



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Ecología, Genética y Evolución

Integración de alternativas no contaminantes para el manejo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): aplicación de la Técnica de la Esterilidad Heredada y el Control Biológico mediante entomófagos

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la

Universidad de Buenos Aires, área Ciencias Biológicas

Ing. Agr. Lucas Candás

Directora de Tesis: Dra. Silvia Noemí López

Directora adjunta de Tesis: Dra. Cynthia Lorena Cagnotti

Consejera de estudios: Dra. Marcela Castelo

Lugar de Trabajo: Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, CICVyA, INTA Castelar.

Fecha de Presentación: Buenos Aires, 12/02/2026

ÍNDICE

Resumen	5
Abstract	6
Capítulo I – Introducción general.....	8
1.1 Características del cultivo de tomate en Argentina	9
1.2 La polilla del tomate, <i>Tuta absoluta</i>	11
1.3 Manejo de la plaga	15
1.3.1 Monitoreo y trampeo masivo	15
1.3.2 Control químico	17
1.3.3 Control cultural	18
1.3.4 Control genético	19
1.3.4 Técnica del Insecto Estéril.....	20
1.3.5. Control biológico	23
1.3.6. Integración de la Esterilidad Heredada con el Control Biológico.....	28
1.4 Objetivo general	30
1.5 Objetivos específicos.....	30
1.6 Hipótesis de trabajo	31
Capítulo II - Control de <i>Tuta absoluta</i> mediante la integración de la EH y el CB con <i>Tupiocoris cucurbitaceus</i>	33
2.1 Introducción	33
2.2 Materiales y métodos.....	36
2.2.1 Crías de los insectos utilizados en los ensayos.....	36
2.2.2 Procedimiento para obtener especímenes de <i>Tuta absoluta</i> irradiados	38
2.2.3 Ensayo de supresión poblacional de <i>Tuta absoluta</i> mediante la integración EH-CB	40
2.2.4 Análisis estadístico	44
2.3 Resultados	45
2.4 Discusión	51
2.5 Conclusión.....	53

Capítulo III – <i>Goniozus legneri</i> como controlador biológico de <i>Tuta absoluta</i> y su integración con la EH	54
3.1 Introducción	55
3.2 Materiales y métodos.....	59
3.2.1 Origen de los insectos utilizados en los ensayos	59
3.2.2 Procedimiento para obtener las larvas utilizadas en los ensayos	59
3.2.3 Capacidad de <i>Goniozus legneri</i> para provocar mortalidad en larvas de <i>Tuta absoluta</i> en 24 horas.....	60
3.2.4 Capacidad de <i>Goniozus legneri</i> para provocar mortalidad en larvas de <i>Tuta absoluta</i> a lo largo de su vida.....	61
3.2.5 Tiempo de desarrollo y supervivencia de los estados preimaginales de <i>Goniozus legneri</i> y proporción sexual de la descendencia	62
3.2.6 Parámetros de crecimiento poblacional.....	63
3.2.7 Análisis estadístico	63
3.3 Resultados	64
3.3.1 Capacidad de <i>Goniozus legneri</i> para provocar mortalidad en larvas de <i>Tuta absoluta</i> en 24 horas.....	64
3.3.2 Capacidad de <i>Goniozus legneri</i> para provocar mortalidad en larvas de <i>Tuta absoluta</i> a lo largo de su vida.....	65
3.3.3 Tiempo de desarrollo y supervivencia de los estados preimaginales de <i>Goniozus legneri</i> y proporción sexual de la descendencia	68
3.3.4 Parámetros de crecimiento poblacional.....	70
3.4 Discusión	70
3.5 Conclusión.....	74
Capítulo IV – Integración de la EH y el uso del parasitoide <i>Pseudapanteles dignus</i> para el manejo de <i>Tuta absoluta</i>	75
4.1 Introducción	76
4.2 Materiales y métodos.....	81
4.2.1 Origen de los insectos utilizados en los ensayos	81
4.2.2 Procedimiento para obtener las larvas utilizadas en los ensayos	81
4.2.3 Aceptación y adecuación de larvas descendientes de machos irradiados de <i>T. absoluta</i> para el desarrollo de <i>P. dignus</i> y preferencia del parasitoide..	81
4.2.4 Ensayo de integración EH-CB.....	84

4.2.5 Análisis estadísticos	86
4.3 Resultados	87
4.3.1 Aceptación y adecuación de larvas descendientes de machos irradiados de <i>T. absoluta</i> para el desarrollo de <i>P. dignus</i> y preferencia del parasitoide ..	87
4.3.2 Ensayo de integración EH-CB	89
4.4 Discusión	96
4.5 Conclusión	99
5.1. Introducción	100
Capítulo V – Validación a semi-campo de la integración entre la EH y el uso del depredador <i>Tupiocoris cucurbitaceus</i> para el manejo de la polilla del tomate	100
5.2. Materiales y métodos	102
5.3 Resultados	104
5.4 Discusión	109
5.5 Conclusión	111
Capítulo VI - Consideraciones finales	112
Referencias bibliográficas	115
Anexo I. Condiciones ambientales durante los experimentos	136

Integración de alternativas no contaminantes para el manejo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): aplicación de la Técnica de la Esterilidad Heredada y el Control Biológico mediante entomófagos

Resumen

La polilla del tomate, *Tuta absoluta*, causa graves pérdidas en la producción de tomate a nivel mundial. Aunque el control químico sigue siendo el método más usado, la aparición de poblaciones resistentes y los impactos ambientales exigen alternativas sostenibles, como el Control Biológico (CB) con entomófagos y la Esterilidad Heredada (EH). Para una integración efectiva CB-EH, los enemigos naturales no deben afectar más a los descendientes de insectos irradiados que a sus conespecíficos silvestres, ni su desarrollo verse perjudicado por aquellos. El objetivo general de esta tesis fue evaluar la integración de la EH con distintos enemigos naturales de *T. absoluta*. En ensayos en jaulas, la combinación del depredador *Tupiocoris cucurbitaceus* con la EH suprimió significativamente la población de la plaga. Además, se encontró un efecto sinérgico entre ambas estrategias. Además, se presentan los primeros estudios sobre el desempeño del parasitoide *Goniozus legneri* como enemigo natural de *T. absoluta*. Se observó un desarrollo adecuado en larvas de los dos orígenes estudiados (♂ irradiados x ♀ no tratadas y ambos parentales no tratados), aunque sus parámetros biológicos resultaron inferiores a los de otros enemigos naturales de *T. absoluta*. En estudios con el parasitoide *Pseudapanteles dignus*, se obtuvo un desempeño similar en larvas de ambos orígenes, y no se observó preferencia entre ellas. En jaulas, la combinación CB-EH redujo más la población de la plaga que cada técnica por separado, aunque sin efecto sinérgico. Dado que *T. cucurbitaceus* mostró la mejor integración con la EH, se realizó una validación en un ensayo en invernadero bajo condiciones análogas a las de un cultivo de tomate comercial, mediante el cual pudo corroborarse su eficacia para suprimir la población de *T. absoluta*. Estos resultados respaldan la viabilidad de combinar CB y EH como estrategia sostenible contra esta plaga.

Palabras clave: *Tuta absoluta*, *Tupiocoris cucurbitaceus*, *Goniozus legneri*, *Pseudapanteles dignus*, Control biológico, Esterilidad Heredada.

Integration of non-polluting alternatives for the management of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): application of the Inherited Sterility Technique and Biological Control using entomophagous agents

Abstract

The tomato leafminer, *Tuta absoluta*, causes significant losses in global tomato production. While chemical control is the most widely used method, the emergence of resistant populations and the environmental impact require the search of sustainable alternatives, such as Biological Control (BC) with entomophagous insects and Inherited Sterility (IS). For an effective BC-IS integration, it is essential that natural enemies do not negatively affect the offspring of irradiated insects compared to their wild counterparts, nor should their development be adversely affected by the irradiated insects. The main objective of this thesis was to evaluate the integration of IS with different natural enemies of *T. absoluta*. In cage trials, the predatory bug *Tupiocoris cucurbitaceus* combined with IS significantly suppressed the pest population. Furthermore, a synergistic effect was found between both strategies. Besides, the results of this thesis provide the first studies on the performance of the parasitoid *Goniozus legneri* as a natural enemy of *T. absoluta*. While it successfully developed on larvae from both crosses (irradiated ♂ × untreated ♀ and untreated parents), its biological parameters were inferior to those of most other known natural enemies of *T. absoluta*. In the case of the parasitoid *Pseudapanteles dignus*, it was observed that its performance was similar on larvae from both origins, showing no preference. In cage trials, the BC-IS combination reduced the pest population more than either technique alone, though no synergistic effect was detected. Since *T. cucurbitaceus* showed the best integration with IS, a validation trial was conducted under greenhouse conditions that resemble commercial tomato production. The results confirmed its efficacy in suppressing *T. absoluta* populations. These findings support the feasibility of combining BC and IS as a sustainable strategy against this pest.

Keywords: *Tuta absoluta*, *Tupiocoris cucurbitaceus*, *Goniozus legneri*, *Pseudapanteles dignus*, Biological Control, Inherited Sterility.

Agradecimientos

La realización de esta tesis no hubiera sido posible sin la inestimable ayuda, directa o indirecta, de muchas de personas. Especialmente me gustaría agradecer:

A las Dras. Silvia López y Cynthia Cagnotti, por su dirección durante la tesis y sus valiosos aportes desde el primer hasta el último día de este proceso.

Al CEPAVE, especialmente a las Dras. Nadia Salas Gervassio y Consuelo Vallina por compartir sus conocimientos sobre la biología de *Pseudapanteles dignus*.

A la Mg. Silvina Garrido y a la Dra. Liliana Cichón por recibirme en las instalaciones del CEMUBIO, y por la provisión de los individuos de *Goniozus legneri* para los ensayos.

Al Instituto de Genética Ewald A. Favret-INTA, especialmente al Lic. Fabián Milla por su asistencia durante toda la tesis con la irradiación de los insectos.

Al Instituto de Floricultura-INTA, por permitirme utilizar un invernáculo de sus instalaciones para poder realizar el ensayo de validación.

Al CONICET por el financiamiento de la beca que me permitió dedicarme exclusivamente a la realización de la tesis.

Al IMyZA-INTA, por brindarme los insumos y las instalaciones en las que se llevaron a cabo la mayoría de los ensayos.

A mis padres por confiar en mis capacidades y darme las palabras de apoyo tan necesarias en los momentos difíciles.

A mi amor, Leti, por contenerme en el día a día durante tantos años y por darme su cariño y comprensión en toda circunstancia.

A mi pequeña Cami, la alegría de nuestros días Gracias por venir a llenarnos de amor y felicidad nuestras vidas.

Capítulo I – Introducción general



1.1 Características del cultivo de tomate en Argentina

El tomate, *Solanum lycopersicum* L. (Solanales: Solanaceae), es una planta herbácea originaria de la región andina de América, desde donde se extendió a América Central, región en la cual se cree que fue domesticada (Argerich y Troilo 2011). En la actualidad, se cultiva ampliamente en todo el mundo para consumir su fruto, en fresco y procesado. Ocupa el segundo lugar en importancia entre los cultivos hortícolas a nivel mundial, después de la papa, tanto por el volumen producido como por la superficie utilizada para su cultivo (alrededor de 190 millones de toneladas en más de 5 millones de ha) (FAO 2022).

En nuestro país, existen diferentes zonas donde se lleva a cabo el cultivo de tomate y, con esto, se consigue un suministro constante al mercado local con productos frescos. Sin embargo, en algunos momentos particulares del año o en años con situaciones climáticas desfavorables, se recurre ocasionalmente a importaciones desde países limítrofes. En cuanto a la cantidad de tomate para industria, Argentina es deficitaria, siendo Chile e Italia los principales países desde los cuales se importa (Ministerio de Economía 2023).

Si bien existe producción tomatera en la mayoría de las provincias argentinas y en todos los cinturones verdes de las grandes urbes, la actividad se concentra en determinadas zonas, donde también existe una especialización en el tipo de producción y su destino. Así, la región de Cuyo (Mendoza y San Juan) se orienta a la producción de tomate para industria (4.900 ha), el cinturón hortícola de La Plata ofrece una producción estacional para consumo en fresco (1.500 ha) y las regiones del noreste argentino (Corrientes, 900 ha) y del noroeste argentino (Salta y Jujuy, 3.500 ha) se enfocan en cubrir los mercados en contra estación de fruta fresca. La superficie total destinada al cultivo de tomate en todo el país asciende a aproximadamente 17.000 ha (10.500 para consumo fresco y 6.500 para industria) (del Pino 2022, Ministerio de Economía 2023).

El sistema de producción varía según la época de abastecimiento al mercado y el destino de los frutos. La producción en la región cuyana se realiza principalmente a campo (sin una estructura de protección a las bajas temperaturas). En el cinturón hortícola

platense coexisten tanto cultivos a campo como bajo cubierta, y en el NOA y el NEA, como la producción se realiza mayormente en los meses más fríos del año, los cultivos se desarrollan en mayor medida protegidos bajo invernáculo (Figura 1) (Ministerio de Economía 2023).



Figura 1. a) Cultivo de tomate bajo invernáculo y b) cultivo de tomate a cielo abierto (Fuente: <https://www.diariouno.com.ar/economia/mendoza-y-san-juan-concentran-el-80-la-produccion-nacional-tomates-n1026557>).

A lo largo del ciclo de producción, pueden presentarse una serie de adversidades tanto bióticas como abióticas que afectan al rendimiento y a la calidad del cultivo. Según la FAO (2016), una plaga es “cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales”, por lo cual, a esta definición se ajusta tanto a las enfermedades causadas por microorganismos patógenos, como a los artrópodos fitófagos que se alimentan de las plantas cultivadas.

Entre los artrópodos plaga que adquieren mayor relevancia en los cultivos de tomate en Argentina por los daños que ocasionan y por los costos que demandan para su manejo, se pueden citar moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae), algunas especies de arañuelas (Acari: Tetranychidae), pulgones (Hemiptera: Aphididae), el ácaro bronceador *Aculops lycopersici* (Tryon) (Acari: Eriophyidae), trips (Thysanoptera: Thripidae) y larvas defoliadoras de lepidópteros de diferentes especies. Entre estas últimas, la polilla del

tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) tiene especial relevancia debido a su difícil control (Cáceres 2020).

1.2 La polilla del tomate, *Tuta absoluta*

Tuta absoluta es un microlepidóptero de distribución Neotropical, originario de la región andina del norte de Sudamérica. Esta especie fue descrita originalmente por Meyrick en el año 1917 como *Phthorimaea absoluta* a partir de un único espécimen macho recolectado a 3.200 msnm en la localidad de Huancayo, Perú (Meyrick 1917).

Su clasificación ha sido objeto de revisiones en varias ocasiones. En 1962, su nombre se modificó a *Gnorimoschema absoluta*, en 1964 a *Scrobipalpula absoluta*, en 1987 a *Scrobipalpuloides absoluta* y en 1994, Povolny la reubicó en el nuevo género *Tuta* (Povolny 1994). Estudios recientes basados en análisis cladístico proponen devolverla a la primera denominación otorgada por Meyrick (Chang y Metz 2021). Dado que no existe un criterio unificado, en el presente estudio se utiliza el nombre *Tuta absoluta* de forma consistente.

En Argentina se la registró por primera vez en 1964 en la provincia de Mendoza, proveniente de frutos importados desde Chile (Bahamondes y Mallea 1969). Durante muchos años, su distribución estuvo circunscripta a Sudamérica, comportándose como una de las plagas más devastadoras del cultivo de tomate en la región. Sin embargo, en el año 2006 se la introdujo accidentalmente en España (Urbaneja et al. 2007). Posteriormente, se comprobó que los individuos invasores procedían de una única población inicial originaria de Chile (Guillemaud et al. 2015).

A partir de entonces, *T. absoluta* se dispersó velozmente y empezó a ocasionar graves daños económicos en los cultivos de tomate de la nueva zona invadida, primero por los países mediterráneos, y luego en nuevas regiones de los continentes de Europa, Asia y África (Desneux et al. 2011, Biondi et al. 2018, Mansour et al. 2018, Zhang et al. 2021) (Figura 2). La dispersión continúa hasta la fecha, con presencia en más de 100 países (EPPO 2024), amenazando la producción de tomate a nivel mundial.

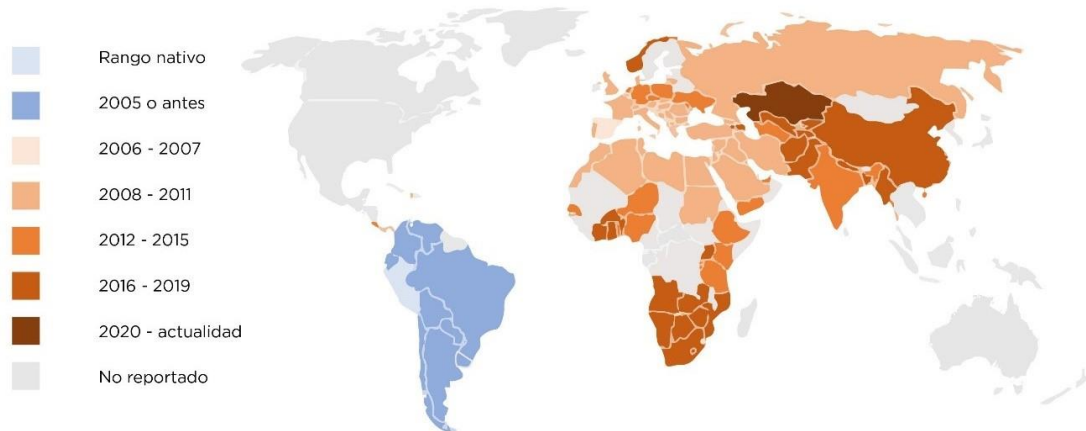


Figura 2. Cronología de invasiones y distribución actual de la polilla del tomate, *Tuta absoluta*, adaptado de Biondi et al. (2018) y actualizado con información de EPPO (2025).

El carácter invasor de la polilla del tomate se debe a algunas características propias de la especie. Entre ellas, las principales son el hábito críptico de las larvas, su polivoltinismo, su gran capacidad de dispersión, su resistencia a varios principios activos comúnmente utilizados para controlar insectos plaga y su capacidad de sobrevivir a temperaturas bajas (Li et al. 2021, Sylla et al. 2019).

Se trata de una especie oligófaga, que se alimenta principalmente de plantas de la familia de las solanáceas (Idriss et al. 2020). Aunque solo se comporta como una plaga clave en el cultivo de tomate, también se la ha reportado alimentándose de otras especies, tanto cultivadas, como berenjena (*Solanum melongena* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), como también de especies silvestres, como *Nicotiana glauca* Graham, *Solanum americanum* Miller, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck and *Salpichroa origanifolia* (Lam.) Baill. (Portakaldali et al. 2013, Bawin et al. 2016, Salas Gervassio et al. 2016).

Es un insecto holometábolo, cuyo ciclo biológico consta de 4 estados, huevo, larva, pupa y adulto (Figura 3), los que tienen las siguientes características (Vargas 1970, Larraín 1992, Estay 2000):

- Los huevos son de forma ovalada, de un tamaño aproximado de 0,4 mm de largo por 0,2 mm de diámetro (Figura 3a). Las hembras oviponen sobre hojas y brotes tiernos, o sobre estructuras reproductivas de la planta. Recién depositados son de color blanco, con el transcurrir del desarrollo embrionario se van volviendo amarillentos, y cuando están cerca de eclosionar, adquieren un color marrón claro.



Figura 3. Estados de desarrollo de la polilla del tomate *Tuta absoluta*. a) Huevo; b) Larva; c) Pupa; d) Cópula de adultos.

En el estado larval se observan cuatro estadios. Es en esta etapa en la cual la polilla ocasiona los daños a las plantas. Recién emergida, la larva neonata (0,9 mm de largo aproximadamente) utiliza su aparato bucal masticador, con mandíbulas fuertemente esclerotizadas, y perfora la epidermis de la hoja para alimentarse del mesófilo, generando galerías transparentes, mientras que el resto del tejido epidérmico queda intacto (Figura 4a). Este daño, por un lado, produce una disminución en la superficie fotosintética de la planta y, por otro, genera una

potencial puerta de entrada para patógenos oportunistas. Por otra parte, las larvas también pueden alimentarse de brotes nuevos (alterando la dominancia apical y el normal desarrollo de las plantas) o de frutos (dejándolos no aptos para la comercialización) (Figura 4b). Al finalizar el cuarto estadio, en el que la larva adquiere una coloración rosada, generalmente abandona la galería, cesa su alimentación y busca un lugar propicio para empupar.

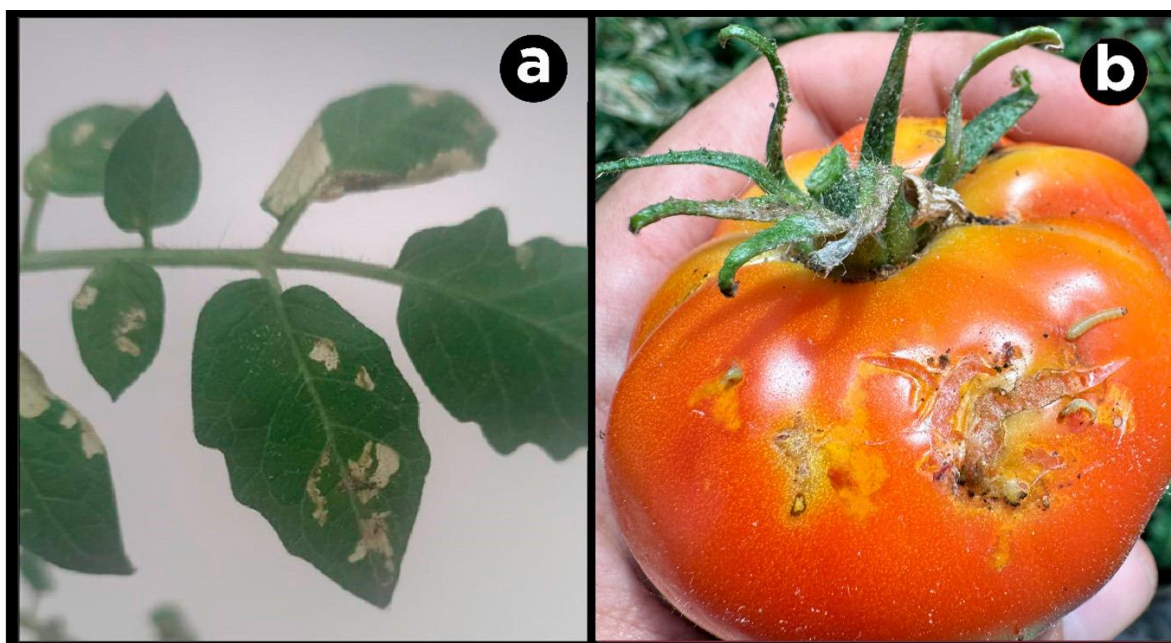


Figura 4. Daño ocasionado por *Tuta absoluta*. a) Galerías en hojas, con larvas en su interior; b) Detalle de daños ocasionados por larvas en un fruto.

- El estado de pupa puede desarrollarse sobre el tejido vegetal, sobre la hojarasca o en la zona superficial del suelo. La larva IV suele dejarse caer y luego teje un capullo de seda blanco donde empupa. El color de la pupa recién formada es verde claro, y se va oscureciendo a medida que transcurren los días. Las pupas son del tipo obtectas. El peso y tamaño varían según el sexo, siendo mayores las hembras, en general. El tamaño aproximado de una pupa es de 6 mm de largo y 3 mm de ancho (Figura 3c).

- El imago es una pequeña polilla de color grisáceo jaspeado. Las hembras y los machos no se diferencian macroscópicamente y poseen reproducción sexual. Se ha determinado que, en ciertas poblaciones de áreas invadidas, existe la posibilidad de reproducción partenogenética (Caparros-Megido et al. 2012, Abbes y Chermiti 2014). No obstante, en individuos colectados en regiones productoras de tomates en Argentina, Cagnotti et al. (2023) hallaron que las hembras no apareadas solo pueden oviponer huevos infértiles. La cópula puede llevarse a cabo apenas emergen los adultos (Figura 3d).

1.3 Manejo de la plaga

El manejo de *T. absoluta* debe abordarse bajo el marco del Manejo Integrado de Plagas (MIP), que propone la combinación racional de métodos biológicos, culturales, físicos y químicos, con el objetivo de mantener las poblaciones de plagas por debajo del umbral económico y minimizar los impactos negativos sobre el ambiente y la salud humana (Kogan 1998, Ehler 2006). Dentro de este enfoque, el control químico constituye solo una de las herramientas disponibles y debe emplearse en forma complementaria y racional. Sin embargo, las características biológicas y comportamentales de la polilla del tomate dificultan su control. En particular, la aplicación eficaz de insecticidas se ve obstaculizada por los hábitos minadores de las larvas, que permanecen protegidas dentro del tejido foliar y escapan al contacto directo con los productos (Cocco et al. 2012). Por ello, la implementación de estrategias integradas resulta esencial para lograr un manejo sostenible y efectivo de la plaga (Biondi et al. 2018, Desneux et al. 2011).

1.3.1 Monitoreo y trampeo masivo

Para lograr una detección temprana y evitar llegar a niveles poblacionales de la plaga que revistan un gran daño económico, resulta fundamental realizar un eficiente monitoreo en etapas tempranas del cultivo. Si el método es aplicado correctamente, brinda una herramienta clave que contribuye a definir cuál será la estrategia más adecuada para el control, el momento oportuno para utilizarla y detectar problemas si resulta insatisfactoria (Polack y Mitidieri 2012). Dentro de las opciones de monitoreo de plagas, una de las más

ampliamente aceptadas es la basada en capturas en trampas cebadas con feromonas sexuales sintéticas, que puede determinar con precisión la presencia de un insecto plaga y cuándo comienza su periodo de vuelo estacional (Witzgall et al. 2010).

Al igual que en otros lepidópteros, la feromona sexual de *T. absoluta* está compuesta por una combinación de moléculas volátiles, que desencadenan la atracción de los machos a distancia y también provocan la aparición de comportamientos de cópula (Linn et al. 1987). La utilización de la feromona sexual femenina para capturar machos tiene larga data en esta especie. Fue identificada en 1995, y es actualmente considerada un método confiable para detectar la presencia de la polilla en los cultivos (Caparros-Megido et al. 2013). Varias clases de trampas cebadas con feromonas han sido utilizadas para monitorear poblaciones de *T. absoluta* como trampas de agua, trampas pegajosas y trampas delta (Caparros-Megido et al. 2013).

Las trampas de feromona pueden, incluso, utilizarse como método de trampeo masivo. No obstante, teniendo en cuenta que este método solo sirve para atrapar machos, algunas de las características reproductivas de esta especie, como la reproducción partenogenética (Caparros-Megido et al. 2012, Abbes y Chermiti 2014, Grant et al. 2021), la capacidad de apareamiento múltiple (Lee et al. 2014) y el hecho de que una hembra puede poner más de 250 huevos durante su vida (Cuthbertson et al. 2013), alertan sobre la eficiencia de este método. Una opción para reducir este sesgo hacia la captura de machos podría ser combinar las trampas de feromonas con otro tipo de trampas que son atrayentes para ambos sexos, como las trampas de luz.

Como complemento a la utilización de trampas para capturar adultos se realiza el monitoreo directo de las etapas preimaginales del insecto presentes en las plantas, método que se considera como el más eficiente para tener certeza del momento oportuno en el cual tomar una medida de manejo, como el control químico (Cáceres 2020). El conteo de huevos resulta ser una tarea demasiado costosa en términos de mano de obra dado su pequeño tamaño y su distribución aleatoria en el cultivo, con lo cual frecuentemente se recurre al conteo de minas generadas por las larvas. En Argentina, Polack y Mitidieri (2012)

recomendaron realizar un muestreo aleatorio de planta, registrando en cada una el número de folíolos con galerías que evidencien daño reciente. Cuando el promedio supere los 2 folíolos dañados por planta, se sugiere implementar medidas de control. Cocco et al. (2015), desarrollaron un plan de muestreo secuencial binomial, que vincula la presencia de minas en el tercio medio de la planta con el daño en la fruta. Los autores concluyeron que este método, además de ser considerablemente menos laborioso que otros, y permite predecir con precisión el nivel de daño en frutos a partir de la presencia de minas.

Si bien el monitoreo resulta relevante para llevar a cabo un manejo integrado de la polilla del tomate, y el trampeo masivo podría reducir el daño económico ocasionado, estos métodos por sí solos no son suficientes para controlar a esta plaga en las densidades en las que habitualmente se la puede encontrar en los cultivos.

1.3.2 Control químico

A lo largo de los años, el control de *T. absoluta* ha estado mayormente basado en la aplicación de insecticidas de síntesis química. El excesivo uso de estos productos ha generado la aparición de poblaciones resistentes a varios principios activos, tanto en su región de origen (Salazar y Araya 1997, Siqueira et al. 2001, Lietti et al 2005, Campos et al. 2014, Campos et al. 2015), como en Europa (Roditakis et al. 2017) y Asia (Li et al. 2022). Dentro de la amplia gama de productos frente a los cuales se ha reportado resistencia en *T. absoluta* se incluyen organoclorados, organofosforados, piretroides, abamectina, spinosad, diamidas, entre otros. Esta problemática representa un desafío significativo para el manejo de esta plaga y, además, produce efectos perjudiciales (tanto letales como subletales) en organismos no blanco, fundamentalmente en el complejo de enemigos naturales (Desneux et al. 2007), aumento de los costos de producción e impactos negativos en el medio ambiente y la salud humana (Rwomushana et al. 2019, Papari et al. 2024, Shekhar et al. 2024). A raíz de esto, se ha propulsado la investigación y el desarrollo de medidas de control alternativas, más sostenibles a largo plazo desde el punto de vista ambiental y productivo, que van de a poco complementando o reemplazando parcialmente al control químico (Figura 5).

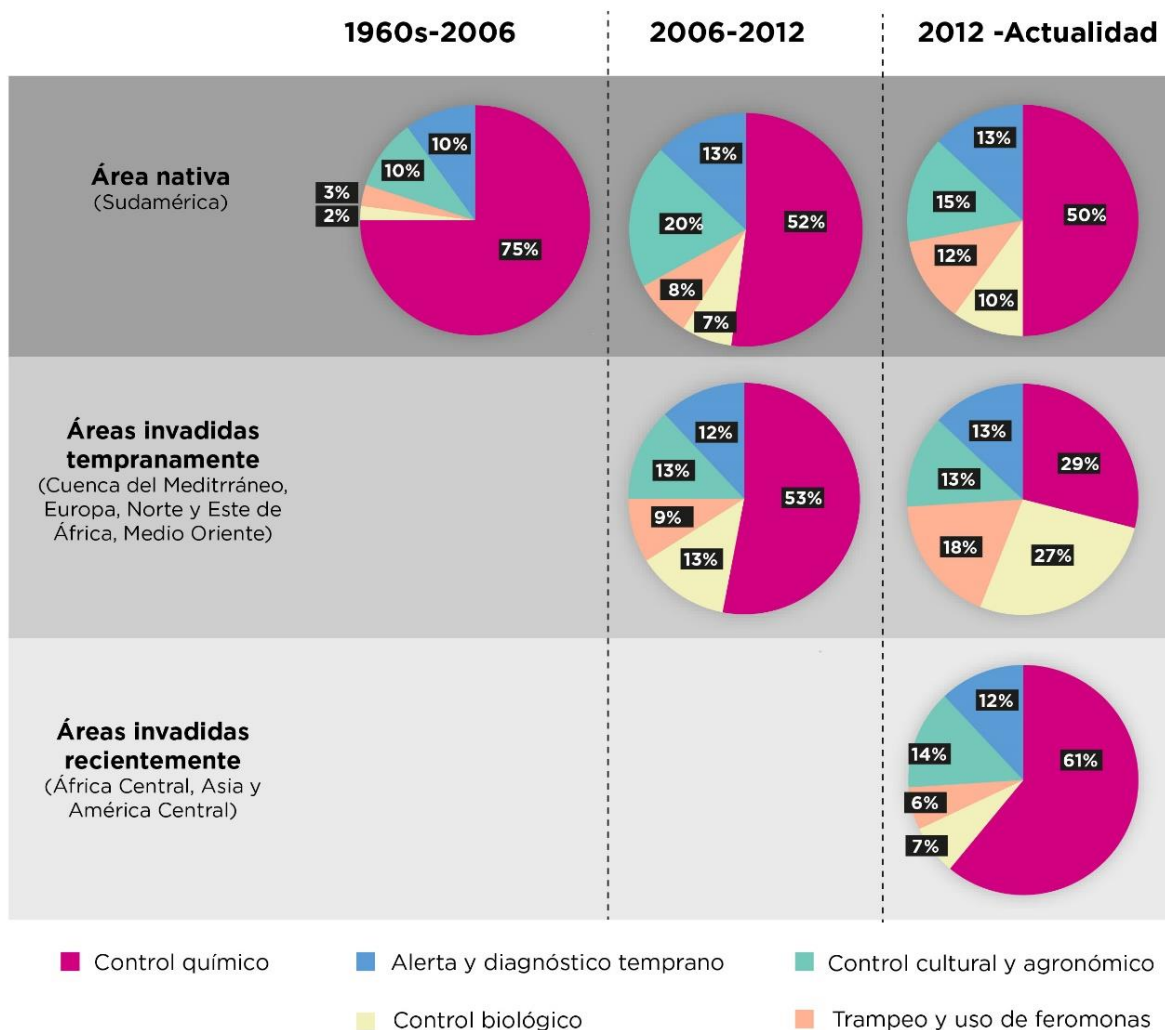


Figura 5. Diagrama con las proporciones de estrategias de control utilizadas, y su variación con el transcurso del tiempo, para el manejo integrado de *Tuta absoluta* en su área nativa y en las áreas invadidas temprana y recientemente (adaptado de Desneux et al. 2022).

1.3.3 Control cultural

Las prácticas agronómicas orientadas a reducir el daño ocasionado por *T. absoluta* comenzaron a implementarse desde los primeros momentos en que esta plaga adquirió relevancia. Bahamondes y Mallea (1969) recomendaban el corte y posterior quema de los restos del cultivo una vez finalizada la campaña y el paso de herramientas de laboreo del

suelo para controlar las pupas. Más recientemente, se estudiaron técnicas más sofisticadas, como la manipulación de la fertilización nitrogenada y el riego, con el objetivo de generar un efecto *bottom-up* que impacte negativamente la dinámica poblacional de la polilla del tomate. Una menor provisión de nitrógeno al cultivo y la restricción del riego demostró ser perjudicial para la población de *T. absoluta* (Han et al. 2014), sin embargo, esta estrategia también resultó perjudicial para algunos de sus enemigos naturales (Han et al. 2015a, 2015b). Además, aún no se evaluaron los efectos de estas prácticas en el rendimiento del cultivo.

Entre otros métodos culturales que contribuyen a disminuir la presión de esta plaga podemos mencionar la colocación de barreras físicas que eviten la entrada de insectos al cultivo bajo invernáculo, como las mallas antiáfidos o el uso de puertas dobles. Desneux et al. (2022) destacan que la remoción del material vegetal afectado por *T. absoluta* en etapas tempranas del cultivo para evitar de esta manera niveles poblacionales iniciales elevados. Finalmente, el control de malezas en las cercanías al cultivo, ya que podrían ser hospedantes alternativos, y la rotación de cultivos pueden ser medidas que colaboren en reducir la incidencia de *T. absoluta*.

1.3.4 Control genético

Otra línea de estudio consiste en el uso de cultivares de tomate resistentes a *T. absoluta*. En este sentido, se han evaluado genes de resistencia en el germoplasma de *S. lycopersicum* (Sohrabi et al. 2016), y en ancestros silvestres (Pereira et al. 2008). También se han registrado avances en el desarrollo de plantas transgénicas que expresan el gen *cry1Ac*, responsable de la producción de proteínas insecticidas, que confieren resistencia frente a *T. absoluta* (Selale et al. 2017). En paralelo, en los últimos años se han desarrollado estrategias de control genético dirigidas directamente a las poblaciones de insectos plaga, incluyendo herramientas de edición génica (CRISPR/Cas) y sistemas de herencia dirigida (*gene drives*), que permiten inducir esterilidad o reducir la viabilidad poblacional sin recurrir a métodos clásicos como la radiación (Leftwich et al. 2018, Scott et al. 2018). Estas tecnologías han mostrado resultados promisorios en distintos insectos de importancia

agrícola y sanitaria, aunque su aplicación operativa aún se encuentra en evaluación experimental y su implementación está sujeta a consideraciones regulatorias y bioéticas (Teferra 2021).

1.3.4 Técnica del Insecto Estéril

La Técnica del Insecto Estéril (TIE) es un método de control de plagas de alta especificidad y bajo impacto ambiental, utilizado desde hace décadas, generalmente como parte de una estrategia de manejo integrado. Incluye las siguientes etapas:

- a) Cría de la especie del insecto objetivo: se establece un protocolo de cría en un insectario, donde se obtendrán grandes cantidades del insecto que se quiere controlar.
- b) Exposición de los insectos a radiación ionizante: los insectos obtenidos de la cría de laboratorio son expuestos a alguna fuente de radiación ionizante para inducir la esterilidad sexual, dejando a los insectos incapaces de reproducirse. El tipo de radiación más comúnmente utilizado son los rayos Gamma, aunque actualmente se fomenta el uso de irradiadores de rayos X de baja energía, para evitar ciertos costos e inconvenientes de transporte, seguridad y regulatorios relacionados con las fuentes radioactivas (Bakri et al. 2021).
- c) Liberación de los insectos irradiados: después de la irradiación, los insectos esterilizados se liberan en grandes cantidades en el lugar donde se desea controlar la población silvestre de la especie objetivo.
- d) Apareamiento y prevención de la reproducción: los insectos estériles liberados se aparean con los silvestres presentes en la población sin dejar descendencia viable, reduciendo el tamaño de la población de la plaga a lo largo del tiempo (Knipling 1955).

La TIE, en sus inicios, fue particularmente utilizada para el control y la erradicación de tefrítidos (Diptera: Tephritidae) plagas de la agricultura, con muchos casos exitosos reportados en distintas partes del mundo (Klassen y Vreysen 2021). Las tendencias actuales

en programas que utilizan esta técnica, sin embargo, apuntan a la supresión de las poblaciones de las plagas objetivo en lugar de su erradicación. Las causas para este cambio de enfoque son tanto técnicas como económicas, incluyendo la falta de propensión de los países de establecer cuarentenas que perjudiquen el comercio internacional y dificultades para mantenerlas de manera efectiva (Mumford 2021).

1.3.4.1 TIE en el orden Lepidoptera: Esterilidad Heredada

Las especies del orden Lepidoptera son altamente resistentes a la irradiación en comparación con insectos de otros órdenes, y, a su vez, los machos son más radorresistentes que las hembras (LaChance 1967). Esta característica conduce a que las dosis de radiación necesarias para producir esterilidad completa en los machos sean tan altas que suelen provocar una reducción en su capacidad de dispersión y de apareamiento con hembras silvestres en relación con los insectos no tratados (Marec et al. 2021). A fin de reducir estos efectos negativos de la radiación sobre los machos, se utilizan dosis subesterilizantes, que esterilizan parcialmente al macho irradiado de modo que su desempeño en la búsqueda y apareamiento no se vea afectado (North 1975). De esta forma, una dosis de radiación óptima para poder aplicar la TIE en Lepidoptera es aquella que esteriliza parcialmente a los machos, pero completamente a las hembras. Esta técnica es denominada Esterilidad Heredada (EH), aunque también se la conoce como Esterilidad Parcial Heredada, Esterilidad Parcial, Esterilidad Retardada, Semi-Esterilidad y Esterilidad F1.

Según LaChance (1985), existen algunas características comunes cuando se aplica esta técnica a distintas especies del orden Lepidoptera:

- a) Tanto machos como hembras de la generación filial F1 son más estériles que los machos irradiados.
- b) La proporción sexual de la F1 es sesgada hacia los machos.
- c) El tiempo de desarrollo de la F1 es más prolongado.
- d) La calidad del esperma se ve reducida en la generación F1.

e) Algunos efectos deletéreos pueden ser heredados durante varias generaciones, no obstante, la mayoría se expresan más frecuentemente en la generación F1.

1.3.4.2 Esterilidad Heredada en *Tuta absoluta*

Se han realizado una serie de trabajos con el objetivo de sentar las bases para el desarrollo de la técnica de EH en la polilla del tomate. Cagnotti et al. (2012) aplicaron diferentes dosis de rayos X sobre pupas de *T. absoluta* y determinaron que la dosis mínima para obtener hembras completamente estériles es de aproximadamente de 20.834 Roentgen, equivalentes a 200 Grays (Gy), mientras que dosis de 200-250 Gy pueden inducir EH en machos. Según este mismo trabajo, las hembras no tratadas cruzadas con machos irradiados tuvieron una menor fecundidad y fertilidad que las hembras cruzadas con machos no tratados a medida que aumentaron las dosis de radiación. Por otra parte, las proporciones sexuales de la primera y segunda generación filial de machos irradiados no resultaron sesgadas hacia los machos. Los autores concluyen que la estrategia más apropiada para el manejo de las poblaciones de *T. absoluta* sería la liberación de hembras completamente estériles y machos parcialmente estériles con una dosis óptima de radiación de 200 Gy. En otro estudio se hicieron liberaciones inundativas de adultos de *T. absoluta* estériles en ensayos en jaulas, donde se encontró que, a partir de una proporción de 15:1 (irradiados: no irradiados) podría alcanzarse una significativa reducción poblacional de la polilla (Cagnotti et al. 2016a).

Los efectos citológicos que produce la radiación X en el cariotipo de *T. absoluta* fueron analizados por Carabajal Paladino et al. (2016), quienes encontraron que la morfología espermática y la proporción de espermatozoides viables se vio afectada negativamente en individuos irradiados con rayos X. Hallaron que la dosis de 200 Gy generó translocaciones y fragmentaciones cromosómicas mientras que dosis de 100, 150, 200, 250 y 300 Gy provocaron modificaciones en la morfología de los sacos de espermatozoides. Los machos tratados con 200 Gy transfirieron una cantidad mayor de espermatozoides deformes que los individuos no irradiados a las *bursae copulatricae* de las hembras durante la cópula. A partir

de estos resultados, señalaron que la deformación de los paquetes de esperma podría ser utilizado como bioindicadores durante un eventual monitoreo en programas de EH luego de la liberación de machos irradiados. A partir de estos estudios sobre EH en *T. absoluta*, se evidencia el potencial de su implementación dentro de una estrategia de manejo integrado de esta plaga.

1.3.5. Control biológico

El control biológico (CB) es un método de control de plagas que utiliza a sus enemigos naturales (ENs) con el propósito de reducir su abundancia por debajo del nivel en que causan perjuicios económicos (DeBach 1974, Hoddle y van Driesche 2009). De manera más amplia, la Organización Internacional para el Control Biológico (IOBC, <http://www.iobc-global.org>) define al CB como el uso de organismos vivos o de sus productos para prevenir o reducir las pérdidas o los daños causados por organismos plaga. La mayoría de los autores diferencian al CB del control natural: mientras este último se trata de la reducción de la población de una especie por un EN de ocurrencia espontánea en la naturaleza (van Lenteren 2012), el CB incluye una finalidad e intervención humana (Bale et al. 2008).

Los ENs se pueden clasificar, en términos generales, en organismos entomopatógenos por un lado (hongos, bacterias, virus, nematodos) y entomófagos por otro (depredadores y parasitoides) (Jacas y Urbaneja 2008). En cuanto al modo en que estos organismos atacan a las plagas, los entomopatógenos pueden penetrar a través de la cutícula externa de los insectos causando una infección sistémica (especialmente hongos) o provocar la infección y muerte del hospedador tras su ingestión (principalmente virus y bacterias) (Stenberg et al. 2021). Entre los EN entomófagos, existen organismos que matan y consumen a sus presas (depredadores) y otros que oviponen sobre o dentro de sus hospedadores, los que posteriormente son consumidos por la descendencia del EN (parasitoides).

Existen tres tipos diferentes de CB según la forma de manipular a los EN entomófagos en el ecosistema y el objetivo de dicha manipulación: clásico, aumentativo y por conservación:

- CB clásico: consiste en la importación de ENs exóticos con el objeto de regular la población de una especie plaga (Caltagirone 1981). Por lo general, se utiliza este tipo de CB para una especie objetivo que es exótica y ha llegado a una densidad poblacional mayor que en su ambiente nativo por condiciones más favorables entre las que se encuentra la ausencia de ENs en el área invadida (Caltagirone 1981). Esta práctica no ha estado libre de controversias, debido al potencial riesgo ecológico que podría significar para el equilibrio ambiental la introducción de una nueva especie. No obstante, los avances en la investigación en este campo han permitido reforzar la seguridad ambiental del CB clásico, a partir del análisis de riesgo previo a la liberación, la aplicación de un enfoque ecológico en la selección de los agentes de control biológico, y el seguimiento posterior de los efectos sobre la especie blanco y sobre los organismos no blanco en el área de liberación (Barratt et al. 2010).
- CB aumentativo: se aplica desde hace más de 130 años, y consiste en la cría en masa y posterior liberación de grandes cantidades de ENs (van Lenteren 2012). Este método ha experimentado durante las últimas décadas un crecimiento notable y ha pasado de ser una industria artesanal a una producción profesional de gran escala, que incluye el desarrollo de protocolos de control, métodos de producción masiva en biofábricas, innovadoras tecnologías de envío y liberación, y un asesoramiento profesional especializado para ayudar a los productores a tener éxito en su aplicación (van Lenteren 2003). Dentro de este tipo de CB, a su vez, se pueden distinguir dos subtipos: el CB inundativo, en el que se liberan periódicamente ENs para el control directo e inmediato de las plagas, de manera similar a la aplicación de un producto fitosanitario, y el CB inoculativo o estacional, cuya estrategia reside en una o varias liberaciones de individuos para establecer una población de ENs que controle a las plagas a lo largo de varias generaciones durante el ciclo del cultivo (van Lenteren et al. 2018, Bielza et al. 2020). Como ejemplo de la aplicación práctica del CB aumentativo en cultivos de tomate protegidos, se puede mencionar a la región de Almería, en el sur de España, donde más del 80 % de las fincas lo utilizan, y ha permitido reducir la aplicación de insecticidas de síntesis química considerablemente

(van der Blom 2017). En América Latina existen muchos casos de uso de esta estrategia, pero, de acuerdo a van Lenteren y Bueno (2003), su crecimiento y consolidación se encuentra limitado por algunos factores: la abrumadora influencia de la industria química en las sociedades agrícolas, en contraste con la relativamente débil posición de los servicios de extensión gubernamentales; la falta de presión gubernamental para aplicar el control biológico; la corta duración de los programas de investigación (que favorece el fracaso); la falta de coordinación e intercambio de información entre los distintos grupos de investigación regionales; y la falta de interés de los consumidores por productos agrícolas libres de agroquímicos.

- CB por conservación: tiene como base la modificación del entorno o de las prácticas existentes para proteger y aumentar la población de ENs específicos para reducir el efecto negativo de las plagas (DeBach 1974). Este método parte de un enfoque diferente a los previamente mencionados, ya que no implica la introducción de ENs en el ecosistema. En cambio, propone combinar la protección de los agentes de control biológico ya presentes con el suministro de ciertos recursos (refugio, alimento) con el fin de aumentar su eficacia (Eilenberg et al. 2001). Entre las prácticas comúnmente empleadas para implementar este tipo de CB se incluyen el uso limitado y selectivo de plaguicidas, la provisión de refugios dentro o adyacentes a los cultivos, y la facilitación de la dispersión de ENs entre cultivos (van Driesche et al. 2007).

1.3.5.1 Control biológico de *Tuta absoluta*

Existen numerosos trabajos donde se ha evaluado el potencial uso de organismos entomopatógenos para controlar a *T. absoluta*, incluyendo a hongos, bacterias, virus y nematodos. En cuanto a los hongos, se ha trabajado con un micoinsecticida en base a la especie generalista *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales), que puede ocasionar mortalidades de larvas de hasta el 50 % (Klieber y Reineke 2016). Por otra parte, Contreras et al. (2014) encontraron que la aplicación junto al riego de una formulación a base del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) ocasiona una alta mortalidad en pupas de *T. absoluta*. En lo referido a bacterias, se han evaluado formulaciones con *Bacillus thuringiensis* (Bt), especie que produce proteínas cry,

con probado efecto insecticida, tanto en Sudamérica (Giustolin et al. 2001) como en Europa (González-Cabrera et al. 2011), las cuales resultaron ser muy efectivas, principalmente para controlar larvas de primer estadio. En el caso de los virus entomopatógenos para controlar a la polilla del tomate, se aislaron varios granulovirus de *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) y su actividad insecticida demostró tener una efectividad variable sobre *T. absoluta* según su origen geográfico (Desneux et al. 2022). Actualmente, se encuentra disponible un formulado que está siendo comercializado en diferentes partes del mundo (Rodríguez y Fernández-Mata 2019). Finalmente, se demostró la eficacia de tres especies de nematodos entomopatógenos -*Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (Nematoda: Heterorhabditidae), *Steinernema carpocapsae* (Weiser) y *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae)- para infectar larvas de *T. absoluta* (Batalla-Carrera et al. 2010, van Damme et al. 2016), sin embargo, restan realizarse ensayos en condiciones reales de cultivo para confirmar su costo, eficacia y fiabilidad (Desneux et al. 2022).

Existe una gran cantidad de estudios focalizados en analizar insectos entomófagos, tanto parasitoides como depredadores, capaces de comportarse como controladores biológicos de *T. absoluta* (con un acrecentado interés a partir de su invasión a nuevas regiones). Se han identificado en total más de 160 especies de insectos que actúan como ENs de esta plaga (Biondi et al. 2018). Principalmente, se desarrollaron programas de CB aumentativo y por conservación, mientras que el CB clásico a partir de la importación de ENs desde su área de origen hacia regiones invadidas fue poco frecuente (Aigbedion-Atalor et al. 2020, Gonthier et al. 2024), probablemente debido a las limitaciones impuestas por el marco jurídico vigente.

Los depredadores generalistas que pueden alimentarse de *T. absoluta*, tanto en Sudamérica como en Europa, pertenecen principalmente al orden Hemiptera, aunque también se han registrado especies de los órdenes Neuroptera, Coleoptera, Dermaptera y Thysanoptera, además de arácnidos de los órdenes Araneae y Acari (Ferracini et al. 2019). Entre los hemípteros, la familia Miridae se destaca por poseer la mayor cantidad de especies documentadas como ENs de *T. absoluta*. En las áreas invadidas tempranamente en Europa,

las estrategias de control biológico basadas en el uso de míridos (Hemiptera: Miridae) resultaron muy satisfactorias para controlar a la polilla del tomate. Tanto es así que dos especies de esta familia, *Nesidiocoris tenuis* Reuter y *Macrolophus pigmaeus* Rambur se encuentran disponibles comercialmente, y ejercen un rol preponderante como agentes de control biológico de la polilla (Pérez-Hedo et al. 2021). Las estrategias utilizadas en esa región incluyen liberaciones inoculativas en el vivero pre-transplante (Calvo et al. 2012) o en el cultivo post-transplante (Mollá et al. 2009). Además, diversos estudios sugieren que la aplicación del control biológico por conservación mediante el uso de plantas insectario que sirvan como alimento y refugio de los míridos resultaría en una contribución significativa para una estrategia de manejo integrado (Biondi et al. 2016, Agustí et al. 2020).

En Argentina, el depredador más estudiado y con más potencial para ser utilizado como controlador biológico de *T. absoluta* es el mírido generalista *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) (Hemiptera: Miridae) (van Lenteren et al. 2021). Este insecto es nativo de América, y es actualmente comercializado como agente de control biológico de moscas blancas en Argentina y Uruguay. Ha sido demostrada su capacidad de depredar sobre huevos y larvas neonatas de *T. absoluta* (Cagnotti et al. 2016a, López et al. 2019) y de desarrollarse alimentándose exclusivamente de huevos de la polilla (Cagnotti et al. 2021).

Los estudios sobre parasitoides de *T. absoluta* también han sido cuantiosos, tanto en el área nativa de la plaga como en las zonas invadidas luego del año 2006. Especies de parasitoides del orden Hymenoptera de las superfamilias Chalcidoidea, Chrysidoidea e Ichneumonoidea pueden parasitar a esta plaga. En Sudamérica se han descripto aproximadamente 25 asociaciones parasitoide-hospedador, mientras que en el nuevo rango de distribución se han hallado al menos 53 nuevas asociaciones (Salas Gervassio et al. 2019a). En el caso de los parasitoides de huevos, se encuentran en la bibliografía, principalmente, especies de la familia Trichogrammatidae. No obstante, la mayoría de los trabajos con tricogramátidos no fueron más allá de estudios experimentales, probablemente debido a las limitaciones que surgen de la gran cantidad de factores que pueden influir negativamente en su eficacia (Cascone et al. 2015). En algunos países de

Sudamérica están disponibles comercialmente varias especies, pero con poca aceptación por parte de los productores para ser utilizados en el campo (Desneux et al. 2022).

Los parasitoides larvales *Dolichogenidea gelechiidivoris* (Marsh) (Hymenoptera: Braconidae), *Dineulophus phthorimaeae* (de Santis) (Hymenoptera: Eulophidae), *Necremnus tutae* (Ribes and Bernardo) (Hymenoptera: Eulophidae) y *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae) han sido considerados como ENs de *T. absoluta* para ser utilizados en una estrategia de manejo integrada, principalmente aplicando control biológico por conservación (Desneux et al. 2022). Entre estas especies, la más estudiada en nuestro país es *P. dignus*, un enemigo natural a considerar tanto en CB por conservación como a través de liberaciones inoculativas. Posee características que le dan potencialidad como agente de biocontrol, tales como su rango de hospedadores prácticamente restringido a *T. absoluta*, sincronidad estacional con la plaga, presencia espontánea en cultivos de tomate en Argentina sin aplicación de insecticidas y altos niveles de parasitismo natural (Luna et al. 2007, Nieves et al. 2015, Salas Gervassio et al. 2019b). Recientemente, se publicaron estudios preliminares sobre *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethyridae), un parasitoide larval generalista que parece tener aptitud y potencial para ser utilizado en el control biológico inundativo de *T. absoluta*, cuyas larvas es capaz de parasitar. Este parasitoide es actualmente utilizado en el sur de Argentina, en la zona del Alto Valle, Río negro, en liberaciones inundativas para controlar *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera: Tortricidae), plaga principal del manzano, peral, nogal y membrillero (Garrido et al. 2005, Garrido et al. 2018).

1.3.6. Integración de la Esterilidad Heredada con el Control Biológico

El manejo integrado de plagas (MIP), como herramienta para la producción de alimentos sanos, implica un enfoque estratégico que combina métodos de control de plagas respetuosos con el medio ambiente y prácticas agrícolas económicamente viables. En el MIP, se procura reducir al mínimo las intervenciones sin sacrificar su eficacia para hacerlas más accesibles y rentables para los agricultores (Singh 2023).

Bajo este marco, la eficacia de la EH puede ser mejorada si se la combina con otros métodos de control compatibles (Marec et al. 2021). En este sentido, se podría lograr una supresión poblacional mayor de un insecto plaga si se integra esta técnica con la liberación de ENs, a través de un efecto sinérgico mediante el cual se produzca un control aún más efectivo que la suma de ambas técnicas por separado (Knipling 1979, Barclay 2021). Esta sinergia puede deberse a que los insectos estériles o semiestériles y su progenie estéril pueden contribuir al aumento de la población de los ENs sirviendo de hospedadores/presas antes de que la plaga haya alcanzado el umbral económico y promoviendo la supervivencia de los entomófagos durante las etapas del cultivo con baja presión de la plaga objetivo. Por otra parte, la eficacia de la EH podría verse mejorada a partir del aumento en la relación estériles:fértiles facilitada por la presión que ejercen las sueltas periódicas de ENs sobre las poblaciones silvestres de la plaga. Además, según modelos de dinámica poblacional teóricos propuestos por Marec et al. (2021), la complementariedad de estas técnicas podría basarse en que cada una es más eficaz para afectar a los insectos plaga a diferentes densidades poblacionales: mientras que la EH es más eficiente a bajas densidades, ya que los individuos silvestres pueden ser fácilmente sobrepasados por los irradiados que son liberados en grandes cantidades, algunos ENs, especialmente los parasitoides, suelen funcionar mejor con densidades de plaga más altas, ya que podrían localizar más fácilmente a sus hospedadores.

La eficacia de la combinación de estas técnicas para el control de especies de lepidópteros se ha demostrado empíricamente en numerosas ocasiones, principalmente mediante el uso de parasitoides de huevos de la familia Trichogrammatidae (Bloem et al. 1998, Carpenter et al. 2004, Saour 2009, Wang et al. 2009, Cagnotti et al. 2016b). En el caso de la combinación EH/ENs con parasitoides larvales y depredadores, los casos de estudio son menos numerosos (Hoa et al. 2001; Cagnotti et al. 2016a, 2021).

Para *T. absoluta*, Cagnotti et al. (2016b) observaron que hubo aceptación de huevos provenientes de parentales irradiados por parte de *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Además, los huevos fueron adecuados para el desarrollo de los parasitoides, con lo que pudo concluirse que ambas técnicas podrían ser

compatibles en una estrategia de manejo integrado. En cuanto al uso de depredadores en conjunto con la EH, Cagnotti et al. (2021) encontraron que *T. cucurbitaceus* puede sobrevivir y completar su ciclo biológico alimentándose exclusivamente de huevos de la polilla descendientes de machos irradiados, lo cual evidencia la compatibilidad de las técnicas.

1.4 Objetivo general

Evaluar el uso combinado de la Técnica de la Esterilidad Heredada con el Control Biológico mediante entomófagos (parasitoides/depredadores) para el control de la polilla del tomate en invernáculos.

1.5 Objetivos específicos

- 1)** Evaluar el potencial que tienen las liberaciones combinadas de adultos irradiados de *T. absoluta* y de la chinche *T. cucurbitaceus* para suprimir poblaciones de laboratorio de la polilla en invernáculo.
- 2)** Examinar la aceptación y la adecuación de larvas de *T. absoluta* provenientes de hembras no irradiadas cruzadas con machos irradiados por el parasitoide *Goniozus legneri*.
- 3)** Analizar la aceptación y la adecuación del parasitoide *P. dignus* respecto a larvas de *T. absoluta* procedentes de la progenie de hembras no irradiadas cruzadas con machos irradiados, y su preferencia entre éstas y las descendientes de ambos parentales no tratados.
- 4)** Determinar el potencial de supresión de *T. absoluta* en invernáculo mediante liberaciones combinadas de adultos irradiados de la polilla y del parasitoide *P. dignus*.
- 5)** Validar los resultados de la combinación de la EH con el enemigo natural que arroje mejores resultados de supresión poblacional en jaulas, en un cultivo experimental de tomate bajo invernadero sin aplicación de plaguicidas.

1.6 Hipótesis de trabajo

1. Las larvas de *T. absoluta* de la generación filial de hembras no irradiadas cruzadas con machos irradiados son aceptadas por los parasitoides larvales *G. legneri* y *P. dignus* y adecuadas para su desarrollo.

Fundamentación: la aceptación del hospedador es un aspecto muy importante en el comportamiento reproductivo de los parasitoides. Las avispas hembras evalúan múltiples claves de los potenciales hospedadores para decidir dónde colocar sus huevos, tales como tamaño, olor, forma y calidad interna (van Alphen y Jervis 1996). La irradiación de machos puede tener efectos sobre parámetros biológicos de la generación filial en Lepidoptera, como reducción de la fertilidad, alteraciones en la proporción de sexos de su descendencia o variaciones en el tiempo de desarrollo (Steinitz et al. 2014). No obstante, bajo las condiciones de este estudio se espera que los atributos del hospedador relevantes para la aceptación por parte de los parasitoides no se vean sustancialmente alterados.

Predicción: Se espera que las hembras de *G. legneri* y *P. dignus* parasiten larvas de la generación filial de hembras de *T. absoluta* no irradiadas cruzadas con machos irradiados y que el desarrollo del parasitoide no sea afectado (emergencia de adultos, tiempo de desarrollo, proporción sexual).

2. Las hembras de *P. dignus* no muestran preferencia entre larvas de *T. absoluta* de la filial de hembras no irradiadas cruzadas con machos irradiados y larvas de la filial de cruzamientos entre hembras y machos no irradiados.

Fundamentación: la preferencia del hospedador por parte de parasitoides larvales surge cuando existen diferencias detectables en atributos relevantes del hospedador, tales como tamaño, estado fisiológico o calidad interna (Godfray 1994; van Alphen y Jervis 1996). Dado que la irradiación se aplica únicamente a los machos parentales, se espera que las larvas de la generación filial no difieran sustancialmente en dichas características, por lo que no se anticipa una preferencia diferencial por parte de *P. dignus*.

Predicción: se espera que el parasitoide muestre similar comportamiento de oviposición y parasite la misma cantidad de larvas de *T. absoluta* hijas de parentales no irradiados que de larvas hijas de machos irradiados.

3. Los machos irradiados de *T. absoluta* y su progenie, debido a la EH, son capaces de disminuir una población silvestre de la polilla bajo condiciones semicontroladas. Con el uso combinado de la EH y el CB mediante el empleo de ENs (*T. cucurbitaceus*, *P. dignus*) se logra un efecto aditivo o sinérgico en el control de la polilla.

Fundamentación: Las polillas machos irradiadas parcialmente estériles y sus hijos predominantemente masculinos y más estériles que sus padres producirán una depresión de la fertilidad de hembras silvestres que copulen con individuos irradiados, lo que generará una supresión de la población. Por otra parte, los ENs de las plagas (parasitoides/depredadores) ejercen un rol importante como factores de mortalidad, regulando de esta forma el crecimiento poblacional de la plaga. EH y CB son métodos de control compatibles, siendo posible un efecto aditivo o sinérgico en el control de lepidópteros plagas.

Predicción: Se espera que con el uso combinado de EH + EN (*T. cucurbitaceus* o *P. dignus*) se observe mayor disminución de la cantidad de huevos y larvas de *T. absoluta* (tamaño poblacional de la plaga) que con el uso de cualquiera de esas técnicas por separado.

**Capítulo II - Control de *Tuta absoluta*
mediante la integración de la EH y el CB con
*Tupiocoris cucurbitaceus***



2.1 Introducción

El CB es considerado a menudo como la piedra angular del MIP y probablemente el método más investigado dentro de esta estrategia de manejo (Stenberg 2017). En el capítulo I se realizó una recapitulación de los ENs que fueron citados para *T. absoluta* y se mencionó, entre los artrópodos entomófagos más relevantes presentes en nuestro país, a la chinche depredadora *T. cucurbitaceus*. Este enemigo natural pertenece a la familia Miridae, la más numerosa y diversa dentro del orden Hemiptera, con más de 10.000 especies descritas (Schuh 1995). Su distribución se extiende por varios países de América (Carvalho 1947, Carvalho y Ferreira 1972, Carvalho y Afonso 1977) y se la encuentra asociada a plantas hospedadoras de diversas familias, como Solanaceae, Fabaceae, Cucurbitaceae, Geraniaceae, Asteraceae y Rosaceae (Carpintero y De Biase 2011).

Es una especie de desarrollo hemimetábolo con 3 estados: huevo, ninfa y adulto (Figura 6). Las hembras depositan los huevos en el interior del tejido vegetal (hasta 60 o más huevos por hembra), por lo cual son imperceptibles a simple vista. Por lo general, prefieren plantas con hojas pilosas, para resguardarlos de agentes externos. Hasta la eclosión transcurren aproximadamente 10 días a 25 °C.

La especie posee 5 estadios ninfales. Las ninfas recién emergidas (ninfas 1) son muy pequeñas (0,8 mm) (Figura 6a) y de un color verde amarillento, características que dificultan su detección a campo. En el quinto estadio ninfal, los esbozos alares se vuelven claramente visibles (Figura 6b), y en la zona ventral se pueden observar los rudimentos de la genitalia en las hembras. A 25 °C, el estado ninfal tiene una duración aproximada de 14 días, utilizando *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) como presa (López et al. 2012). Las hembras adultas pueden diferenciarse de los machos por su abdomen de forma grávida, y su genitalia externa visible en la parte ventral. La longevidad de los adultos en las condiciones mencionadas anteriormente y consumiendo moscas blancas es de entre 20 y 25 días (Burla 2010).



Figura 6. Desarrollo de *Tupiocoris cucurbitaceus*. **a)** ninfa en 1^{er} estadio, **b)** ninfa en 5^{to} estadio, **c)** macho adulto y **d)** hembra adulta.

En cuanto a los hábitos alimentarios de *T. cucurbitaceus*, al igual que otras especies con las que comparte la subfamilia Dicyphinae, se ha mencionado su carácter zoofitófago. Por lo tanto, sus requerimientos nutricionales para el desarrollo y la reproducción no pueden suplirse completamente con el consumo de plantas y debe incluir en su dieta a los artrópodos, que son su principal fuente nutritiva (López et al. 2012, Orozco Muñoz et al. 2012). Burla et al. (2014) reportaron una mayor mortalidad de ninfas y una menor longevidad de los adultos cuando se les ofrecía solo hojas de tomate y tabaco como fuente de alimento, con relación a cuando disponían de huevos de *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) o de *T. vaporariorum*. Su omnivoría podría permitirle subsistir durante periodos acotados de escasez de presas, dotándole de mayor plasticidad a la hora de colonizar un cultivo, como sucede con algunas especies de míridos europeos (Arnó et al. 2005).

En Argentina se lo ha encontrado predando sobre moscas blancas (Hemiptera: Aleyrodidae) en cultivos de tomate orgánicos o con baja presión de insecticidas (del Pino et al. 2009). Además, López et al. (2019) reportaron que puede alimentarse también de otras plagas comunes en cultivos hortícolas en invernáculo, entre ellas, huevos y larvas neonatas de *T. absoluta*. En la actualidad, esta especie se encuentra disponible comercialmente en Argentina y Uruguay para el CB de moscas blancas en cultivos de tomate protegidos.

En estudios previos, con el fin de analizar la posibilidad de manejar *T. absoluta* a través de la combinación de la EH con el CB mediante el uso de *T. cucurbitaceus*, se observó que la chinche puede desarrollarse y reproducirse alimentándose exclusivamente de huevos de *T. absoluta* provenientes tanto de parentales machos irradiados como de ambos parentales no tratados. En particular, se registró una gran voracidad por parte de las hembras con un consumo de más de 120 huevos y más de 3 larvas en 24 horas (Cagnotti et al. 2016a, Cagnotti et al. 2021). Para dar continuidad a los estudios mencionados, el objetivo de este capítulo fue evaluar el potencial que tienen las liberaciones combinadas de adultos irradiados de *T. absoluta* y de la chinche *T. cucurbitaceus* para suprimir poblaciones de la polilla en invernáculo.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Crías de los insectos utilizados en los ensayos

Los insectos utilizados en los ensayos procedieron de las crías del Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica (IILB), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. De igual manera, el invernáculo en el cual se realizó el ensayo se encuentra localizado en las instalaciones del IMyZA.

La colonia de *T. cucurbitaceus* del IILB se inició con insectos recolectados originalmente en 2009 en tomates cultivados en invernaderos en el cinturón hortícola de La Plata, Provincia de Buenos Aires (34° 59' 08''S 58° 05' 15''W). Desde entonces, de manera periódica fue renovada con insectos nuevos provenientes de invernaderos locales para evitar la endocría y mantener a la población vigorosa. La cría se realizó en una cámara con

condiciones controladas (25 ± 4 °C, 65 ± 15 % de humedad relativa y un fotoperiodo de L:O 14:10), utilizando plantas de tabaco y tomate como sustratos de oviposición para los mիրidos (Figura 7). Los insectos fueron alimentados dos veces por semana con huevos de la polilla de los cereales *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), distribuidos uniformemente en las hojas siguiendo la metodología de Agustí y Gabarra (2009). Estos huevos fueron obtenidos de una cría mantenida sobre granos de trigo ubicada en el IILB.

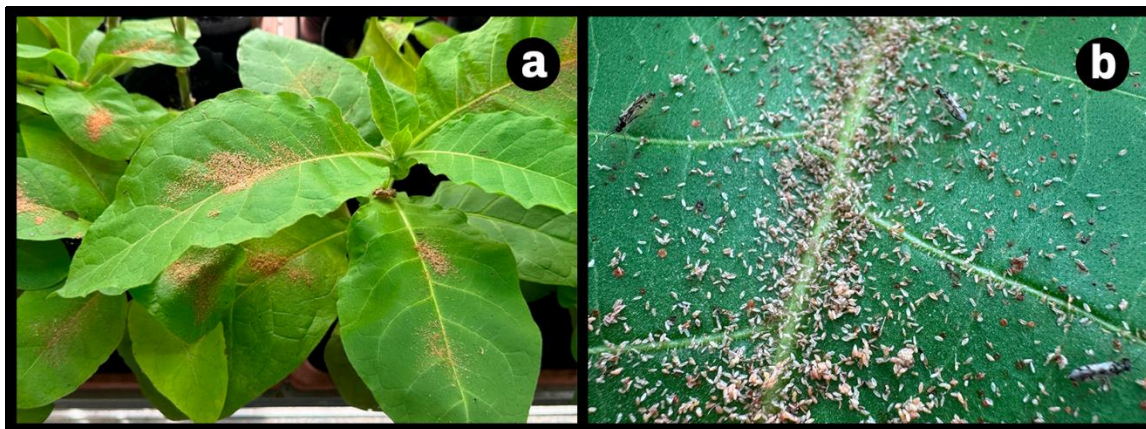


Figura 7. a) Plantas de tabaco con la dieta sobre las hojas y **b)** detalle de individuos de *Tupiocoris cucurbitaceus* alimentándose en la cámara de cría del Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica.

Por otro lado, los individuos de *T. absoluta* también se obtuvieron de la cría del laboratorio del IILB, ubicada en una cámara con condiciones ambientales similares a las mencionadas para *T. cucurbitaceus*, sobre plantas de tomate que ofician de sustrato de oviposición y fuente de alimento (Figura 8). Esta cría también fue reforzada todos los años en la temporada estival con nuevos individuos silvestres.



Figura 8. Cría de *Tuta absoluta* en el Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica.

2.2.2 Procedimiento para obtener especímenes de *Tuta absoluta* irradiados

Para asegurar un alto número de polillas de edad homogénea, aproximadamente 550 adultos fueron colectados de la colonia utilizando un frasco aspirador conectado a un equipo de vacío. Estos adultos fueron transferidos a una jaula de oviposición que contenía seis plantas de tomate, donde se los dejó durante 24 horas; transcurrido ese tiempo, los adultos fueron retirados. Las larvas descendientes fueron alimentadas mediante el agregado continuo de nuevas plantas hasta que empuparon. Estas pupas (aproximadamente 550 machos y 600 hembras (Figura 9) fueron recolectadas y separadas por sexo según la posición de la abertura genital (en el octavo segmento abdominal para las hembras y en el noveno para los machos) (Coelho y França 1987). Luego, las pupas fueron irradiadas 48 –72 horas antes de la emergencia de los adultos a una dosis de 20.834 Roentgen (R) (Cagnotti et al. 2012).



Figura 9. Placas de Petri con las pupas de *Tuta absoluta* separadas por sexo.

La irradiación se realizó en el IGEAF (Instituto de Genética “Ewald A. Favret” - INTA) utilizando un aparato de rayos X (Constant Potential X-Ray System Mg 160 Philips), que emite rayos a una dosis de 0.679 Gy/s. Las características del irradiador incluyeron un voltaje del ánodo de 120 kVp, corriente de 15 mA, calidad del haz Cx120 aprox. 0.07 mm de aluminio (a 160 kV). El dosímetro utilizado fue del modelo PTW UNIDOS[®] E, calibrado con dosimetría secundaria estándar (CRRD) por el centro de referencia regional ubicado en el Centro Atómico Ezeiza. La calibración se hizo mediante el método de sustitución en términos de air kerma con una incertidumbre expandida del 1,2 % en el factor de calibración. La cámara de ionización es una de tipo Farmer con un volumen de 0,6 cm³ (TN30010-2339 PTW-Freiburg), factor de calibración: $N_k = 4,938 \times 10^7 \text{ Gy.C}^{-1}$.

2.2.3 Ensayo de supresión poblacional de *Tuta absoluta* mediante la integración EH-CB

El experimento se llevó a cabo en jaulas (0,7m x 1m x 1,2m) compuestas por una estructura de metal y cerradas con tela de *voile* para impedir la entrada o salida de insectos. Las mismas fueron colocadas dentro de un invernáculo de 4,5 m de ancho por 7 m de largo (Figura 10). Cada jaula contenía cuatro macetas con plantas de tomate con 6-8 hojas completamente desarrolladas en su interior (Figura 11). Se aplicaron cuatro tratamientos: control (T1), en el que se liberaron 3 parejas de adultos de *T. absoluta* no tratados por jaula; EH (T2), que consistió en la introducción de adultos de *T. absoluta* emergidos de pupas irradiadas y no tratadas en una proporción de 15:1 (45 y 3 parejas, respectivamente) por jaula; CB (T3), donde se llevó a cabo idéntico procedimiento a T1, sumado a la inoculación de 4 parejas de *T. cucurbitaceus* (2 al comienzo del ensayo y las otras 2, dos semanas después) por jaula; y combinación EH-CB (T4), en el que se realizó una liberación de la misma cantidad de especímenes de *T. absoluta* irradiados y no tratados que en T2 y el mismo procedimiento que se describió en T3 para la inoculación de *T. cucurbitaceus*, en cada jaula. Los tratamientos se asignaron al azar a las jaulas, y, en total, se realizaron cinco réplicas para T1 y T3, y cuatro réplicas para T2 y T4.



Figura 10. Interior del invernáculo utilizado para el ensayo con las jaulas de exclusión.



Figura 11. Plantas en el interior de la jaula, **a)** antes y **b)** aproximadamente un mes después del inicio del ensayo.

La liberación del depredador se realizó en dos momentos diferentes para incrementar las chances de su establecimiento exitoso en las jaulas ante la posible ocurrencia de condiciones ambientales extremas negativas para los individuos de *T. cucurbitaceus*. El número de polillas a liberar dentro de las jaulas se basó en un estudio previo, en el cual se probaron diferentes proporciones de liberación de adultos de *T. absoluta* y se encontró que a partir de una relación de 15:1 (irradiados:no irradiados) se puede esperar una reducción poblacional significativa (Cagnotti et al. 2016a). Por otra parte, la determinación del número de enemigos naturales utilizados se basó en las recomendaciones de las empresas que comercializan este bioinsumo. Para los tratamientos T3 y T4, la primera inoculación de *T. cucurbitaceus* se realizó junto con el suministro, por única vez durante el ensayo, de 0,7 g de huevos de *S. cerealella* por jaula, colocados en la superficie de las hojas de tomate para alimentar al depredador hasta que estuvieran presentes los huevos de *T. absoluta* y para facilitar su establecimiento.

El crecimiento de las poblaciones de *T. absoluta* en cada uno de los tratamientos se estimó registrando el número de huevos, larvas pequeñas y larvas grandes de la polilla por jaula, considerada como la unidad experimental. Para ello, en cada jaula se muestreó al azar una hoja por estrato de cada planta (superior, medio e inferior), dos veces por semana, durante tres generaciones de la polilla (15 semanas). Para lograr esto, se muestreó al azar una hoja por estrato de cada planta (superior, medio, inferior), dos veces por semana, durante tres generaciones de la polilla (15 semanas). Este período se consideró adecuado para evaluar correctamente el efecto a largo plazo de la EH en la población de la plaga. Con el transcurrir del ensayo, algunas plantas fueron severamente dañadas por la alimentación de las larvas, por lo que fueron reemplazadas con nuevas plantas para asegurar que la escasez de alimento no fuera un factor limitante para el crecimiento poblacional de *T. absoluta*. Las plantas dañadas fueron cortadas y colocadas junto con las nuevas, dentro de la jaula, donde permanecieron durante una semana, para permitir que las larvas que se estuvieran desarrollando en las plantas viejas se trasladaran a las nuevas y no fueran retiradas de la unidad experimental.

El crecimiento de las poblaciones de *T. cucurbitaceus* en los tratamientos T3 y T4 se analizó registrando el número de ninfas y adultos presentes en todas las plantas dentro de las jaulas, dos veces por semana. Los conteos, tanto de los móridos como de las polillas, se realizaron *in situ*, sin retirar material biológico del interior de las jaulas. La temperatura y la humedad relativa dentro del invernadero se midieron con un termohigrómetro digital TFA modelo 30.5003 (Dostmann GmbH & Co.KG, Alemania).

Los efectos del tratamiento sobre cada variable de respuesta (número de huevos, larvas pequeñas y larvas grandes de *T. absoluta* por jaula, y número de ninfas y adultos de *T. cucurbitaceus* por jaula) se analizaron en las fechas en que ocurrieron picos de población de cada estado de desarrollo. Los picos se definieron considerando aquellas fechas en las que hubo un incremento abrupto en el número promedio de individuos de la especie/etapa analizados en al menos un tratamiento. Así, un pico de producción de huevos se produjo cuando se registró una media de 50 o más huevos/jaula en al menos un tratamiento (tres fechas para cada pico); un pico de producción de larvas, cuando se observó una media de 18 o más larvas/jaula para el primer pico, y 35 o más larvas/jaula para el segundo y el tercer pico, en al menos un tratamiento (tres fechas para cada pico, excepto para el primer y tercer pico de larvas grandes, donde se consideraron solo dos fechas).

Para *T. cucurbitaceus*, el primer pico de ninfas se determinó por las fechas en las que al menos un tratamiento exhibió un promedio de 10 o más ninfas/jaula (ocho fechas), mientras que el segundo pico, se definió por las fechas en las que al menos un tratamiento exhibió un promedio de 4 o más ninfas/jaula (cuatro fechas). Los criterios para los picos de adultos fueron que al menos un tratamiento tuviera un promedio de 3 o más adultos/jaula para el primer pico (cinco fechas) y 2 o más adultos/jaula para el segundo pico (cuatro fechas).

Para evaluar el posible efecto sinérgico resultante de la combinación de ambas medidas de control, se analizó la población de larvas grandes en la fecha en la que se observó el mayor número promedio del tercer pico. Se calculó la proporción de supresión poblacional (PSP) observada en T2, T3 y T4, comparando el número de individuos en cada

jaula con el número promedio en el tratamiento de control. La PSP se empleó como una medida relativa del efecto del tratamiento sobre la densidad poblacional, expresando la reducción proporcional en abundancia respecto de la condición sin intervención (control). Este índice varía entre 0 (sin supresión) y 1 (supresión total) y puede interpretarse como la probabilidad efectiva de eliminación de individuos atribuible al tratamiento.

Los valores predichos de la proporción de supresión de la población en T4 se obtuvieron a partir de los valores observados en T2 y T3 siguiendo el modelo de riesgo multiplicativo (MRM) (Sih et al. en 1998), de acuerdo con la ecuación:

$$PSP_C = PSP_{EH} + PSP_{T.c.} - (PSP_{EH} * PSP_{T.c.})$$

Donde PSP_C representa la proporción de supresión de la población de *T. absoluta* por el efecto combinado de ambas técnicas, asumiendo un efecto aditivo, PSP_{EH} es la proporción de supresión de la población en comparación con el control al usar la técnica de la EH (T2), y $PSP_{T.c.}$ es la proporción de supresión de la población, en comparación con el control, producida por *T. cucurbitaceus* (T3).

2.2.4 Análisis estadístico

Se utilizaron Modelos Lineales Generalizados Mixtos, asumiendo una distribución Poisson, con una función de enlace log, para modelar el número de polillas y depredadores registrados en el estudio. Los factores de efecto fijo incluidos en los modelos incluyeron el tratamiento y la fecha, con la incorporación de un término de interacción entre ellos. Además, se introdujo a la jaula como factor aleatorio. La correlación temporal dentro de las jaulas se modeló mediante un modelo auto-regresivo de primer orden. Para evaluar los efectos de los factores se realizó un análisis de *devianza* (test de χ^2 de Wald de Tipo II). Cuando se encontraron diferencias entre tratamientos, se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Para analizar la presencia de diferencias estadísticamente significativas en la proporción de supresión poblacional entre los valores de los tratamientos en estudio (T2, T3, observados para T4 y predichos para T4), se utilizó un Modelo Lineal Generalizado,

asumiendo una distribución beta con una función de enlace logit. La evaluación de los efectos de los factores se realizó mediante un análisis de *devianza* (test de χ^2 de Wald de Tipo II). Posteriormente, se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R v4.2.2 (R Core Team 2022). Se empleó el paquete glmmTMB para ajustar los modelos. Los gráficos fueron generados utilizando el paquete ggplot2. Los contrastes de Tukey se llevaron a cabo con la función emmeans del paquete emmeans.

2.3 Resultados

Las series temporales de temperatura y humedad relativa registradas durante el experimento se presentan en el Anexo I.

El ensayo duró 15 semanas y, a lo largo de este período, se observaron 3 picos poblacionales de cada etapa de desarrollo de *T. absoluta*, correspondientes a 3 generaciones. Por otro lado, el período estudiado abarcó dos generaciones del depredador *T. cucurbitaceus*.

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en el número promedio de huevos en los tres picos (Figura 12). De igual manera, se observaron interacciones significativas entre las fechas y los tratamientos en todos los picos ($\chi^2 = 106,9$, $df = 6$, $p < 0,05$; $\chi^2 = 66,3$, $df = 6$, $p < 0,05$; y $\chi^2 = 22,6$, $df = 6$, $p < 0,05$ para el primer, segundo y tercer pico, respectivamente).

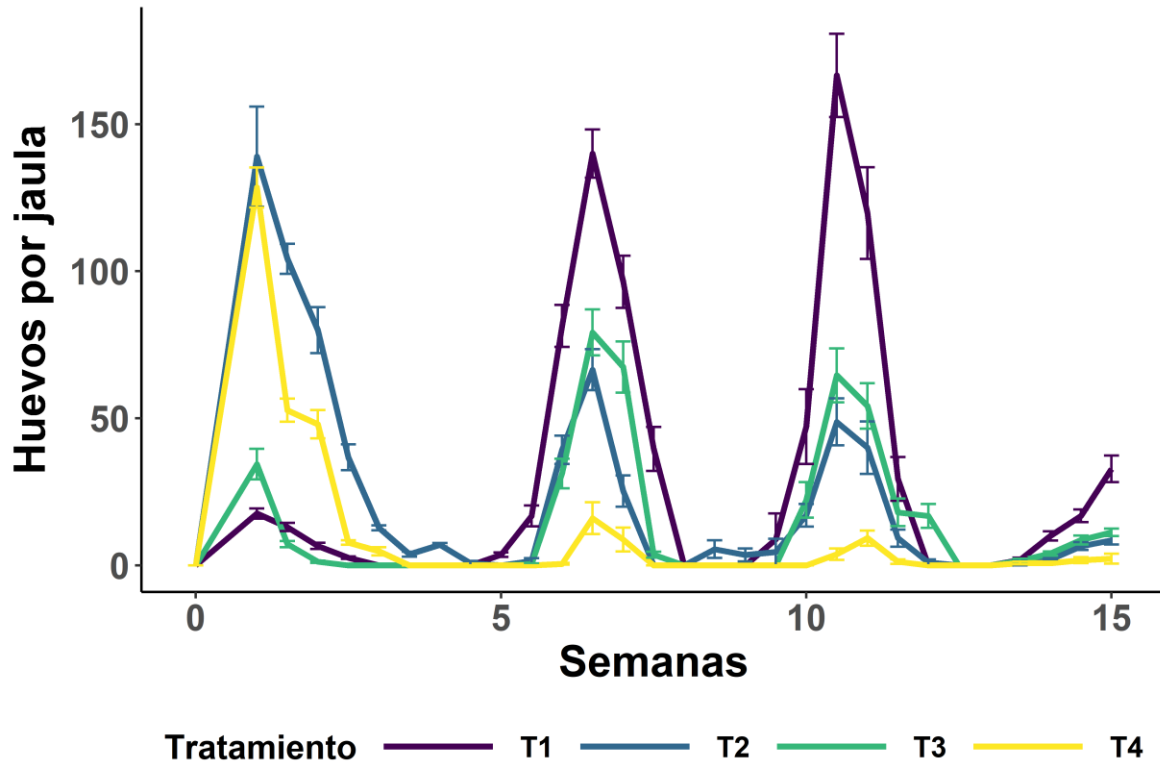


Figura 12. Huevos de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T1** = control; **T2** = Esterilidad Heredada (EH); **T3** = Control Biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus*; **T4** = EH + *Tupiocoris cucurbitaceus*.

En el primer pico, se observaron los números más altos de huevos en T2, seguido de T4, T1 y T3, con diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, este patrón cambió en el segundo y tercer pico, con un aumento de los huevos en T1 y T3 y una disminución en T2 y T4. En ambos picos, T1 tuvo un número significativamente mayor de huevos que T2 y T3, con valores intermedios y sin diferencias entre ellos. En el tratamiento 4, por su parte, el número de huevos fue significativamente menor.

En cuanto a la población de larvas pequeñas, también se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en los tres picos analizados y una interacción significativa entre los tratamientos y las fechas en todos los picos ($\chi^2 = 27,8$, $df = 6$, $p < 0,05$; $\chi^2 = 16,7$, $df = 6$, $p < 0,05$ y $\chi^2 = 30$, $df = 6$, $p < 0,05$ para el primer, segundo y tercer pico respectivamente) (Figura 13). Además, el número de larvas grandes también fue

significativamente diferente entre los tratamientos a lo largo del tiempo y se encontraron interacciones entre los tratamientos y las fechas en el primer pico ($\chi^2 = 16,8$, $df = 3$, $p < 0,05$) y en el segundo pico ($\chi^2 = 35,1$, $df = 6$, $p < 0,05$), mientras que en el tercer pico los tratamientos difirieron significativamente sin una interacción significativa entre los factores ($\chi^2 = 3,3$, $df = 3$, $p = 0,3$) (Figura 14).

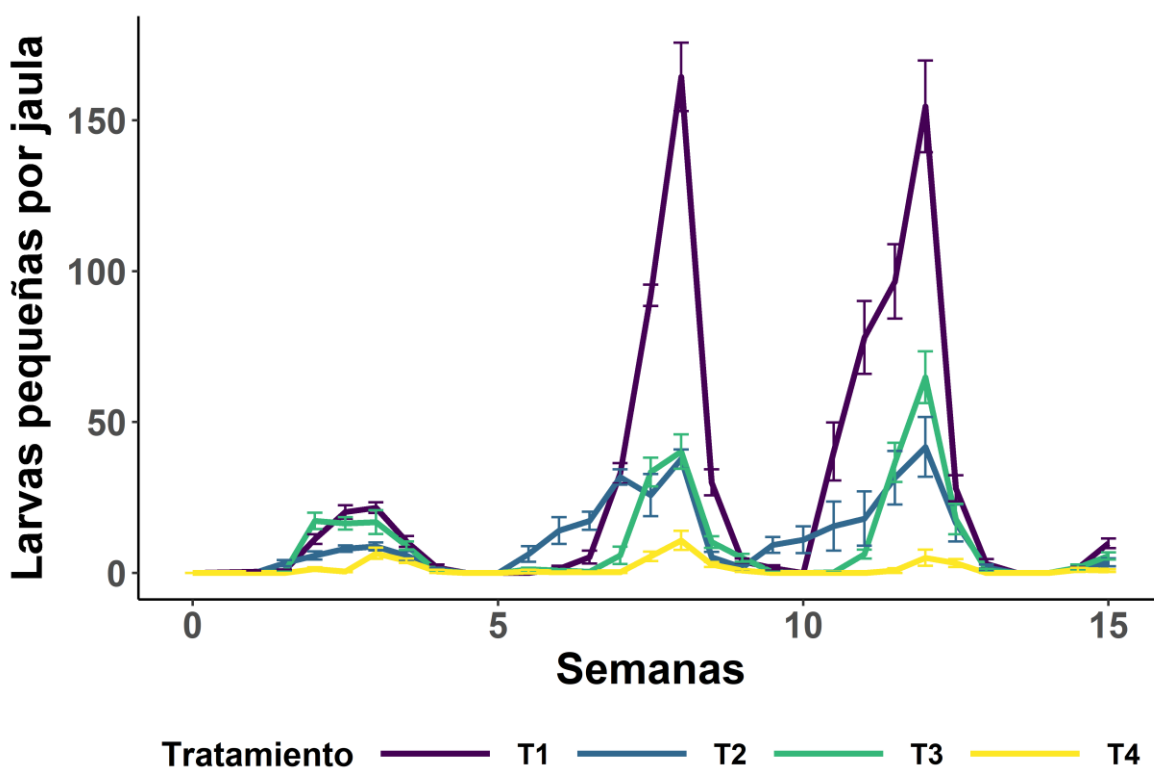


Figura 13. Larvas pequeñas de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T1** = control; **T2** = Esterilidad Heredada (EH); **T3** = Control Biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus*; **T4** = EH + *Tupiocoris cucurbitaceus*.

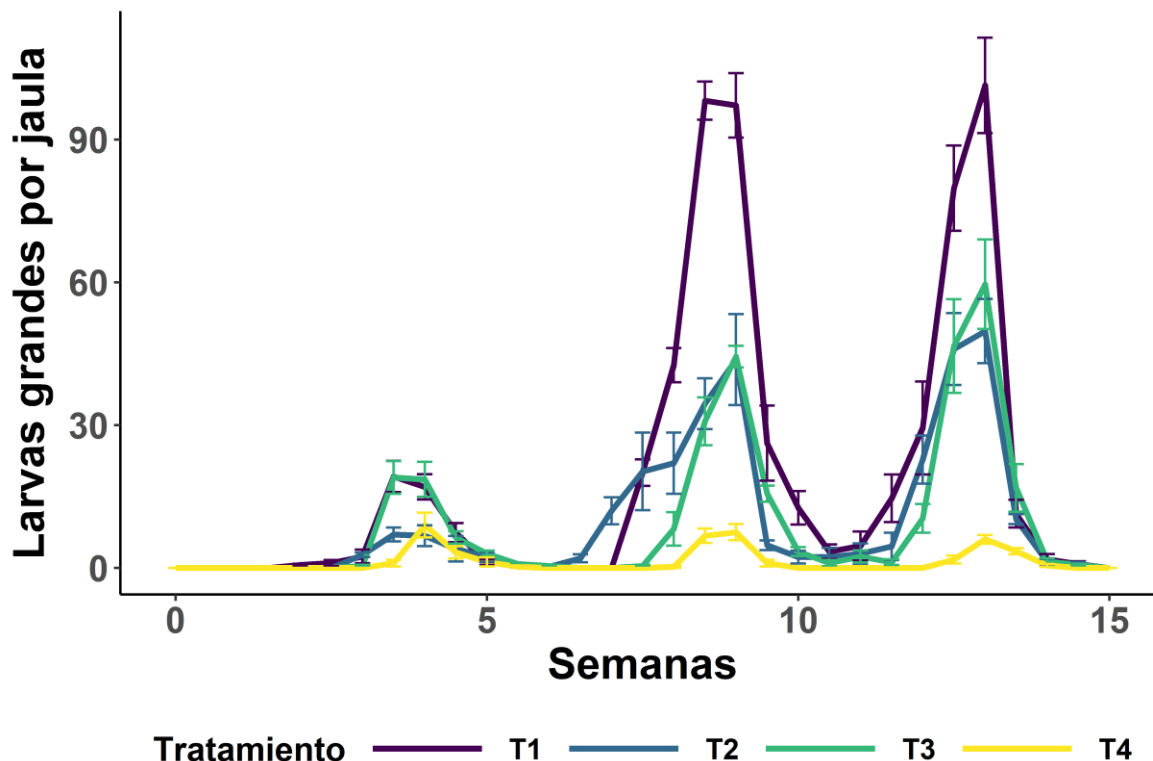


Figura 14. Larvas grandes de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T1** = control; **T2** = Esterilidad Heredada (EH); **T3** = Control Biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus*; **T4** = EH + *Tupiocoris cucurbitaceus*.

Como tendencia general, las poblaciones de larvas pequeñas y grandes fueron más altas en T1 y T3 en comparación con T2 y T4, para el primer pico. En todos los casos se observaron cantidades pequeñas de no más de 22 larvas/jaula en todos los tratamientos. En el segundo y tercer pico, la población de larvas aumentó considerablemente en todos los tratamientos excepto en T4. El patrón observado fue similar al de la población de huevos, con el mayor número en T1, valores intermedios en T2 y T3, y el más bajo en T4. El número máximo de larvas grandes/jaula en el último pico fue en promedio 90,6 para T1, aproximadamente 50 larvas para T2 y T3, y tan solo 3,9 para T4.

Respecto de la chinche depredadora *T. cucurbitaceus*, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el primer pico para ninfas ni adultos ($\chi^2 = 0,51$, $df = 1$, $p = 0,48$ para ninfas y $\chi^2 = 0,63$, $df = 1$, $p = 0,43$ para adultos) (Figura 15). Además, no se

encontró una interacción significativa entre los factores tratamiento y fecha ($\chi^2 = 2,83$, $df = 7$, $p = 0,9$ para ninfas, y $\chi^2 = 1,6$, $df = 4$, $p = 0,81$ para adultos). En el segundo pico, el número de ninfas fue similar en ambos tratamientos ($\chi^2 = 3,41$, $df = 1$, $p = 0,06$) y la interacción entre los factores no fue significativa ($\chi^2 = 2,97$, $df = 3$, $p = 0,40$). El número de adultos, por otra parte, fue mayor en T3 que en T4 ($\chi^2 = 6,1$, $df = 1$, $p < 0,05$) y no hubo una interacción significativa entre las fechas y los tratamientos ($\chi^2 0,4$, $df = 3$, $p = 0,94$) (Figura 15).

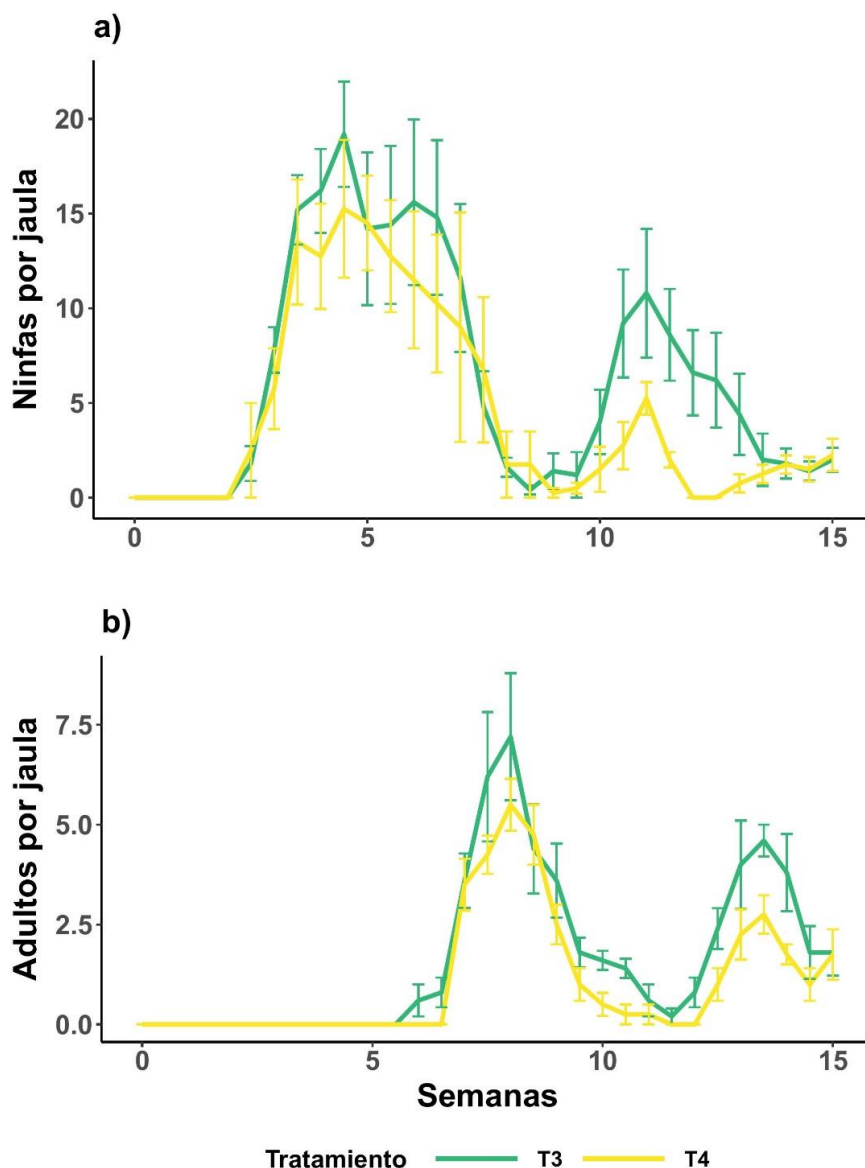


Figura 15. a) Ninfas y **b)** adultos de *Tupiocoris cucurbitaceus* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T3**= Control Biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus* (C.B.), **T4**= Esterilidad Heredada + C.B.

La proporción de supresión poblacional de *T. absoluta* observada en el tratamiento que combinó ambas técnicas fue significativamente mayor que las observadas en los tratamientos donde se utilizó cada técnica de control individualmente y también fue mayor que la predicha por el MRM, que asume un efecto aditivo entre las técnicas ($\chi^2 = 57,75$, $df = 3$, $p < 0,05$) (Figura 16).

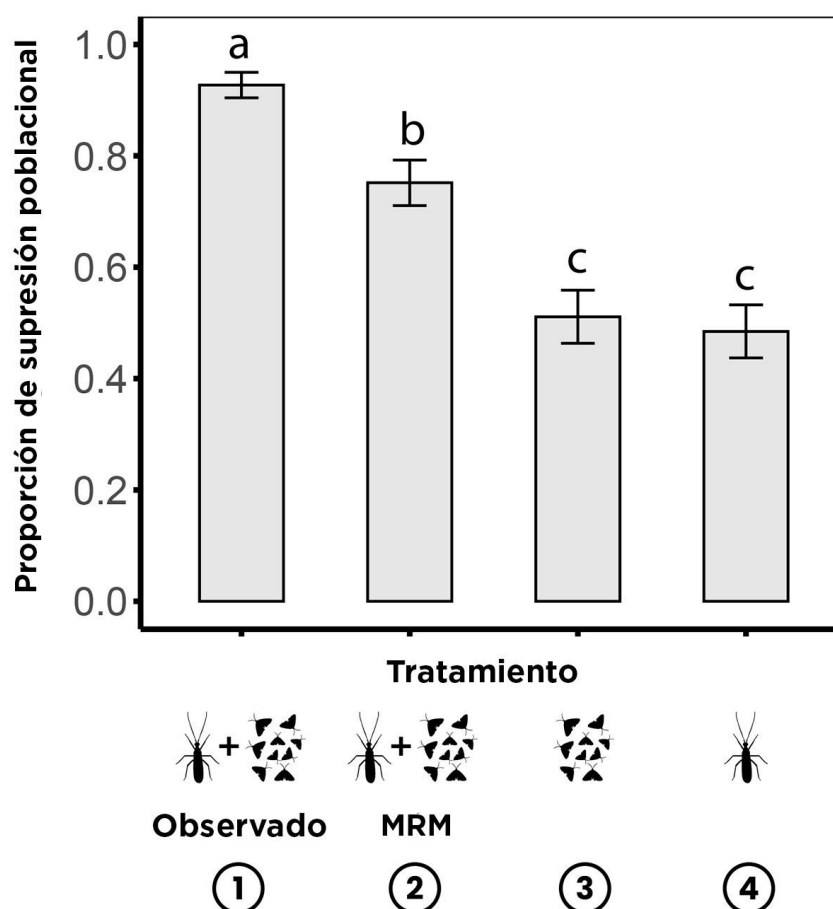


Figura 16. Proporción de supresión poblacional en relación con el control (media $\pm$ EE) de larvas grandes de *Tuta absoluta* en los siguientes tratamientos: **(1)** Esterilidad Heredada + *Tupiocoris cucurbitaceus* (observado); **(2)** Esterilidad Heredada + *Tupiocoris cucurbitaceus* (predicho por el modelo de riesgo multiplicativo) **(3)** Esterilidad Heredada; y **(4)** Control Biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus*. Letras diferentes sobre las barras indican diferencia estadística significativa entre tratamientos (análisis de devianza con test de χ^2 de Wald de tipo II, seguido por prueba de Tukey, $p < 0.05$).

2.4 Discusión

El análisis de la viabilidad de implementar la EH como técnica de control sobre *T. absoluta* fue realizado por Cagnotti et al. (2016a), trabajo en el que los autores concluyeron que, mediante la liberación de adultos de *T. absoluta* irradiados, es factible lograr cierto nivel de supresión de las poblaciones silvestres de esta plaga. También se reportó que los adultos irradiados produjeron huevos adecuados para el consumo por parte del depredador *T. cucurbitaceus* (Cagnotti et al. 2016a). Por lo tanto, dado que *T. cucurbitaceus* puede completar su ciclo de vida alimentándose exclusivamente de huevos de *T. absoluta* de padres irradiados o no tratados en condiciones de laboratorio (Cagnotti et al. 2021), es técnicamente factible combinar el uso de este enemigo natural con la EH para el manejo de *T. absoluta*.

La integración de la EH con enemigos naturales en una estrategia de manejo integrado de plagas, solo puede ser exitosa si el enemigo natural no afecta negativamente a la progenie de los insectos irradiados de una manera más severa que a la de la población silvestre del insecto blanco. Además, la liberación de insectos irradiados no debe influir negativamente en la eficacia del enemigo natural (Carpenter 1992). En el ensayo que forma parte de este capítulo, se evaluó el uso de una estrategia integrada para controlar *T. absoluta*. De acuerdo con los resultados obtenidos, este enfoque demostró tener un interesante potencial, ya que la mayor supresión de la población de *T. absoluta* se logró cuando *T. cucurbitaceus* se combinó con la EH en el tratamiento T4.

En los resultados se observó que, durante el primer pico de población, se registraron más huevos de *T. absoluta* en las jaulas con insectos irradiados que en los otros tratamientos, lo que se puede adjudicar al mayor número de hembras liberadas (las irradiadas pueden poner huevos infértiles). Sin embargo, durante el segundo y tercer pico, se contaron más huevos en las jaulas control que en los otros tratamientos, reflejando el efecto supresor de la EH en los tratamientos en los que se aplicó esta técnica (T2 y T4). Esta herencia de la esterilidad en generaciones filiales también se ha reportado para otras especies de lepidópteros en estudios previos de semi-campo (Fu et al. 2016, Woods et al.

2016, Simmons et al. 2021). En el último tratamiento (T4), la reducción en el número de huevos fue aún más pronunciada debido a la actividad del depredador. De manera similar, la liberación de insectos irradiados (T2 y T4) provocó una disminución en la población de larvas en comparación con el control no tratado (T1) durante las tres generaciones estudiadas. Estos resultados sugieren que los machos parcialmente estériles pudieron aparearse con hembras no tratadas y tuvieron éxito en producir descendencia F1 estéril, que redujo el crecimiento de la población con el tiempo. El efecto en la población de larvas fue similar en los tratamientos donde las técnicas de control se aplicaron individualmente, es decir, el depredador solo (T3) o la EH sola (T2). Nuevamente, la mayor reducción en la población ocurrió en el tratamiento combinado (T4), donde el número de larvas en el último pico fue muy pequeño, e incluso alcanzó la extinción en dos réplicas. En promedio, en T4 la reducción en la cantidad de larvas grandes en el tercer pico poblacional con respecto al control fue de un 94 %. Se observó un efecto sinérgico en este tratamiento, probablemente porque el mayor número de huevos producidos al principio del ensayo por las polillas irradiadas favoreció a la población del depredador, al proveer un mayor suministro de alimento. Esta población fortalecida de *T. cucurbitaceus*, a su vez, ejerció una mayor presión sobre las generaciones sucesivas de huevos (tanto viables como no viables), lo que resultó en un efecto perjudicial sobre la población de polillas.

La chinche *T. cucurbitaceus* logró establecerse y persistir con *T. absoluta* como su única fuente de alimento. Este resultado fue similar al observado por Sánchez et al. (2014) para otra especie de la familia Miridae, *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), aunque este último enemigo natural no logró mantener la población de *T. absoluta* por debajo de niveles aceptables, con un alto porcentaje de frutas dañadas, que no difirió del control sin el depredador.

Durante el ensayo, *T. cucurbitaceus* completó dos generaciones. En el segundo pico, tanto el número de ninfas como de adultos se redujo en comparación con el primer pico, probablemente debido a la disminución en la disponibilidad de huevos de *T. absoluta*, especialmente en el tratamiento combinado (T4). Sin embargo, a pesar de esta baja densidad de alimento, las poblaciones de *T. cucurbitaceus* tuvieron la habilidad de subsistir

en las jaulas. Esta característica, sumada a que es un depredador generalista que puede aprovechar otras presas presentes en el cultivo de tomate (López et al. 2019), evidencia el potencial de este enemigo natural para contribuir en el manejo de *T. absoluta*. Es probable que la menor cantidad de adultos observada en T4 respecto de T3 en el segundo pico poblacional se deba a la abrupta disminución en la disponibilidad de presas, observada particularmente en ese tratamiento. En consecuencia, aunque los adultos inicialmente mejor nutridos pudieran haber tenido una mayor capacidad reproductiva, la supervivencia de las ninfas se habría visto significativamente reducida por la ausencia de alimento (Burla et al. 2014). Al implementar esta estrategia en un cultivo comercial, sería recomendable monitorear la presencia de presas y, ante su escasez, añadir alimento para incrementar la supervivencia y la descendencia del depredador.

Es importante tener en cuenta que, dado que el experimento se llevó a cabo en condiciones confinadas, los depredadores no tenían la opción de abandonar el sistema. Por lo tanto, sería recomendable confirmar las afirmaciones sobre el buen rendimiento de este enemigo natural en una situación más parecida a un cultivo comercial de tomate.

2.5 Conclusión

La integración de la EH con el uso del depredador generalista *T. cucurbitaceus* resultó en una mayor supresión de la población de *T. absoluta* en jaulas de exclusión en comparación con la aplicación de cada técnica por separado y demostró tener un efecto sinérgico. Esta integración de técnicas resulta prometedora para ser aplicada en sistemas productivos con baja presión de insecticidas. No obstante, son necesarias investigaciones para validar estos resultados en condiciones similares a cultivos de tomate comerciales.

Los datos incluidos en este capítulo han sido publicados en una revista científica internacional. A continuación, se indica la cita correspondiente:

Candás, L., Cagnotti, C.L. y López, S.N. Integration of inherited sterility and inoculative releases of a miridae predator for the control of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta*. BioControl 69, 29–37 (2024). <https://doi.org/10.1007/s10526-023-10239-w>

Capítulo III – *Goniozus legneri* como controlador biológico de *Tuta absoluta* y su integración con la EH



3.1 Introducción

Tuta absoluta es una especie que se ha dispersado a diferentes regiones del mundo. Esta plaga tiene la capacidad de adaptarse a cultivos protegidos y a campo, tanto en zonas de clima cálido como templado. En este marco, la efectividad de los enemigos naturales hallados en una determinada región puede variar considerablemente al cambiar las condiciones ambientales (Bottrell et al. 1998, Seiter y Kingsolver 2013). Esto resalta la necesidad de evaluar a diferentes entomófagos de manera tal de poder contar con alternativas que puedan adaptarse a cada uno de los sistemas productivos.

Un enemigo natural que podría ser incorporado en una estrategia de manejo integrado de *T. absoluta* es *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethilidae), un microhimenóptero ectoparasitoide larval, idiobionte¹ y generalista de larvas de lepidópteros. Este insecto fue encontrado originalmente en regiones del centro de Argentina y el sur de Uruguay. Posteriormente, fue utilizado en un exitoso programa de CB clásico a finales de la década del 70, cuando fue introducido en California, Estados Unidos, para ser liberado en cultivos de almendro con el propósito de controlar a la plaga *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) (Gordh 1982, Legner y Silveira-Guido, 1983).

El ciclo de vida de *G. legneri* incluye 4 estados: huevo, larva, pupa y adulto. Las hembras depositan los huevos sobre el insecto hospedador (previa paralización mediante la inyección de un veneno por medio de su aguijón) (Gordh et al. 1983). Los huevos poseen forma cilíndrica, su tamaño aproximado es de 0,6 mm de largo por 0,2 mm de ancho (Figura 17 a). Son gregarios, *i.e.* la hembra pone varios huevos (camada) sobre el mismo hospedador. El tamaño de la camada es altamente variable y depende del tamaño de la larva a la que parasita.

¹ Parasitoide idiobionte: es aquel que paraliza permanentemente a su hospedador durante el ataque, impidiendo cualquier desarrollo posterior (Timms et al. 2016).

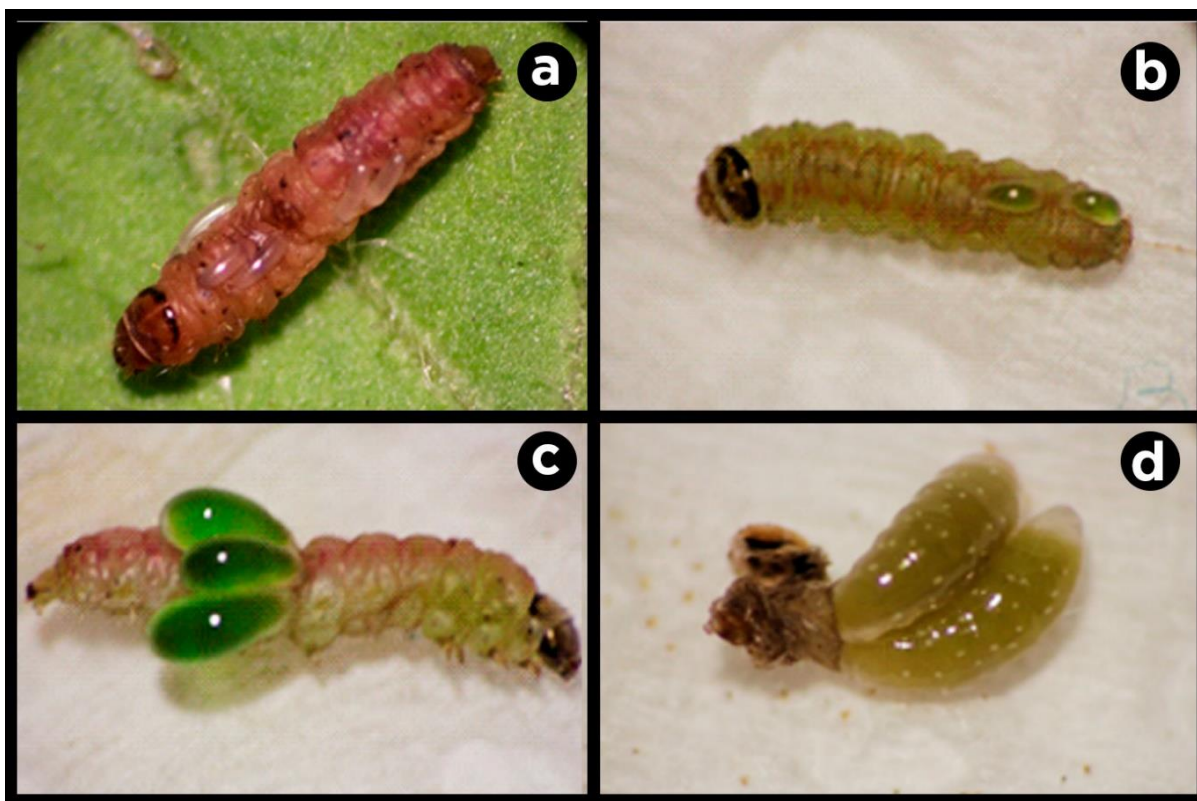


Figura 17. a) Huevos, b) larvas de primer estadio, c) larvas de segundo estadio y d) larvas de tercer estadio de *Goniozus legneri* desarrollados sobre *Tuta absoluta*.

Al eclosionar el huevo, la larva neonata del parasitoide inmediatamente introduce sus mandíbulas, comienza a alimentarse de la larva hospedadora, y permanece allí hasta concluir el desarrollo larval. Su color varía según la especie hospedadora (verde para *T. absoluta*). Esta especie pasa por 3 estadios larvales (Figura 17 b, c y d).

El estado de pupa transcurre dentro de un cocón de seda tejido por la larva de tercer estadio al terminar su desarrollo. Generalmente lo hace en una ubicación adyacente a los restos del hospedador (Figura 18 a). Por otra parte, el adulto es una pequeña avispa de color oscuro. Las hembras se diferencian de los machos por ser de mayor tamaño y por tener el aguijón claramente visible en la parte terminal de su abdomen (Figura 19).

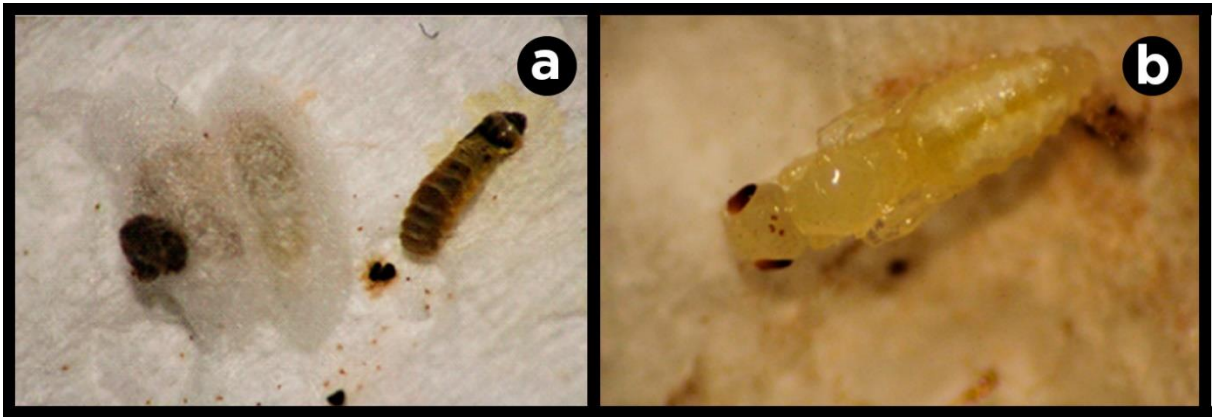


Figura 18. a) Pupas dentro de cocones de seda y b) pupa afuera del cocón.



Figura 19. Macho (izquierda) y hembra (derecha) de *Goniozus legneri*.

El reciente interés por el estudio de este enemigo natural en nuestro país surgió a partir de que, en el año 2004, fue hallado en el Alto Valle, en la provincia de Río Negro, parasitando larvas de carpocapsa, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), plaga clave en cultivos de importancia económica en esa zona (Garrido et al. 2005). La tasa de

parasitismo natural en el Alto Valle (6-8 %) resulta insuficiente para controlar a dicha plaga, por eso, se ha planteado una estrategia de CB inundativo, con liberaciones sucesivas de *G. legneri* (Garrido et al. 2018). En el Centro Multiplicador de Biocontroladores Nativos (CEMUBIO) de la EEA INTA Alto Valle, se estableció un protocolo de cría y se producen aproximadamente 1,5 millones de individuos de *G. legneri* por año, promoviendo su uso en un manejo sanitario integrado de carpocapsa y *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), junto con otros métodos no contaminantes como la técnica de confusión sexual. De este modo, se busca reducir la aplicación de insecticidas para el manejo de plagas en frutales de pepita y nogales (Cichón 2019). Garrido et al. (2019) lograron prescindir de la aplicación de insecticidas para el manejo de lepidópteros plaga luego de 4 temporadas de liberaciones sucesivas quincenales (de septiembre a marzo) de 2000 individuos de *G. legneri* por hectárea, en conjunto con la implementación de la técnica de confusión sexual en un cultivo comercial de peral en el norte de la Patagonia.

Debido a la condición generalista de *G. legneri*, surgió el interés en evaluar su capacidad para parasitar larvas de diferentes lepidópteros plagas de cultivos frutihortícolas, y se comprobó que es capaz de aceptar a larvas de cuarto estadio de *T. absoluta* como hospedadoras (Garrido et al. 2018). Además, estos autores señalan que tanto su carácter de idiobionte, como su hábito de alimentarse de su hospedador (*host-feeding*) previamente a la oviposición, lo convierten en un enemigo natural que puede ocasionar gran mortalidad. Sin embargo, no se han realizado investigaciones exhaustivas sobre la capacidad de este parasitoide para desarrollarse y reproducirse con éxito cuando se alimenta exclusivamente de larvas de *T. absoluta*.

Paralelamente, la efectividad del uso de *G. legneri* para el manejo de la polilla del tomate, podría ser aumentada si se utiliza en conjunto con otros métodos de manejo compatibles como, por ejemplo, la EH. En este marco, el objetivo de este capítulo fue evaluar la aceptación por parte del parasitoide *G. legneri* de larvas de cuarto estadio de *T. absoluta* correspondientes a la generación filial de hembras no irradiadas cruzadas con machos irradiados, en comparación con larvas descendientes de ambos parentales no tratados. Asimismo, se analizó la adecuación de estas larvas para el desarrollo del

parasitoide. Estos resultados permitirán establecer las bases para determinar la viabilidad del uso de *G. legneri* en conjunto con la EH para el manejo de *T. absoluta*.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Origen de los insectos utilizados en los ensayos

Los ensayos de este capítulo se llevaron a cabo en las instalaciones del IILB, IMyZA, INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. Las pupas de *T. absoluta* se obtuvieron de la cría a la que se hizo referencia en la sección 2.2.1. Los individuos de *G. legneri*, por su parte, fueron proporcionados por el CEMUBIO, EEA INTA Alto Valle, Argentina.

3.2.2 Procedimiento para obtener las larvas utilizadas en los ensayos

Tanto el procedimiento para recolectar y sexar las pupas, como el irradiador utilizado son idénticos a los descritos en la sección 2.2.2. Tras la irradiación, los adultos emergidos de la polilla se distribuyeron en jaulas acrílicas (40 cm de largo, 40 cm de ancho y 50 cm de alto) (Figura 20), según los cruzamientos a comparar: ♂N x ♀N o ♂I x ♀N (donde ♂N es macho sin tratar, ♀N es hembra sin tratar y ♂I es macho irradiado). Estas jaulas contenían plantas de tomate como sustrato de oviposición y alimento. Las larvas de cuarto estadio, derivadas de estos cruzamientos, se utilizaron en los experimentos descritos a continuación.



Figura 20. Jaula de oviposición utilizada para obtener las larvas de *Tuta absoluta* descendientes de los distintos cruzamientos.

3.2.3 Capacidad de *Goniozus legneri* para provocar mortalidad en larvas de *Tuta absoluta* en 24 horas

Se introdujo una hembra de *G. legneri* apareada (de 48 a 72 horas de edad) y con 24 horas de inanición en una placa de Petri (10 cm de diámetro y 2 cm de altura) que contenía folíolos de tomate (Figura 21). Estos folíolos contenían 1, 3 o 5 larvas de cuarto estadio de *T. absoluta* dentro de galerías, obtenidas de uno de los cruzamientos evaluados ($\sigma^N \times \text{♀}N$ o $\sigma^I \times \text{♀}N$). No se proporcionó ninguna fuente adicional de alimento al parasitoide. Al cabo de 24 horas, se registró el número de larvas muertas por parasitismo, por muerte no reproductiva (indicada por marcas oscuras de alimentación o introducción del aguijón sin posterior oviposición) y muertas por causas desconocidas. Se realizaron cinco réplicas para cada tratamiento (combinación de origen de la larva con la cantidad de larvas evaluadas). Además, se incluyeron cinco réplicas sin parasitoide como control para cada tratamiento.



Figura 21. Dispositivos utilizados en el ensayo de la sección 3.2.3.

3.2.4 Capacidad de *Goniozus legneri* para provocar mortalidad en larvas de *Tuta absoluta* a lo largo de su vida

Para este ensayo, se colocó individualmente una hembra de *G. legneri* recién emergida (<24 horas), previamente apareada (el apareamiento se constató mediante observación directa), en una placa de Petri (3 cm de diámetro y 1 cm de altura) con un folíolo de tomate que contenía una galería con una larva de cuarto estadio de *T. absoluta* dentro (Figura 22), procedente de ambos progenitores no tratados o de parentales machos irradiados y hembras no tratadas (20 réplicas por tratamiento). Cada 24 horas, se sustituyó la larva por una nueva y se continuó este procedimiento hasta la muerte de la hembra. No se suministró ninguna fuente de alimento adicional al parasitoide. Cada día se registró el estado de la larva previamente expuesta (muerta por actividades no reproductivas, parasitada, muerta por causas desconocidas, o viva) y el número de huevos puestos por la hembra del parasitoide. El conteo de huevos se realizó mediante observación directa de la

superficie corporal de la larva hospedadora, registrándose el número total de huevos visibles adheridos externamente. Esto permitió estimar la fecundidad y la longevidad de las hembras. Además, se realizó un ensayo análogo utilizando machos de *G. legneri* recién emergidos (<24 h) con el objetivo de evaluar si los machos del parasitoide podían provocar mortalidad directa en larvas de *T. absoluta* (10 réplicas por tratamiento). Este ensayo se continuó hasta la muerte de los machos, posibilitando estimar su longevidad. Se incluyeron réplicas sin parasitoide como controles para ambos sexos. Para estimar las larvas de *T. absoluta* cuya muerte puede atribuirse al parasitoide, la mortalidad de estas en presencia de *G. legneri* se corrigió restando la mortalidad media en los controles.



Figura 22. Dispositivos utilizados en el ensayo de la sección 3.2.4.

3.2.5 Tiempo de desarrollo y supervivencia de los estados preimaginales de *Goniozus legneri* y proporción sexual de la descendencia

Se conservaron las larvas parasitadas del experimento anterior para registrar el tiempo de desarrollo de los estados preimaginales y su supervivencia hasta la emergencia

de los adultos o su muerte. También se registró el sexo de los adultos emergidos para estimar la proporción de sexos de la descendencia (proporción de hembras). Los experimentos de las secciones **3.2.3**, **3.2.4** y **3.2.5** se realizaron en una cámara en condiciones controladas, a 25 ± 2 °C, 55-75 % HR, L:D 14:10.

3.2.6 Parámetros de crecimiento poblacional

Se construyó una tabla de vida utilizando los datos de supervivencia diaria de los estados preimaginales y adultos, los recuentos de la progenie producida y las larvas muertas por acción de las hembras (incluyendo *host-feeding* y mortalidad asociada al agujoneo o manipulación del hospedador) obtenidos en los apartados **3.2.4** y **3.2.5**. La tabla de vida permitió la estimación de los siguientes parámetros demográficos: la tasa de reproducción básica (R_0)^a, el tiempo generacional (T)^b, la tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m)^c y la *pest kill rate* (k_m)^d. Estos parámetros se calcularon utilizando el software desarrollado por La Rossa (2015), que incorpora la técnica Jackknife para estimar el error estándar (EE) de cada parámetro.

Definiciones

^a R_0 : número medio de descendientes producido por cada individuo original al final de la cohorte.

^b T : intervalo de tiempo promedio que transcurre entre el nacimiento de una generación y el nacimiento de la siguiente.

^c r_m : tasa máxima potencial a la que una población puede crecer por individuo por unidad de tiempo.

^d k_m : media diaria ponderada de la mortalidad del hospedador o la presa a lo largo de su vida debido a las acciones (depredación, parasitismo y mortalidad no reproductiva de presas y hospedadores) de un enemigo natural (van Lenteren et al. 2021).

3.2.7 Análisis estadístico

El efecto del origen y la cantidad de larvas ofrecidas sobre la cantidad de larvas que puede matar una hembra de *G. legneri* en 24 horas se analizó mediante un Modelo Lineal Generalizado (MLG) con distribución de Poisson y función de enlace log. El modelo incluyó

un término de interacción entre el origen de las larvas y la cantidad de larvas ofrecidas. Dado que no hubo mortalidad en los controles, la mortalidad larval registrada en presencia del depredador no se corrigió y se atribuyó exclusivamente a su comportamiento. Para las variables que cumplieron los supuestos de la distribución de Gauss (total de larvas muertas, larvas muertas por día, larvas parasitadas por día, fecundidad diaria, r_m , R_0 , k_m y T), se realizó una prueba t al nivel de significación 0,05 para evaluar las posibles diferencias entre tratamientos. En cuanto a los parámetros en los cuales no se cumplió alguno de los supuestos de la distribución normal, se emplearon Modelos lineales generalizados (MLG) para el análisis de los datos. El total de larvas parasitadas y la longevidad de los machos se examinaron mediante MLG con una distribución de Poisson y función de enlace logarítmico. En los casos con sobredispersión significativa (descendencia, fecundidad total) o subdispersión (longevidad de las hembras, tiempo de desarrollo preimaginal de hembras y machos), se ajustaron los MLG con una distribución de Conway-Maxwell-Poisson y una función de enlace logarítmico. Los datos de supervivencia de hembras y estados preimaginales se analizaron mediante curvas de supervivencia de Kaplan-Meier, y las posibles diferencias entre el origen de las larvas se evaluaron mediante una prueba de log-rank al nivel de significación de 0,05. Por último, se empleó la prueba χ^2 al nivel de significación 0,05 para comparar los números observados de machos y hembras con el número esperado de cada sexo para una de proporción 1:1. Todos los análisis se realizaron con el software R, v.4.1.2 (R Core Team 2022), los MLG se ajustaron con el paquete glmmTMB y los gráficos se crearon con el paquete ggplot2.

3.3 Resultados

3.3.1 Capacidad de *Goniozus legneri* para provocar mortalidad en larvas de *Tuta absoluta* en 24 horas

No hubo diferencias estadísticamente significativas en el número de larvas muertas por hembra en 24 horas, independientemente del número de larvas expuestas ($\chi^2 = 2,77$, $gl = 1$, $p = 0,096$) y de su origen ($\chi^2 = 0,03$, $gl = 1$, $p = 0,87$). En promedio, murieron 1,1 larvas

debido a la suma de parasitismo y *host-feeding* (Tabla 1), y la interacción entre los factores no resultó estadísticamente significativa ($\chi^2 = 0,65$, gl = 1, $p = 0,42$).

Tabla 1. Cantidad de larvas de *Tuta absoluta* que puede matar una hembra de *Goniozus legneri* en 24 horas (media $\pm$ EE)

Número de larvas ofrecidas	Origen de la larva (tratamiento)	
	$\sigma^N \times \text{♀}N$	$\sigma^I \times \text{♀}N$
1	1 ± 0 a	$0,8 \pm 0,2$ a
3	$1 \pm 0,32$ a	$0,8 \pm 0,2$ a
5	$1,4 \pm 0,4$ a	$2 \pm 0,63$ a

Medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0.05$).

σ^N = macho sin tratar, $\text{♀}N$ = hembra sin tratar, σ^I = macho irradiado.

3.3.2 Capacidad de *Goniozus legneri* para provocar mortalidad en larvas de *Tuta absoluta* a lo largo de su vida

Las hembras de *G. legneri* mataron un número significativamente mayor de larvas cuando se les ofreció larvas hijas de machos parentales irradiados, con una media de 9,13 larvas por hembra, en comparación con aquellas descendientes de parentales no tratados, que mostraron una media de 7,19 larvas por hembra a lo largo de su vida ($t = 3,2$, gl = 38, $p < 0,05$) (Tabla 2). Además, el recuento diario de larvas muertas por hembra —considerando tanto las larvas parasitadas como aquellas muertas por acción no reproductiva de la hembra (host feeding y/o aguijoneo)— también fue significativamente mayor en las expuestas a larvas del cruzamiento $\sigma^I \times \text{♀}N$ (0,63 larvas por hembra por día), en comparación con las que depredaron larvas de progenitores no tratados (0,55 larvas por hembra y día) ($t = 2,53$, gl = 38, $p < 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2. Larvas muertas en total, larvas muertas por día, fecundidad total (huevos por hembra), fecundidad diaria (huevos por hembra por día), larvas parasitadas en total, larvas parasitadas por día, descendencia (adultos por hembra), longevidad (σ y φ , días) y tiempo de desarrollo preimaginal (σ y φ , días) de *G. legneri* desarrollado sobre larvas de *T. absoluta* de dos orígenes diferentes (media $\pm$ EE).

Parámetro	Origen de la larva (tratamiento)	
	σ N x φ N	σ I x φ N
Larvas muertas en total	7,19 $\pm$ 0,48 a	9,13 $\pm$ 0,37 b
Larvas muertas por día	0,55 $\pm$ 0,02 a	0,63 $\pm$ 0,02 b
Fecundidad total	4,40 $\pm$ 1,02 a	3,85 $\pm$ 0,69 a
Fecundidad diaria	0,33 $\pm$ 0,07 a	0,27 $\pm$ 0,05 a
Larvas parasitadas en total	2,10 $\pm$ 0,48 a	1,70 $\pm$ 0,27 a
Larvas parasitadas por día	0,16 $\pm$ 0,03 a	0,12 $\pm$ 0,02 a
Descendencia	1,90 $\pm$ 0,58 a	1,65 $\pm$ 0,41 a
Longevidad de hembras	13,05 $\pm$ 0,44 a	14,65 $\pm$ 0,47 b
Longevidad de machos	3,1 $\pm$ 0,59 a	3,3 $\pm$ 0,56 a
Tiempo de desarrollo preimaginal (σ)	13,11 $\pm$ 2,48 a	13,96 $\pm$ 2,91 a
Tiempo de desarrollo preimaginal (φ)	14,50 $\pm$ 4,59 a	15,00 $\pm$ 4,74 a

Medias en una fila seguidas por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0.05$).

σ N = macho sin tratar, φ N = hembra sin tratar, σ I = macho irradiado.

La fecundidad total y la fecundidad diaria no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($\chi^2 = 0,19$, gl = 1, $p = 0,66$ y $t = -0,57$, gl = 38, $p = 0,57$, respectivamente)

(Tabla 2, Figura 23). Del mismo modo, las larvas parasitadas totales y diarias por hembra no difirieron en función del tratamiento ($\chi^2 = 0,84$, gl = 1, $p = 0,36$ y $t = -0,68$, gl = 38, $p = 0,50$, respectivamente) (Tabla 2). Además, el tipo de larva ofrecida tampoco influyó en la descendencia producida por las hembras, manteniéndose los valores medios por debajo de 2 descendientes en ambos tratamientos ($\chi^2 = 0,13$, gl = 1, $p = 0,72$) (Tabla 2). Por otro lado, la supervivencia de las hembras adultas no arrojó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($\chi^2 = 0,029$, gl = 1, $p = 0,86$) (Figura 24).

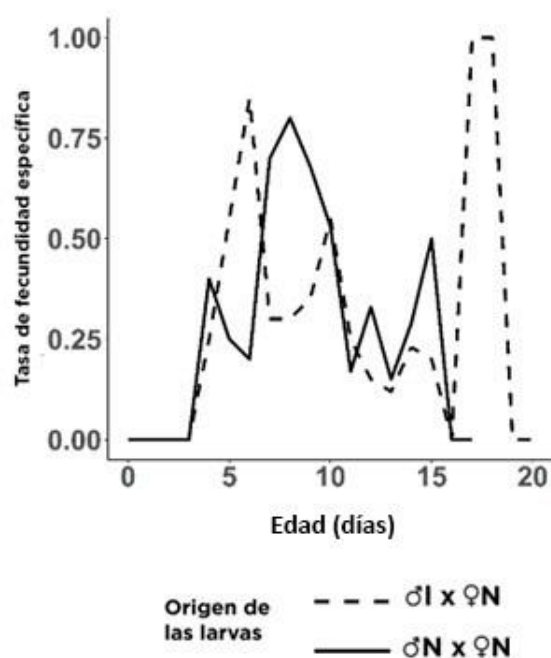


Figura 23. Tasa de fecundidad específica por edad (huevos por hembra por día) de hembras adultas de *Goniozus legneri* expuestas a larvas de *Tuta absoluta* de progenitores no tratados (línea continua) y de parejas con el macho irradiado (línea discontinua).

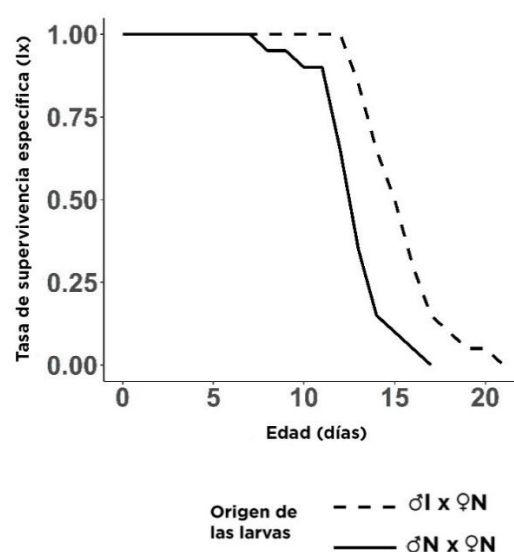


Figura 24. Tasa de supervivencia específica por edad de hembras adultas de *Goniozus legneri* expuestas a larvas de *Tuta absoluta* de progenitores no tratados (línea continua) y larvas descendientes de parejas con el macho irradiado (línea discontinua).

En cuanto a la longevidad, las hembras del parasitoide tuvieron una vida media de aproximadamente de 15 días al consumir larvas de *T. absoluta* descendientes de progenitores machos irradiados. Sin embargo, las hembras de *G. legneri* vivieron un tiempo significativamente menor, con una media de aproximadamente 13 días, tras alimentarse de larvas de *T. absoluta* de progenitores no tratados ($\chi^2 = 6,41$, $gl = 1$, $p < 0,05$) (Tabla 2). Por el contrario, los machos mostraron una longevidad similar de aproximadamente 3 días en ambos tratamientos, sin que se detectaran diferencias estadísticas significativas ($\chi^2 = 0,06$, $gl = 1$, $p = 0,80$) (Tabla 2).

3.3.3 Tiempo de desarrollo y supervivencia de los estados preimaginales de *Goniozus legneri* y proporción sexual de la descendencia

El tiempo de desarrollo preimaginal no mostró diferencias estadísticas significativas en función del origen de las larvas sobre las que se desarrolló *G. legneri*, ni en machos ni en hembras ($\chi^2 = 1,42$, $gl = 1$, $p = 0,23$ y $\chi^2 = 0,007$, $gl = 1$, $p = 0,93$, respectivamente) (Tabla 2),

y tampoco las hubo en las supervivencias de huevos ($\chi^2 = 0,78$, gl = 1, p = 0,38), larvas ($\chi^2 = 0,09$, gl = 1, p = 0,76) y pupas ($\chi^2 = 0,03$, gl = 1, p = 0,87). La supervivencia específica por edad (lx) de estados preimaginales de *G. legneri* fue del 40,3 % para los que consumieron larvas provenientes del cruzamiento ♂N x ♀N, y del 42,5 % para los que consumieron larvas provenientes del cruzamiento ♂I x ♀N (Figura 25). La descendencia del parasitoide fue predominantemente masculina para ambos orígenes de larvas de *T. absoluta*, comprendiendo algo más del 60 % de machos en ambos tratamientos. Sin embargo, la proporción de sexos no difirió significativamente de 0,5 ($\chi^2 = 2,13$, gl = 1, p = 0,14 y $\chi^2 = 3,03$, gl = 1, p = 0,08 para los parentales no tratados y los parentales machos irradiados, respectivamente).

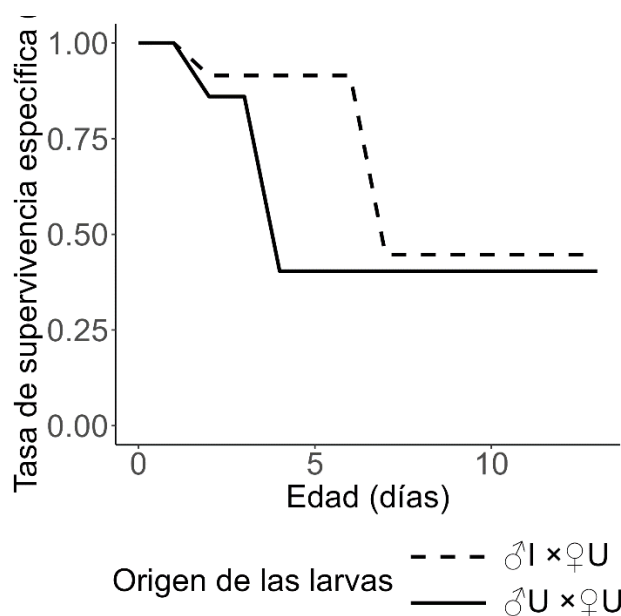


Figura 25. Supervivencia específica por edad (lx) de estados preimaginales de *Goniozus legneri* desarrollados sobre larvas de *Tuta absoluta* de progenitores no tratados (línea continua) y larvas descendientes de parejas con el macho irradiado (línea discontinua).

3.3.4 Parámetros de crecimiento poblacional

El tipo de larvas de *T. absoluta* suministradas a las hembras del parasitoide no tuvo un impacto significativo en los parámetros de crecimiento de la población de *G. legneri*. Esto incluye la tasa de reproducción básica (R_0) ($t = 0,48$, $gl = 102$, $p = 0,63$), la tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m) ($t = 0,36$, $gl = 102$, $p = 0,72$), el tiempo de generación (T) ($t = 0,09$, $gl = 102$, $p = 0,93$) y la *pest kill rate* (k_m) ($t = 1,24$, $gl = 102$, $p = 0,22$) (Tabla 3).

Tabla 3. Tasa reproductiva básica (R_0), tiempo de generación (T) (días), tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m) y *pest kill rate* (k_m) de *Goniozus legneri* desarrollándose sobre larvas de *Tuta absoluta* de diferentes orígenes (media $\pm$ EE).

Parámetro	Origen de la larva (tratamiento)	
	$\sigma^N \times \text{♀}N$	$\sigma^I \times \text{♀}N$
R_0	1.49 ± 0.44 a	1.77 ± 0.42 a
T	22.85 ± 0.62 a	22.94 ± 0.75 a
r_m	0.019 ± 0.01 a	0.026 ± 0.01 a
k_m	0.049 ± 0.01 a	0.06 ± 0.01 a

Medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0.05$).

σ^N = macho sin tratar, $\text{♀}N$ = hembra sin tratar, σ^I = macho irradiado.

3.4 Discusión

Los ensayos realizados en el presente capítulo contribuyen a una mejor comprensión de la biología del parasitoide *G. legneri* desarrollado sobre larvas de la polilla del tomate, *T. absoluta*. Aunque una investigación previa confirmó la capacidad de oviposición de *G. legneri* sobre larvas de *T. absoluta* de cuarto estadio (Garrido et al. 2018), no se había realizado un examen exhaustivo de las interacciones biológicas en este sistema parasitoide-hospedador. Los resultados aquí expuestos no sólo confirman que *G. legneri*

puede poner huevos en larvas de *T. absoluta*, sino que también demuestran su capacidad para sobrevivir y reproducirse, aunque en número limitado, en este hospedador.

Las hembras del parasitoide pudieron parasitar aproximadamente una larva en 24 horas, aunque estaban en estado de inanición y tenían acceso a más larvas, en condiciones de aislamiento. Una explicación plausible para este resultado podría ser la existencia de un comportamiento altruista reportado en parasitoides del género *Goniozus* (Hardy et al. 2013). Éste consiste en que las hembras suelen permanecer cerca del hospedador durante varias horas después del parasitismo, cuidando a la cría de posibles depredadores o de otras hembras conespecíficas. Este comportamiento puede limitar su capacidad para buscar y atacar a nuevos hospedadores durante este período de tiempo.

Los parámetros biológicos de *G. legneri* fueron similares para ambos tipos de larvas hospedadoras, excepto en el caso de la cantidad de larvas totales y por día muertas por acción de la hembra del parasitoide, y la longevidad de las hembras, parámetros que fueron significativamente mayores en hembras a las que se les ofrecieron larvas de *T. absoluta* descendientes del cruzamiento ♂I x ♀N. Dado que el número de larvas parasitadas fue el mismo, la diferencia en las larvas muertas puede atribuirse a que el parasitoide causó más daños no reproductivos (alimentación del hospedador o picadura con el aguijón) a las larvas de los progenitores irradiados. La mayor alimentación, a su vez, probablemente produjo una mayor longevidad de las hembras de *G. legneri* en este tratamiento. Mansour (2015), observó que las larvas de lepidópteros de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) mostraban una baja actividad tras ser expuestas a la radiación. En nuestro estudio, estos efectos deletéreos pueden haber sido heredados por las larvas de los machos parentales tratados, reduciendo su movilidad y permitiendo a las hembras de *G. legneri* capturarlas y alimentarse de ellas más fácilmente que de las larvas descendientes de los parentales no tratados. Por otra parte, también podría producirse una mejora de la calidad nutricional de las larvas descendientes del cruzamiento ♂I x ♀N. Este fenómeno se observó anteriormente en individuos de *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae) tratados con altas dosis de rayos X, cuyas larvas, pupas y hembras adultas mostraron un enriquecimiento en los contenidos de proteínas y carbohidratos tras la irradiación (Aksoy et al. 2015, Aksoy

y Toroğlu 2017). Son necesarias futuras investigaciones para comprender el efecto de la radiación en la calidad de las larvas descendientes de los especímenes irradiados en *T. absoluta*.

Independientemente del tipo de larva de *T. absoluta*, tanto la fecundidad como la descendencia de *G. legneri* fueron muy inferiores a las observadas en otros lepidópteros hospedadores. Por ejemplo, Laumann et al. (2000) encontraron una fecundidad de 203 huevos por hembra de *G. legneri* y una descendencia media de 156 individuos cuando utilizaron *C. pomonella* como hospedador. Otros estudios indicaron que *G. legneri* producía una descendencia de unos 39 y 10,5 individuos sobre *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) y *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), respectivamente (Butler y Schmidt 1985, Legner y Warkentin 1988). Estas diferencias podrían ser atribuibles al hecho de que las hembras del género *Goniozus* pueden ajustar el tamaño de la camada en función del tamaño del hospedador, con el fin de asegurar recursos suficientes para el desarrollo de las crías (Gordh y Hawkins 1981, Hardy et al. 1992, Luft 1993). Luft (1993) observó que las hembras de *Goniozus nigrifemur* Ashmead (Hymenoptera: Bethilidae), cuando se les proporcionaban hospedadores de tamaño artificialmente reducido mediante ligadura, no reducían el tamaño de sus puestas en comparación con el grupo no tratado. Esto lo llevó a la conclusión de que la longitud del hospedador no afectaba a la decisión de las hembras sobre el tamaño de la puesta, sino otras características como podrían ser la circunferencia, el diámetro de la cápsula cefálica o ciertas claves químicas como la composición cuticular. Las larvas de *T. absoluta* son considerablemente más pequeñas que las de las especies empleadas en estudios previos, por lo que el tamaño del hospedador podría ser uno de los factores que explique la menor descendencia observada. Sin embargo, es probable que este resultado responda a múltiples causas, entre ellas posibles diferencias en la calidad nutricional de las larvas ofrecidas.

En el caso de la longevidad de las hembras de *G. legneri*, en ambos tratamientos fue inferior a la observada en las hembras que parasitaban *A. transitella* (96 días), *P. gossypiella* (23,1 días) y *C. pomonella* (61,2 días) (Gordh et al. 1983, Butler y Schmidt 1985, Laumann et al. 2000). Sin embargo, es importante señalar que, en esos estudios, las hembras del

parasitoide utilizadas en los ensayos fueron suplementadas con una solución azucarada, y en Gordh et al. (1983), los parasitoides "descansaron" sin hospedadores durante un día después de poner al menos un huevo. Además, Shoeb et al. (2005) compararon la longevidad de las hembras bajo diferentes regímenes alimenticios y descubrieron que los individuos sin suplementación alimenticia (a parte de las larvas hospedadoras) vivían menos tiempo que los alimentados con miel o una combinación de miel y hemolinfa de *P. gossypiella*. Es probable que el suministro de una fuente adicional de carbohidratos contribuyera a prolongar la longevidad de las hembras. Además, la longevidad de los machos adultos aquí registrada fue inferior a la media de 8,5 días señalada por Laumann et al. (2000).

El tiempo de desarrollo preimaginal de hembras y machos desarrollados en *T. absoluta* fue similar al registrado en otros hospedadores (Gordh et al. 1983, Butler y Schmidt 1985, Laumann et al. 2000). Contrariamente a nuestros hallazgos, estos autores informaron una proporción sexual con sesgo hacia las hembras en la progenie. Todas las especies estudiadas del género *Goniozus* tienen partenogénesis arrenotóxica; las hembras, con una cantidad suficiente de esperma, pueden regular la proporción de sexos de la camada, y normalmente deciden asegurar el número mínimo de machos necesario para fertilizar a todas las hembras de la progenie (Gordh y Hawkins 1981). Teniendo esto en cuenta, y considerando que el número de huevos puestos sobre las larvas de *T. absoluta* fue siempre reducido (entre 1 y 5), era de esperar que la proporción de sexos se aproximara a 1:1. Además, se produjo una elevada mortalidad en estadios inmaduros, lo que podría reducir la influencia materna en la proporción sexual secundaria.

La tasa de reproducción básica (R_0), la tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m) y la *pest kill rate* (k_m), evaluados para *G. legneri* cuando se alimenta/parasita larvas de *T. absoluta* de ambos orígenes, resultaron ser inferiores a los obtenidos para otros parasitoides larvarios de *T. absoluta* como *Bracon nigricans* Szépligeti, *Dolichogenidea gelechiidivoris* Marsh, *P. dignus* y *Necremnus tutae* Ribes & Bernardo (Hymenoptera: Eulophidae) (Biondi et al. 2013, Calvo et al. 2013, Nieves et al. 2015, Aigbedion-Atalor et al. 2020, van Lenteren et al. 2021). Sin embargo, *Dineulophus phthorimaeae* De Santis

(Hymenoptera: Eulophidae) mostró parámetros poblacionales inferiores a los de *G. legneri* (Luna et al. 2010, Savino et al. 2012, van Lenteren et al. 2021). Según van Lenteren et al. (2021), la *pest kill rate* (k_m) es un parámetro más fiable que la tasa intrínseca de incremento poblacional (r_m) para comparar la aptitud de los parasitoides, ya que su estimación también incluye a los hospedadores que mueren por comportamientos no reproductivos (alimentación del hospedador y picadura con el aguijón). Este parámetro en *G. legneri* cuando se alimenta/parasita larvas de *T. absoluta* fue inferior a los valores obtenidos para la mayoría de los parasitoides larvarios de *T. absoluta* estudiados previamente. Finalmente, en nuestro trabajo, *G. legneri* tuvo un tiempo medio de generación (T) inferior a los calculados para *B. nigricans*, *D. gelechiidivoris* y *P. dignus*, y similar al registrado en *D. phthorimaeae* y *N. tutae* (van Lenteren et al. 2021).

3.5 Conclusión

Goniozus legneri puede desarrollarse y reproducirse en larvas de *T. absoluta* de los dos orígenes estudiados, sin embargo, sus parámetros biológicos sugieren que podría no ser un candidato ideal para el CB de esta plaga. Confiar únicamente en este parasitoide para un programa de manejo no sería aconsejable, debido a su reducido *fitness*. No obstante, en Argentina, *G. legneri* se cría actualmente en el CEMUBIO para el control de otras plagas (*C. pomonella* y *G. molesta*), y en este contexto, un enfoque económicamente viable podría consistir en utilizar el excedente de producción de insectos en estrategias de CB inundativo para reforzar y complementar las medidas de control contra *T. absoluta* aplicadas en los invernaderos de la zona, como el uso de feromonas o insecticidas compatibles. La combinación de *G. legneri* con la técnica de EH podría no ser conveniente, ya que este enemigo natural parece tener un mayor impacto sobre las larvas descendientes de progenitores machos irradiados, como indican los resultados de este estudio.

Los datos incluidos en este capítulo han sido publicados en una revista científica internacional. A continuación, se indica la cita correspondiente:

Candás, L., Cagnotti, C.L. y López S.N. (2025). Life history traits of the parasitoid *Goniozus legneri* parasitizing *Tuta absoluta* larvae: Assessing the viability of integrating biological control and inherited sterility. Entomologia Experimentalis et Applicata 173: 826–833. <https://doi.org/10.1111/eea.13594>

Capítulo IV – Integración de la EH y el uso del parasitoide *Pseudapanteles dignus* para el manejo de *Tuta absoluta*



4.1 Introducción

Uno de los enemigos naturales que más interés ha despertado para ser utilizado en estrategias de manejo integrado de *T. absoluta* en Argentina es *P. dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae). Se trata de un endoparasitoide larval, solitario, koinobionte², de distribución neotropical y neártica, cuya presencia en nuestro país parasitando a la polilla del tomate se ha reportado tanto en cultivos comerciales como en la vegetación espontánea (Salas Gervasio et al. 2016).

Este insecto posee una serie de características que destacan su potencial como controlador biológico, como ser:

- Es una especie de hábito alimenticio oligófago, con su rango de hospedadores restringido a *T. absoluta* y algunas otras especies de la familia Gelechiidae (Muesebeck 1938, Cardona y Oatman 1971);
- Tiene presencia espontánea en cultivos de tomate a campo y bajo invernadero y adaptación a cultivos con manejo tanto orgánico como convencional, en diferentes regiones de nuestro país (Botto et al. 1998, Cáceres et al. 2011, Puch 2011, Garrido et al. 2017, Vallina et al. 2020);
- Posee la capacidad de parasitar a todos los estadios larvales de *T. absoluta* sin preferencia entre ellos y de sincronizar su tiempo de desarrollo con el del hospedador (Luna et al. 2007, Nieves et al. 2015).
- Su tasa de ataque es superior a la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) de la plaga (Luna et al. 2007);
- Se han registrado elevadas tasas de parasitismo natural ($\approx 46\%$) (Luna et al. 2015);
- Muestra respuesta de agregación a la densidad de la plaga (Sánchez et al. 2009).

² Parasitoide koinobionte: es aquel cuyo estilo de vida consiste en desarrollarse sobre un hospedador en crecimiento que continúa moviéndose y alimentándose durante un periodo significativo del desarrollo de la larva del parasitoide (Cuny y Poelman 2022).

Su ciclo biológico se inicia cuando la hembra deposita un huevo introduciendo su ovipositor dentro del hemocele del hospedador. Como se ha mencionado anteriormente, se trata de un parasitoide solitario, no obstante, se ha demostrado que puede existir auto-superparasitismo³ en esta especie, lo que podría aumentar la probabilidad de dejar descendientes al poder escapar, algunos de ellos, del encapsulamiento por parte del hospedador (Luna et al. 2016, D'Auro et al. 2021). El huevo recién depositado es alargado y translúcido, de dimensiones pequeñas (longitud media de 0,35 mm y ancho medio de 0,06 mm) (Cardona y Oatman 1971).

El estado larval transcurre dentro del hospedador y está compuesto por tres estadios llamados larva mandibulada y larvas himenopteriformes I y II, respectivamente (Cardona y Oatman 1971). Según Luna et al. (2007), el tiempo de desarrollo con *T. absoluta* como hospedador desde huevo hasta pupa es de 12 días. Nieves (2013) comparó el parasitismo de *P. dignus* en larvas de *T. absoluta* de diferentes estadios de desarrollo y encontró que, si bien el parasitoide pudo atacar a todos los estadios de la polilla, su desempeño es desigual; en los primeros estadios (L₁-L₂) el tiempo de desarrollo del estado larval del parasitoide fue aproximadamente 3 días menor (≈ 9 días) que en las larvas de los estadios L₃-L₄ (≈ 12 días), a 25 ± 2 °C. Además, se halló un mejor *fitness* (tasa de parasitismo, fecundidad), del parasitoide cuando se desarrolló en larvas de segundo y tercer estadio (Nieves 2013, Savino 2014). Al completarse el estado larval, el parasitoide emerge al exterior, momento en el cual se produce la muerte del hospedador (Figura 26). Luego, la larva del parasitoide teje un cocón de forma cilíndrica y de color blanco plateado (3,5 mm x 1,2 mm) (Cardona y Oatman 1971) (Figura 27a).

La pupa es del tipo exarata (Figura 27b); este estado ocurre dentro del cocón y tiene una duración de aproximadamente 12 días a 25 ± 2 °C (Luna et al. 2007). El sexo es fácilmente distinguible en este estado, ya que la pupa hembra posee las antenas más cortas y el ovipositor visible.

³ Auto-superparasitismo: oviposición dentro de hospedadores que ya han recibido uno o más huevos por parte de una hembra determinada (Desneux et al. 2009).



Figura 26. Larva de *Pseudapanteles dignus* emergiendo de la larva de *Tuta absoluta* hospedadora.

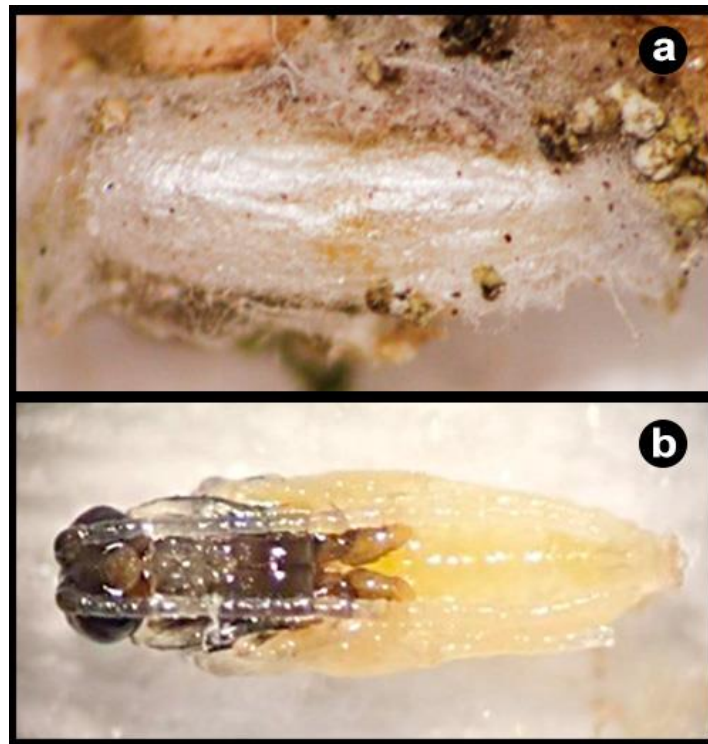


Figura 27. a) Cocón de *Pseudapanteles dignus* con pupa en su interior; **b)** pupa de un macho de *Pseudapanteles dignus* fuera del cocón.

En los adultos, se puede diferenciar a la hembra por su ovipositor conspicuo (Figura 28). Además, también existen diferencias sutiles en el color: las hembras son de color negro con partes de las antenas, patas y abdomen amarillas, mientras que los machos poseen el abdomen más oscuro (Figura 29) (Cardona y Oatman 1971).

No se ha registrado para esta especie periodo de preoviposición y se ha demostrado que las hembras tienden a depositar más del 50 % del total de huevos durante la primera semana de vida adulta de la hembra, con una capacidad aproximada de 192 huevos a lo largo de toda su vida (Nieves 2013). Luna et al. (2007) evaluaron la cantidad de larvas que podría parasitar una hembra en 24 h y observaron que a mayor densidad de larvas hubo un aumento lineal en el número de hospedadores parasitados hasta estabilizarse y alcanzar una meseta a una densidad de entre 20 y 30 larvas. La longevidad de los adultos con suministro de agua y miel como alimento fue de 13,6 y 10,2 días para machos y hembras, respectivamente, según Cardona y Oatman (1971), mientras que Luna et al. (2007) encontraron una longevidad de las hembras adultas de 12 días.



Figura 28. Adulto hembra de *Pseudapanteles dignus*.



Figura 29. Adulto macho de *Pseudapanteles dignus*.

En cuanto a su capacidad como agente de control biológico, Salas Gervassio et al. (2019b) evaluaron mediante liberaciones inoculativas en jaulas de inclusión, la efectividad de diferentes densidades relativas de larvas de *T. absoluta*: hembras de *P. dignus* (2:1; 4:1; 4:2; 10:3 y 10:5) y reportaron que el mayor porcentaje de parasitismo ($\approx 62\%$) ocurrió al liberarse 3 hembras del parasitoide (previamente apareadas) por cada 10 larvas de *T. absoluta* presentes por planta. También observaron que a mayor proporción de liberación de hembras (10:5) el porcentaje de parasitismo fue menor, probablemente debido a un fenómeno de interferencia mutua.

Con la adición de otra técnica compatible con la utilización de *P. dignus*, como la EH, se podría lograr un control aún más satisfactorio, reduciendo de manera más considerable el daño económico ocasionado por la plaga. El objetivo de este capítulo fue evaluar la viabilidad de la integración del uso del parasitoide larval *P. dignus* y la técnica de EH para ser utilizados en conjunto en una estrategia de manejo integrado de la polilla del tomate. Para ello se analizaron aspectos relacionados con la aceptación, adecuación y preferencia de *P. dignus* por larvas de *T. absoluta* procedentes de machos irradiados y el efecto de la combinación de ambas técnicas sobre el crecimiento poblacional de la plaga.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Origen de los insectos utilizados en los ensayos

Los ensayos de laboratorio se realizaron en el IILB, IMyZA, y el ensayo en el invernáculo también se llevó a cabo en las instalaciones del IMyZA-INTA, Castelar, Buenos Aires, Argentina. Los individuos de *T. absoluta* se obtuvieron de la colonia descrita en el apartado **2.2.1**, mientras que los especímenes de *P. dignus* fueron suministrados por el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), CONICET-UNLP, La Plata Argentina. La cría del parasitoide en el CEPAVE se originó a partir de insectos recolectados en cultivos comerciales de tomate ubicados en el cinturón verde hortícola de La Plata.

4.2.2 Procedimiento para obtener las larvas utilizadas en los ensayos

Tanto el procedimiento para recolectar y sexar las pupas, como el irradiador utilizado son idénticos a los explicados en la sección **2.2.2**. El procedimiento para obtener larvas descendientes de los dos cruces ♂N x ♀N y ♂I x ♀N (donde ♂N es macho sin tratar, ♀N es hembra sin tratar y ♂I es macho irradiado) es análogo al detallado en la sección **3.2.2**.

4.2.3 Aceptación y adecuación de larvas descendientes de machos irradiados de *T. absoluta* para el desarrollo de *P. dignus* y preferencia del parasitoide

Con el fin de evaluar las posibles diferencias en la adecuación de las larvas para el desarrollo del parasitoide y la preferencia de éste en función del origen de la larva ofrecida (♂I x ♀N o ♂N x ♀N), se realizaron pruebas sin opción y con opción, respectivamente.

4.3.2.1 Ensayo sin opción

Se utilizaron jaulas cilíndricas de plástico (11,5 cm de altura y 11 cm de diámetro), con una tela de *voile* cubriendo la parte superior para permitir el intercambio de oxígeno. Estos dispositivos se mantuvieron durante todo el ensayo dentro de una cámara con condiciones controladas (25 ± 1 °C y 70 ± 10 % HR) (Figura 30). Dentro de la jaula, las hojas de tomate se dispusieron en un recipiente con algodón humedecido para mantenerlas hidratadas. Sobre las hojas se colocaron 30 larvas de segundo o tercer estadio de *T. absoluta* de alguno de los dos orígenes estudiados (tratamientos). Luego de que las larvas

construyeran las galerías de alimentación, se liberó dentro del dispositivo una hembra de *P. dignus* 24-48 h luego de su emergencia, previamente apareada. Tras 24 h de exposición, las larvas se mantuvieron en el mismo recipiente hasta la formación del cocón del parasitoide o la pupa de *T. absoluta*, y la hembra se transfirió a un nuevo recipiente con la misma cantidad de larvas del mismo origen. Este procedimiento se repitió durante 7 días. Se registró el número de larvas parasitadas y el número de larvas muertas por día. Además, las larvas parasitadas fueron conservadas para registrar la proporción sexual de la descendencia. Se realizaron 20 réplicas y, paralelamente, se prepararon 5 dispositivos de cada tratamiento sin parasitoides para corregir la mortalidad de larvas, en caso de ser necesario.



Figura 30. Dispositivos utilizados en el ensayo sin opción dentro de cámara con condiciones controladas.

4.2.3.2 Ensayo con opción

Para evaluar posibles diferencias en la preferencia del parasitoide por larvas hospedadoras de alguno de los dos orígenes estudiados ($\sigma^N \times \varphi^N$ o $\sigma^I \times \varphi^N$), se llevó a cabo un ensayo con opción, en el cual se usaron jaulas cilíndricas de acetato (40 cm de alto x 20 cm de diámetro) con una tela de *voile* en su parte superior para permitir el intercambio gaseoso con el ambiente, y con su parte inferior introducida en una bandeja con arena (Figura 31). Las jaulas estaban divididas longitudinalmente a la mitad con un tabique de cartón corrugado que contenía un pequeño resquicio en la parte superior, para permitir al

parasitoide moverse de un lado a otro. De cada lado del tabique, se colocaron hojas de tomate en un recipiente con algodón húmedo para mantener las hojas hidratadas. Sobre las hojas de cada lado se dispusieron 30 larvas de *T. absoluta* de segundo o tercer estadio de uno u otro origen de modo tal que los dos orígenes estuvieron presentes en cada jaula. Luego de que las larvas penetraron en galerías en el tejido foliar, se introdujo en la jaula durante 24 h una hembra de *P. dignus* recién emergida, previamente apareada y sin contacto previo con hospedadores. Transcurrido dicho tiempo, el parasitoide fue removido y las larvas de distinto origen se traspasaron a contenedores cilíndricos de plástico como los descritos en el punto 4.3.2.1 (11,5 cm de alto x 11 cm de diámetro), donde se las mantuvo hasta la formación de las pupas de la polilla o los cocones del parasitoide. Se realizaron 20 réplicas. Se registró la proporción de larvas parasitadas, la proporción de larvas muertas y la proporción sexual de la descendencia. Al igual que en la sección previa, se prepararon 5 dispositivos sin parasitoide con el fin de corregir la mortalidad.



Figura 31. Dispositivos utilizados para hacer el ensayo con opción.

4.2.4 Ensayo de integración EH-CB

El experimento se realizó en un invernadero de plástico (4,5 m × 7 m) donde se colocaron jaulas con marcos metálicos (0,7 m x 1 m x 1,2 m) y fundas de *voile*, con 4 plantas de tomate en macetas (6-8 hojas) en su interior (Figura 32). Las jaulas se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes tratamientos: T1: 3 parejas de individuos de *T. absoluta* sin tratar (control); T2: individuos de *T. absoluta* irradiados y sin tratar en una proporción de 15:1 (45 parejas irradiadas y 3 parejas sin tratar); T3: el mismo número de individuos de *T. absoluta* sin tratar que en T1 más la liberación del parasitoide; T4: el mismo número de individuos irradiados y sin tratar de *T. absoluta* que en T2 más la liberación del parasitoide.



Figura 32. Disposición de las jaulas dentro del invernáculo.

Pseudapanteles dignus fue liberado a razón de 3 parejas del parasitoide por cada 10 larvas de polilla (Salas Gervassio et al. 2019b), determinándose la cantidad a liberar sobre la base de un censo del número de larvas en cada jaula. La liberación se llevó a cabo cuando la población de *T. absoluta* estaba compuesta predominantemente por larvas L₂ y L₃.

A lo largo de 3 generaciones de *T. absoluta*, se monitorearon, dos veces por semana, los estados inmaduros (huevos, larvas pequeñas y grandes) de la polilla y los parasitoides adultos. Para el recuento de estados preimaginales de *T. absoluta*, se realizó un muestreo de 3 hojas por planta, una en cada estrato (superior, medio e inferior). Mientras que para el caso de *P. dignus*, se contaron todos los adultos presentes dentro de la jaula. Se realizaron cuatro réplicas para cada tratamiento.

Se evaluaron los efectos del tratamiento en cada variable respuesta (número de huevos, larvas pequeñas y larvas grandes de *T. absoluta* por jaula, así como número de adultos de *P. dignus* por jaula) durante los períodos de pico de cada población. Se definieron los picos como aquellas fechas en las que se observó un aumento abrupto en el número promedio de individuos de la especie/etapa en al menos un tratamiento. Para los huevos, se consideró un pico cuando hubo una media de 50 o más huevos/jaula en al menos un tratamiento (tres fechas para cada pico); para las larvas, se definió un pico cuando se registró una media de 20 o más larvas/jaula para las larvas pequeñas y 8 o más larvas/jaula para larvas grandes, en al menos un tratamiento (tres fechas para cada pico). Para adultos de *P. dignus*, ambos picos se determinaron por las fechas en las que al menos un tratamiento mostró un promedio de más de un adulto por jaula (7 fechas para el primer pico y 4 fechas para el segundo pico).

Para evaluar el posible efecto sinérgico resultante de la combinación de ambas medidas de control, se analizó la población de larvas grandes en la fecha en la que se registró el mayor número promedio durante el tercer pico. Se calculó la proporción de supresión poblacional observada en los tratamientos T2, T3 y T4 comparando el número de individuos en cada jaula con el número promedio en el tratamiento control. Los valores predichos de la proporción de supresión poblacional en el tratamiento T4 se obtuvieron a partir de los valores observados en T2 y T3, utilizando el modelo de riesgo multiplicativo (MRM) (Sih et al., 1998), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$PSP_C = PSP_{EH} + PSP_{P.d.} - (PSP_{EH} * PSP_{P.d.})$$

Donde PSP_C representa la proporción de supresión de la población de *T. absoluta* por el efecto combinado de ambas técnicas, asumiendo un efecto aditivo, PSP_{EH} es la proporción de supresión de la población en comparación con el control al usar la técnica de la EH (T2), y $PSP_{P.d.}$ es la proporción de supresión de la población, en comparación con el control, producida por *P. dignus* (T3).

4.2.5 Análisis estadísticos

La proporción de larvas parasitadas y muertas en los ensayos con y sin opción se analizó mediante modelos lineales generalizados mixtos, con distribución binomial y función de enlace logit. En el ensayo sin opción, el tratamiento, el día y la interacción entre ambos fueron considerados como factores de efecto fijo y la hembra como factor de efecto aleatorio para modelar la falta de independencia entre los datos provenientes de la misma hembra en los distintos días de duración del ensayo. En el experimento con opción, el tratamiento se consideró como factor de efecto fijo y la hembra como factor de efecto aleatorio para modelar la falta de independencia entre las larvas de diferentes orígenes que fueron expuestas a la misma hembra. Las posibles diferencias entre tratamientos se comprobaron con test de χ^2 de Wald de Tipo II a un nivel de 0,05. Se utilizó una prueba χ^2 para comparar la proporción de hembras observada con la esperada en igualdad de sexos.

En el ensayo de jaulas, se emplearon Modelos Lineales Generalizados Mixtos, asumiendo una distribución Poisson y una función de enlace log, para modelar el número de polillas y parasitoides registrados. El tratamiento, la fecha y un término de interacción entre ellos se incluyeron como factores de efecto fijo, mientras que la jaula se introdujo como factor aleatorio. Se utilizó un modelo autorregresivo de primer orden para modelar la correlación temporal dentro de las jaulas. Los efectos de los factores se evaluaron mediante un análisis de *devianza* (test de χ^2 de Wald de Tipo II) a un nivel de 0,05. En los casos donde se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, se llevaron a cabo pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Para analizar posibles diferencias estadísticamente significativas en la proporción de supresión poblacional entre los tratamientos en estudio (T2, T3, observados para T4 y

predichos para T4 por el MRM), se empleó un Modelo Lineal Generalizado con una distribución beta y función de enlace logit. Se evaluaron los efectos de los factores utilizando un análisis de *devianza* (test χ^2 de Wald de Tipo II), seguido de una prueba de Tukey para comparaciones múltiples.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software R v4.2.2 (R Core Team 2022), utilizando el paquete glmmTMB para ajustar los modelos. Los gráficos fueron generados con el paquete ggplot2, y los contrastes de Tukey se calcularon utilizando la función emmeans del paquete emmeans.

4.3 Resultados

4.3.1 Aceptación y adecuación de larvas descendientes de machos irradiados de *T. absoluta* para el desarrollo de *P. dignus* y preferencia del parasitoide

4.3.1.1 Ensayo sin opción

No se encontró una interacción significativa entre los factores día y tipo de larva ($\chi^2 = 0,49$, gl = 6, p = 0,9). Aunque se observa que el porcentaje de larvas parasitadas por *P. dignus* fue disminuyendo con la edad de la hembra a lo largo de sus primeros siete días de vida (Figura 33), esa diferencia no fue significativa entre días ($\chi^2 = 1,75$, gl = 6, p = 0,94). El porcentaje de parasitismo osciló a lo largo del ensayo entre aproximadamente 11 % y 30 % sin diferenciarse estadísticamente entre tratamientos ($\chi^2 = 0,002$, gl = 1, p = 0,97). Con respecto a la cantidad total de larvas muertas, el promedio estuvo en torno a 2 larvas por día en ambos tratamientos, y el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas en la proporción ($\chi^2 = 1,96$, gl = 1, p = 0,16) (Tabla 4). En los dispositivos preparados sin parasitoides no se registró mortalidad de las larvas, por lo que no fue necesario corregir. La proporción de hembras en la descendencia estuvo cerca del 50 %, y la prueba de χ^2 no evidenció diferencias estadísticas con la proporción esperada de igualdad de sexos para ninguno de los dos cruces ($\chi^2 = 3,23$, gl = 1, p = 0,07 para larvas descendientes del cruce ♂N x ♀N y $\chi^2 = 0,84$, gl = 1, p = 0,36 para larvas descendientes del cruce ♂I x ♀N) (Tabla 4).

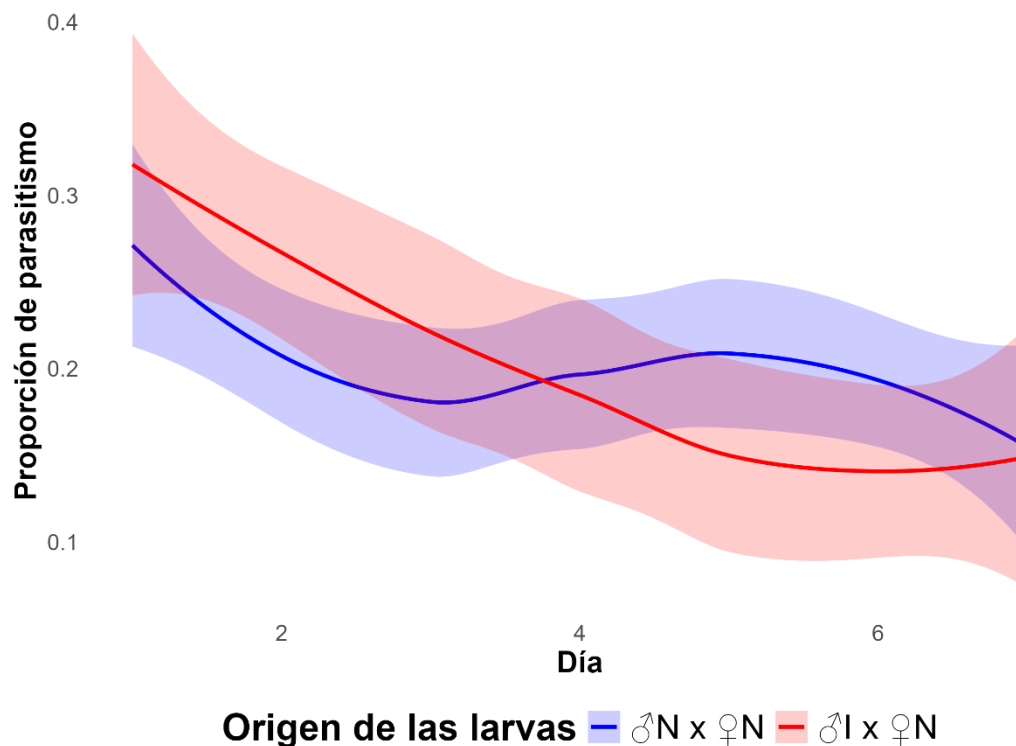


Figura 33. Proporciones de parasitismo (media $\pm$ IC 95%) obtenidas durante el ensayo sin opción a lo largo de 7 días de vida de las hembras del parasitoide *Pseudoapanteles dignus*. ♂N = macho no tratado; ♀N hembra no tratada; ♂I = macho irradiado.

4.3.1.2 Ensayo con opción

No se hallaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en la proporción de larvas parasitadas por *P. dignus* en 24 h ($\chi^2 = 0,01$, gl = 1, $p = 0,94$). La cantidad de larvas parasitadas varió entre 0 y 11 y el promedio estuvo por encima de 6 en larvas provenientes de ambos cruces (Tabla 4). Tampoco la proporción de larvas muertas difirió significativamente según su origen ($\chi^2 = 0,75$, gl = 1, $p = 0,39$). Al igual que en el ensayo anterior, en este tampoco se registró mortalidad de las larvas en los dispositivos preparados sin parasitoide, por lo que no se realizó ninguna corrección. En cuanto a la proporción sexual

de la descendencia, para ninguno de los dos orígenes se evidenció una diferencia significativa con la proporción esperada de 0,5 ($\chi^2 = 0,20$, gl = 1, p = 0,65 para la descendencia del cruce ♂N x ♀N y $\chi^2 = 0,13$, gl = 1, p = 0,72 para la descendencia del cruce ♂I x ♀N).

Tabla 4. Número de larvas parasitadas (media $\pm$ EE) y número de larvas muertas (media $\pm$ EE) por *Pseudapanteles dignus* a lo largo de la primera semana de vida y proporción de hembras en la descendencia de los ensayos con y sin opción.

	Ensayo sin opción		Ensayo con opción	
	♂N x ♀N	♂I x ♀N	♂N x ♀N	♂I x ♀N
Número de larvas parasitadas/hembra	6,06 $\pm$ 0,36	6,14 $\pm$ 0,5	6,2 $\pm$ 0,52	6,25 $\pm$ 0,58
Número de larvas muertas/hembra	2,16 $\pm$ 0,15	1,83 $\pm$ 0,15	4,15 $\pm$ 0,43	4,2 $\pm$ 0,27
Proporción sexual de la descendencia (hembra/hembras + machos)	0,55 $\pm$ 0,02	0,54 $\pm$ 0,03	0,46 $\pm$ 0,03	0,45 $\pm$ 0,04

* ♂N = macho no tratado; ♀N hembra no tratada; ♂I = macho irradiado.

* No se observaron diferencias estadísticas significativas en ninguna de las variables.

4.3.2 Ensayo de integración EH-CB

Las series temporales de temperatura y humedad relativa registradas durante el experimento se presentan en el Anexo I.

Al igual que en el ensayo del capítulo 2 de esta tesis, se siguió la evolución de la población de *T. absoluta* durante tres generaciones. En este caso, los tiempos se acortaron y la duración total fue menor (14 semanas), probablemente debido a las mayores temperaturas registradas en esta temporada. Independientemente de los datos y análisis estadísticos, la diferencia entre los tratamientos pudo observarse a simple vista a través de los daños sufridos por las plantas, especialmente en el tratamiento control (Figura 34).

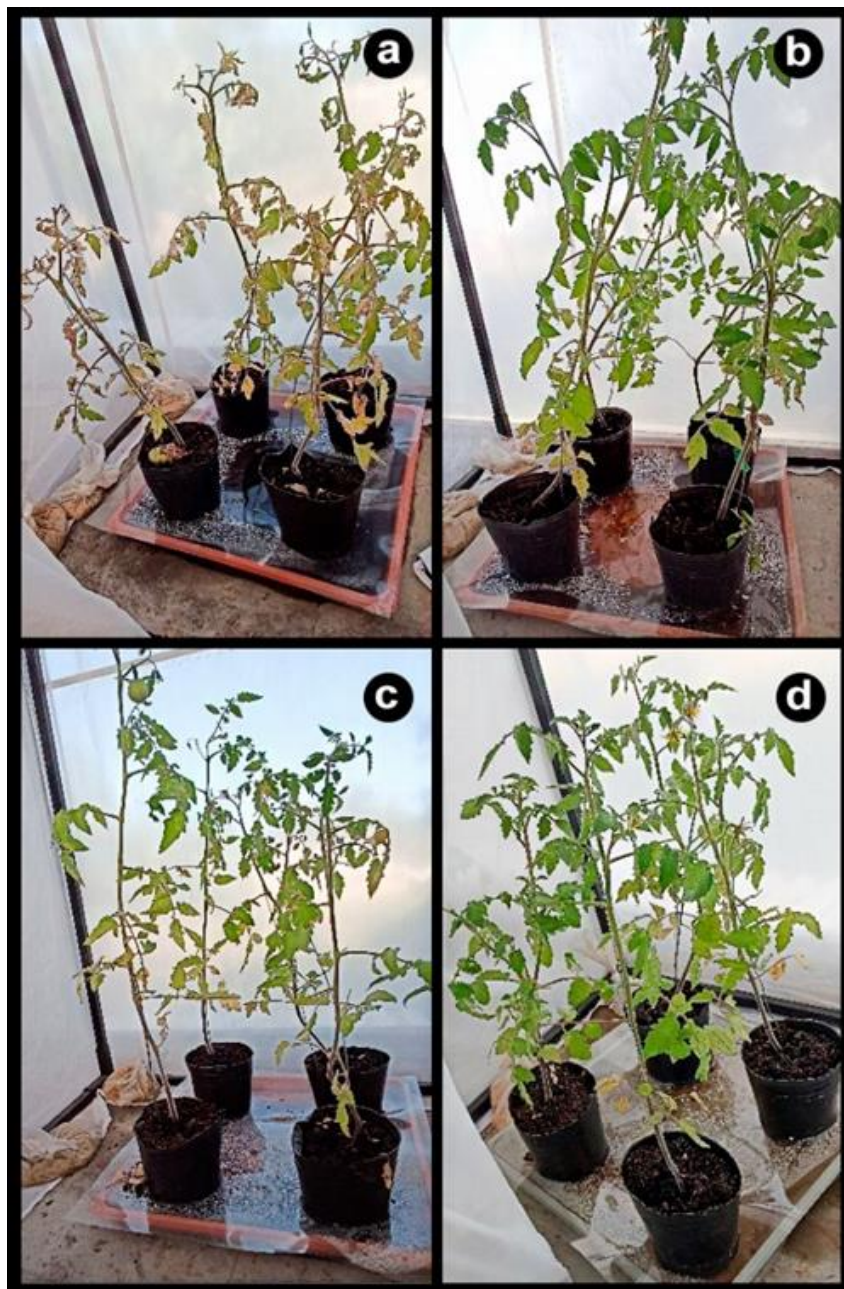


Figura 34. Jaulas de los tratamientos a) 1; b) 2; c) 3 y d) 4, 3 semanas después de la liberación de las polillas.

En los tres picos de producción de huevos se encontraron diferencias estadísticas significativas (Figura 35). Hubo una interacción significativa entre la fecha y el número de huevos en los tres picos ($\chi^2 = 45,3$, gl = 6, $p < 0,05$; $\chi^2 = 37,7$, gl = 6, $p < 0,05$; y $\chi^2 = 20,1$, gl = 6, $p < 0,05$ para el primer, segundo y tercer pico respectivamente).

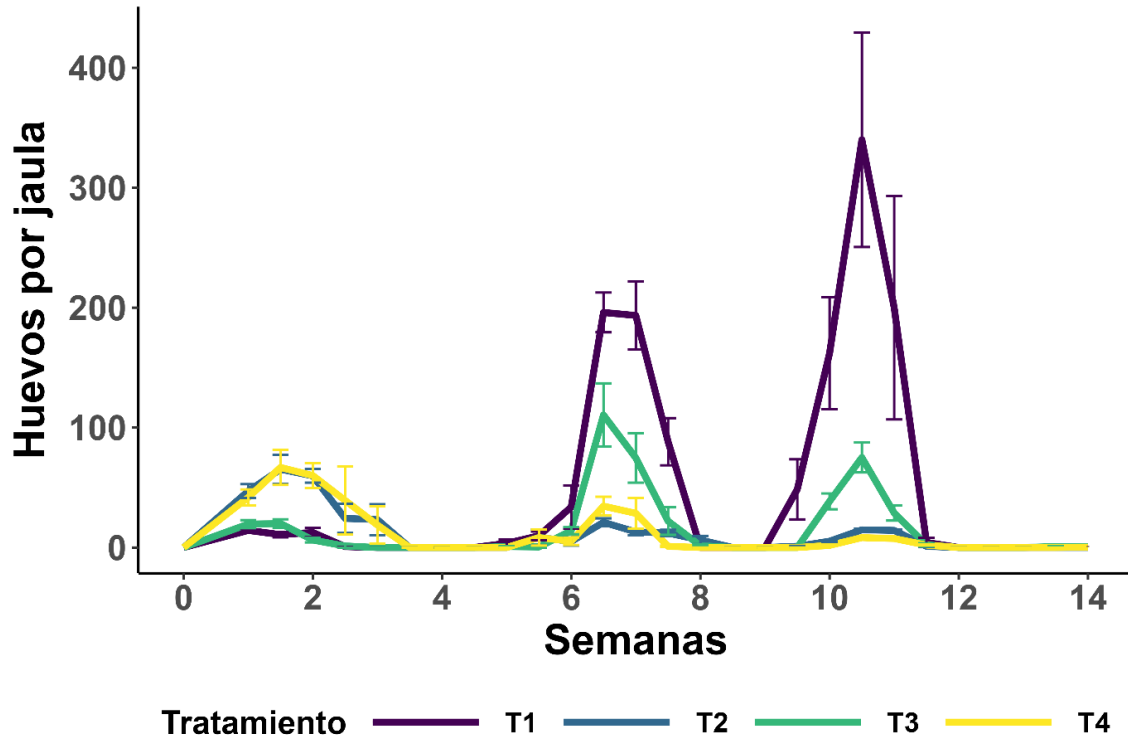


Figura 35. Huevos de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T1** = control; **T2** = Esterilidad Heredada (EH); **T3** = control biológico con *Pseudopanteles dignus* (CB); **T4** = EH + CB.

En el primer pico, en los tratamientos en los que se liberaron polillas irradiadas (T2 y T4), los conteos de huevos fueron significativamente mayores, sin diferenciarse entre ellos, mientras que T1 y T3 tampoco se diferenciaron entre sí. En el segundo y tercer pico se observaron patrones similares. El tratamiento control fue el que arrojó un conteo significativamente mayor, seguido por el tratamiento donde se liberó al parasitoide, que se diferenció estadísticamente de los dos tratamientos con liberación de individuos irradiados, los cuales no evidenciaron diferencias significativas entre sí.

En los primeros dos picos de larvas pequeñas no se hallaron interacciones significativas entre los factores fecha y número de larvas ($\chi^2 = 1,2$, gl = 6, $p = 0,97$ y $\chi^2 = 9,7$, gl = 6, $p = 0,14$), mientras que sí hubo interacción en el tercer pico ($\chi^2 = 20,3$, gl = 6, $p = 0,002$). En el primer pico no se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($\chi^2 = 7,21$, gl = 3, $p = 0,06$). En el segundo, el único tratamiento que se diferenció significativamente fue el control, con un conteo de larvas mucho mayor a los

demás tratamientos (Figura 36). De las tres fechas que se incluyeron en el tercer pico, en la primera y en la última, los únicos tratamientos que no se diferenciaron entre sí significativamente fueron T2 y T4, mientras que en la fecha intermedia sucedió lo mismo que en el segundo pico.

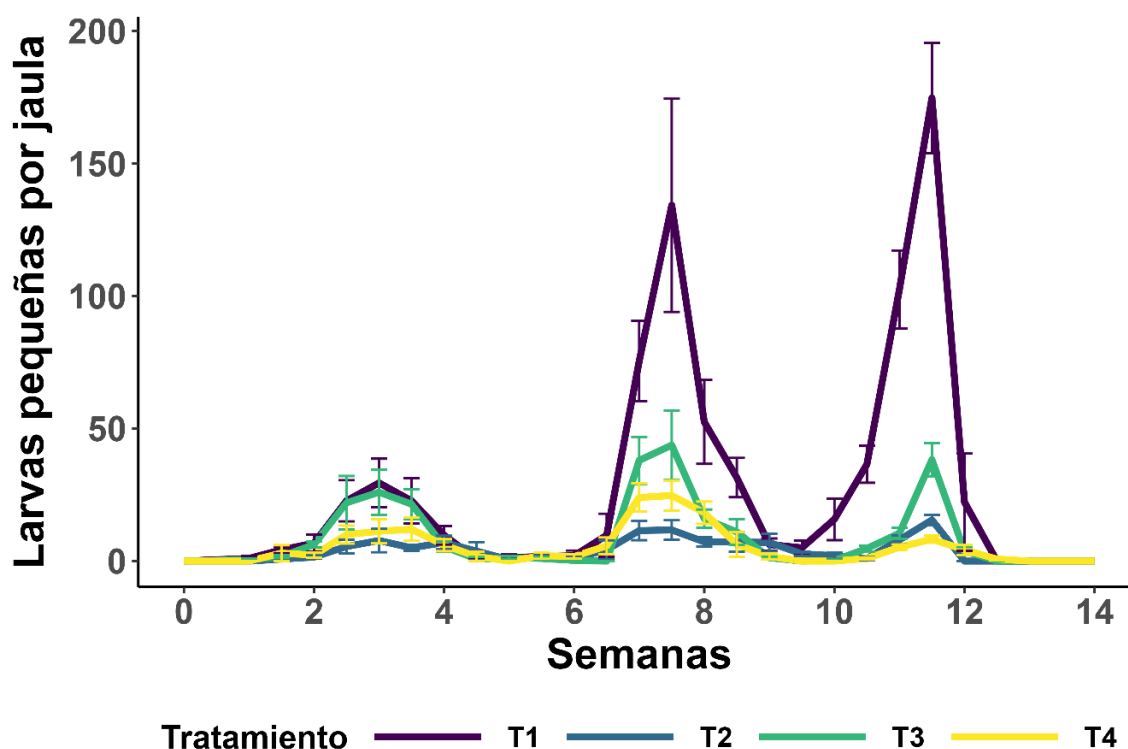


Figura 36. Larvas pequeñas de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T1** = control; **T2** = Esterilidad Heredada (EH); **T3** = control biológico con *Pseudapanteles dignus* (CB); **T4** = EH + CB.

En el caso de las larvas grandes, los conteos en los primeros dos picos fueron mayores en los tratamientos T1 y T3 y menores en T2 y T4, sin que existan diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Figura 37). Recién en el tercer pico, el tratamiento control fue significativamente mayor a todos los demás, T2 y T3 no se diferenciaron entre sí, con conteos de larvas intermedios, y en el tratamiento en el que se combinaron ambas técnicas de control el número de larvas fue significativamente menor.

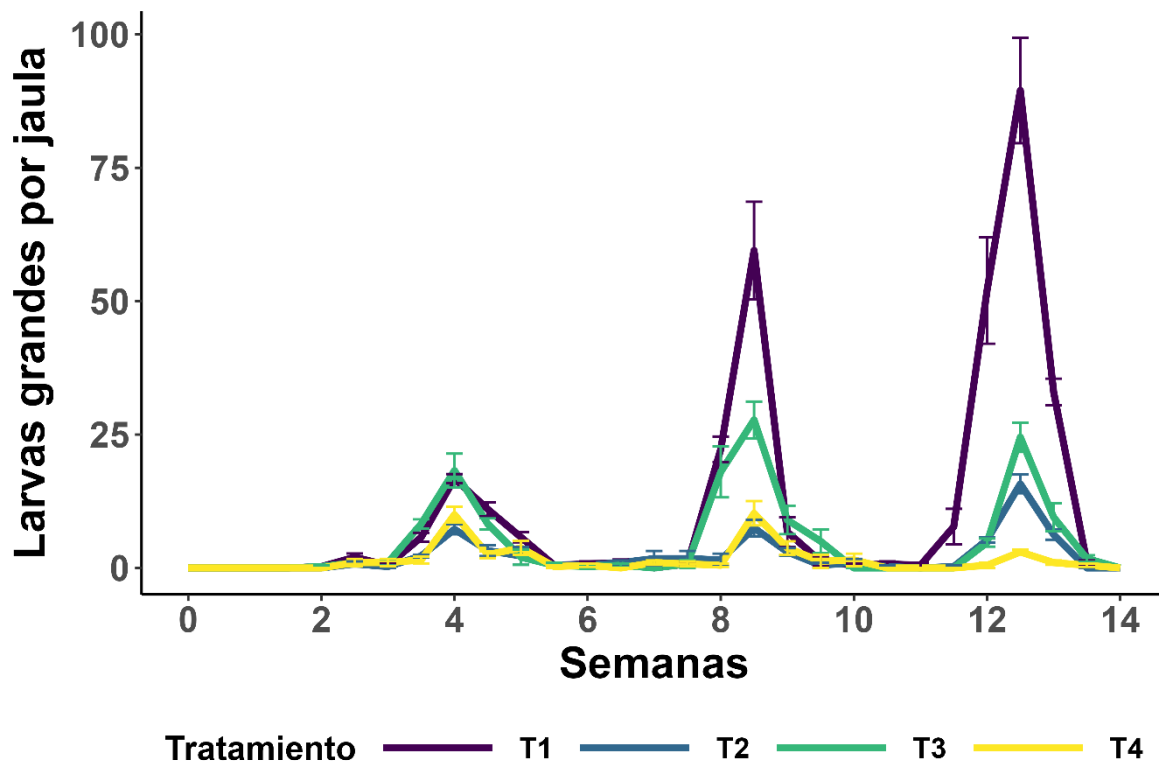


Figura 37. Larvas grandes de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). **T1** = control; **T2** = Esterilidad Heredada (EH); **T3** = Control biológico con *Pseudapanteles dignus* (CB); **T4** = EH + CB.

En cuanto a la población de *P. dignus*, se registraron durante el ensayo dos picos poblacionales bien marcados (Figura 38). En ninguno de los dos picos se registraron interacciones significativas entre tratamiento y fecha ($\chi^2 = 5,3$, gl = 6, $p = 0,51$ para el primer pico y $\chi^2 = 1,1$, gl = 3, $p = 0,78$ para el segundo pico). Tampoco se vieron diferencias estadísticas significativas en los conteos de adultos entre los tratamientos en los que se liberaron los parasitoides ($\chi^2 = 1,68$, gl = 1, $p = 0,19$ y $\chi^2 = 0,52$, gl = 1, $p = 0,47$ para el primer y segundo pico, respectivamente).

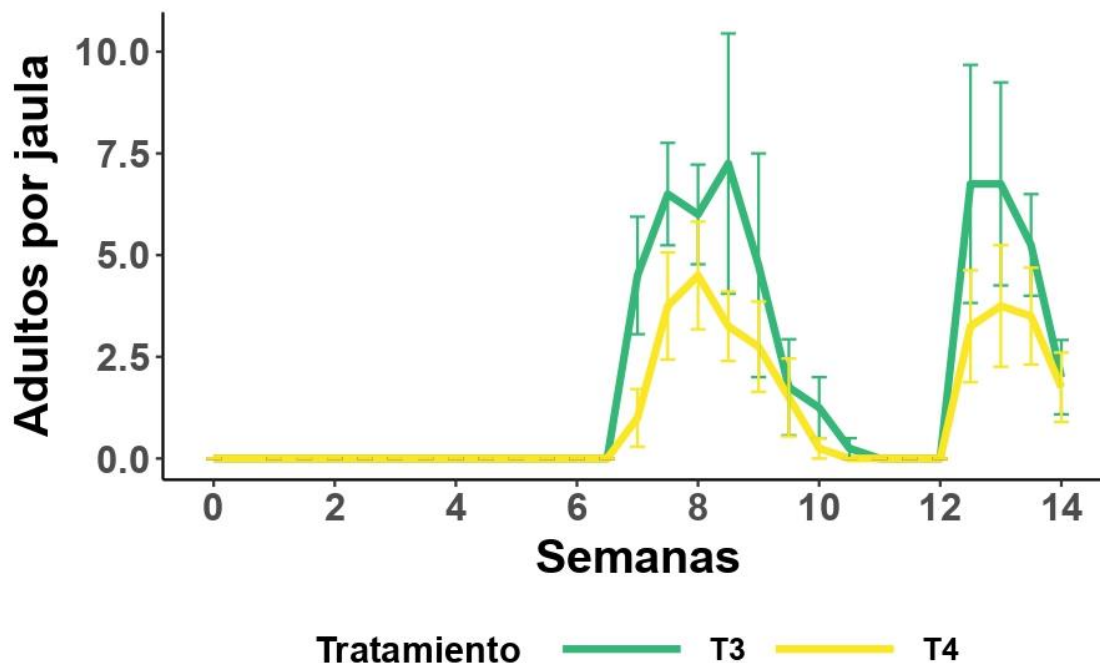


Figura 38. Adultos de *Pseudapanteles dignus* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). T3= control biológico con *Pseudapanteles dignus* (C.B.), T4= EH + CB.

En cuanto a la evaluación del efecto sinérgico, resultó que la proporción de supresión poblacional respecto del control en el tratamiento donde se combinaron ambas técnicas fue significativamente mayor a las registradas para los tratamientos donde se utilizó una sola técnica de manejo. No obstante, no se diferenció estadísticamente de la supresión teórica predicha por el MRM, que asume un efecto aditivo (Figura 39).

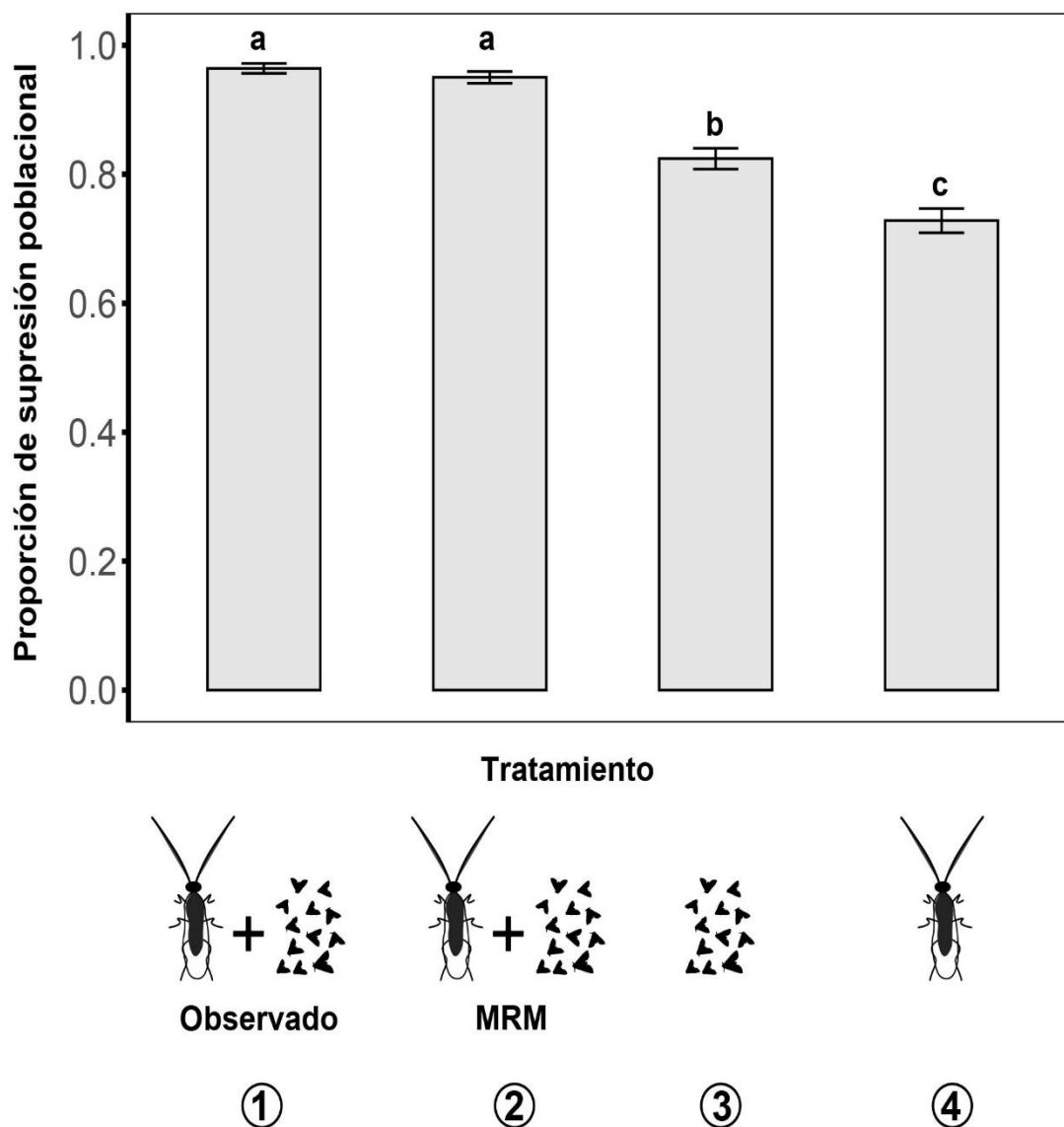


Figura 39. Proporción de supresión poblacional en relación con el control (media $\pm$ EE) de larvas grandes de *Tuta absoluta* en los siguientes tratamientos: (1) Esterilidad Heredada (EH) + control biológico con *Pseudapanteles dignus* (observado); (2) EH + control biológico con *Pseudapanteles dignus* (predicho por el modelo de riesgo multiplicativo) (3) EH; y (4) control biológico con *Pseudapanteles dignus*. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (análisis de devianza con test de χ^2 de Wald de tipo II, seguido por prueba de Tukey, $p < 0,05$).

4.4 Discusión

En reiterados estudios se ha destacado la potencialidad de utilizar a *P. dignus* como controlador biológico de *T. absoluta* tanto a través de métodos conservativos como mediante liberaciones inoculativas estacionales (van Lenteren y Manzaroli 1999, Luna et al. 2007, Sánchez et al. 2009, Savino et al. 2017). No obstante, el carácter koinobionte del parasitoide implica que las larvas parasitadas continúan alimentándose y desarrollándose durante un tiempo antes de la muerte del hospedador, lo que, en combinación con el alto potencial biótico de la plaga, podría limitar la eficacia de esta estrategia bajo escenarios de alta infestación. En tales condiciones, la persistencia de larvas activas podría traducirse en daños económicos significativos aun cuando ocurra el parasitismo. Este riesgo podría disminuirse con la implementación de estrategias de manejo integrado en donde el CB con *P. dignus* se utilice de manera conjunta con otros métodos de manejo de la polilla que resulten compatibles. La técnica de la EH, por otra parte, puede ser implementada en conjunto con el CB, siempre y cuando se cumplan una serie de supuestos que demuestren su compatibilidad. Este capítulo estuvo orientado a dilucidar la viabilidad de integrar ambas técnicas para el manejo de *T. absoluta*.

Se observó que las hembras de *P. dignus* pueden parasitar exitosamente larvas de *T. absoluta* descendientes de parentales machos irradiados y que su progenie es capaz de desarrollarse normalmente hasta la adultez. Asimismo, la proporción de larvas ofrecidas que fue parasitada resultó similar para larvas de ambos orígenes, lo que sugiere que las hembras no modificaron su comportamiento de oviposición frente a larvas provenientes del cruce ♂I × ♀N. En general, el comportamiento de oviposición en parasitoides depende de la percepción y evaluación de una serie de estímulos específicos provenientes de los potenciales hospedadores, entre los que se incluyen su tamaño, forma, movilidad, la producción de sustancias que actúan como kairomonas, y su calidad interna (Fellowes et al. 2023). Si bien existen evidencias de cambios sustanciales en la calidad nutricional de larvas de lepidópteros luego de ser expuestas a radiación (Aksoy et al. 2017), los resultados obtenidos en este trabajo indican que, de ocurrir modificaciones de este tipo en la progenie de *T. absoluta* descendiente de parentales irradiados, estas no fueron suficientes para

afectar la aceptación del hospedador ni el desarrollo del parasitoide, al menos bajo las condiciones evaluadas. Por otra parte, tanto en el ensayo con opción como en el ensayo sin opción, la cantidad de larvas parasitadas por día, independientemente de su origen, fue similar a la registrada por Luna et al. (2007) para una cantidad comparable de larvas ofrecidas, lo cual resulta consistente con la similitud en la metodología empleada en ambos estudios.

La mortalidad de larvas no atribuible directamente al parasitismo por parte del parasitoide podría deberse a diversos factores. Si bien *P. dignus* no ocasiona mortalidad directa por *host-feeding*, la manipulación del hospedador por parte de las hembras del parasitoide, sumado a las condiciones de estrés a las que fueron expuestas las larvas por su manipulación durante el ensayo, podrían haber derivado en esta mortalidad.

Además de la aceptación y la adecuación, para una exitosa integración del CB y la EH, como mencionan Marec et al. (2021), el enemigo natural no debería mostrar una preferencia por atacar a los individuos descendientes de parentales irradiados, ya que esto podría modificar la proporción entre irradiados y no irradiados presentes en el cultivo y reduciría de esta manera la eficiencia de la EH. Este no parece ser el caso en el sistema *T. absoluta*-*P. dignus* puesto que, en el ensayo con opción, se ofrecieron ambos tipos de larvas al mismo tiempo a hembras del parasitoide, las cuales no mostraron preferencia por ninguno de los dos orígenes. Resultados similares se han obtenido en relación con la aceptabilidad y adecuación de la descendencia F1 en parasitoides de diferentes especies de lepidópteros en ensayos tanto de laboratorio como de campo. Carpenter et al. (1996) reportaron que los descendientes de machos irradiados y hembras no irradiadas de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) son hospedadores aceptables y adecuados para *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), un parasitoide de larvas con características similares a *P. dignus*. En la misma dirección resultaron los estudios de Mannion et al. (1994, 1995), que, mediante ensayos de adecuación y preferencia, confirmaron la factibilidad de la integración de la EH con el CB mediante el uso del parasitoide larval *Archytas marmoratus* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) para el manejo de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). A partir

de estos resultados, se puede inferir que no existirían inconsistencias para la integración del CB mediante el uso de *P. dignus* con la EH.

Para que el uso de ambas técnicas sea viable y resulte eficiente, se debe conocer si realmente su integración desencadena una supresión de la población de *T. absoluta* en condiciones de cultivo a lo largo del tiempo. Los métodos de inclusión/exclusión (como, por ejemplo, la utilización de jaulas) son ampliamente utilizados como una primera aproximación para cuantificar el impacto de una técnica de manejo, al permitir seguir la dinámica de la población de una plaga en presencia y en ausencia de dicha técnica (Jervis et al. 2023). En el ensayo de jaulas llevado a cabo en este capítulo se comprobó un efecto supresor de todos los tratamientos sobre la población de *T. absoluta* en relación con el control. La EH produjo una supresión mayor (en comparación con el uso de *P. dignus*) en la primera parte del ensayo, lo que evidencia que el enemigo natural demoró un tiempo considerable para establecerse y lograr un efecto supresor significativo. Las temperaturas elevadas podrían disminuir el *fitness* de los insectos, por ejemplo, reduciendo su fecundidad (Kingsolver y Huey 2008). Durante el ensayo, las temperaturas máximas frecuentemente se hallaron por encima de 50 °C, lo que pudo haber tenido un impacto negativo en el crecimiento poblacional del parasitoide en el inicio del experimento. No obstante, aunque en pequeñas cantidades, la población del parasitoide logró establecerse y subsistir dentro de las jaulas. Es sabido que los parasitoides con estilo de vida koinobionte tienden a tener un desarrollo más lento, en comparación con los idiobiontes (Blackburn et al. 1991), lo cual podría ser otro factor causante de que recién sobre el final del ensayo se observara un efecto supresor significativo sobre la población de larvas grandes de la polilla en los tratamientos en donde se liberó *P. dignus*. Folcia (2013) también halló un aumento en la eficacia de *P. dignus* (mayor porcentaje de parasitismo) con el transcurrir de las semanas en un ensayo en invernáculo, aunque en aquel caso se realizaron liberaciones sucesivas semanales del parasitoide.

No se pudo demostrar mediante este ensayo un efecto sinérgico entre ambas técnicas para suprimir la población de *T. absoluta*. Este resultado podría deberse a la baja cantidad de larvas resultante de la EH en el T4. En comparación con los resultados del

capítulo II, en el tercer pico poblacional de larvas grandes, se observó una supresión del 73 % con *P. dignus* solo y un 92 % en combinación con la EH, mientras que para *T. cucurbitaceus* las reducciones fueron de un 42 % y un 94 %, con un sinergismo significativo. A partir de esto, se infiere que la combinación de la EH con la chinche podría resultar más conveniente, lo que podría explicarse porque, en combinación con la liberación de polillas irradiadas, la cantidad de huevos en el sistema aumenta considerablemente (aumentando la disponibilidad de alimento para este EN), mientras que no necesariamente aumenta la cantidad de larvas, ya que muchos de los huevos son inviables. Además, *T. cucurbitaceus*, al controlar el estado de huevo, evita el daño de la polilla a las plantas mientras que *P. dignus*, si bien contribuye a reducir la población de la plaga con el tiempo, ataca larvas ya establecidas, donde el daño al cultivo ya está en curso. No obstante, dada la naturaleza de ensayos separados en diferentes años y condiciones, las comparaciones entre ensayos deben tomarse con cautela.

4.5 Conclusión

La integración de la técnica de la EH junto con el CB mediante el uso del parasitoide larval *P. dignus* para el manejo de *T. absoluta* plantea un escenario prometedor. La aceptación y adecuación del parasitoide a larvas irradiadas de la polilla, demostradas en ensayos de laboratorio, sugieren la posibilidad de integrar ambas técnicas. Si bien la eficacia del CB se vio demorado en el ensayo de jaulas, con el transcurrir del tiempo se fue observando una supresión poblacional significativa atribuible al parasitoide. La supresión poblacional de la plaga registrada al aplicar integradamente la EH y el CB demuestra que este abordaje es factible, aunque no se observó sinergismo, es decir, la combinación de ambas técnicas no potenció su efecto individual.

Capítulo V – Validación a semi-campo de la integración entre la EH y el uso del depredador *Tupiocoris cucurbitaceus* para el manejo de la polilla del tomate



5.1. Introducción

En la evaluación de estrategias de manejo integrado de plagas, los ensayos de validación juegan un papel fundamental, ya que permiten evaluar la viabilidad práctica y la efectividad de las técnicas en condiciones reales de cultivo. En el caso de programas de CB, si bien los estudios de laboratorio proporcionan información preliminar relevante sobre el comportamiento de los agentes de control, las situaciones que se presentan en condiciones reales de cultivo incorporan variables ambientales y ecológicas que no pueden ser replicadas en entornos controlados. DeBach y Huffaker (1971) plantean que, aunque los estudios preliminares son necesarios para ajustar una estrategia de manejo, estos deben complementarse con la experimentación práctica y empírica en condiciones reales de cultivo para evaluar la efectividad del CB.

De igual manera, para el caso de la TIE (o su variante la EH), los ensayos a campo, o bien, bajo invernáculo, son esenciales para evaluar su efectividad. Parámetros como la supervivencia, movilidad y capacidad de dispersión de los insectos irradiados liberados son factores que podrían ser determinantes para que los cruzamientos entre los insectos estériles y la población silvestre ocurran de manera exitosa; además, datos en condiciones reales de cultivo permiten ajustar con más precisión algunas cuestiones, como la densidad de liberación, para garantizar una relación entre insectos irradiados: no irradiados efectiva (Vreysen et al. 2021).

Después de analizar 3 EN candidatos, se concluyó que *T. cucurbitaceus* es el más adecuado para su uso en conjunto con la EH, por lo tanto, se lo eligió para el ensayo de validación. Esta elección se basa en su excelente desempeño en ensayos de jaulas y el efecto sinérgico demostrado entre ambas técnicas.

El objetivo principal de este capítulo fue confirmar y reforzar los resultados positivos obtenidos en el capítulo II de esta tesis, en condiciones similares a un cultivo comercial de tomate bajo invernáculo. Se buscó validar bajo estas condiciones si *T. cucurbitaceus* en combinación con la EH tienen un efecto sinérgico para reducir las poblaciones de *T. absoluta*.

5.2. Materiales y métodos

Para este ensayo se utilizó un invernáculo con cobertura de polietileno de 6 m de ancho por 18 m de largo (Figura 40), ubicado en el Instituto de Floricultura, INTA, Hurlingham, Argentina. Dentro de éste se implantó un cultivo de tomate redondo con una distancia entre plantas de 0,4 m y una densidad de aproximadamente 21.000 plantas/ha. El invernáculo fue dividido en 4 módulos (6 m x 4,5 m) mediante el uso de tabiques construidos con manta térmica agrícola (Figura 41), en cada uno de los cuales se aplicó uno de los tratamientos evaluados:

- T1 – Control: 10 parejas de *T. absoluta* no tratadas.
- T2 – Esterilidad Heredada (EH): individuos de *T. absoluta* irradiados y no irradiados en proporción 15:1 (150 parejas de polillas irradiadas y 10 parejas de polillas no tratadas).
- T3 – Control Biológico (CB) con *T. cucurbitaceus*: 10 parejas de *T. absoluta* no tratadas y liberación del enemigo natural evaluado (0,6 individuos/m²).
- T4 – Integración EH-CB: procedimiento idéntico a T2 más la liberación de *T. cucurbitaceus* de manera análoga a T3.

La liberación de los individuos de *T. absoluta* se realizó con el cultivo implantado cuando las plantas contaban con aproximadamente 30 cm de altura.

En T3 y T4 las liberaciones de la chinche se hicieron una semana después de la liberación de la plaga, para asegurar la disponibilidad de huevos de la polilla sobre las plantas. Conjuntamente, en las plantas en las que se liberó a *T. cucurbitaceus*, se esparció uniformemente sobre las hojas 1 g de huevos de *S. cerealella* como alimento suplementario para favorecer su establecimiento inicial.



Figura 40. Invernáculo en el que se realizó el ensayo.



Figura 41. Interior de uno de los módulos del ensayo con el cultivo implantado.

Se realizó un monitoreo de las poblaciones de la plaga y del enemigo natural durante 3 generaciones de la polilla. Para esto, se seleccionaron al azar 10 plantas diferentes para cada muestreo por módulo, y se contó el número de huevos, larvas pequeñas y larvas grandes de *T. absoluta* en 3 hojas, una en cada estrato (superior, medio e inferior) de la planta. En las mismas plantas se contó la cantidad de ninfas y adultos de *T. cucurbitaceus* presentes en toda la planta.

En el último muestreo, se tomó al azar 1 folíolo de una hoja del estrato superior de 10 plantas en cada módulo. Los folíolos fueron llevados al laboratorio, fotografiados y, con la ayuda del software ImageJ, se calculó el porcentaje de superficie foliar dañado por la alimentación de las larvas de la polilla.

El presente capítulo tuvo un carácter de validación de los resultados obtenidos en capítulo II, bajo condiciones de cultivo en invernáculo. Dado que cada tratamiento fue aplicado a un único módulo y que no se contó con réplicas independientes en sentido estadístico, no fue apropiada la aplicación de análisis inferenciales formales. En consecuencia, los datos se analizaron de manera descriptiva, mediante el cálculo de medias y errores estándar, con el objetivo de evaluar tendencias generales y comparar la dinámica poblacional de *T. absoluta* y *T. cucurbitaceus* entre tratamientos.

5.3 Resultados

Las series temporales de temperatura y humedad relativa registradas durante el experimento se presentan en el Anexo I.

En el transcurso del estudio se desarrollaron 3 generaciones de *T. absoluta*. Al igual que en el ensayo de jaulas (Capítulo II), en el primer pico se registró un conteo mayor de huevos en aquellos tratamientos en los que se liberaron las polillas irradiadas (T2 y T4). Sin embargo, en el segundo pico, el control fue el que presentó un mayor número de huevos, mientras que los demás tratamientos arrojaron números similares y más bajos. Ya en el tercer pico, se observó una diferencia grande en el promedio de la cantidad de huevos del tratamiento control (≈ 80), los tratamientos en donde se aplicó un solo método de manejo (≈ 50) y, muy por debajo, el tratamiento donde se integraron ambas técnicas (≈ 9). Cabe

notar que, como se observa en la Figura 42, el módulo en donde se aplicó el tratamiento 4 fue el único en el cual la cantidad de huevos disminuyó en la tercera generación respecto de las generaciones previas, mientras que, en los tratamientos restantes, las poblaciones de *T. absoluta* fueron en aumento.

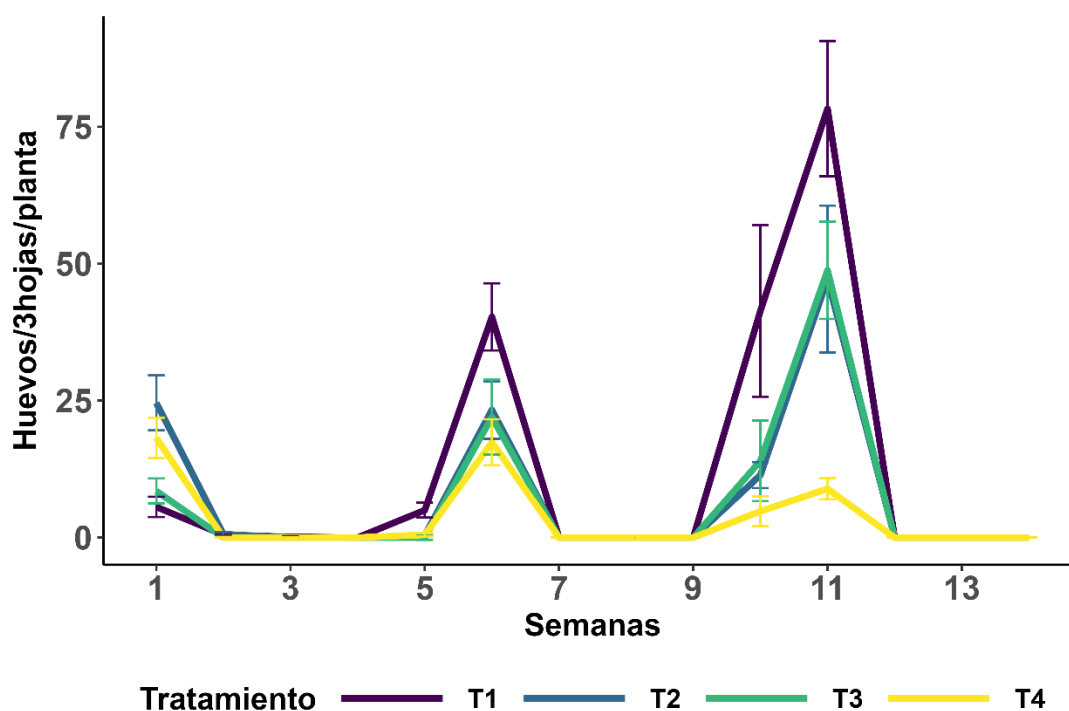


Figura 42. Huevos de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). T1 = control; T2 = Esterilidad Heredada (EH); T3 = control biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus* (CB); T4 = EH + CB.

En cuanto a las larvas tanto chicas como grandes, en los primeros tres tratamientos se observó que las poblaciones de *T. absoluta* aumentaron a medida que avanzó el ensayo. En el módulo en el cual no se aplicaron medidas de control (T1) se observaron los mayores conteos de larvas (promedios de ≈ 57 y ≈ 126 en larvas pequeñas y ≈ 47 y ≈ 109 en larvas grandes para el segundo y tercer pico respectivamente). En los tratamientos 2 y 3 las cantidades de larvas pequeñas y grandes fueron similares en el segundo pico (≈ 20 larvas pequeñas y ≈ 25 larvas grandes), pero se diferenciaron en el tercer pico, con una mayor

reducción poblacional donde se liberó a *T. cucurbitaceus*. La performance del tratamiento con la integración de técnicas fue superior ya que se registró una cantidad de larvas de *T. absoluta* más baja y estable a lo largo del ensayo, terminando en el último pico con un promedio de aproximadamente 5 para larvas pequeñas y 4 para larvas grandes (Figuras 43-44).

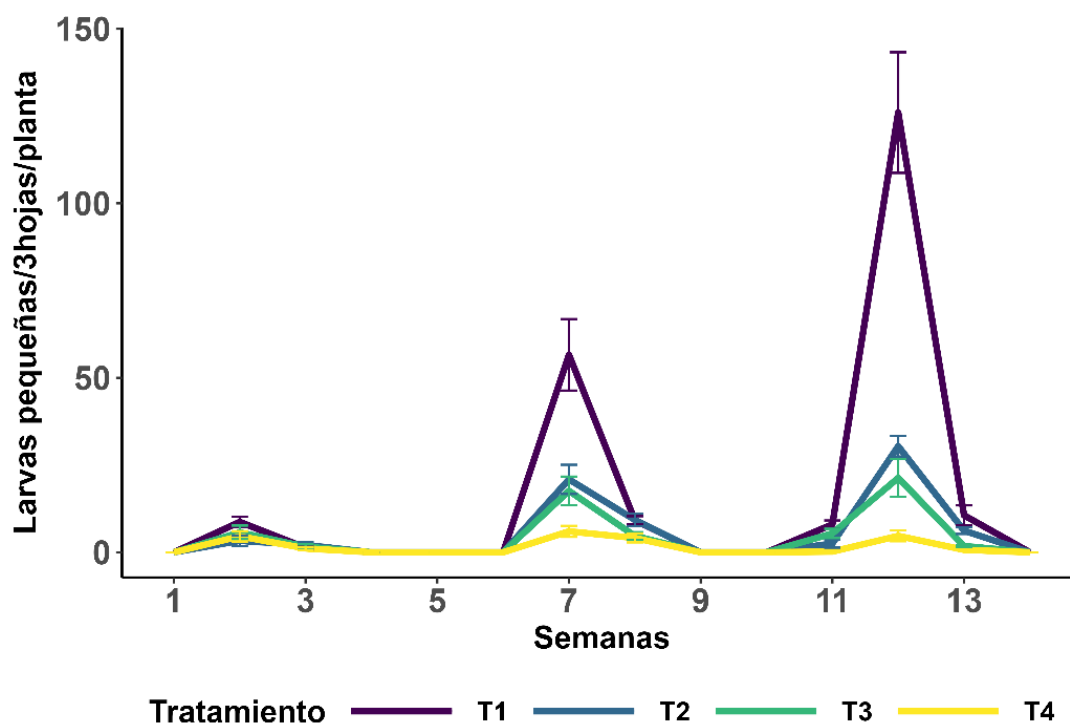


Figura 43. Larvas pequeñas de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). T1 = control; T2 = Esterilidad Heredada (EH); T3 = control biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus* (CB); T4 = EH + CB.

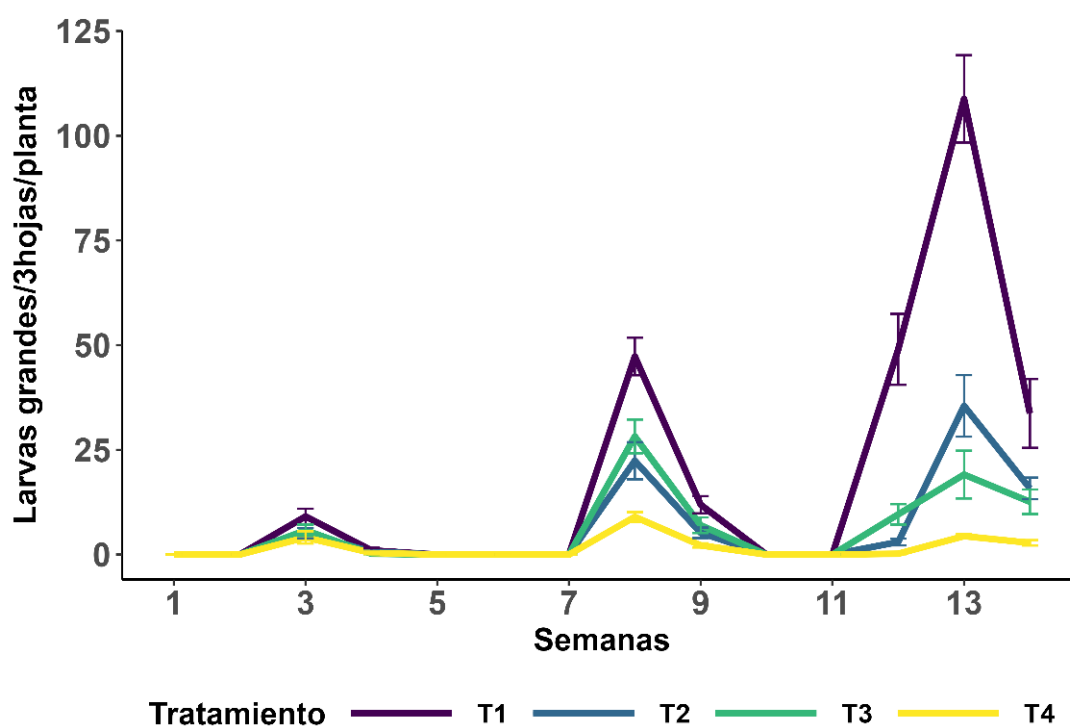


Figura 44. Larvas grandes de *Tuta absoluta* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE). T1 = control; T2 = Esterilidad Heredada (EH); T3 = control biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus* (CB); T4 = EH + CB.

La única liberación del mírido resultó exitosa y no se necesitaron nuevas liberaciones para su establecimiento en el cultivo. Los patrones de los gráficos (Figura 45 y 46) muestran dos picos tanto de ninfas como de adultos. La incidencia de la población de *T. cucurbitaceus* en la supresión de la polilla en el ensayo resultó evidente, no obstante, se observó una tendencia a disminuir en su abundancia entre el primer pico y el segundo.

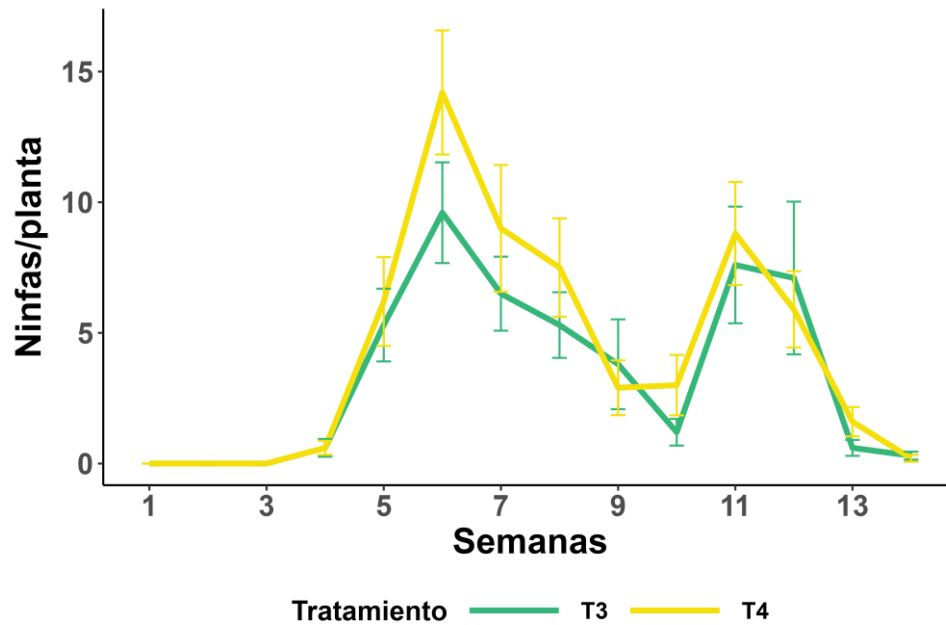


Figura 45. Ninfas de *Tupiocoris cucurbitaceus* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE).
T3= control biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus* (C.B.), T4= Esterilidad Heredada + C.B.

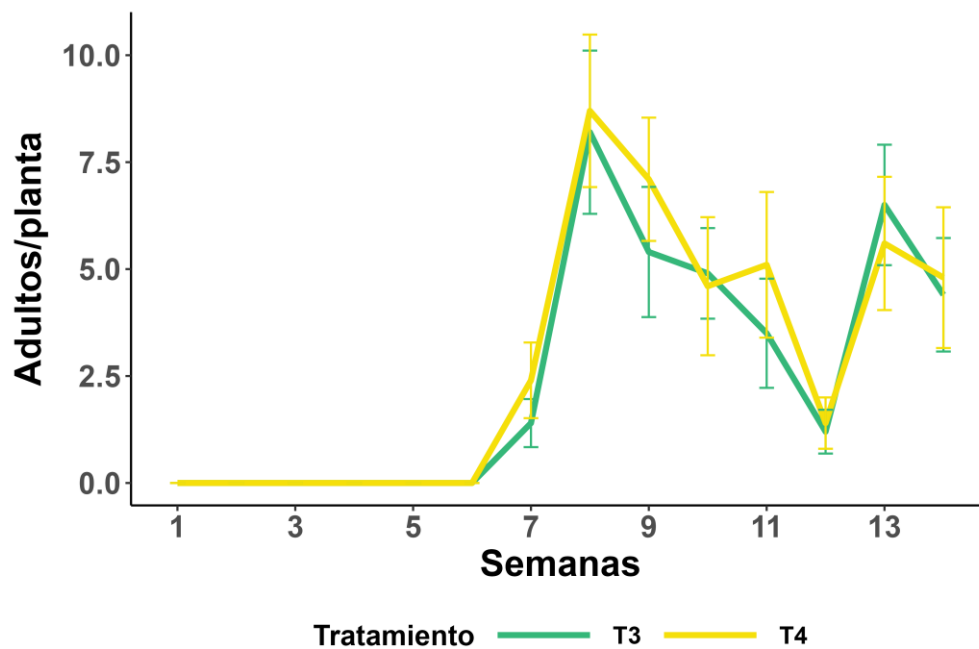


Figura 46. Adultos de *Tupiocoris cucurbitaceus* a lo largo del período analizado (media $\pm$ EE).
T3= control biológico con *Tupiocoris cucurbitaceus* (C.B.), T4= Esterilidad Heredada + C.B.

Hacia el final del ensayo, la diferencia entre los módulos en el daño ocasionado por las larvas de la polilla en las plantas resultó evidente. Esto pudo corroborarse numéricamente por el porcentaje de daño promedio de las hojas muestreadas el cual resultó superior en el tratamiento control, intermedios y similares en los tratamientos donde se utilizó un solo método de control e inferiores en el módulo donde se integraron ambos tratamientos (Figura 47).

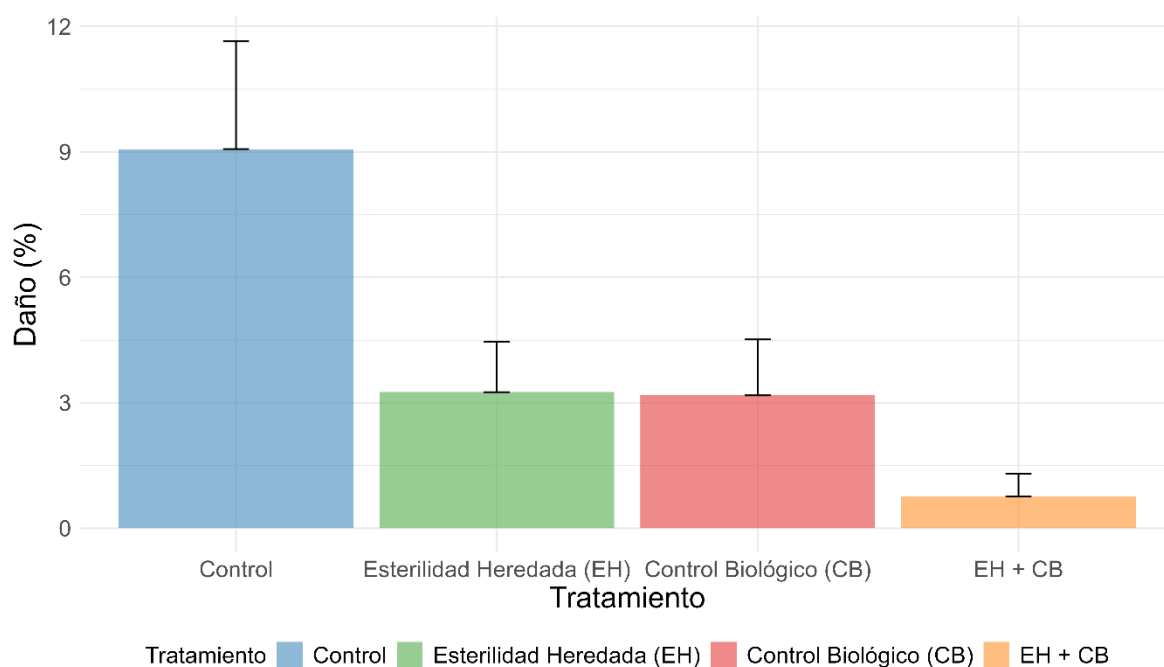


Figura 47. Porcentaje de daño en hoja (media $\pm$ EE) ocasionado por larvas de *Tuta absoluta* en los distintos tratamientos.

5.4 Discusión

Los resultados de este capítulo validan los obtenidos en el capítulo II y demuestran que la integración de la técnica de EH y el CB con *T. cucurbitaceus* fue la estrategia más efectiva para el manejo de *T. absoluta* en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Este tratamiento (T4) logró reducir la población de huevos y mantuvo estable la población de larvas a lo largo del ensayo, a diferencia de los otros tratamientos donde las poblaciones continuaron aumentando. En comparación con el control, la cantidad de huevos promedio se redujo en un 57% en la segunda generación y en un 89% en la tercera

generación. De manera similar, el conteo de larvas tanto pequeñas como grandes en el tratamiento T4 fue aproximadamente un 96% menor que en el control. Estos resultados respaldan la hipótesis de que la combinación de ambas técnicas puede potenciar su eficacia individual como sugieren los modelos teóricos desarrollados por Barclay (1987) y Carpenter y Layton (1993).

La notable disminución de huevos en T4 frente al control y a los tratamientos aislados indica una interacción complementaria: las polillas irradiadas redujeron la fertilidad de la población, mientras que *T. cucurbitaceus* actuó como depredador eficiente de estados inmaduros, frenando el crecimiento poblacional. La chinche pudo alimentarse no sólo de huevos fértiles provenientes de cruzamientos de polillas no irradiadas sino también de la progenie estéril (F1) generada por EH, que actuó como recurso adicional para sostener poblaciones del depredador, amplificando su impacto (Carpenter et al. 2005). Estos resultados concuerdan con los de autores que trabajaron con parasitoides de huevos de la familia Trichogrammatidae en combinación con la TIE para el manejo de lepidópteros plaga. Saour (2009) encontró que la integración de liberaciones de *Trichogramma principium* Sug. et Sor (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y polillas irradiadas supera la performance de su uso aislado para el control de *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) en ensayos en jaulas. En el mismo sentido, Bloem et al. (1998) hallaron que, en cultivos de manzano, la combinación de la liberación de *T. platneri* en conjunto con hembras estériles redujo el daño en frutos ocasionado por *C. pomonella*, más aún que cada técnica utilizada por separado.

En cuanto a las técnicas utilizadas por separado, el CB (T3) demostró ser efectivo y logró mantener la población de larvas prácticamente constante entre el segundo y el tercer pico, aunque con una alta cantidad de individuos de la polilla. La tasa de liberación utilizada en este ensayo es la recomendada por la empresa que comercializa este bioinsumo en nuestro país, aunque esta tasa está basada en experiencias con *T. cucurbitaceus* como enemigo natural de moscas blancas. La liberación de una mayor cantidad de individuos en diferentes momentos podría mejorar su presión sobre la población de *T. absoluta*. Algo similar ocurrió con la EH (T2), que también mostró un efecto supresor en comparación con

el control, pero la cantidad de larvas siguió aumentando con las generaciones. Esto podría deberse a que, para las condiciones en las que se llevó a cabo el ensayo, la proporción de individuos irradiados: no irradiados liberada resultó ser subóptima o habría que reforzar con nuevas liberaciones. La supresión alcanzada con esta técnica usualmente mejora a mayores proporciones de liberación (Knipling 1970), elemento que podría evaluarse a futuro.

Uno de los principales daños que ocasiona el comportamiento alimenticio de *T. absoluta* a las plantas de tomate es la reducción de su área fotosintéticamente activa (Guedes y Picanço 2012). Esto podría traducirse en un menor rendimiento del cultivo, por tanto, medir este parámetro puede resultar de utilidad para evaluar la eficacia de un método de control. Mediante la metodología utilizada, se pudo observar que el porcentaje de daño en los folíolos fue menor en el módulo en donde se utilizó la integración de ambas técnicas, lo que refuerza aún más la efectividad de esta combinación.

5.5 Conclusión

Se valida bajo condiciones de cultivo comercial el resultado previo obtenido en jaulas. Se confirma así que la integración del CB y la EH es posible y eficiente con *T. cucurbitaceus* como agente de CB.

Capítulo VI - Consideraciones finales



La polilla del tomate *T. absoluta* representa un obstáculo para la producción de tomate a nivel mundial, al mermar los rendimientos y la calidad de las cosechas. El estilo de vida de las larvas de esta especie, su alto potencial biótico y su veloz desarrollo de resistencias a diversos principios activos de fitosanitarios implican una gran dificultad para su manejo. Además, las crecientes preocupaciones de los actores sociales sobre la inocuidad alimentaria y la sostenibilidad de los sistemas productivos convencionales presionan cada vez más a la búsqueda de opciones más amigables con el medio ambiente. En este sentido, la integración de alternativas no contaminantes podría ser un camino factible para reducir los daños desencadenados por esta plaga.

El CB y la EH son dos técnicas compatibles que han sido probadas en diversos escenarios para el manejo de varias especies plaga. Las contribuciones aportadas por esta tesis demuestran que se tratan de estrategias válidas para mitigar los efectos deletéreos causados por la polilla del tomate, siempre y cuando se opte por la utilización de los enemigos naturales adecuados.

Las conclusiones generales que se infieren a partir de los resultados obtenidos son las siguientes:

- La chinche depredadora *T. cucurbitaceus*, especie con buenos antecedentes como potencial agente de biocontrol, demostró un efecto supresor de la población de la polilla en ensayos de jaulas. Se observó, además, un efecto sinérgico al combinar su uso con la EH.
- El parasitoide larval generalista *G. legneri* pudo parasitar y desarrollarse sobre larvas de *T. absoluta* descendientes de los dos cruzamientos estudiados (parentales normales y de parentales con machos irradiados), aunque dejó muy poca descendencia, con parámetros poblacionales menos favorables en comparación con otros enemigos naturales estudiados para *T. absoluta*.
- El parasitoide *P. dignus* también pudo parasitar y desarrollarse sobre larvas de la generación filial descendiente del cruzamiento entre machos irradiados y hembras

no irradiadas, sin preferencia entre éstas y las descendientes de parentales no tratados.

- Al evaluar la integración del CB con *P. dignus* y la EH en jaulas, se encontró una supresión de la población de la polilla del tomate mayor a cada técnica utilizada por separado, aunque no se pudo demostrar un efecto sinérgico entre ambas estrategias.
- La integración de EH y CB con el depredador *T. cucurbitaceus* representó la opción más prometedora para el manejo de *T. absoluta* en cultivos de tomate bajo invernáculo ofreciendo un enfoque integral y sostenible. La utilización de esta estrategia no sólo podría conducir a la reducción en la dependencia del uso de pesticidas químicos, sino que también minimizaría el riesgo de resistencia de la plaga, un problema común en el control químico tradicional.
- Futuras investigaciones deberían explorar la optimización de las cantidades de polillas estériles a liberar según la cantidad de insectos silvestres presentes en el cultivo, la frecuencia de liberación de *T. cucurbitaceus* y la sincronización temporal entre ambas técnicas.
- También sería importante evaluar el balance costo-beneficio de este abordaje, poniendo en la balanza no solo el aspecto económico, sino también la reducción de los riesgos de daños ambientales frente a métodos convencionales.

Referencias bibliográficas

- Abbes, K. y Chermiti, B. (2014). Propensity of three Tunisian populations of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) for deuterotokous parthenogenetic reproduction. *African Entomology* 22(3): 538-544.
- Agustí, N. y Gabarra, R. (2009). Puesta a punto de una cría masiva del depredador polífago *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae). *Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas* 35: 205–218.
- Agustí, N., Castañé, C., Fraile, I. y Alomar, O. (2020). Development of a PCR-based method to monitor arthropod dispersal in agroecosystems: *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) from banker plants to tomato crops. *Insect Science* 27: 1125–1134.
- Aigbedion-Atalor, P. O., Mohamed, S. A., Hill, M. P., Zalucki, M. P., Azrag, A. G., Srinivasan, R. y Ekesi, S. (2020). Host stage preference and performance of *Dolichogenidea gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), a candidate for classical biological control of *Tuta absoluta* in Africa. *Biological Control* 144: 104215.
- Aksoy, H. A., Bahadıroğlu, C. y Toroğlu, S. (2015). Research on total protein, carbohydrate and lipid contents in the different development stages of *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae). *Düzce University Journal of Science and Technology* 3(1): 125-131.
- Aksoy, H. A. y Toroğlu, S. (2017). Effects of X-ray Radiation on the total protein, carbohydrate and lipid content of *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae) females. *Advances in Environmental Biology* 11(10): 77-82.
- Argerich, C. y Troilo, L. (2011). Manual de buenas prácticas agrícolas en la cadena de tomate. FAO, INTA. Buenos Aires, Argentina, 258 pp. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i1746s/i1746s.pdf> (Acceso: 13/06/25).
- Arnó, J., Gabarra, R. y Albajes, R. (2005). Conservación de míridos depredadores para el control biológico en cultivos de tomate bajo invernadero: historia, éxitos y limitaciones. *Phytophoma* 165: 40-43.
- Bahamondes, L. A. y Mallea, A. R. (1969). Biología en Mendoza de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae), especie nueva para la República Argentina. *Revista de Facultad de Ciencias Agrarias, UNC (Argentina)* 15: 96–104.

- Bakri, A., Mehta, K., Lance, D. R., Dyck, V. A., Hendrichs, J., y Robinson, A. S. (2021). Sterilizing insects with ionizing radiation. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A. S. (Eds.), *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. CRC Press: Boca Ratón, Florida, pp. 355–398.
- Bale, J. S., Van Lenteren, J. C., y Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363(1492): 761-776.
- Barclay, H. J. (1987). Models of sterile insect releases for populations under attack by parasitoids. *Ecological Modelling*, 36(3-4): 155-169.
- Barclay, H. J. (2021). Mathematical models for using sterile insects. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A. S. (Eds.), *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, pp. 201-244.
- Barratt, B. I. P., Howarth, F. G., Withers, T. M., Kean, J. M. y Ridley, G. S. (2010). Progress in risk assessment for classical biological control. *Biological Control* 52(3): 245-254.
- Batalla-Carrera, L., Morton, A. y García-del-Pino, F. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *BioControl* 55: 523-530.
- Bawin, T., Dujew, D., De Backer, L., Francis, F., y Verheggen, F. J. (2016). Ability of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) to develop on alternative host plant species. *The Canadian Entomologist* 148(4): 434–442.
- Bielza, P., Balanza, V., Cifuentes, D., y Mendoza, J. E. (2020). Challenges facing arthropod biological control: identifying traits for genetic improvement of predators in protected crops. *Pest Management Science* 76(11): 3517-3526.
- Biondi, A., Desneux, N., Amiens-Desneux, E., Siscaro, G. y Zappalà, L. (2013). Biology and developmental strategies of the Palaearctic parasitoid *Bracon nigricans* (Hymenoptera: Braconidae) on the Neotropical moth *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology* 106: 1638–1647.
- Biondi, A., Guedes, R. N. C., Wan, F. H. y Desneux, N. (2018). Ecology, worldwide spread, and management of the invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*: past, present, and future. *Annual Review of Entomology* 63: 239-258.

- Biondi, A., Zappala, L., Di Mauro, A., Garzia, G. T., Russo, A. y Desneux, N. (2016). Can alternative host plant and prey affect phytophagy and biological control by the zoophytophagous mirid *Nesidiocoris tenuis*? *Biocontrol* 61: 79–90.
- Blackburn, T. M. (1991). A comparative examination of life-span and fecundity in parasitoid Hymenoptera. *The Journal of Animal Ecology* 60: 151-164.
- Bloem, S., Bloem, K. A. y Knight, A. L. (1998). Oviposition by sterile codling moths, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) and control of wild populations with combined releases of sterile moths and egg parasitoids. *Journal of the Entomological Society of British Columbia* 95: 99–109.
- Botto, E. N., Ceriani, S., López, S., Saini, E., Cédola, C., Segade, G. y Viscarret, M. (1998). Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La experiencia hasta el presente. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (INTA)* 29: 83-98.
- Bottrell, D. G., Barbosa, P. y Gould, F. (1998). Manipulating natural enemies by plant variety selection and modification: a realistic strategy? *Annual Review of Entomology* 43(1): 347-367.
- Burla, J. P. (2010). Efecto de diferentes dietas fitófagas y zoofitófagas sobre las principales características biológicas de *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola 1852) (Hemiptera, Miridae) y prospección de sus plantas refugio. Tesis de grado. Universidad de la República.
- Burla, J. P., Grille, G., Lorenzo, M. E., Franco, J., Bonato, O. y Basso, C. (2014). Effect of different diets on the development, mortality, survival, food uptake and fecundity of *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae). *Florida Entomologist* 97: 1816-1824.
- Butler, G. D. y Schmidt, K. M. (1985). *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethyridae): development, oviposition, and longevity in relation to temperature. *Annals of the Entomological Society of America* 78: 373-375.
- Cáceres, S. (2020). Guía práctica para la identificación y el manejo de las plagas del tomate. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista, INTA. Disponible en: <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/8591> (Acceso: 13/06/2025).
- Cáceres, S., Aguirre, A., Miño, V. y Almonacid, R. (2011). Líneas de trabajo para el manejo integrado de la polilla del tomate en Corrientes. Resúmenes del Taller La Polilla del Tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas (INTA-UNLP). FCNyM, UNLP, Buenos Aires, Argentina, pp. 7. 7-8/11/2011.

- Cagnotti, C. L., Andorno, A. V., Hernández, C. M., Paladino, L. C., Botto, E. N. y López, S. N. (2016a). Inherited sterility in *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): pest population suppression and potential for combined use with a generalist predator. *Florida Entomologist* 99: 87–94.
- Cagnotti, C. L., Arias, A. E., Ermantraut, E. N., Andorno, A. V., Viscarret, M. M. y López, S. N. (2021). Life history study of the mirid *Tupiocoris cucurbitaceus* feeding on *Tuta absoluta* eggs: implications for biological control and its combination with inherited sterility. *Biocontrol* 66: 207-216.
- Cagnotti, C. L., Conte, C., Kramar, J., Lanzavecchia, S. y López, S. (2023). Molecular detection of reproductive symbionts and parthenogenesis experiments in *Tuta absoluta* from Argentina: facing potential for sustainable and specific pest control strategies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 171(9): 681-690.
- Cagnotti, C. L., Hernández, C. M., Andorno, A. V., Viscarret, M., Riquelme, M., Botto, E. N. y López, S. N. (2016b). Acceptability and suitability of *Tuta absoluta* eggs from irradiated parents to parasitism by *Trichogramma nerudai* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Agricultural and Forest Entomology* 18: 198–205.
- Cagnotti, C. L., Viscarret, M. M., Riquelme, M. B., Botto, E. N., Carabajal, L. Z., Segura, D. F. y López, S. N. (2012). Effects of X-rays on *Tuta absoluta* for use in inherited sterility programmes. *Journal of Pest Science* 85: 413-421.
- Caltagirone, L. E. (1981). Landmark examples in classical biological control. *Annual Review of Entomology* 26(1): 213-232.
- Calvo, F. J., Lorente, M. J., Stansly, P. A. y Belda, J. E. (2012). Preplant release of *Nesidiocoris tenuis* and supplementary tactics for control of *Tuta absoluta* and *Bemisia tabaci* in greenhouse tomato. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 143: 111–119.
- Calvo, F. J., Soriano, J. D., Bolckmans, K. y Belda, J. E. (2013). Host instar suitability and life-history parameters under different temperature regimes of *Necremnus artynes* on *Tuta absoluta*. *Biocontrol Science and Technology* 23: 803-815.
- Campos, M. R., Rodrigues, A. R. S., Silva, W. M., Silva, T. B. M., Silva, V. R. F., Guedes, R. N. C., et al. (2014). Spinosad and the Tomato Borer *Tuta absoluta*: A Bioinsecticide, an Invasive Pest Threat, and High Insecticide Resistance. *PLoS ONE* 9(8): e103235.

- Campos, M.R., Silva, T., Silva, W.M., Silva, J.E. y Siqueira, H.A. (2015). Susceptibility of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Brazilian populations to ryanodine receptor modulators. *Pest Management Science* 71: 537–544.
- Caparros-Megido, R., Haubruge, E. y Verheggen, F. J. (2012). First evidence of deuterotokous parthenogenesis in the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Pest Science* 85: 409-412.
- Caparros-Megido, R., Haubruge, E. y Verheggen, F.J. (2013). Pheromone-based management strategies to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). A review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 17(3): 475-482.
- Carabajal Paladino, L. Z., Ferrari, M. E., Lauría, J. P., Cagnotti, C. L., Šíchová, J. y López, S. N. (2016). The effect of X-rays on cytological traits of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Florida Entomologist* 99: 43-53.
- Cardona, C. y Oatman, E. R. (1971). Biology of *Apanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), a primary parasite of the tomato pinworm. *Annals of the Entomological Society of America* 64(5): 996-1007.
- Carpenter, J. E. (1992). Integration of inherited sterility and other pest management strategies for *Helicoverpa zea*. In: Management of insect pests: nuclear and related molecular and genetic techniques. Proceedings of an international symposium organized by the IAEA/FAO, pp 363–370.
- Carpenter, J. E., Bloem, S. y Hofmeyr, H. J. (2004). Acceptability and suitability of eggs of false codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from irradiated parents to parasitism by *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control* 30: 351–359.
- Carpenter, J.E.; Bloem, S. y Marec, F. (2005). Inherited sterility in insects. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A. S. (Eds.) *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 115–146.
- Carpenter, J., Hidryani E. y Sheehan W. (1996). Compatibility of F1 sterility and a parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), for managing *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae): acceptability and suitability of host. *Florida Entomologist* 79: 289–295.

- Carpenter J. E. y Layton R. C. (1993). Computer model for predicting the effect of inherited sterility on population growth. In: Radiation Induced F1 Sterility in Lepidoptera for Area-Wide Control. Proceedings of an International Symposium on Management of Insect Pests: Nuclear and Related Molecular and Genetic Techniques organized by IAEA/FAO, pp. 49-55
- Carpintero, D. y De Biase, S. (2011). Los Hemíptera Heteróptera de las Isla Martín García (Buenos Aires, Argentina). *Historia Natural* 1(3): 27- 47.
- Carvalho, J. C. M. (1947). Mirideos neotropicais XXVII: Gêneros *Porpomiris* Berg., *Lampethusa* Distant, *Cyrtopeltis* Fieber e *Dicyphus* Fieber (Hemiptera). *Boletim do Museu Nacional de Rio de Janeiro* 77: 1-23.
- Carvalho, J. C. M. y Afonso, C. R. S. (1977). Mirideos neotropicais CCVIII: Sobre uma coleção enviada para estudo pela Academia de Ciências da Califórnia (Hemiptera). *Revista Brasileira de Biologia* 37: 7-16.
- Carvalho, J. C. M. y Ferreira, P. S. F. (1972). Mirideos neotropicais CXLV: Estudo de duas coleções da República do Peru (Hemiptera). *Revista Brasileira de Biologia* 32: 177-183.
- Cascone, P., Carpenito, S., Slotsbo, S., Iodice, L., Sørensen, J. G., Holmstrup, M. y Guerrieri, E. (2015). Improving the efficiency of *Trichogramma achaeae* to control *Tuta absoluta*. *Biocontrol* 60: 761–771.
- Chang, P. E. C. y Metz, M. A. (2021). Classification of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae: Gelechiinae: Gnorimoschemini) based on cladistic analysis of morphology. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 123: 41–54.
- Cichón, L. (2019). Control biológico de plagas en frutales de pepita de la Nor-Patagonia, Argentina. In: *Memorias Primer Encuentro Nacional de Investigadores en Manejo Sustentable de Plagas*, pp. 27-31.
- Cocco, A., Deliperi, S. y Delrio, G. (2012). Control of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomato crops using the mating disruption technique. *Journal of Applied Entomology*, 137(1–2), 16–28.
- Cocco, A., Serra, G., Lentini, A., Deliperi, S. y Delrio, G. (2015). Spatial distribution and sequential sampling plans for *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomato crops. *Pest Management Science* 71(9): 1311-1323.

- Coelho, M. C. F. y Franca F. H. (1987). Biología, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 22: 129-135.
- Contreras, J., Mendoza, J. E., Martínez-Aguirre, M. R., García-Vidal, L., Izquierdo, J. y Bielza, P. (2014). Efficacy of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal Economic Entomology* 107: 121–124.
- Cuny, M. A. y Poelman, E. H. (2022). Evolution of koinobiont parasitoid host regulation and consequences for indirect plant defence. *Evolutionary Ecology* 36(3): 299-319.
- Cuthbertson, A. G., Mathers, J. J., Blackburn, L. F., Korycinska, A., Luo, W., Jacobson, R. J. y Northing, P. (2013). Population development of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) under simulated UK glasshouse conditions. *Insects* 4(2): 185-197.
- D'Auro, F., Luna, M. G. y Liljesthröm, G. G. (2021). Functional response and egg distribution among hosts by *Pseudapanteles dignus*, a larval endoparasitoid of *Tuta absoluta*. *Journal of Applied Entomology* 145(7): 688-696.
- DeBach, P. (1974). *Biological Control by Natural Enemies*. Cambridge University Press, 323 pp.
- DeBach, P. y Huffaker, C. B. (1971). Experimental techniques for evaluation of the effectiveness of natural enemies. In Huffaker C. B. (Ed.) *Biological control*. Springer: Boston, MA: USA. pp. 113-140
- del Pino, M. (2022). Guía didáctica: cultivo y manejo del cultivo de tomate fresco. Cátedra de Horticultura y Floricultura. FCAyF UNLP. pp 22.
- del Pino, M., Polack, A., Gamboa, S., Massi, M. y Peruzzi, G. (2009). *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae), aspectos poblacionales en relación al control de la mosca blanca de los invernáculos *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) y al cultivo de tomate bajo cobertura. XXXII Congreso Argentino de Horticultura, Salta, Argentina, p 75.
- Desneux, N., Barta, R. J., Delebecque, C. J. y Heimpel, G. E. (2009). Transient host paralysis as a means of reducing self-superparasitism in koinobiont endoparasitoids. *Journal of Insect Physiology* 55(4): 321-327.
- Desneux, N., Decourtye, A. y Delpuech J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52(1): 81-106.

- Desneux, N., Han, P., Mansour, R. et al. (2022). Integrated pest management of *Tuta absoluta*: practical implementations across different world regions. *Journal of Pest Science* 95: 17–39.
- Desneux, N., Luna, M. G., Guillemaud, T. y Urbaneja, A. (2011). The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *Journal of Pest Science* 84: 403–408.
- Eilenberg, J., Hajek, A. y Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46: 387-400.
- EPPO (2024). EPPO Global Database. Disponible en: <https://gd.eppo.int> (Acceso: 17/06/2025).
- Estay, P. (2000). Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Informativo La Platina 9: 1-4.
- FAO (2016). Glosario de términos fitosanitarios NIMF 5. Roma. 38pp. Disponible en: <https://www.fao.org/3/mc891s/mc891s.pdf> (Acceso: 17/06/25).
- FAO (2022). Agricultural production statistics 2000–2021. FAOSTAT analytical briefs, No. 60. Rome. 17pp. Disponible en: <https://www.fao.org/3/cc3751en/cc3751en.pdf> (Acceso: 17/06/25).
- Fellowes, M. D., van Alphen, J. J., Shameer, K. S., Hardy, I. C., Wajnberg, E. y Jervis, M. A. (2023). Foraging behaviour. In: Hardy, I.C., Wajnberg, E. (Eds.), *Jervis's Insects as Natural Enemies: Practical Perspectives*. Springer International Publishing pp. 1-104.
- Ferracini, C., Bueno, V. H. P., Dindo, M. L., Ingegno, B. L., Luna, M. G., Salas Gervassio, N. et al. (2019). Natural enemies of *Tuta absoluta* in the Mediterranean basin, Europe and South America. *Biocontrol Science and Technology* 29: 578–609.
- Folcia, A. M. (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. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Fu, H., Zhu, F. W., Deng, Y. Y., Weng, Q. F., Hu, M. Y. y Zhang TZ (2016). Development, reproduction and sexual competitiveness of irradiated *Conopomorpha sinensis* (Lepidoptera: Gracillariidae) pupae and adults. *Florida Entomologist* 99: 66-72.

- Garrido, S., Cichón, L., Claps, L., Lago, J., Navarro, D., Gómez, C. y Leonelli, E. (2019). Uso de *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethylidae) en control biológico inundativo y su incidencia en la reducción de insecticidas en perales. *Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam* 27: 27–29.
- Garrido, S., Cichón, L., Fernández, D. y Azevedo, C. (2005). Primera cita de la especie *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethylidae) en el Alto Valle de Río Negro, Patagonia Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 64: 14-16.
- Garrido, S. A., Cichon, L. I., Lago, J. D., Aquino, D. A., Vallina, C. y Luna, M. G. (2017). Primer registro de *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) como parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en el Alto Valle de Río Negro, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 76: 46-49.
- Garrido, S., Cichón, L., Lago, J., Navarro, M. D., Herrera, M. E. y Becerra, V. (2018). Evaluación de la oviposición de *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae) sobre distintos lepidópteros de interés frutihortícola. *Acta Zoológica Lilloana*, 62.
- Giustolin, T. A., Vendramim, J. D., Alves, S. B. y Pereira V. (2001). Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Journal of Applied Entomology* 125: 551–556.
- Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA. 473 pp.
- Gonthier, J., Arnó, J., Romeis, J. y Collatz, J. (2024). Insight into the host-specificity of a native and a newly introduced parasitoid of *Tuta absoluta* and prospect for biological control. *Biological Control* 191: 1–10.
- González-Cabrera, J., Mollá, O., Montón, H. y Urbaneja, A. (2011). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol* 56: 71–80.
- Gordh, G. (1982). A new species of *Goniozus* (Hymenoptera, Bethylidae) imported into California for the biological control of the navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomological News* 93: 133-139.
- Gordh, G. y Hawkins, B. (1981). *Goniozus emigratus* (Rohwer), a primary external parasite of *Paramyelois transitella* (Walker), and comments on bethylids attacking Lepidoptera

- (Hymenoptera: Bethylidae; Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 54: 787-803.
- Gordh, G., Woolley, J. B. y Medved, R. A. (1983). Biological studies on *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae) a primary external parasite of the navel orangeworm *Amyelois transitella* and pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Pyralidae, Gelechiidae). *Contributions of the American Entomological Institute* 20: 433-468.
- Grant, C., Jacobson, R. y Bass, C. (2021). Parthenogenesis in UK field populations of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta*, exposed to the mating disruptor Isonet T. *Pest Management Science* 77: 3445-3449.
- Guedes, R. N. C. y Picanço, M. C. (2012). The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance. *EPPO Bulletin* 42(2): 211-216.
- Guillemaud, T, Blin, A, Le Goff, I, Desneux, N, Reyes, M, Tabone, E., Tsagkarakou, A., Niño, L. y Lombaert, E. (2015). The tomato borer, *Tuta absoluta*, invading the Mediterranean Basin, originates from a single introduction from Central Chile. *Science Reports* 5: 8371
- Han, P., Bearez, P., Adamowicz, S., Lavoit, A. V., Amiens-Desneux, E. y Desneux, N. (2015a). Nitrogen and water limitations in tomato plants trigger negative bottom-up effects on the omnivorous predator *Macrolophus pygmaeus*. *Journal of Pest Science* 88: 685-691.
- Han, P., Dong, Y., Lavoit, A. V., Adamowicz, S., Bearez, P., Wajnberg, E. y Desneux, N. (2015b). Effect of plant nitrogen and water status on the foraging behavior and fitness of an omnivorous arthropod. *Ecology and Evolution* 5(23): 5468-5477.
- Han, P., Lavoit, A. V., Le Bot, J. et al. (2014). Nitrogen and water availability to tomato plants triggers bottom-up effects on the leafminer *Tuta absoluta*. *Science Reports* 4: 4455.
- Hardy, I. C. W., Goubault, M. y Batchelor, T. P. (2013). Hymenopteran contests and agonistic behaviour. In Hardy I.C.W. Briffa M. (Eds.) *Animal Contest*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 147–177.
- Hardy, I. C. W., Griffiths, N. T. y Godfray, H. C. J. (1992). Clutch size in a parasitoid wasp: a manipulation experiment. *Journal of Animal Ecology* 61: 121–129.

- Ho, N. T. Q. y Tien, N. T. T. (2001). Radiation induced F1 sterility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): potential for population suppression in the field. *Florida Entomologist* 84: 199-208.
- Hoddle, M. S. y van Driesche, R. G. (2009). Biological control of insect pests. In Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.) *Encyclopedia of Insects* (second ed.) Academic Press. San Diego, pp. 91-100.
- Idriss, G. E., du Plessis, H., Khamis, F. M., Ekesi, S., Tanga, C. M. y Mohamed, S. A. (2020). Host range and effects of plant species on preference and fitness of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology* 113(3): 1279-1289.
- Jacas, J.A. y Urbaneja, A. (2008). *Control Biológico de Plagas Agrícolas*. Pytoma, Valencia, España 496pp.
- Jervis, M. A., Kidd, N. A., Mills, N. J., van Nouhuys, S., Singh, A. y Yazdani, M. (2023). Population dynamics. In *Jervis's Insects as Natural Enemies: Practical Perspectives*. Springer International Publishing, pp. 591-667.
- Kingsolver, J. y Huey, R. (2008). Size, temperature, and fitness: three rules. *Evolutionary Ecology Research* 10(2): 251-268.
- Klassen, W. y Vreysen, M. J. B. (2021). Area-wide integrated pest management and the sterile insect technique. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A.S. (Eds.), *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Boca Ratón, Florida, CRC Press, pp. 75–112.
- Klieber, J. A. y Reineke, A. (2016). The entomopathogen *Beauveria bassiana* has epiphytic and endophytic activity against the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Journal of Applied Entomology* 140: 80–589.
- Knipling, E. F. (1955). Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *Journal of Economic Entomology* 48(4): 459–462.
- Knipling, E. F. (1970). Suppression of pest Lepidoptera by releasing partially sterile males: a theoretical appraisal. *Bioscience* 20(8): 465-470.
- Knipling, E. F. (1979). *The basic principles of insect population suppression and management*, agricultural handbook, 512. USDA, Washington, DC.
- Kogan, M. (1998). Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review of Entomology* 43(1), 243–270.

- La Rossa, F. R. (2015). Nuevo programa informático para la construcción de tablas de vida y la estimación de parámetros biológicos y poblacionales en insectos. Proceedings of the IX Congreso Argentino de Entomología. Posadas, Misiones, Argentina, pp. 281.
- LaChance, L. E. (1967). The induction of dominant lethal mutations in insects by ionizing radiation and chemicals-as related to the sterile male technique of insect control. In Wright, J. W., Pal, R. (Eds.), Genetic Basis of the Sterile Insect Technique. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier, pp. 617–650.
- LaChance, L. E. (1985). Genetic methods for the control of lepidopteran species: status and potential, ARS-28. USDA/ARS, Washington, DC, USA.
- Larraín, P. (1992). Plagas en cultivos bajo plástico. IPA La Platina 73: 41-52.
- Laumann, R. A., Ferrero, A. A. y Stadler, T. (2000). Evaluación en laboratorio de *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethylidae) enemigo natural de *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de nogal de la provincia de Catamarca, República Argentina. Boletín de Sanidad Vegetal 26: 537-550.
- Lee, M. S., Albajes, R. y Eizaguirre, M. (2014). Mating behaviour of female *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): Polyandry increases reproductive output. Journal of Pest Science 87: 429–39.
- Leftwich, P. T., Bolton, M. y Chapman, T. (2016). Evolutionary biology and genetic techniques for insect control. Evolutionary Applications, 9(1), 212-230.
- Legner, E. F. y Silveira-Guido, A. (1983). Establishment of *Goniozus emigratus* and *Goniozus legneri* (Hym: Bethylidae) on navel orangeworm, *Amyelois transitella* (Lep: Phycitidae) in California and biological control potential. Entomophaga 28: 97–106.
- Legner, E. F. y Warkentin, R. W. (1988). Parasitization of *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethylidae) at increasing parasite and host, *Amyelois transitella* (Lepidoptera: Phycitidae), densities. Annals of the Entomological Society of America 81: 774–776.
- Li, X. W., Li, D., Zhang, Z. J., Huang, J., Zhang, J. M., Hafeez, et al. (2021). Supercooling capacity and cold tolerance of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, a newly invaded pest in China. Journal of Pest Science 94: 845-858.

- Li, X. W., Ma, L. y Lu, Y. B. (2022). Susceptibility of Xinjiang and Yunnan populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) to six insecticides and its relationship with detoxification enzyme activities. *Acta Entomologica Sinica* 65(8): 1010–1017.
- Lietti, M. M., Botto, E. y Alzogaray, R. A. (2005). Insecticide resistance in argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 34: 113-119.
- Linn, J. C. E., Campbell, M. G. y Roelofs, W. L. (1987). Pheromone components and active spaces: what do moths smell and where do they smell it? *Science* 237:650–652.
- López, S. N., Orozco Muñoz, A., Andorno, A. V., Cuello, E. M. y Cagnotti, C. L. (2019). Predatory capacity of *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera Miridae) on several pests of tomato. *Bulletin of Insectology* 72(2): 201-205
- López, S. N., Rojas, F. A., Velásquez, V. V. y Cagnotti, C. (2012). Biology of *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae), a predator of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) in tomato crops in Argentina. *Biocontrol Science and Technology* 22: 1107-1117.
- Luft, P. A. (1993). Experience affects oviposition in *Goniozus nigrifemur* (Hymenoptera: Bethyridae). *Annals of the Entomological Society of America* 86: 497–505.
- Luna, M. G., Desneux, N. y Schneider, M. I. (2016). Encapsulation and self-superparasitism of *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *PLoS One* 11(10): e0163196.
- Luna, M. G., Pereyra, P. C., Coviella, C. E., Nieves, E., Savino, V., Salas Gervasio, N. Luft, E., Virla, E. y Sánchez, N. E. (2015). Potential of biological control agents against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): current knowledge in Argentina. *Florida Entomologist* 98(2): 489-494.
- Luna, M. G., Sánchez, N. E. y Pereyra, P. C. (2007). Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions. *Environmental Entomology* 36(4): 887-893.
- Luna, M. G., Wada, V. I. y Sánchez, N. E. (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: 936-942.

- Mannion, C. M., Carpenter, J. E. y Gross, H. R. (1994). Potential of the combined use of inherited sterility and a parasitoid, *Archytas marmoratus* (Diptera: Tachinidae), for managing *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology* 23(1): 41-46.
- Mannion, C. M., Carpenter, J. E. y Gross, H. R. (1995). Integration of inherited sterility and a parasitoid, *Archytas marmoratus* (Diptera: Tachinidae), for managing *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae): acceptability and suitability of hosts. *Environmental Entomology* 24(6): 1679-1684.
- Mansour, M. (2015). Effects of gamma radiation on the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller, mature larvae and acceptability of irradiated larvae by *Bracon hebetor* Say females. *Journal of Stored Products Research* 60: 43-47.
- Mansour, R., Brevault, T., Chailleux, A., Cherif, A., Grissa-Lebdi, K., Haddi, K., Mohamed, S. A., Nofemela, R. S., Oke, A., Sylla, S., Tonnang, H. E. Z., Zappala, L., Kenis, M., Desneux, N. y Biondi, A. (2018). Occurrence, biology, natural enemies and management of *Tuta absoluta* in Africa. *Entomologia Generalis* 38(2) 83–112.
- Marec, F., Bloem, S. y Carpenter, J. E. (2021). Inherited sterility in insects. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A.S. (Eds.), *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Boca Ratón, Florida, CRC Press, pp. 163–200.
- Mercado Central de Buenos Aires. (2021). Boletín de noticias. Edición 3. Disponible en: <https://mercadocentral.gob.ar/img/boletin/noticiasdetulado-03-2021.pdf> (Acceso: 17/06/25).
- Meyrick, E. (1917). Descriptions of South American micro-lepidoptera. *Transactions of the Entomological Society of London* 65: 1–52.
- Ministerio de Economía, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2023). Producción de tomate en Argentina. Evolución del cultivo hasta la temporada 2021/22, 21p. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/produccion-tomate-en-argentina-hasta-2021-2022.pdf> (Acceso: 17/06/25).
- Mollá, O., Montón, H., Vanaclocha, P., Beitia, F. y Urbaneja, A. (2009). Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. *IOBC/WPRS Bulletin* 49: 209–214.
- Muesebeck, C. F. W. (1938). Three new reared species of *Apanteles* from California (Hymenoptera: Braconidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 40(7): 201-204.

- Mumford, J. D. (2021). Design and economic evaluation of programmes integrating the sterile insect technique. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A.S. (Eds.), *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Boca Ratón, Florida, CRC Press, pp. 731-752.
- Nieves, E.L. (2013). Evaluación del parasitoide, *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) como agente de control biológico de la “polilla del tomate”, *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.
- Nieves, E. L., Pereyra, P. C., Luna, M. G., Medone, P. y Sánchez, N. E. (2015). Laboratory population parameters and field impact of the larval endoparasitoid *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) on its host *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato crops in Argentina. *Journal of Economic Entomology* 108(4): 1553-1559.
- North, D. T. (1975). Inherited sterility in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 20(1): 167-182.
- Orozco Muñoz, A., Villalba Velásquez, V. y López, S. N. (2012). Desarrollo de *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae) sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en diversas hortalizas. *Fitosanidad* 16: 147-153.
- Papari, S., Dousti, A., Fallahzadeh, M., Haddi, K., Desneux, N. y Saghaei, N. (2024). Side effects of insecticides used for management of *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) on the biocontrol agent *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *CABI Agriculture and Bioscience* 5(1), 101.
- Pereira G. V. N., Maluf W. R., Goncalves L. D., do Nascimento I. R., Gomes L. A. A. y Licursi V. (2008). Selection towards high acylsugar levels in tomato genotypes and its relationship with resistance to spider mite (*Tetranychus evansi*) and to the South American pinworm (*Tuta absoluta*). *Ciência e Agrotecnologia* 32: 996–1004.
- Pérez-Hedo, M., Riahi, C. y Urbaneja, A. (2021). Use of zoophytophagous mirid bugs in horticultural crops: current challenges and future perspectives. *Pest Management Science* 77: 33–42.
- Polack, L. A. y Mitidieri, M. S. (2012). Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas, enfermedades y enemigos naturales de tomate y pimiento. Buenos Aires: INTA EEA San Pedro. Disponible en: <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/2024> (Acceso: 17/06/25).

- Portakaldali, M., Öztemiz, S. y Kütük, H. (2013). A new host plant for *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Turkey. *Journal of the Entomological Research Society* 15: 21-24.
- Povolny, D. (1994). Gnorimoschemini of southern South America VI: identification keys, checklist of Neotropical taxa and general considerations (Insecta, Lepidoptera, Gelechiidae). *Steenstrupia* 20(1): 1–42.
- Puch, L. (2011). Presencia de *Pseudapanteles dignus* (Mues) en larvas de polilla de tomate (*Tuta absoluta*) en la localidad de Yuto, provincia de Jujuy. En: Resúmenes del Taller La Polilla del Tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas (INTA-UNLP). FCNyM, UNLP, Buenos Aires, Argentina, pp. 23. 7-8/11/2011.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.r-project.org/>.
- Roditakis, E., Mavridis, K., Riga, M., Vasakis, E., Morou, E., Rison, J. L. y Vontas, J. (2017). Identification and detection of indoxacarb resistance mutations in the para sodium channel of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *Pest management science* 73(8): 1679-1688.
- Rodríguez, J. y Fernández-Mata, G. (2019). Tutavir®, un innovador formulado de baculovirus para la implementación de estrategias de biocontrol de *Tuta absoluta* en la GIP del tomate. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal* (314): 54-57.
- Rwomushana, I. et al. (2019). Tomato leafminer (*Tuta absoluta*): Impacts and coping strategies for Africa (CABI Working Paper 12). Cambridge, UK: CABI.
- Salas Gervassio, N. G., Aquino, D., Vallina, C., Biondi, A. y Luna, M. G. (2019a). A re-examination of *Tuta absoluta* parasitoids in South America for optimized biological control. *Journal of Pest Science* 92(4): 1343-1357.
- Salas Gervassio, N. G., Luna, M. G., Lee, S., Salvo, A. y Sánchez, N. E. (2016). Trophic web associated with the South American tomato moth *Tuta absoluta*: implications for its conservation biological control in Argentina. *Agricultural and Forest Entomology* 18(2): 137-144.
- Salas Gervassio, N. G., Luna, M. G., Minardi, G. M. y Sanchez, N. E. (2019b). Assessing inoculative releases of *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) for the biological control of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Crop Protection* 124: 104830.

- Salazar, E. R., y Araya, J. E. (1997). Detección de resistencia a insecticidas en la polilla del tomate. *Simiente* 67(8): 8-22.
- Sánchez, J. A., La-Spina, M. y Lacasa, A. (2014). Numerical response of *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) preying on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato crops. *European Journal of Entomology* 111: 387-395.
- Sánchez, N. E., Pereyra, P. C. y Luna, M. G. (2009). Spatial patterns of parasitism of the solitary parasitoid *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environmental Entomology* 38(2): 365-374.
- Saour, G. (2009). Effect of early oviposition experience on host acceptance in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and application of F1 sterility and *T. principium* to suppress the potato tuber moth (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol Science and Technology* 19: 225-234.
- Savino, V. (2014). Biología reproductiva del ectoparasitoide *Dineulophus phthorimaeae* de Santis y su interacción con el endoparasitoide *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck). Implicancias para el control biológico de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata.
- Savino, V., Coviella, C. E. y Luna, M. G. (2012). Reproductive biology and functional response of *Dineulophus phthorimaeae*, a natural enemy of the tomato moth, *Tuta absoluta*. *Journal of Insect Science* 12(1): 153.
- Savino, V., Luna, M. G., Gervasio, N. S. y Coviella, C. E. (2017). Interspecific interactions between two *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) larval parasitoids with contrasting life histories. *Bulletin of Entomological Research* 107(1): 32-38.
- Schuh, R. T. (1995). Plant bugs of the world (Insecta: Heteroptera: Miridae). Systematic catalog, distributions, host list, and bibliography. New York Entomological Society, New York. 1, 329 pp.
- Scott, M. J., Gould, F., Lorenzen, M., Grubbs, N., Edwards, O. y O'Brochta, D. (2018). Agricultural production: assessment of the potential use of Cas9-mediated gene drive systems for agricultural pest control. *Journal of Responsible Innovation* 5(sup1), S98-S120.

- Seiter, S. y Kingsolver, J. (2013). Environmental determinants of population divergence in life-history traits for an invasive species: climate, seasonality and natural enemies. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(8): 1634-1645.
- Selale, H., Dağlı, F., Mutlu, N., Doğanlar, S. y Frary, A. (2017). Cry1Ac-mediated resistance to tomato leaf miner (*Tuta absoluta*) in tomato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 131: 65-73.
- Shekhar, C., Khosya, R., Thakur, K., Mahajan, D., Kumar, R. y Sharma, A. K. (2024). A systematic review of pesticide exposure, associated risks, and long-term human health impacts. *Toxicology Reports* 13, 101840.
- Shoeb, M. A., Fadl, H. A. y El-Heneidy, A. H. (2005). Biological aspects of the ectolarval parasitoid species, *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethyridae) on different insect hosts under Laboratory Conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 15(1): 5-9.
- Sih, A., Englund, G. y Wooster, D. (1998). Emergent impacts of multiple predators on prey. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 350–355.
- Simmons, G. S., Salazar Sepulveda, M. C., Fuentes Barrios, E. A., Idalsoaga Villegas, M., Medina Jimenez, R. E., Garrido Jerez, A. R., Henderson, R. y Donoso Riffo, H. (2021). Development of sterile insect technique for control of the European grapevine moth, *Lobesia botrana*, in urban areas of Chile. *Insects* 12: 378.
- Singh, D. P. (Ed.) (2023). *Integrated Pest Management in Diverse Cropping Systems*. CRC Press.
- Siqueira, H. A. A., Guedes, R. N. C., Fragoso, D. D. B. y Magalhaes, L. C. (2001). Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *International Journal of Pest Management* 47(4): 247-252.
- Sohrabi, F., Nooryazdan, H., Gharati, B. y Saeidi Z. (2016). Evaluation of ten tomato cultivars for resistance against tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) under field infestation conditions. *Entomologia Generalis* 36:163–175.
- Steinitz H., Sadeh A., Klot A. y Harari A. (2014). Effects of radiation on inherited sterility in the European grapevine moth (*Lobesia botrana*). *Pest Managment Science* 71(1):24-31.
- Stenberg, J. A. (2017). A conceptual framework for integrated pest management. *Trends in Plant Science* 22(9): 759-769.

- Stenberg, J. A. et al. (2021). When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science* 94(3): 665-676.
- Sylla, S., Brévault, T., Monticelli, L. S., Diarra, K. y Desneux, N. (2019). Geographic variation of host preference by the invasive tomato leaf miner *Tuta absoluta*: implications for host range expansion. *Journal of Pest Science* 92: 1387–1396.
- Teferra, T. F. (2021). Should we still worry about the safety of GMO foods? Why and why not? A review. *Food Science & Nutrition* 9(9): 5324-5331.
- Timms, L. L., Schwarzfeld, M. y Sääksjärvi, I. E. (2016). Extending understanding of latitudinal patterns in parasitoid wasp diversity. *Insect Conservation and Diversity* 9(1): 74-86.
- Urbaneja, A., Vercher, R., Navarro, V., García Marí, F. y Porcuna, J.L. (2007). La polilla del tomate *Tuta absoluta*. *Phytoma* 194: 16-23.
- Vallina, C., Aquino, D. A., Minardi, G. M., Puch, L. I., Garrido, S. A., Sánchez, N. E. y Luna, M. G. (2020). Reproductive compatibility and morphological characterization of local populations of the larval endoparasitoid *Pseudapanteles dignus* in Argentina. *BioControl* 65(3): 273-284.
- Van Alphen, J. J. M. y Jervis, M. A. (1996). Foraging behaviour. In Jervis M.A. (Ed.), *Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation* (pp. 1-62). Dordrecht, The Netherlands, Springer, pp 1-62.
- van Damme, V. M., Beck, B. K., et al. (2016). Efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Tuta absoluta* in the laboratory. *Pest Management Science* 72(9): 1702-1709.
- van der Blom, J. (2017). Control Biológico en cultivos hortícolas en Almería: balance después de 10 años. *Boletín de la Asociación Española de Entomología* 2: 34–38.
- van Driesche, R., Hoddle, M. y Center T. D. (2007). Control de plagas y malezas por enemigos naturales. U.S Department of Agriculture, Washington, D.C. p. 751.
- van Lenteren, J. C. (2012). The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57(1): 1-20.
- van Lenteren, J. C. (2003). *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. Wallingford, UK: CABI Publ. pp. 327.

- van Lenteren, J. C. y Bueno, V. H. P. (2003). Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol* 48: 123-139.
- van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Kohl, J., Ravensberg, W. J. y Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39–59.
- van Lenteren, J., Lanzoni, A., Hemerik, L., Bueno, V.H.P., Bajonero Cuervo, J.G., Biondi, A., Burgio, G., Calvo, F.J., de Jong, P.W., López, S.N., Luna, G., Montes, F.C. Nieves, E.L., Osa Aigbedion-Atalor, P.O., Riquelme Virgala, M.V., Sánchez, N.E. y Urbaneja A. (2021). The pest kill rate of thirteen natural enemies as aggregate evaluation criterion of their biological control potential of *Tuta absoluta*. *Scientific Reports* 11: 10756.
- van Lenteren, J. C. y Manzaroli, G. (1999). Evaluation and use of predators and parasitoids for biological control of pests in greenhouses. In Albajes, R., Gullino, M.L., van Lenteren, J.C. y Elad Y. (Eds.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Dordrecht, Netherlands, Springer, pp. 183-201.
- Vargas, H. (1970). Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lep. Gelechiidae). *Idesia* 1: 75-110.
- Vreysen, M.J.B., Dyck, V.A., Hendrichs, J. y Robinson, A.S. (2021). Monitoring sterile and wild insects in area-wide integrated pest management programmes. In Dyck, V. A., Hendrichs, J., Robinson, A.S. (Eds.), *Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Boca Ratón, Florida, CRC Press, pp. 485-528.
- Wang, E., Lu, D., Liu, X. y Li, Y. (2009). Evaluating the use of nuclear techniques for colonization and production of *Trichogramma chilonis* in combination with releasing irradiated moths for control of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Biocontrol Science and Technology* 19: 255-267.
- Witzgall, P., Kirsch, P. y Cork, A. (2010). Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology* 36(1), 80-100.
- Woods, B., McInnis, D., Steiner, E., Soopaya, A., Lindsey, J., Lacey, I., Viridi, A. y Fogliani, R. (2016). Developing field cage tests to measure mating competitiveness of sterile light brown apple moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Western Australia. *Florida Entomologist* 99: 138-145.
- Zhang, G. F., Xian, X. Q., Zhang, Y. B., Liu, W. X., Liu, H., Feng, X. D., Ma, D. Y., Wang, Y. S., Gao, Y. G., Zhang, R., Li, Q. H., Wan, F. H., Fu, W. J., Wang, J., Kuang, M., Yang, W. J., Rao, X., Gao, Y. y Dai,

A. M. (2021). Outbreak of the South American tomato leafminer, *Tuta absoluta*, in the Chinese mainland: geographic and potential host range expansion. *Pest Management Science* 77: 5475-5488.

Anexo I. Condiciones ambientales durante los experimentos

A1. Condiciones ambientales durante el experimento de la sección 2.2.3

Durante el período experimental, las temperaturas máximas diarias dentro del invernáculo oscilaron entre 21,7 y 46,5 °C, con un promedio de 38,3 °C; mientras tanto, las temperaturas mínimas diarias variaron entre 7,3 y 22,4 °C, con un promedio de 16,5 °C (Figura A1a). La humedad relativa ambiente máxima diaria osciló entre 57 y 90 %, con un promedio de 71.9 %, mientras que la humedad relativa ambiente mínima diaria estuvo entre 14 y 49 %, con un promedio de 23.1 % (Figura A1b).

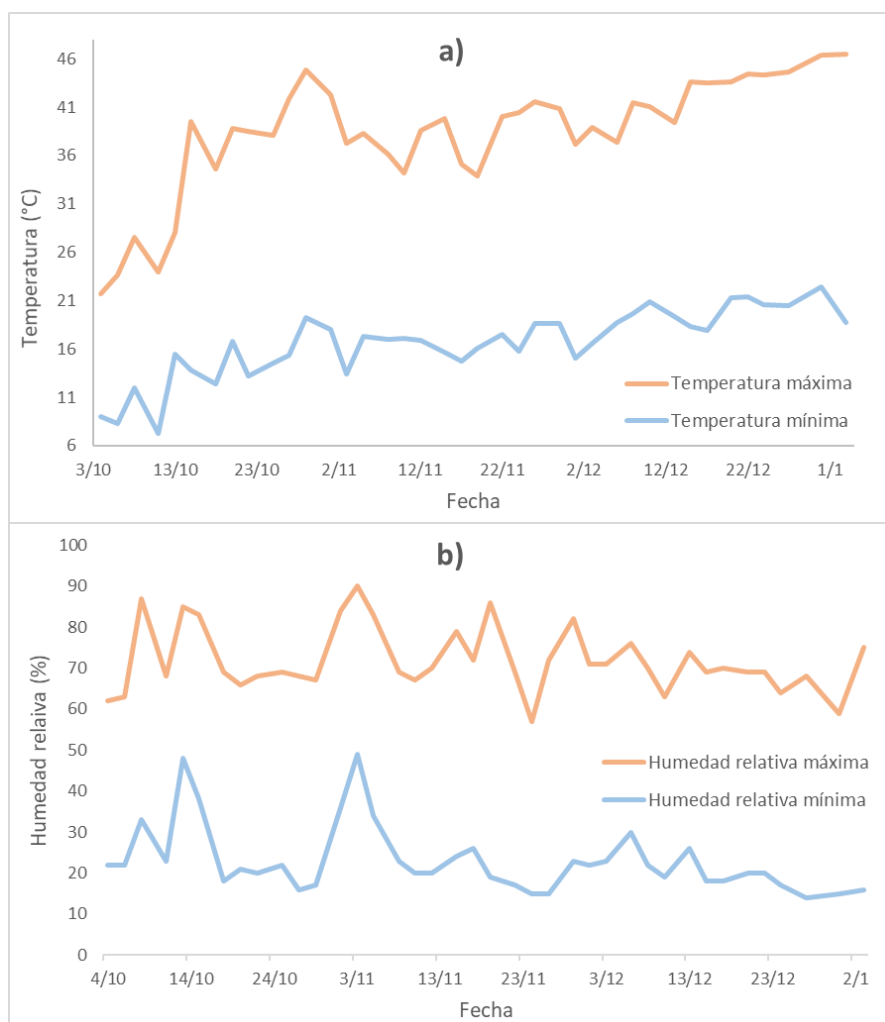


Figura A1. a) Temperaturas máximas y mínimas diarias y **b)** Humedades relativas máximas y mínimas diarias en el interior del invernáculo durante el ensayo.

A2. Condiciones ambientales durante el experimento de la sección 4.2.4

Durante el ensayo se registró una gran amplitud térmica dentro del invernáculo (Figura A2a). Las temperaturas máximas llegaron a valores extremos, con varios registros por sobre los 50 °C, mientras que las mínimas durante las primeras semanas del ensayo se ubicaron en reiteradas ocasiones por debajo de los 10 °C. Las humedades relativas máximas fluctuaron entre el 60 % y el 70 % y las mínimas se ubicaron entre el 15% y el 30 % (Figura A2b).

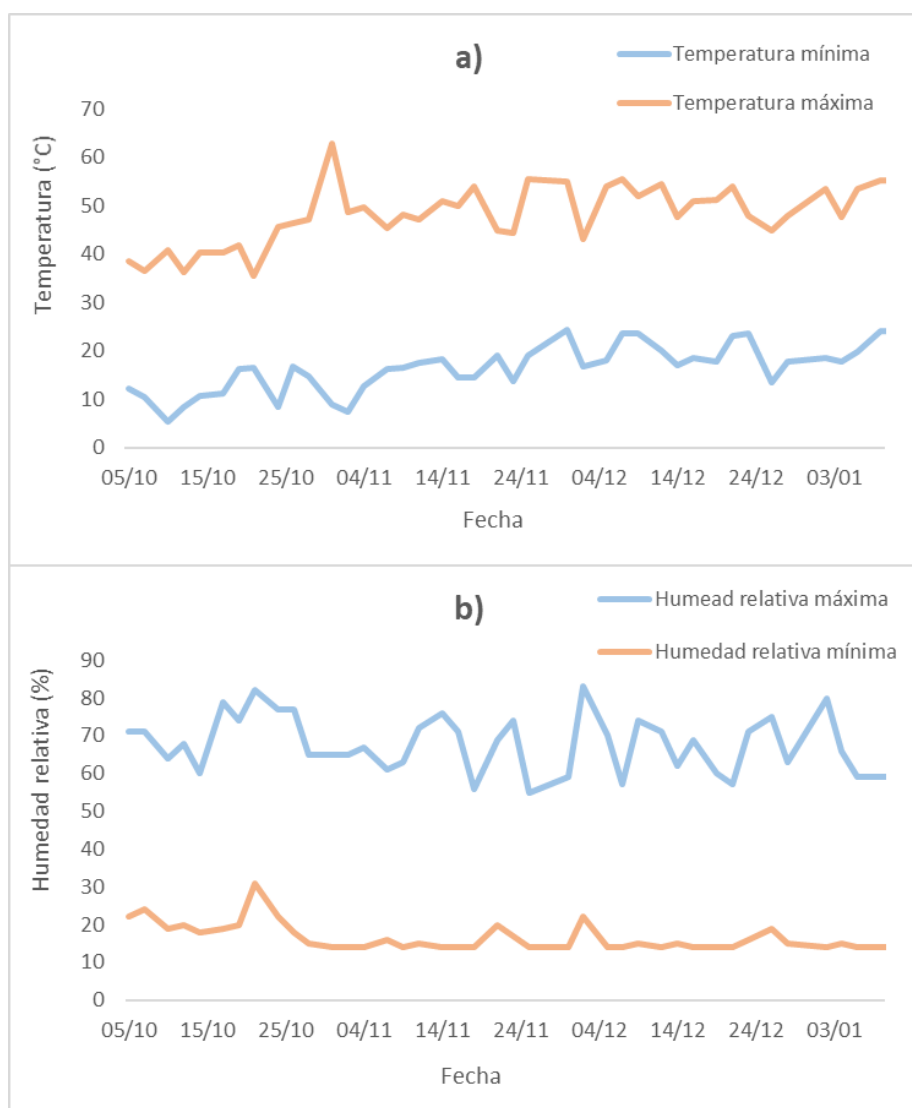


Figura A2. a) Temperaturas máximas y mínimas diarias y b) Humedades relativas máximas y mínimas diarias en el interior del invernáculo durante el ensayo.

A3. Condiciones ambientales durante el experimento de la sección 5.2

Las temperaturas mínimas dentro del invernáculo durante el ensayo oscilaron entre 7 y 20 °C mientras que las máximas estuvieron entre 32 y 42 °C (Figura A3a). Por otra parte, las humedades relativas mínimas registradas fluctuaron entre 7 y 24 % y las máximas entre 84 y 97 % (Figura A3b).

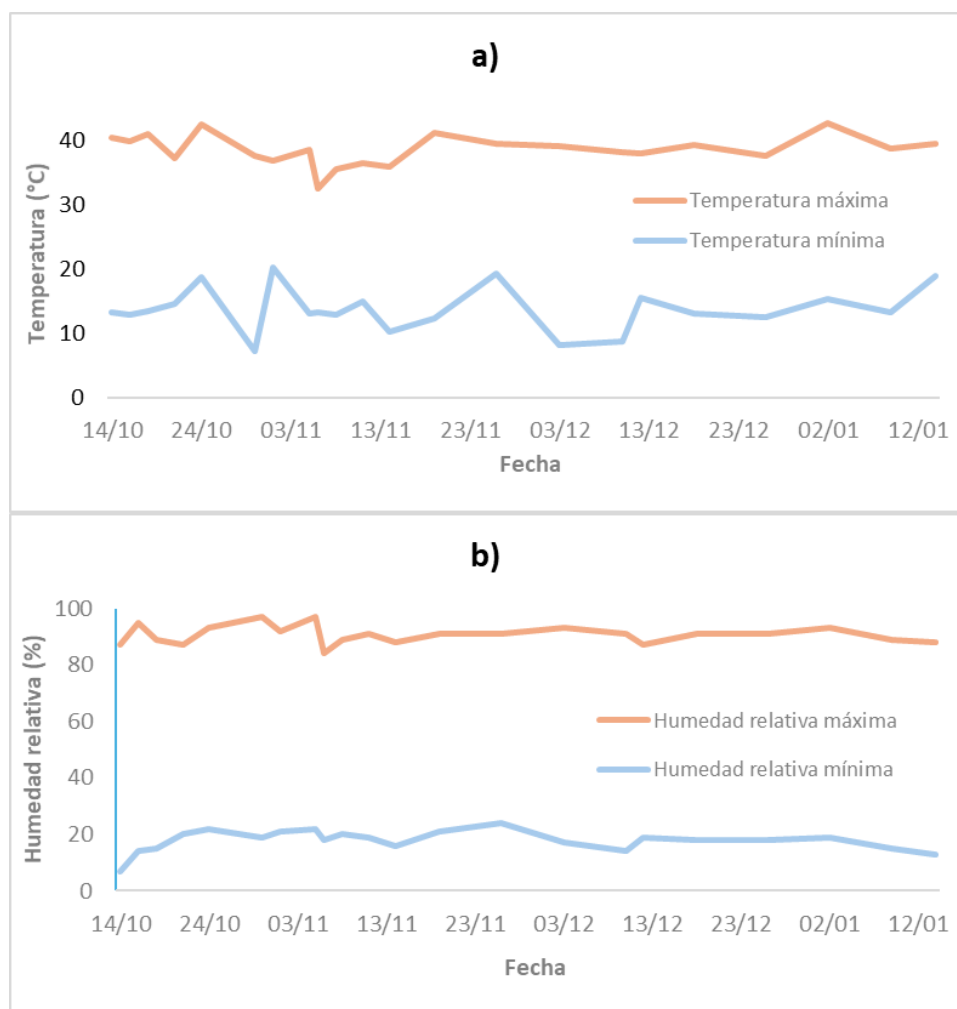


Figura A3. a) Temperaturas máximas y mínimas diarias **y b)** Humedades relativas máximas y mínimas diarias en el interior del invernáculo durante el ensayo.