2^{da} Ed. 52 p.
- Salama, H. S., Zaki, F. N., Ragaei, M. & M. Sabbour. 1995. Persistence and potency of *Bacillus thuringiensis* against *Phthorimaea operculella* (Zell.) (Lep. Gelechiidae) in potato stores. *Journal of Applied Entomology* 119: 493-494.
- Salazar, E., y J.E. Araya. 1997. Detección de resistencia a insecticidas en la polilla del tomate. *Simiente* 67:8-22.
- Sanchez, H.A. y G. Bravo. 1969. Ciclo biológico del gusano minador de la papa en el departamento de Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño (Colombia)* 1(2):3-19.
- Salt, G. 1968. The resistance of insect parasitoids to the defences reactions of their hosts. *Biological Review*. 43: 200-232.
- Sauka, D.H. & G.B. Benintende. 2008. *Bacillus thuringiensis*: general aspects. an approach to its use in the biological control of lepidopteran insects behaving as agricultural pests. *Revista Argentina de Microbiología* 40: 124-140.
- Schmidt, G.H., Rembold, H., Ahmed, A.A. & M. Breuer. 1998. Effect of *Melia azedarach* fruit extract on juvenile hormone titer and protein concentration in the hemolymph of two species of noctuid lepidoptera larvae (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). *Phytoparasitica*, 26(4): 283-291.
- Schmutterer, H. 1997. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pest pathogen and natural enemies of spider mites and insects. *Journal of Applied of Entomology* 121: 121-128.
- Schneider, A. & Madel, G. (1992). Fecundity and vitality of adult parasitoids following exposure to neem (*Azadirachta indica*) treated surfaces. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft fur Allgemeine und Angewandte Entomologie* 8 (1-3): 273 - 278.
- Schuler, T.H.; R.P. Potting, I. Denholm & G.M. Poppy. 1999. Parasitoid behaviour and Bt plants. *Nature-London*. 401: 6747, 825-826.
- Secretaria de A.G. y P. 2001. Normativas para la fiscalización de la producción y elaboración de alimentos orgánicos, ecológicos o biológicos.

Instituto Argentino de Sanidad y Calidad Vegetal. Resolución de la Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca, Decreto 206/2001.

- Sequeira, R. & M. Mackauer. 1992. Nutritional ecology of an insect host-parasitoid association: the pea aphid-*Aphidius ervi* system. *Ecology* 73: 183-189.
- Sequeira, R. & M. Mackauer. 1994. Variation in selected life-history parameters of the parasitoid wasp, *Aphidius ervi*: Influence of host developmental stage. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71(1): 15-22
- Schoenmaker, A.; Cusson, M. & van Frankenhuyzen, K. 2001. Interactions Between *Bacillus thuringiensis* and Parasitoids of Late-instar Larvae of the Spruce Budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Journal of Zoology*, 79(9): 1697-1703
- Sgrillo, R.B. 1982. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. *Ecosistema* 7:9-13.
- Sharma, N. & P.C. Trivedi. (2002). Screening of leaf extracts of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. *Asian Journal of Experimental Science* 16:21–28
- Silva-Aguayo, G. 2001. Insecticidas Vegetales. En: E. B. Radcliffe y W. D. Hutchison [eds.], Radcliffe: Texto Mundial de MIP, URL: <http://ipmworld.umn.edu>, Universidad de Minnesota, St. Paul, MN.
- Silva, G.A., Picanço, M.C., Bacci, L., Crespo, A.L., Rosado, J.F. & R.N. Guedes. 2011. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*. *Pest Management Science*. 67(8): 913-920.
- Simmonds, M.S.J, Stevenson, P.C., Porter, E.A., & N.C. Veitch. 2001. Insect antifeedant activity of three tetranortriterpenoids from *Trichilia pallid*. *Journal of Natural Products*. 64: 1117-112
- Singh, R.N. & P.N. Srivastava. 1989. Life table studies of an aphid hyperparasitoid *Alloxysta pleuralis* (Cameron) (Hym., Alloxystidae). *Journal of Applied Entomology* 107: 351-356.

- Siqueira, H.A., R.N. Guedes & M.C. Picanco. 2000a. Insecticides resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agriculture and Forest Entomology*. 2:2, 147-153.
- Siqueira, H.A., R.N. Guedes, M.C. Picanco. & E.E. Oliveira. 2000b. Cartap resistance and synergism in population of *Tuta absoluta* (Lepidoptera-Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*, 124: 34, 5-6.
- Smilowitz, Z. & G.F. Iwantsch. 1975. Relationships between the parasitoid, *Hyposoter exiguae*, and the cabbage looper, *Trichoplusia ni*: effects of host age on ovipositional rate of the parasitoid and successful parasitism. *Canadian Entomologist* 107: 689-694.
- Solomon, J.E. 1949. The natural control of animal populations. *Journal of Animal Ecology* 18:1-35.
- Southwell, I.A., Russell, M.F., Maddox, C.D.A & G.S. Wheeler. 2003. Differential metabolism of 1,8-cineole in insect. *Journal of Chemical Ecology*. 29(1): 83-94.
- Southwood, T.R.E. 1994: *Ecological methods*. 2nd. Ed. Chapman & Hall Pub. London, 524pp.
- Souza, A.P. & J.D. Vendramin. 2000. Ovicidal activity of aqueous extracts of meliaceae on the silverleaf whitefly for tomato. *Scientia Agricola* 57: 403-406
- Souza, A. P. & Vendramin, J. D. 2001. Insecticidal activity of aqueous extracts of *Meliaceae* plants on the silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology* 30 (1): 133–137
- Sridhar, V. & R.P. Poluru Venkata Rami. 2013. Use of Degree-day and Plant Phenology: a reliable tool for predicting insect pest activity under climate change conditions. In: *Climate Resilient Horticulture: adaptation and mitigation strategies*. Singh, H., Chandra Prasad, R., K.S. Nadipynayakanahally & K.S. Shivashankar (Eds.). Springer. 302 p.
- Stephen, D.W. & J.R. Krebs. 1986. *Foraging Theory*. Princenton University Press. New jersey, USA.
- Sterk, G.; Heuts, F.; Merck, N. & Bock, J. 2002, Sensitivity of non-target arthropods and beneficial fungal species to chemical and biological plant protection products: results of laboratory and semi-field trials. *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods*,

- Honolulu, Hawaii, 14-18 January 2002 pp.309,312 (Ed: Driesche, R.G. van)
 United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington, USA
- Sugimoto, T., Shimono, Y., Hata, Y., Nakai, A. & M. Yahara. 1988. Foraging for patchily-distributed leaf-miners by the parasitoid, *Dapsilarthra rufiventris* (Hymenoptera: Braconidae) III. Visual and acoustic cues to a close range patch-location. *Applied Entomology and Zoology* 23: 113-121.
 - Sukontason, K.I., Boonchu, N. Sukontason, K. & W. Choochote. 2004. Effects of eucalyptol on house fly (Diptera: Muscidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae). *Rev. Inst. Trop. S. Paulo.* 46(2): 97-101.
 - Tapondjou, A.L., C. Adler, D.A. Fontem, H. Bouda, C. Reichmuth. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research.* 41: 91–102
 - Tarlochan, S., Dhadialla S., Carlson, G.R. & D.P. Le. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology* 43: 545-569
 - Thacker, J.R.M. 2002. *An Introduction to Arthropod Pest Control.* Cambridge University Press. 343 p
 - Thomazini, A.P., Vendramim, J.D. & M.T. Lopes. 2000. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traca-do-tomateiro. *Scientia Agricola.* 57(1): 13-17.
 - Torres, A.L., Barros, R. & J.V. Oliveira. 2001. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera). *Neotropical Entomology* 30: 151-156.
 - Trumble, J.T. & B. Alvarado-Rodriguez. 1993. Development and economic evaluation of an IPM program for fresh market tomato production in Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 43: 267-284.
 - Tukey, J.W. 1958. Bias and confidence in not quite large samples. *Annals of Mathematical Statistics.* 29, 614.
 - Upasani SM, Kotkar HM, Mendki PS, Maheshwari VL (2003) Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L foliage flavonoids. *Pest Management Science* 59(12): 1349–1354
 - van Alphen, J.J.M. & Jervis, M.A. 1996. Foraging behaviour. In: Jervis M, Kidd N, eds. *Insect natural enemies: Practical approaches to their study and evolution.* Chapman and Hall, London: 1-62.

- Van Alphen, J.J.M. & L.E.M. Vet. 1986. An evolutionary approach to host finding and selection. In: Waage J. Greathead D. (eds) Insect parasitoids. Academic Press, London. Pp 23-61.
- Van dem Assem, J. 1986. Nating behaviour in parasitic wasp. In: Insect Parasitoids (eds. J. Waage and D, Greathead). Academic Press, pp 137-67.
- Van Driesche, R.G. 1983. Meaning of "Percent Parasitism" in Studies of Insect Parasitoids. Environmental Entomology, 12(6): 1611-1622.
- Van Driesche, R. G. 1994. Biological control for the control of environmental pests. Florida Entomologist 77: 20–33.
- Van Driesche , R. G. & T. S. Bellows , Jr . 1996. Biological Control. Chapman & Hall, New York. 539 p.
- Van Driesche, R.G., Hoddle, M.S. & T.D. Center. 2007. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. FHTET, USDA. USA. 765 p.
- Van Emden, H.F. 1985. Conservation biological control: from theory to practices. Procceding 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods. 199-208.
- van Lenteren, J.C. & J. Woetts. 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. Annual Review of Entomology 33: 239-269.
- van Lenteren, J.C. 2012. Th estate of comercial augmentative biological control: plenty of natural enemies but a frustrating lack of uptake. Biocontrol 57: 1-20
- Vargas, H. 1970. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera-Gelechiidae). IDESIA. V 1, p.75-110.
- Vásquez, C. & M.C. Ceballos. 2009. Susceptibilidad de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a los plaguicidas clorfenapir y abamectina en condiciones de laboratorio. IDESIA (Chile) Vol. 27, Nº 1; 23-28
- Vazirianzadeh, B., N. Kidd & M. Jervis. 2007. The effects of oral application of cyromazine and triflumuron on house-fly larvae. Journal of arthropod borne disease 1(2): 7-13
- Vendramin,J.D. & S.M. Torrecillas. 1998. Efecto de extractos acuosos de *Trichilia pallida* (Meliaceae) y genotipos resistentes de maíz sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith). In: Simposio Internacional sobre substancias vegetales y minerales en el combate de plagas. Acapulpo. P: 133-144

- Vendramim, J.D. & A.P.B.W. Thomazini. 2001. Traca Tuta absoluta (Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz. *Scientia Agricola* 58(3): 607-611.
- Vet, L.E.M. & K. Bakker. 1985. A comparative functional approach to the host detection behavior of parasitic wasp. 2. A quantitative study on eight eucoilid species. *Oikos*. 44: 487-498.
- Vet, L.E.M. & M.Dicke. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*. 37: 141-172.
- Vinson, S.B. 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*. 21: 109-133.
- Vinson, S.B. 1981. Habitat location, pp 51-78. In: *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*. (D.A. Nordlund, R.L.Jones, W.J.Lewis. Eds). John Wiley, New York.
- Vinson, S.B. 1984. Parasitoid-host relationship. In: W.J. Bell & R.T. Cardé (eds), *Chemical Ecology of Insects*, Sinauer Associates, Massachusetts. 524 p.
- Vinson, S.B. 1998. The General Host Selection Behavior of Parasitoid Hymenoptera and a Comparison of Initial Strategies Utilized by Larvaphagous and Oophagous Species. *Biological Control* 11(2): 79-96.
- Vinson, S.B. & G.F. Iwantsch. 1980. Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*. 25: 397-419.
- Vivian, L.M, J.B. Torres, R. Barros y A.F.S. Veiga. 2001. Tasa de crecimiento poblacional del chinche depredador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) y de la presa *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en invernadero. *Revista de Biología Tropical* 50(1): 145-153.
- Waage, J.K. 1978. Arrestment responses of a parasitoid, *Nemeritis canescens*, to a contact chemical produced by its host, *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology* 3: 135-146.
- Waage, J.K. 1979. Foraging for patchily distributed host by the parasitoid *Nemeritis canescens*. *Journal of Animal Ecology*. 48: 353-371.
- Waage, J.K. 1990. Ecological Theory and the selection of biological control agents. In: Mackauer, M., I.E. Ehler and J. Roland (Eds), *Critical Issues in Biological Control*. Intercept, Andover. UK.. pp 135-157.

- Waage, J. K. 1986. Family planning in parasitoids: adaptive patterns of progeny and sex allocation, pp. 63-95. In J. K. Waage and D. Greathead (eds.), Insect parasitoids. Academic Press, London.
- Walling, L. 2000. The myriad plant responses to herbivores. Journal of Plant Growth Regulation. 19: 195-216.
- Ware, G.W. & D.M. Whitacre. (2004) The Pesticide Book, 6th Ed. . Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio. 496 pp
- Warton, R.A. 1993. Bionomics of the Braconidae. Annual Review of Entomology 38: 121-143.
- Weiss, M. 2006. Defecation behaviour and ecology of insects. Annual Review of Entomology. 51: 635-561.
- Wheeler, D.A. & M.B. Isman. 2001. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia Americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. Entomologia Experimentalis et Applicata 98:9-16
- Wiebere, A.M., Webb, R.E., Ridgway, R.L., Thorpe, K.W., Reardon, R.C., Kolodnyhirsch, D.M. & K.M. Tatman. 1995. Effect of seasonal placement of *Cotesia melanoscela* (Hym.: Braconidae) on its potential for effective augmentative release against *Lymantria dispar* (Lep.: Lymantriidae). Entomophaga 40: 281 – 292.
- Xie, Y.S., Isman, M.B., Gunning, P., MacKinnon, S., Arnason, J.T., Taylor, D.R., Sanchez, P., Hasbun, C. & G.H.N. Towers. 1994. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against Lepidoptera larvae. Biochemical Systematics and Ecology 22(2): 129-136
- Zadoks, J.C. 1993. Crop Protection: Why and How. En "Crop Protection and Sustainable Agriculture" (D.J. Chadwick, J. March, eds.). John Wiley and Sons, Nueva York, N.Y. pp. 48-55.
- Zapata, N., P. Apata, E. Medina, F. Viñuela, & F. Budia. 2005. Toxicidad de malation, pimetrocina, piretrinas naturales+PBO y triflumuron en adultos del parasitoide *Psytalia concolor* (Szepliget) (Hym.: Braconidae) según el modo de aplicación. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas, 31:111-118.