



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR Y FACULTAD DE
CIENCIAS EXPERIMENTALES

INGENIERO AGRÓNOMO

“Evaluación de *Trichogramma cacoeciae* como parasitoide de *Tuta absoluta*”

Alumno:

D^a. Carola López Durán

Directores:

D. Miguel de Cara García

D. Julio César Tello Marquina

Almería, Junio 2013

AGRADECIMIENTOS:

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia, en especial a mi madre y a Peter, por darme siempre su apoyo y confianza, por hacerme reír en los malos momentos y estar cerca de mí en la distancia. Gracias a mis tutores, a los que tanto admiro, porque a pesar de los contratiempos, han estado siempre dispuestos a ayudar, ofreciéndome su tiempo y dedicación. Y por último, a mis amigos y a Carlos, con los que he compartido estos maravillosos años, sin ellos nada tendría sentido...

ÍNDICE

	pág.
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- <i>Tuta absoluta</i> y su control	1
1.1.1.- Origen y distribución	1
1.1.2.- Taxonomía	3
1.1.3.- Descripción y ciclo biológico.....	3
1.1.4.- Sintomatología y daños producidos por <i>Tuta absoluta</i>	6
1.1.5.- Hospedantes de la plaga	7
1.1.6.- Formas de control de la plaga	8
1.2.- Enemigos naturales de <i>Tuta absoluta</i>	10
1.2.1.- Depredadores de <i>Tuta absoluta</i>	12
1.2.2.- Parasitoides de <i>Tuta absoluta</i>	15
1.2.3.- Entomopatógenos de <i>Tuta absoluta</i>	17
1.3.- Tricogramátidos para control de lepidópteros (Gelichidae).....	19
1.3.1.- Taxonomía del grupo.....	19
1.3.2.- Biología y ecología de <i>Trichogramma</i>	20
1.3.3.- Utilización de especies de <i>Trichogramma</i> en el control biológico	23
1.3.4.- <i>Trichogramma cacoeciae</i>	24
1.3.5.- <i>Trichogramma achaeae</i>	25
2.- INTERÉS Y OBJETIVOS	28

3.- MATERIAL Y MÉTODOS	30
3.1.- Parasitación <i>in vitro</i> de <i>Trichogramma cacoeciae</i> sobre <i>Tuta absoluta</i>	30
3.1.1.- Metodología de cría de <i>Tuta absoluta</i>	30
3.1.2.- Obtención del parasitoide	31
3.1.3.- Metodología utilizada para el estudio de la parasitación	32
3.1.4.- Comparativa de la parasitación por <i>T. achaeae</i>	35
3.2.- Manejo integrado de <i>T. absoluta</i> en tomate en finca experimental	35
3.2.1.- Localización y descripción del invernadero.....	35
3.2.2.- Medidas sanitarias adoptadas.....	36
3.2.3.- Monitoreo de la plaga en estudio y sus enemigos naturales.....	38
3.3.- Tratamiento estadístico de los datos	39
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
4.1.- Parasitación <i>in vitro</i> de <i>Trichogramma cacoeciae</i> sobre huevos de <i>Tuta absoluta</i> para el primer ensayo.....	41
4.1.1.- Influencia de la edad del huevo de <i>Tuta absoluta</i> y del suplemento azucarado en el control <i>in vitro</i> de <i>T. cacoeciae</i> para el primer ensayo	43
4.1.2.- Longevidad de <i>T. cacoeciae</i> en función de la presencia o ausencia de suplemento azucarado y su relación con la parasitación	45
4.2.- Parasitación <i>in vitro</i> de <i>Trichogramma cacoeciae</i> sobre huevos de <i>Tuta absoluta</i> para el segundo ensayo.....	47
4.2.1.- Influencia de la edad del huevo de <i>Tuta absoluta</i> y del suplemento azucarado en el control <i>in vitro</i> de <i>T. cacoeciae</i> para el segundo ensayo	49
4.2.2.- Longevidad de <i>T. cacoeciae</i> en función de la presencia o ausencia de suplemento azucarado y su relación con la parasitación.....	51
4.2.3.- Influencia de las condiciones ambientales en los parasitoides	52

4.3.- Comparativa de la parasitación <i>in vitro</i> de <i>T. cacoeciae</i> y <i>T. achaeae</i> sobre huevos de <i>Tuta absoluta</i> para el tercer ensayo.....	53
4.3.1.- Longevidad de los parasitoides y su relación con la parasitación.....	55
4.4.- Parasitación de <i>T. cacoeciae</i> sobre huevos de <i>Tuta absoluta</i> en finca experimental sobre cultivo de tomate	53
4.4.1.- Monitoreo de <i>T. absoluta</i> mediante trampas de agua con feromonas	55
4.4.2.- Evolución de la población de la plaga sobre el cultivo.....	57
4.4.3.- Incidencia de plagas y enemigos naturales sobre el cultivo	58
5.- CONCLUSIONES.....	61
6.- BIBLIOGRAFÍA.....	62

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- *Tuta absoluta* y su control

1.1.1. Origen y distribución

Tuta absoluta (Meyrick) (Lep.:Gelechiidae), es considerada actualmente una de las plagas más devastadoras en el cultivo del tomate en el sur de América (Barrientos *et al.*, 1998). La polilla del tomate se cree originaria de Perú, donde fue descrita por Meyrick, en el año 1917 por primera vez, como *Phthorimaea absoluta*. Desde principios de los años 80, ha sido registrada como plaga en la mayoría de países de Sudamérica (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela), siendo ya endémica en muchas de sus zonas productoras de tomate, y representando un grave problema en el tomate y otros cultivos de solanáceas (Barrientos *et al.* 1998; EPPO, 2005). Es lógico pensar, que la dispersión del lepidóptero dentro del continente se ha visto enormemente beneficiada por la colaboración entre países en el ámbito de la agricultura (Cáceres, 1992).

En los últimos 20 años la introducción a la región mediterránea de parásitos exóticos de plantas ha agrandado enormemente la lista de plagas y enfermedades del cultivo del tomate. Antes de su llegada a Europa, *T. absoluta* fue declarada exclusiva de Sudamérica y de la Isla de Pascua (Ripa *et al.*, 1995). Se desconoce con seguridad cómo llegó al viejo continente, en el que se intentaron tomar precauciones por el riesgo que conllevaban los intercambios de mercancías, contenedores y personas, cada vez más frecuentes. Pese a su inicial denominación como principal plaga de cuarentena, *T. absoluta* no se incluyó en la lista del Plant Health Directive 2000/29/EC. Como consecuencia, los frutos de tomate producidos en terceros países no fueron sujeto de inspecciones de sanidad vegetal antes de su entrada y movimiento dentro de Europa. Esta omisión pudo ser la causa de la introducción de la plaga en el continente (Desneux *et al.*, 2010).

Fue a final del año 2006 cuando se confirmó la presencia de *T. absoluta* en el norte de la provincia de Castellón de la Plana, en el este de España, donde se registraron significantes daños (Urbaneja *et al.*, 2007). Desde entonces, su expansión fue muy rápida por todas las zonas productoras de tomate del país. En la temporada siguiente (2007), la plaga había alcanzado gran parte de las áreas costeras de la cuenca mediterránea de España y las Islas Baleares, llegando a niveles de devastación en múltiples localidades (Urbaneja *et al.*, 2007; EPPO, 2008). En Andalucía fue detectada por primera vez en invernaderos de Almería, en el mes de noviembre de 2007, por los Técnicos de la Consejería de Agricultura y Pesca. Desde su detección, *T. absoluta* ha sido una plaga presente en nuestros invernaderos, que se ha

mantenido siempre activa, con variaciones en la presión ejercida sobre las plantaciones pero que ha llegado a causar en ocasiones daños del 70-100% de pérdidas y que ahora es considerada uno de los mayores factores limitantes de las producciones de tomate (Urbaneja *et al.*, 2007).

A pesar de la presencia de agencias de protección vegetal bien organizadas por toda Europa, las medidas de contención resultaron ineficaces en la parada de la propagación de *T. absoluta* por el continente desde España. Esto puede deberse a que, en cortas y medias distancias, la dispersión natural parece ser el mayor riesgo. Además, la cuenca mediterránea presenta unas condiciones climáticas parecidas a las de las áreas donde *T. absoluta* está presente en Sudamérica y eso propicia la expansión de la plaga por esa zona (Desneux *et al.*, 2010).

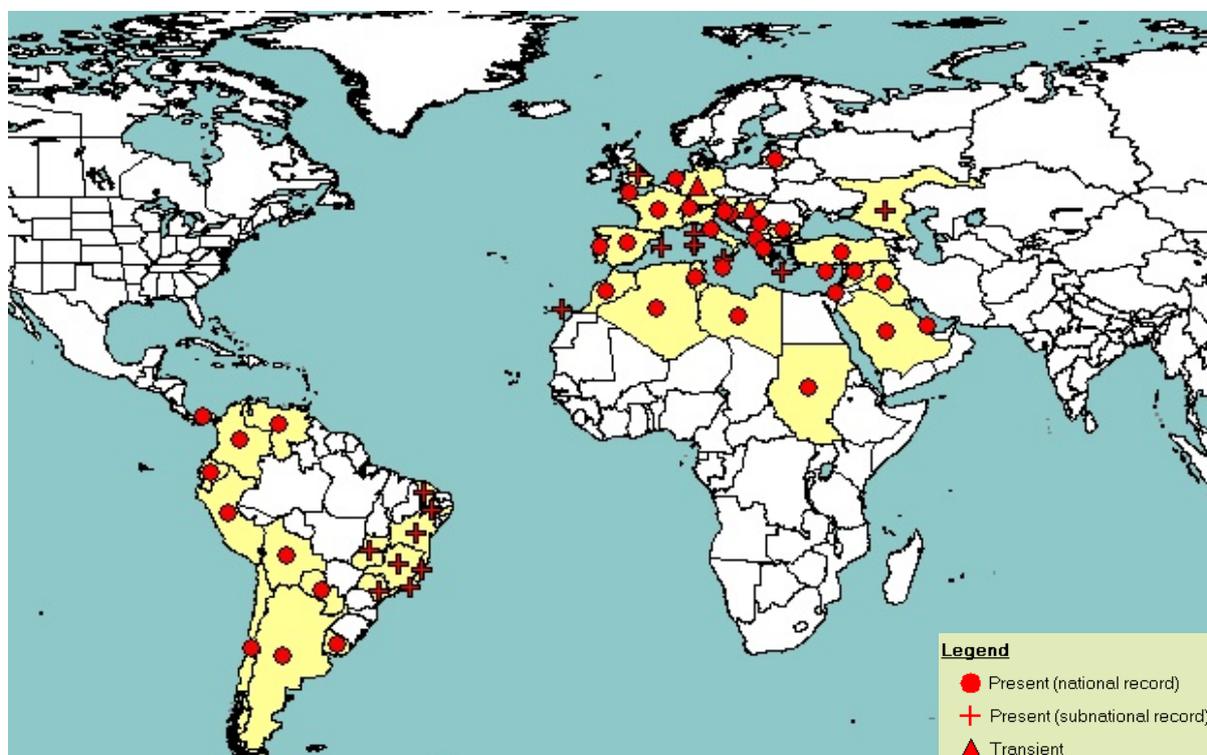


Figura 1. Distribución a nivel mundial de la plaga *T. absoluta* del tomate (Fuente: EPPO, 2013).

En 2008 y 2009, se informó de la aparición de *T. absoluta* en cultivos de tomate de Italia, del sur de Francia, Grecia y Portugal en Europa; Marruecos, Argelia y Túnez en el norte de África (Kharroubi, 2008; Guenaoui, 2008; EPPO, 2008; Potting, 2009).

Su distribución podría estar delimitada por el clima, en particular las bajas temperaturas suponen uno de los factores limitantes para la supervivencia de *T. absoluta* (Notz, 1992), pero el cultivo protegido hace más zonas accesibles a esta plaga. *T. absoluta* ha sido descrita en algunos países europeos con climas más fríos (Suiza, Reino Unido y

Holanda); sin embargo, tal fenómeno se considera restringido a cultivos protegidos (Potting 2009; EPPO, 2009). Finalmente, la presencia de esta plaga se ha declarado en el sur de Alemania y Chipre (EPPO, 2010), en invernaderos de tomate en Rumanía, tanto al aire libre como en invernaderos en cultivos de tomate de Bulgaria (EC Report, 2009), en Turquía (Kılıc, 2010), en Lituania y en Oriente Medio. La dispersión de la plaga es constante y cada día son más los países en los que está presente.

Como resumen a la distribución mundial de *T. absoluta*, en la figura 1 se muestra un mapa actual obtenido de la base de datos de EPPO, en el que se observa la presencia de la plaga en cuatro continentes.

1.1.2. Taxonomía

CLASE: Insecta

ORDEN: Lepidoptera

SUPERFAMILIA: Gelechioidea

FAMILIA: Gelechiidae

GÉNERO: *Tuta*

ESPECIE: *absoluta* (Meyrick 1917)

1.1.3. Descripción y ciclo biológico

Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae) fue descrita originariamente en el año 1917 por Meyrick como *Phthorimaea absoluta*, basándose en individuos recogidos de Huancayo (Perú). Más tarde, la polilla del tomate fue citada como *Gnorimoschema absoluta* (Clarke, 1962), *Scrobipalpula absoluta* o *Scrobipalpuloides absoluta*, hasta que finalmente fue descrita como perteneciente al género *Tuta* y nombrada *T. absoluta* por Povolny in 1994 (Barrientos *et al.*, 1998).

Es un microlepidóptero de distribución neotropical (Izquierdo, 2011) que mina las hojas, frutos, flores y tallos del tomate. Al igual que el resto de lepidópteros su ciclo biológico consta de cuatro estados de desarrollo: huevo (figura 2), larva (figura 3), pupa (figura 4) y adulto (figura 5).

A continuación está descrita la morfología del lepidóptero según distinta bibliografía (EPPO, 2005; Monserrat, 2009; Urbaneja *et al.*, 2007; Coelho y França, 1987):

Huevo: muy pequeño, su dimensión oscila entre los 0.36-0.4 mm de largo y 0.2- 0.22 mm de diámetro, de forma ovalada o cilíndrica. Su color es blanco cremoso recién puesto, a veces amarillo, tornándose oscuro cuando está cerca de la eclosión. La eclosión tiene lugar a los 4-5 días de la oviposición.



Figura 2. Huevos de *T. absoluta*

Figura 3. Larva de *T. absoluta*

Figura 4. Pupa de *T. absoluta*

Larva: de tipo eruciforme, presenta cuatro instares bien definidos y diferenciados en tamaño y color. Recién eclosionadas son de color amarillo cremoso con la cabeza negra y a medida que se alimentan adquieren un color verdoso, tornándose a pardo-rosáceas en su región dorsal cuando están próximas a pupar. El tamaño varía de 0.9 mm (en el primer instar) hasta casi alcanzar 10 mm de longitud (en el cuarto instar) creciendo durante los 13-15 días que dura este estadio.

Pupa: es obtecta, pardo-verdosa al principio y marrón al final del desarrollo cuando está cerca la emergencia del adulto; en forma cilíndrica. Tamaño 10 mm de largo y 2 mm de ancho. En la mayoría de las ocasiones suele estar cubierta por un capullo blanco sedoso. Este lepidóptero suele pupar durante unos 7-11 días y la crisálida puede encontrarse tanto en suelo como en partes aéreas de las plantas.



Figura 5. Hembra de *T. absoluta* ovipositando

Figura 6. Adultos de *T. absoluta* copulando.

Adulto: la polilla alcanza alrededor de 7-10 mm de largo y 15 mm de envergadura alar, posee antenas filiformes y palpos muy visibles. Presenta numerosas escamas tanto en el cuerpo como en las alas anteriores, de color plateado y alguna de color marrón oscuro que le da un aspecto de manchas pardas características de este lepidóptero. El segundo par de alas presenta una fila de pelos o sedas en su parte posterior. Las hembras presentan el abdomen de color café cremoso, más ancho y voluminoso que el de los machos. La vida media es de 6 a 7 días en los machos y de 10 a 15 días en las hembras.

La duración del ciclo biológico depende mucho de las condiciones ambientales, siendo de una media de tiempo de desarrollo de 76.3 días a 14 °C, 39.8 días a 19.7 °C y 23.8 días a 27.1 °C (Barrientos *et al.*, 1998). Las temperaturas umbrales de huevo, larva y pupa se estiman en $6,9 \pm 0.5$; 7.6 ± 0.1 y 9.2 ± 1.0 , respectivamente; en general el umbral para huevo-larva-adulto es de 8.1 ± 0.2 °C. (Desneux *et al.*, 2010). En condiciones de clima mediterráneo las polillas de *T. absoluta* pueden darse durante todo el año (Vercher *et al.*, 2010) y presentan un ciclo biológico de 29-38 días, y entre 10 y 12 generaciones al año (aproximadamente una generación por mes), normalmente superpuestas, pudiendo encontrarse en un campo todos los estadios del ciclo.

La plaga presenta principalmente hábitos nocturnos, y los adultos permanecen inactivos durante el día escondiéndose entre las hojas, mostrando mayor actividad en el crepúsculo dándose la dispersión por el vuelo en los cultivos (Urbaneja *et al.*, 2007). Casi inmediatamente después de la emergencia se aparean y ovipositan predominantemente en las horas de más actividad durante el amanecer y atardecer (Hickel y Vilela, 1991). El periodo de oviposición más prolífico es 7 días después de su primer apareamiento, y las hembras depositan el 76% de sus huevos en ese momento. *T. absoluta* posee un elevado potencial biótico con un máximo de fecundidad de las hembras a lo largo de su vida de 260 huevos (Uchoa-Fernandes y Vilela, 1995).

La hembra oviposita en las partes más tiernas del vegetal, preferentemente en los brotes y en el envés de las hojas jóvenes; también en nervaduras, depresiones y márgenes de los tallos, flores, y en un porcentaje menor en frutos verdes (Urbaneja *et al.*, 2007). Los huevos suelen localizarse de forma aislada y en ocasiones en pequeños grupos de no más de 5, mayoritariamente en hojas del tercio superior de las plantas (Monserrat, 2009).

Después de la eclosión del huevo, el primer estadio larvario busca un punto de entrada al hospedante, este generalmente es en las hojas y tras penetrar entre las dos epidermis que dejan intactas, en su avance, consume el mesófilo, creando áreas translúcidas denominadas galerías donde se alimenta y desarrolla (Cáceres, 1992). A medida que se va alimentando la oruga pasa por los cuatro instares larvarios (Urbaneja *et al.*, 2007), en

ocasiones cinco. Las jóvenes larvas también pueden penetrar además de las hojas, los tallos o frutos. Además, al cambiar de instar la mayoría de las veces sale de la galería en que se encuentra para iniciar otra nueva aumentando así el daño en la planta.

Las larvas completamente desarrolladas se dejan caer al suelo mediante un hilo de seda y pupan en él, aunque dependiendo de las condiciones ambientales, también pueden pupar en las hojas (en la superficie o dentro de la galería) y muy ocasionalmente en tallos y frutos. Cuando *T. absoluta* no pupa en el suelo, suele hacer un capullo. La plaga suele hibernar como huevos, pupas o adultos, pero cuando existe alimento disponible y la temperatura no es limitante, el desarrollo se prolonga durante todo el año sin presentar diapausa (Monserrat, 2009; EPPO, 2009). Tras esta fase los adultos emergen (Cáceres, 1992) para aparearse y continuar el proceso con nuevas puestas.

1.1.4. Sintomatología y daños producidos por *T. absoluta*

Esta plaga ocurre a lo largo de todo el ciclo productivo del tomate, ataca en cualquier estado de desarrollo de la planta (EPPO, 2005) y en todos los sistemas de producción: convencional, cultivos protegidos y ecológico. Los picos son en primavera y verano, pero el cultivo bajo invernadero impide el cese de la actividad de la plaga en invierno, siendo entonces un gran problema. La alimentación de las larvas puede causar pérdidas que ascienden al 100% atacando hojas, flores, tallos y, especialmente frutos (López, 1991; Apablaza, 1992; Barrientos *et al.*, 1998).

Los daños son causados por las larvas que se alimentan del mesófilo foliar, formando galerías, esto afecta a la capacidad fotosintética del cultivo y consecuentemente se reduce el rendimiento de la producción. Las minas en las hojas son irregulares, al principio estrechas y posteriormente se ensanchan quedando una zona membranosa y translúcida más o menos amplia en la que solo permanece la epidermis (observadas a contraluz se vislumbran claramente la larva y sus deyecciones) (Figura 7).



Figura 7. Galerías de *Tuta absoluta* en hoja.

Las galerías más tarde pueden volverse necróticas. Cuando la infestación es muy alta pueden llegar a destruir por completo las hojas de tomate. Las perforaciones en el tallo se producen en la inserción de las hojas o pedúnculos de los tomates, la larva prefiere los brotes de la parte apical de la planta. Estas perforaciones interrumpen su crecimiento en altura, alterando el desarrollo general de la planta, provocando el superbrotamiento lateral que perjudica a la producción de frutos.



Figura 8. Daños en fruto.

Los daños larvarios en hojas, tallos y frutos pueden ciertamente disminuir el rendimiento, pero el inconveniente más grave deriva de la merma cualitativa. El daño hecho directamente a los frutos es el que causa las mayores pérdidas. Los frutos pueden ser atacados tan pronto como se han formado, sobre todo por el punto de inserción del cáliz, donde las larvas encuentran un lugar para penetrar haciendo galerías no muy profundas por el mesocarpio, que muchas veces se inician en la zona resguardada por el cáliz y que disminuyen su valor comercial (Figura 8). Estas galerías perforadas dentro de los frutos provocan deformaciones y pueden facilitar la entrada de patógenos secundarios (hongos y bacterias) que hacen que los frutos no sean aptos para el consumo o procesamiento (Barrientos *et al.*, 1998). A todo ello se une el importante perjuicio, limitante en determinados mercados, derivado de la comercialización y exportación de fruto fresco, al estar *T. absoluta* actualmente catalogada como una plaga de cuarentena (EPPO, 2009) y por ello sometida a un marco fitosanitario y legislativo específico en cada zona geográfica.

1.1.5. Hospedantes de la plaga

T. absoluta es un insecto oligófago (Siqueira *et al.*, 2000) que se alimenta de especies de solanáceas. Entre una amplia gama de especies dentro de esta familia, el tomate (*Solanum lycopersicum*) parece ser el principal hospedante de *T. absoluta*. Aunque también

ataca a otros cultivos de solanáceas de la zona mediterránea como son la berenjena (*Solanum melongena* L.), patata (*Solanum tuberosum* L.) y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Urbaneja *et al.*, 2007). Desde su llegada a Europa, se han descrito nuevos cultivos como hospedantes alternativos de la plaga. Por ejemplo, recientemente se ha detectado en plantas de judías (*Phaseolus vulgaris*) en Sicilia, Italia (EPPO, 2009), esto indica la alta capacidad de atacar a hospedantes secundarios de *T. absoluta*. En Sudamérica ataca además el cultivo del pepino dulce (*S. muricatum* L.) (Vargas, 1970).

Dentro de las especies silvestres de solanáceas, aparecen en la literatura como hospedantes de la plaga muchas como son: *S. nigrum* L., *S. bonariense* L., *S. sisymbriifolium* Lam., *S. saponaceum*, *S. lyratum*, *S. puberulum*, *S. elaeagnifolium* L., *Lycopersicum puberulum* Ph, *Lycopersicon hirsutum*, *Datura stramonium* L., *D. ferox* L., *Nicotiana glauca* Graham y *Lycium chilense* (Desneux *et al.*, 2010).

1.1.6. Formas de control de la plaga

El control químico es el método de control principal de *T. absoluta* en Sudamérica, pero es difícil lograr un resultado eficaz debido a que las larvas se alimentan internamente quedando protegidas por la epidermis de los insecticidas de contacto y desarrollan resistencia con rapidez (Lietti *et al.*, 2005). Inicialmente se utilizaron organofosforados, en la década de los 70 fueron sustituidos por los piretroides; a continuación, Cartap resultó muy eficaz en el control de la plaga durante la década de los 90 (Lietti *et al.*, 2005) y además se introdujeron insecticidas de nueva formulación, como la Abamectina, IGR acylurea, Spinosad, Tebufonozide y Clorfenapir. Recientemente, se ha demostrado la eficacia de nuevas moléculas de piretroides en el control de *T. absoluta* (Silvério *et al.*, 2009), o moléculas de nuevas familias químicas como la semicarbazone, además de algunos extractos vegetales.

El control de esta plaga mediante el uso exclusivo de pesticidas ha mostrado una eficacia limitada. Incluso después de aumentar la frecuencia de las aplicaciones y variar los tipos de insecticidas usados, entre el 5-27% de los frutos muestran daños por la plaga. Se ha observado, en varios países, la aparición de resistencias a distintos insecticidas en poblaciones de *T. absoluta*; como por ejemplo a la Abamectina, Cartap y Permetrina en Brasil (Siqueira *et al.*, 2000) o a la Deltametrina y Abamectina tanto en campo al aire libre, como en invernadero, en Argentina (Lietti *et al.*, 2005).

Para evitar, o al menos reducir, el uso indiscriminado de insecticidas en los campos de tomate, fue esencial el desarrollo de un eficiente método de monitoreo de la población de la plaga. Los resultados de distintos experimentos de trampeo de adultos usando feromonas sexuales indican que las capturas de adultos de *T. absoluta* en las trampas están

correlacionadas con el daño causado por las larvas y la pérdida de cosecha que producen (Benvenega *et al.*, 2007). De esta manera, la cantidad mínima de tratamientos requeridos para el control de la población de la plaga y el momento de aplicación de los mismos podían ser determinados. Además, el trampeo masivo con capturas de machos puede reducir el nivel de población de la plaga y reducir la presión de esta (Witzgall *et al.*, 2010).

En la práctica, existen pocos productos realmente eficaces por lo que se tiende a un control integrado de la plaga, en el que se llevan a cabo al mismo tiempo gran variedad de métodos complementarios: físicos, mecánicos, químicos, biológicos, genéticos, legales y culturales. Las prácticas culturales son esenciales para el control de esta plaga además de un buen manejo del cultivo. Entre ellas se encuentran la rotación con cultivos que no sean solanáceas, laboreo, fertilización adecuada, eliminación de forma correcta del material vegetal afectado, etc.

En el caso del cultivo protegido, el invernadero confina el espacio en el que se desarrollan los cultivos y establece la barrera física más importante para evitar la entrada de insectos plaga o vectores de virus que puedan causar daños económicos en la producción. Así, otra medida fundamental es la hermeticidad de las fincas para dificultar la entrada del adulto de *T. absoluta*. Los puntos de comunicación entre el interior y el exterior del invernadero a través de los cuales puedan llegar los insectos plaga hasta los cultivos (ventanas, puertas, agujeros) estarán adecuadamente protegidos. Para ello se utilizan mallas de 10x20 hilos, en ventanas y doble puerta. La Figura 9, basada en observaciones realizadas en la Estación Experimental de la Fundación Cajamar, muestra cómo afecta el grado de hermeticidad de la estructura a la incidencia de *Tuta absoluta* (Parra *et al.*, 2010).

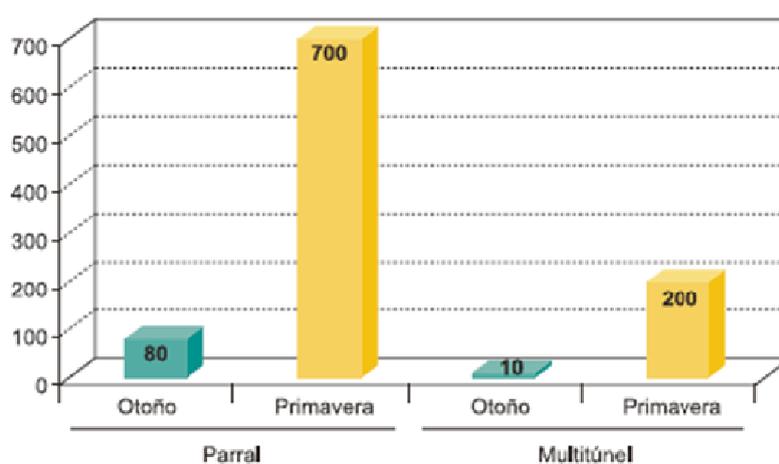


Figura 9. Capturas de *T. absoluta* en diferentes estructuras de invernadero (Tomado de Parra *et al.*, 2010).

El número de adultos de *T. absoluta* que entran en el invernadero, tanto en otoño como en primavera, es mucho menor en el caso del invernadero multitúnel, con una estructura mucho más hermética que el invernadero parral.

El empleo de plantas resistentes (Gilardón *et al.*, 1998; Resende *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2009; Escobar *et al.*, 2010) es otro método más que se une al control de la plaga y que es ya motivo de estudio. Genotipos resistentes son rutinariamente utilizados para la mejora de variedades resistentes a plagas, o variedades tolerantes que mantengan la población del insecto en un nivel aceptable (Oliveira *et al.*, 2009). Especies silvestres, como *L. hirsutum* (Leite *et al.*, 2001) y *L. Peruvianum* (Silva *et al.*, 1998) son resistentes a esta plaga. También se ha descrito un cierto grado de resistencia en *Solanum habrochaites* (Leite *et al.*, 1999) y *S. pennellii* (Resende *et al.*, 2006), dos especies silvestres con frutos maduros de color verde, algo alejadas filogenéticamente del tomate cultivado. Otro ejemplo, serían los genotipos con tricomas glandulares del tipo IV, como *Solanum pimpinellifolium*, cuya presencia muestra una reducción del daño de la plaga, especialmente en hojas jóvenes apicales (Escobar *et al.*, 2010). Sin embargo, al transferirle la resistencia al tomate comercial, otras características indeseables suelen ir unidas a ella por lo que, en la actualidad, no se conoce ninguna variedad comercial que sea resistente a *T. absoluta*. Este hecho, puede también estar asociado a la introducción durante la domesticación del tomate de una reducida variabilidad genética, dando lugar a la pérdida de genes que controlan la producción de aleloquímicos involucrados en la defensa de la planta. Son necesarios trabajos de investigación en este campo para introducir la resistencia en los tomates comerciales.

Los métodos de control biológico están basados en el uso de depredadores, parasitoides y entomopatógenos. Actualmente, para el control de *T. absoluta* se lleva a cabo la instalación previa de las chinches depredadores *N. tenuis* o *Macrolophus caliginosus*, junto con sueltas de parasitoides de la familia Trichogrammatidae siempre aplicando algunos tratamientos químicos. Es necesaria una mayor investigación para el desarrollo del control biológico (Torres *et al.*, 2002).

Los insecticidas botánicos (Desneux *et al.*, 2010) y demás productos, que sean compatibles con la fauna auxiliar, son otra herramienta más en este control integrado.

1.2.- Enemigos naturales de *Tuta absoluta*

Podemos clasificar los enemigos naturales de cualquier artrópodo en depredadores, parasitoides y entomopatógenos. Hablaremos de estos tres tipos para el caso de *Tuta absoluta*, empezando por los ya conocidos en su lugar de origen y siguiendo por los posibles nuevos enemigos naturales que se empiezan a descubrir en las zonas de nueva colonización.

Poco se conoce con respecto a la eficacia de los diferentes agentes que están presentes en varias zonas de América del Sur y existe además una crítica falta de información a cerca de la biología y ecología básicas de muchos enemigos naturales, que puede impedir la adecuada evaluación de su potencial para su establecimiento en el sur de Europa (Desneux *et al.*, 2010). A pesar de esta falta de información, una fácil y rápida forma de buscar candidatos de enemigos naturales sería centrarse en especies que controlen eficazmente a *T. absoluta* en regiones de Sudamérica con condiciones climáticas parecidas al sur de Europa. Usando este criterio de selección se podría considerar dirigir la atención al estudio de los siguientes enemigos naturales: *A. gelechiivoris*, *D. phtorimaeae*, *P. dignus*, *T. pretiosum* y *P. nigripinnus* (Desneux *et al.*, 2010). Más interesante es, sin embargo, el estudio de los enemigos naturales presentes en la zona de colonización que puedan adaptarse a la nueva plaga y que ya estén adaptados a dicha zona. En la actualidad se está estudiando la viabilidad para la cría y suelta de muchos enemigos naturales que se han encontrado parasitando a *T. absoluta* de forma espontánea en la cuenca mediterránea. En la tabla 1 se enumeran dichos enemigos naturales.

Tabla 1. Enemigos naturales descritos en la cuenca mediterránea sobre *Tuta absoluta* (actualizada de Desneux *et al.*, 2010) (Urbaneja *et al.*, 2012).

Order	Family	Species	Preference	References			
Parasitoids	Hymenoptera	Eulophidae	<i>Necremnus artynes</i> (Walker)	L ₂ –L ₃	28,30		
			<i>Necremnus metalarius</i> (Walker)	L ₂ –L ₃	Urbaneja A, unpublished data		
			<i>Necremnus tidius</i> (Walker)	L ₂ –L ₃	30		
			<i>Stenomiesius cf. japonicus</i> (Ashmead) ^a	L ₂ –L ₃	29		
			<i>Neochrysocharis formosa</i> (Westwood)	L ₁	34		
			Braconidae	<i>Bracon cf. nigricans</i> Szépligeti	–	42	
				<i>Agathis fuscipennis</i> (Zetterstedt)	– (on <i>Solanum nigrum</i>)	40	
				Braconidae sp.	–	29,31	
			Ichneumonidae	<i>Diadegma ledicola</i> Horstmann	–	30	
			Trichogrammatidae	<i>Trichogramma achaeae</i> Nagaraja & Nagarkatti	Eggs	21	
				<i>Trichogramma</i> sp.	Eggs	1	
Predators	Hemiptera	Miridae	<i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter	Eggs and L ₁	13,50,97		
			<i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur)	Eggs and L ₁	13,47,50,97		
			<i>Dicyphus maroccanus</i> Wagner	Eggs and L ₁	98		
			<i>Dicyphus tamaninii</i> Wagner	Eggs and L ₁	44		
			<i>Dicyphus errans</i> Wolf	Eggs and L ₁	99		
			Anthocoridae	<i>Orius majusculus</i> (Reuter)	Eggs (on potato)	Gabarra R and Arnó J, unpublished data	
				<i>Orius laevigatus</i> (Fieber)	Eggs (on potato)	Gabarra R and Arnó J, unpublished data	
			Nabidae	<i>Nabis (Nabis) pseudoferus ibericus</i> Remane	Eggs and larvae	64	
			Hymenoptera	Sphelidae ^b	Undetermined species	Larvae	28
			Acari	Phytoseiidae	<i>Amblyseius swirskii</i> Athias-Henriot	Eggs (on eggplant)	31
<i>Amblyseius cucumeris</i> (Oudemans)	Eggs (on eggplant)	31					

^a *Stenomiesius cf. japonicus* (Ashmead) (cited as *Hemiptarsenus zla hisei* Erdős owing to a misidentification).

^b Sphelidae (cited as Vespididae owing to a misidentification).

En el caso de la polilla del tomate, el control de larvas se ve dificultado porque se alimentan del mesófilo de las hojas o penetran en los frutos, quedando protegidas de la acción de sus enemigos naturales. Una alternativa a este problema es el control de los huevos, ya que son ovipositados sobre la epidermis de hojas, tallos y frutos de la planta, quedando expuestos a la acción de enemigos naturales. Además, su control evita la eclosión de larvas y el daño provocado en las plantas. Los enemigos naturales actúan sobre otros estadios, aunque con más dificultad, y mediante distintas formas de actuación que se presentan a continuación.

1.2.1. Depredadores de *Tuta absoluta*

Los depredadores son animales que se alimentan de otros más débiles llamados presa, matándolos al instante, en este caso se dividen en dos grupos: ácaros e insectos. En el área de origen, la presencia natural de depredadores de *T. absoluta* en tomate es importante para controlar su población, pudiendo ser estos responsables de hasta el 79.4% de la mortalidad de las larvas y de una depredación de los huevos de hasta el 5% (Miranda *et al.*, 1998). Se ha encontrado gran diversidad de depredadores de *T. absoluta* en cultivos de tomate de Sudamérica pertenecientes a distintos órdenes (Acari, Araneae, Coleoptera, Dermaptera, Hemiptera, Hymenoptera, Neuroptera y Thysanoptera) (Desneux *et al.*, 2010).

Existen muchos ejemplos de depredadores de *T. absoluta*. Entre las especies o grupos de insectos citados en distintos estudios realizados en Brasil, *Xylocoris sp.*, *Cycloneda sanguinea*, miembros de Phlaeothripidae y un grupo de Vespidae parecen ser claves en la depredación tanto de huevos como de larvas de *T. absoluta* (Miranda *et al.*, 1998). En Venezuela, un antocórido, *Orius insidiosus* está considerado un importante depredador de huevos y larvas de *T. absoluta* (Salas, 1995). Vargas (1970) señala a *Nabis sp.* (Heteroptera: Nabidae), *Polistes sp.* (Hymenoptera: Vespidae) y varias arañas como depredadores de la plaga en campos de tomate de Chile. Aunque los estadios más depredados son el huevo y la larva también existen estudios en los que se recoge la importancia de depredadores de pupas de *T. absoluta* como *Labidura riparia*, *Solenopsis geminata*, *Pheidole spp.* y arañas lobo (Probst *et al.*, 1999). Incluso existen algunas familias de insectos que depredan pupas y adultos de la plaga (Miranda *et al.*, 2005).

Algunas de estas especies de depredadores han despertado especial interés como agentes de control biológico para *T. absoluta*. Oliveira *et al.* (2007) estudiaron que el ácaro *Pyemotes sp.*, se alimenta de larvas, pupas y adultos de *T. absoluta* y tiene un prometedor potencial como agente de control biológico. Otro insecto interesante como enemigo natural de la plaga sería el chinche depredador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera:

Pentatomidae). Es una especie neotropical que ocurre desde Argentina hasta Costa Rica y ha sido constatado como agente de control natural de plagas en diferentes cultivos, entre ellos el tomate (Torres *et al.*, 2002). Finalmente, existen muchos insectos depredadores muy interesantes que necesitan ser evaluados y muchos otros que están siéndolo en la actualidad o lo han sido, como *Chrysoperla externa*, de la que se comprobó su capacidad de depredación de larvas de *T. absoluta* en condiciones de laboratorio (Carneiro y Medeiros, 1997).

En la cuenca mediterránea se han identificado nueve especies de depredadores de *Tuta absoluta* (Tabla 1). Entre ellos, *Macrolophus pygmaeus* (Rambur), *Nesidiocoris tenuis* Reuter, *Dicyphus errans* Wolff, *D. marrocannus* Wagner y *D. tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae) fueron detectados depredando sobre *T. absoluta* inmediatamente después de su introducción en algunos países mediterráneos, como Algeria, Francia, Israel, Italia, España, Túnez y Turquía (Urbaneja *et al.*, 2012).

Desde la llegada de la plaga a España se han encontrado varios depredadores actuando sobre esta. Los chinches *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) y *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Hem.: Miridae) son enemigos naturales endémicos que habitan comúnmente los cultivos de tomate en España (Goula y Alomar, 1994; Mollá *et al.*, 2010). Estos míridos son criados y utilizados para el control de mosca blanca principalmente en cultivos bajo invernadero (Alomar *et al.*, 2006), aunque de ambos se conoce su capacidad para depredar trips, minadores, áfidos, arañas, ácaros y larvas de lepidópteros (Izquierdo *et al.*, 1994; Wei *et al.*, 1998; Agustí *et al.*, 1999; Perdakis y Lykouressis, 2004; Urbaneja *et al.*, 2003; Blaeser *et al.*, 2004). En particular, *N. tenuis* ha contenido eficazmente poblaciones de plagas de lepidópteros como *Helicoverpa armigera* (Hübner) y puede depredar huevos y larvas jóvenes de otras especies como *Spodoptera litura* o *Ephestia kuehniella*. *M. pygmaeus* también se ha encontrado en cultivos de tomate depredando *H. armigera* (Urbaneja *et al.*, 2012).

Para comprobar si *M. pygmaeus* y *N. tenuis* podían ser utilizados como agentes de control de *T. absoluta*, en primer lugar, se evaluó la adaptabilidad de los depredadores a esta plaga de reciente introducción y su capacidad de control sobre huevos y larvas bajo condiciones de laboratorio (Arnó *et al.*, 2009; Mollá *et al.*, 2009; Urbaneja *et al.*, 2009). Ambos míridos depredaron activamente los huevos y todos los instares larvarios de *T. absoluta*, aunque preferían el primer instar larvario. Los adultos de ambas especies consumen más de 100 huevos por individuo y día, las ninfas de *M. pygmaeus* consumen menos huevos que las de *N. tenuis* (Arnó *et al.*, 2009). Mollá *et al.* (2009) demostraron que cuando *M. pygmaeus* y *N. tenuis* se encontraban bien establecidos en el cultivo conseguían reducir la infestación en hojas en un 75 y 97% y en fruto entre un 56 y 100%

respectivamente. Arnó *et al.* (2009) basándose en 281 observaciones diferentes (en tomate bajo invernadero y al aire libre) estableció que con una presencia de 4,5 míridos por planta, el nivel de daños en fruta se mantuvo por debajo de un 4%. Los datos anteriores demuestran que los míridos estudiados se pueden adaptar a esta plaga tan invasiva, contribuyendo como agentes de control biológico en cultivos de tomate (Urbaneja *et al.*, 2009). Un temprano establecimiento de estos depredadores es muy importante, así Calvo *et al.* (2010) inició la suelta de *N. tenuis* en el semillero como estrategia alternativa para la introducción del mírido, en la que esta se realiza antes del trasplante. Así, el enemigo natural estaba instalado desde el inicio del ciclo, en el momento de plantación, optimizando el control no solo de *T. absoluta*, sino también de mosca blanca.



Figuras 10 y 11. Ninfas de *Nesidiocoris tenuis*.



Figura 12. Adultos de *Nesidiocoris tenuis*.

Nabis pseudoferus Remane (Hemiptera: Nabidae) también fue hallado depredando larvas de *T. absoluta* inmediatamente después de la introducción de la plaga. Los primeros estudios indicaban que este depredador fiero, estrictamente zoófago, podía tener un importante papel en el control de *T. absoluta*. Cabello *et al.* (2009a) estudiaron la capacidad de controlar a la plaga de este insecto en invernaderos de España y vieron una significativa reducción de los huevos del lepidóptero, sin embargo, hasta el momento su uso ha sido limitado (Urbaneja *et al.*, 2012).

Aparte de las especies anteriormente citadas, los datos de insectos depredadores de *T. absoluta* en España son anecdóticos, como por ejemplo, los ácaros depredadores *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) y *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) pueden llegar a ser depredadores de huevos de *T. absoluta* con un índice de depredación aceptable para el cultivo de berenjena (Mollá *et al.*, 2010).

1.2.2. Parasitoides de *Tuta absoluta*

Los parasitoides son organismos similares a un parásito pero que provocan la muerte de su huésped y son muy comunes entre los insectos. Los parasitoides de minadores de hojas constituyen un grupo interesante y relativamente bien estudiado de especies pertenecientes a por lo menos diez familias del Orden Hymenoptera, Suborden Apocrita. Se trata de insectos que se han adaptado a las particulares condiciones de vida de sus hospedadores y tienen gran potencialidad en programas de control biológico.

Una gran diversidad de parasitoides han sido encontrados en el nuevo continente atacando huevos, larvas o pupas de *T. absoluta* (Desneux *et al.*, 2010). Algunas especies están restringidas a una localidad o país dado mientras que otras están distribuidas por todo el sur de América. Existen en la bibliografía citas de muchas especies parasitoides de huevos de *T. absoluta*, pertenecientes a las familias Encyrtidae (Ripa *et al.*, 1995; Colomo *et al.*, 2002), Eupelmidae (Oatman y Platner, 1989) o Trichogrammatidae (Botto *et al.*, 2000; Colomo *et al.*, 2002).

Los parasitoides de huevos de la familia Trichogrammatidae son los enemigos naturales más empleados a nivel mundial en programas de control biológico, a través de liberaciones inoculativas e inundativas (Smith, 1996). La polilla del tomate ha sido controlada mediante liberaciones inundativas de parasitoides del género *Trichogramma* en Colombia (Navarro, 1986), Brasil (Haji, 1997) y Chile (Estay y Bruna, 2002). En Argentina, el tricogramátido *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja, ha sido evaluado como biocontrolador de *T. absoluta* en laboratorio e invernaderos experimentales con muy buenos resultados (Botto *et al.*, 2000).

Aparte de los parasitoides de huevos, se ha descrito una larga lista de parasitoides de larvas de *T. absoluta*, incluyendo especies de las familias Bethyidae, Braconidae, Eulophidae, Ichneumonidae y Tachinidae (Desneux *et al.*, 2010). En especial, Braconidae y Eulophidae, contienen parasitoides claves que han sido utilizados en el control biológico. Por ejemplo, en Argentina, se han encontrado varias especies, siendo *Pseudapanteles dingus* (Braconidae) y *Dineulophus phthorimaeae* (Eulophidae) las más comunes en campos comerciales de tomate (Berta y Colomo, 2000) y causando niveles de parasitismo de hasta el 70% (Sánchez *et al.*, 2009); en Chile, *Retisympiesis phthorimaea* (Eulophidae) y *Dineulophus phthormiaeae* causan una mortalidad considerable en larvas de *T. absoluta* (Rojas, 1981); en Colombia se han descrito gran diversidad de parasitoides de larvas (Oatman y Platner, 1989) de los que *Apanteles gelechiidivoris* (Braconidae) ha recibido particular atención (Vallejo, 1999). Algunos de estos parasitoides han sido estudiados para evaluar su posible eficacia en control biológico, como *P. dignus* en Argentina, del que se han hecho estudios de su biología, comportamiento de parasitación (Luna *et al.*, 2007; Sánchez *et al.*, 2009) y cuyo potencial se ha evaluado en campos de tomate comercial (Cáceres, 2007). En algunos casos no se ha podido implementar eficientemente el uso para control biológico de algunos insectos, como *Apanteles gelechiidivoris*, debido a la falta de conocimientos de su biología, específicamente del ciclo de vida y de factores externos como la temperatura en su capacidad parasítica (Bajonero *et al.*, 2008).

En cuanto a parasitoides de pupas, existen muy pocos datos ya que rara vez se toman muestras de pupas en estudios de parasitismo. Sin embargo, Polack (2007) describió niveles de parasitismo en pupas de *T. absoluta* que normalmente sobrepasaban el 30%. No existe ninguna cita sobre parasitismo de adultos de *T. absoluta*.

A fecha de hoy, en la cuenca mediterránea solamente se han encontrado parasitoides de huevos y larvas de *T. absoluta*; no existen datos de parasitoides de pupas o adultos (tabla 1) (Urbaneja *et al.*, 2012). Los últimos estudios parecen indicar que bastantes especies autóctonas de himenópteros, aun no identificadas, se están adaptando muy bien a la parasitación de la nueva plaga (Mollá *et al.*, 2008; Arnó *et al.*, 2009; Cabello, 2010). Un caso muy llamativo, con dicho proceso de adaptación, han sido las avispas parasitoides de huevos *Trichogramma achaeae* (Nagaraja y Nagarkatti) y otras especies del género *Trichogramma* (Cabello *et al.*, 2009b; Urbaneja *et al.*, 2012), que se han encontrado parasitando huevos de *T. absoluta*. De ellas se hablará en el siguiente apartado de la revisión bibliográfica (1.3.).

En cuanto a los parasitoides de larvas, se han descrito varias especies de las familias Eulophidae, Braconidae e Ichneumonidae, en la cuenca mediterránea, parasitando a *T. absoluta* (Tabla 1) (Urbaneja *et al.*, 2012). Los parasitoides *Necremnus artynes* (Walter) y

Hemiptarsenus zilahisebessi (Erdos) (Hymenoptera: Eulophidae) se han encontrado de forma espontánea en parcelas de tomate con infestaciones de esta plaga (Mollá *et al.*, 2008; Gabarra y Arnó, 2010). En el caso de *N. artynes* se ha incrementado su presencia durante las campañas de 2008 a 2009. Se trata de un ectoparasitoide idiobionte, que parece parasitar preferentemente a larvas de tercer estadio. *Neochrysocharis formosa* (Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae) ha sido descrito en Asia, África, Norteamérica, y más recientemente, en España y Argentina (Lara *et al.*, 2010; Luna y Wada, 2006) como parasitoide de larvas del primer instar de *T. absoluta*. *Agathis fuscipennis* (Zetterstedt) (Hymenoptera: Braconidae) fue encontrado parasitando larvas de *T. absoluta* por primera vez en Italia (Loni *et al.*, 2011), pero de momento no hay información disponible sobre su biología. Por último, *Bracon nigricans* (Szepligeti) (Hymenoptera: Braconidae) ha sido recientemente detectado como parasitoide de *T. absoluta* en Cataluña (España) (Gabarra y Arnó, 2010) y en Sicilia (Italia) (Zappalà *et al.*, 2011). Su eficacia como agente de control sobre la plaga está siendo evaluada en Italia, y los primeros estudios presentan resultados prometedores. Es un ectoparásito de larvas maduras, aunque prefiere el cuarto instar larvario y ha sido también observado alimentándose de su hospedante (Zappalà *et al.*, 2011).

1.2.3. Entomopatógenos de *Tuta absoluta*

En la estrategia del control biológico, los hongos entomopatógenos son los primeros agentes biológicos en ser utilizados como control de plagas. Estos microorganismos pueden infectar a los insectos directamente, a través de la penetración de la cutícula, y ejercen múltiples mecanismos de acción, confiriéndoles una alta capacidad para evitar que el hospedante desarrolle resistencia. Más de 90 géneros y 700 especies de hongos, son conocidos por afectar a los insectos (Alves, 1998).

Unas de las especies más estudiadas y utilizadas en el mundo son *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Clavicipitaceae) y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok, afectando a diversos órdenes de insectos, incluyendo plagas de lepidópteros de importancia económica, como: *Phthorimaea operculella*, *Pieris brassicae*, *Dalaca pallens* y *Rhyacionia buoliana* (Pires *et al.*, 2009). Ambos patógenos han sido objeto de estudio en laboratorio para evaluar su eficacia contra huevos de *T. absoluta* y establecer una estrategia de control alternativa a las ya existentes obteniendo resultados prometedores (80 y 60% de mortalidad de huevos respectivamente) (Rodríguez *et al.*, 2006). La efectividad de *Beauveria bassiana* también ha sido evaluada para el control de poblaciones de larvas en plantas de tomate y de pupas en el suelo (Torres *et al.*, 2009), viéndose reducido el daño provocado por la plaga en el cultivo.

A pesar de la importancia de patógenos de insectos como *Beauveria bassiana*, su efecto en *T. absoluta* está relativamente poco documentado en Sudamérica. Entre los diferentes entomopatógenos que actúan contra *T. absoluta*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* es el que parece tener mayor uso en países donde llevan tiempo luchando contra *T. absoluta*, como Brasil (Giustolin *et al.*, 2001). Recientemente, se ha dirigido la atención a las propiedades insecticidas de ciertos microorganismos o productos microbianos secundarios, especialmente a *B. thuringiensis*. Esta bacteria causa la muerte de la plaga en todos sus instares larvarios y actualmente existen varias cepas comerciales para su uso en cultivos. El éxito de las formulaciones basadas en esta bacteria se ha visto reflejado en diferentes productos comerciales existentes como: Dipel®, XenTari® y Turilav® en América (Izquierdo, 2011) y Costar® o Delfin® en España (Montserrat, 2009), entre otros.

El uso de formulaciones con la bacteria *B. thuringiensis* Berliner (Fermicutes: Bacillaceae) está extendido por todo el mundo, principalmente para el control de lepidópteros pero también dípteros y coleópteros (González-Cabrera y Ferré, 2008). En el caso de *T. absoluta*, debido a la falta de datos fiables, estas formulaciones fueron inicialmente recomendadas en la cuenca mediterránea solo cuando los niveles de infestación eran relativamente bajos (Montserrat, 2009). La gestión actual que se viene haciendo de *T. absoluta* en la cuenca mediterránea se basa principalmente en los tratamientos con insecticidas químicos (Izquierdo, 2011). Sin embargo, los posteriores estudios con *Bacillus thuringiensis* en laboratorio, invernadero y campo abierto mostraron prometedores resultados, los productos comerciales sometidos a ensayo redujeron el daño hasta en un 90 % y se comprobó mediante segundos ensayos en laboratorio, invernadero y campo abierto en España, como la bacteria mostraba toxicidad sobre todos los instares larvarios, en especial el primer instar y afirmaron que estas formulaciones son altamente efectivas controlando la plaga (González-Cabrera *et al.*, 2011).

La acción de tratamientos con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en combinación con *B. thuringiensis* ofrece buenas expectativas de cara al control de *T. absoluta* en cultivo de tomate al aire libre (Torres *et al.*, 2009).

También se ha estudiado, bajo condiciones de laboratorio e invernadero, la susceptibilidad de larvas y pupas de *T. absoluta* a tres especies de nematodos entomopatógenos: *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Nematoda: Steinernematidae), *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae) (Batalla-Carrera *et al.*, 2010). Durante estos experimentos hasta el 100% de las larvas murieron mientras que de las pupas menos del 10% fueron afectadas por los tratamientos. El nivel de parasitismo alcanzó el 77-92%,

mostrando que los nematodos eran capaces de matar a las larvas en el interior de las galerías convirtiéndose en otra posible herramienta de control de la plaga.

1.3.- Tricogramátidos para control de lepidópteros (Gelechiidae)

1.3.1. Taxonomía del grupo

Según Imms (1970) el género *Trichogramma* se encuentra en la siguiente categoría taxonómica:

CLASE: Insecta

ORDEN: Hymenoptera

SUBORDEN: Apocrita

SUPERFAMILIA: Chalcidoidea

FAMILIA: Trichogrammatidae

GÉNERO: *Trichogramma* Westwood 1833

Los parasitoides del género *Trichogramma* son avispas diminutas de aproximadamente 0.5-1.5 mm de longitud, que parasitan huevos de diversos órdenes de insectos (Pinto, 1998). Este género está compuesto por unas 150 especies (Yousuf y Shafee, 1986). Actualmente, las especies de *Trichogramma* son los parasitoides más usados como agentes de control biológico de plagas agrícolas en el mundo, debido a su fácil reproducción y su amplio rango de hospedantes (Knutson, 1998), entre los que destacan las plagas del orden Lepidoptera en diversos cultivos agrícolas. Son endoparásitos primarios de huevos de lepidópteros, pero también, con menor importancia, de otros órdenes como hemípteros, coleópteros, himenópteros, dípteros y tisanópteros (Cabello, 1985).

Los parasitoides de la familia Trichogrammatidae se distinguen de otros grupos de la superfamilia Chalcidoidea por sus tres segmentos tarsales, cuerpo elongado sin una constricción clara entre el mesosoma y el metasoma, alas frecuentemente con líneas radiadas de setas, venación corta y vena posmarginal casi siempre ausente, de forma amplia y ovalada o estrecha y alargada con disco de setas largas o cortas (Pinto, 1998); antenas cortas unidas a la parte baja de la cara, segmentos antenales muy variables entre los géneros pero no excediendo el número de siete, con uno o dos anellus, funículo de uno a dos segmentos puede estar presente o ausente, clava de tres a cinco segmentos, antena de los machos y hembra similar, pero algunos géneros presentan dimorfismo sexual, entre ellos *Trichogramma* Westwood (Doutt y Viggiani 1968), el cuerpo posee cutícula blanda y con

marcaciones reticulares, su color varía de café oscuro a amarillo y menos común rojo, los ojos pueden ser de color rojo, café o negro.

Las características morfológicas del género se encuentran recogidas por varios autores (Nagarkatti y Nagaraja, 1971; Honda *et al.*, 2006; Morales *et al.*, 2007), sin embargo, en algunos casos no se pueden utilizar para identificación de especies. Desde el punto de vista de la sistemática de este género, se ha puesto de manifiesto que es la genitalia de los machos la que nos permite una mejor discriminación entre especies (Nagarkatti y Nagaraja, 1971; Morales *et al.*, 2007). Sin embargo, al comprender este grupo numerosas especies que son algunas veces difíciles de caracterizar por los medios clásicos de la sistemática, se utilizan otros métodos que permiten distinguir los casos de especies muy próximas, como son: hibridación experimental (Nagarkatti y Nagaraja, 1977), biométricos (Voegelé y Pintureau, 1982), análisis enzimáticos mediante electroforesis (Voegelé y Pintureau, 1982) y, actualmente, biología molecular (Querino *et al.*, 2010).

1.3.2. Biología y ecología de *Trichogramma*

Los adultos emergen, se aparean y las hembras se dispersan en el cultivo buscando huevos para iniciar la oviposición. Las hembras de *Trichogramma* se acoplan con los machos inmediatamente después de la emergencia pudiendo aparearse un macho con varias hembras (Rothschild, 1970). En condiciones de campo los adultos viven alrededor de una semana. *Trichogramma* se alimenta de néctar, polen y secreciones que brotan de los huevos al momento de ser parasitados. Las hembras de *Trichogramma*, en contacto con el huevo huésped, realizan un examen de éste con las antenas, posteriormente clavan el oviscapto en el huevo, siendo todo el proceso de corta duración (Voegelé *et al.*, 1974). Depositán uno o varios huevos en el huevo del huésped. En su ciclo de vida una hembra puede parasitar aproximadamente 50 ó más huevos dependiendo de la especie. En los huevos parasitados por estos parasitoides se detiene el desarrollo de las larvas del huésped, siendo reemplazado por la formación de nuevos adultos parasitoides. La larva completa su ciclo dentro del huevo parasitado en un período de aproximadamente 7 días. Este ciclo de vida corto, permite que las poblaciones de este insecto benéfico se incrementen de manera rápida.

La duración del ciclo de vida, longevidad, fecundidad y actividad de los adultos de *Trichogramma* están influidas por varios factores abióticos y bióticos (Cabello, 1985). Por tanto, a su vez, la eficacia del parasitismo de las hembras de *Trichogramma* se ve afectada directa o indirectamente por estos factores bióticos o abióticos del hábitat, haciendo que los parasitoides sean más bien específicos de un hábitat que de un huésped. Las interacciones multi-tróficas de las avispas con su medioambiente pueden ser determinantes para su

eficacia en el control biológico en el campo (Smith, 1996). Las características de la planta hospedante, tales como la estructura, color, volátiles, el espacio entre plantas o incluso la calidad del alimento que pueda proporcionar, son factores que pueden influir en el comportamiento de búsqueda y parasitación de las avispas (Romeis *et al.*, 2005). Un ejemplo sería la influencia que tiene el desarrollo del cultivo en el parasitismo de *Trichogramma*, así en cultivos de pimiento y de maíz el incremento de la superficie foliar provoca un descenso del porcentaje de huevos de *Ostrinia nubilalis* parasitados por *T. nubilale* soltados, debido al incremento de la superficie en la que deben explorar las hembras del parasitoide (Burbutis y Koepke, 1981).

Entre los factores medioambientales como la humedad, fotoperiodo, etc., el más importante, que afecta directa o indirectamente a la fisiología y el comportamiento de los tricogramátidos, es la temperatura (Pizzol *et al.*, 2010). La duración del desarrollo de *Trichogramma* es función de la temperatura, al aumentar el valor de esta la duración del ciclo de vida se acorta (Butler y López, 1980; Pitcher *et al.*, 2002). Existen temperaturas mínimas extremas (menores a los 10-15 °C) donde no se produce la emergencia de los adultos de *Trichogramma* del huevo huésped, debido a la detención del desarrollo. El parasitoide entra en diapausa, en estado de larva o de pupa. Las temperaturas máximas extremas también condicionan el desarrollo de los estados inmaduros de *Trichogramma*.

Además del ciclo de vida, características biológicas como la longevidad, la actividad parasítica y la emergencia de los parasitoides se ven fuertemente influidos por este factor (Smith, 1996; Pizzol *et al.*, 2010; Andrade *et al.*, 2011). Por ejemplo, en *Trichogramma* sp. el número de huevos huéspedes parasitados disminuye con el incremento de la temperatura (Pratissoli *et al.*, 2004).

Entre los factores bióticos que afectan a la longevidad, fecundidad y actividad de los adultos de *Trichogramma* destacan distintos aspectos del huevo huésped en el que se criaron sus estados inmaduros, como el tamaño del mismo (Martel *et al.*, 2011) o el contenido nutricional (Smith, 1996; Andrade *et al.*, 2011). Así, *Trichogramma* sp. criada en huevos de *Ephestia kuehniella* parasitó 147.9 huevos/hembra frente a los 9.9 cuando se hizo en huevos de *Sitotroga cerealella*, la longevidad fue de 19.9 días en la primera frente a 4.5 en el segundo (Lewis *et al.*, 1976), también se encontraron diferencias en la fecundidad, relación de sexos y emergencia en *Trichogramma chilonis* criados sobre huevos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) o *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Shirazi, 2007). La actividad de los parásitos adultos también se ve influida por el huevo huésped de cría, así *T. evanescens* y *T. minutum* presentaron una actividad de búsqueda mayor cuando fueron criados en huevos de *Trichoplusia ni* que en los de *S. cerealella* (Bolt, 1974).

En los casos anteriormente mencionados los valores mayores de longevidad, fecundidad y actividad de los adultos de *Trichogramma* se obtuvieron en los huevos de mayor tamaño, pero el efecto del huevo huésped no es solo debido a la cantidad de nutrientes en él disponibles, sino también a la calidad de los mismos, ya que *T. fasciatum* criada en huevos de *C. cephalonica* de tres tamaños no presentó diferencias en la fecundidad (Ram y Sharma, 1977).

El huevo huésped además influye al tiempo transcurrido en el desarrollo del ciclo de vida del insecto (Butler y López, 1980).

La edad de los parasitoides *Trichogramma* y/o de los huevos huésped puede influir en el parasitismo de varias plagas (García *et al.*, 2001). Estos dos factores se deben tener muy en cuenta para asegurar la eficacia del parasitismo de estos enemigos naturales en programas de control biológico, haciendo uso de sueltas inundativas.

Otro factor a tener en cuenta es la densidad de huevos huésped, así, en *T. brevicapillum*, el aumento de la densidad de los huevos huéspedes incrementó el número de huevos parasitados. Sin embargo, para relaciones mayores de 1 hembra/15 huevos huéspedes, el número de huevos parasitados tendió a estabilizarse (Pak y Oatman, 1982).

El porcentaje de huevos huéspedes parasitados no solo depende de su densidad total, sino que se ve igualmente influido por la agregación de los mismos. En *T. papilonis* el incremento de la agrupación de los huevos huéspedes (*Papilio xunthus*) hizo que el porcentaje de huevos parasitados disminuyera (Hirose *et al.*, 1976). El incremento del número de huevos de *H. zea* por hoja dispuestos artificialmente en algodónero también hizo que el porcentaje de huevos parasitados por *Trichogramma* sp. fuera menor.

La alimentación de los adultos de *Trichogramma* y el tipo de alimento aportado también condiciona su biología. El tipo de dieta influyó sobre la longevidad de los adultos de *Trichogramma cordubensis* y *T. sp.p. buesi*, y el número de huevos huéspedes parasitados por las hembras de la avispa (Cabello y Vargas, 1985). Las hembras de *Trichogramma maidis* y de *Trichogramma nagarkatti* presentan una longevidad y número de huevos parasitados menor cuando no se les aporta alimento que si se les ofrece miel una vez, y en este caso los valores son menores que cuando disponen de miel durante toda su vida (Anunciada y Voegelé, 1982). En *Trichogramma* sp. el tipo de alimento aportado (agua, miel, miel+levadura) influye en la fecundidad, a 21°C la mayor fecundidad se obtuvo con miel+levadura como alimento, pero a 25°C fue mayor con miel sola, igual respuesta presentaron las longevidades de las hembras (Stvraki, 1976).

El último factor revisado es la fecundación o no de las hembras de *Trichogramma*. En algunas especies, las hembras vírgenes presentan una fecundidad mayor que las apareadas, sin embargo, en otras, la longevidad y número de huevos parasitados es idéntico en las hembras vírgenes y apareadas (Guerrero, 2011).

1.3.3. Utilización de especies de *Trichogramma* en el control biológico

La utilización de especies de *Trichogramma* como agentes de control de plagas constituye, después del empleo del entomopatógeno *Bacillus thuringiensis*, el mayor ejemplo de uso de la lucha biológica a nivel mundial (Desneux *et al.*, 2010). Las especies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) son extensamente usadas a lo largo de millones de hectáreas en cultivos herbáceos extensivos y masas forestales en todo el mundo para el control biológico de plagas de lepidópteros (Desneux *et al.*, 2010; Andrade *et al.*, 2011). Su éxito se debe, por una parte, a la alta eficacia de estos enemigos naturales con sueltas inundativas en campos abiertos y cultivos protegidos y, por otra, a su fácil cría con bajos costes de producción (Chailleux *et al.*, 2012). El éxito de estas sueltas de *Trichogramma* depende del conocimiento sobre las características biológicas de la especie o raza del parasitoide que se use, y de su interacción con un huésped específico. Seleccionar la especie de *Trichogramma* con la mayor afinidad por la plaga objetivo y por las características del agro-ecosistema es crucial para el éxito del programa de control biológico (Chailleux *et al.*, 2012). Estos microhimenópteros tienen la ventaja de atacar el estado de desarrollo previo al que produce el daño en el cultivo, por lo que pueden ser útiles herramientas para reducir la densidad de la plaga, y de esta manera el número de aplicaciones de agroquímicos (Desneux *et al.*, 2010). A pesar del excelente potencial de estos enemigos naturales, también presentan algún problema en la práctica, una de las principales limitantes de su empleo es el uso de agroquímicos no selectivos.

El control biológico de *T. absoluta* mediante el empleo de *Trichogramma* spp. está documentado en Argentina, Brasil, Colombia y Chile (Desneux *et al.*, 2010). Las siguientes especies se han criado en masa satisfactoriamente: *T. nerudai*, *T. bactrae*, *T. pretiosum* y *T. exiguum*. Especies prometedoras, como *T. bactrae* y *T. nerudai*, se encuentran actualmente bajo evaluación para el control de *T. absoluta* en Argentina (Desneux *et al.*, 2010). En Brasil, existen datos del 87% de parasitismo de *T. absoluta* por *T. pretiosum* en invernaderos (Parra y Zucchi, 2004), y la integración junto con aplicaciones de *Bacillus thuringiensis* cuya eficacia como estrategia para el control de la plaga en invernaderos de tomate se ha comprobado (Desneux *et al.*, 2010). En Argentina se ha evaluado la potencialidad del parasitoide *T. bactrae* como agente de control biológico de la polilla del tomate a través del estudio de sus

parámetros biológicos y poblacionales en laboratorio y los resultados indican que *T. bactrae* es un potencial agente biológico de la plaga (Riquelme y Botto, 2010).

El posible uso de avispas parasitoides del género *Trichogramma* como agentes de control biológico de *T. absoluta* está actualmente considerado en Europa por el parasitismo natural que se ha dado en Sudamérica y en Europa de estas avispas sobre la plaga (Chailleux *et al.*, 2012) y por el efectivo uso de estos parasitoides, sobretudo *T. Pretiosum* Riley, mediante sueltas inundativas contra *T. absoluta* en cultivos de tomate de Sudamérica (Pratissoli *et al.*, 2005). Una de las especies que ha aparecido parasitando de forma natural a *T. absoluta* y que está bajo estudio hoy día es *T. achaeae* (Desneux *et al.*, 2010); *T. cacoeciae* puede tener también interés por su presencia en Europa y su eficacia en el parasitismo de otros lepidópteros.

1.3.4. *Trichogramma cacoeciae*

Trichogramma cacoeciae (Marchal) es una avispa nativa de Europa, conocida como parasitoide de varias plagas de lepidópteros; de aproximadamente 0.40 mm de longitud, color amarillento, con el abdomen y algunas partes del tórax de color oscuro y ojos compuestos, así como ocelos de color rojo. Las alas anteriores son membranosas, sin venación, anchas y redondeadas, además consta de pequeñas setas en su superficie colocadas en hileras. Diferenciar esta especie de otras *Trichogramma* similares resulta problemático, ya que al ser una especie teliotoca, el criterio taxonómico de la genitalia masculina no puede ser empleado. Si a esto unimos que la morfología de estas avispas se ve afectada por las condiciones ambientales y el tamaño del huésped, el método más certero para identificar a *T. cacoeciae* consiste en el empleo de cebadores ya descritos, que están accesibles en el GenBank (Sumer *et al.*, 2009).

T. cacoeciae está presente de forma natural en la cuenca mediterránea, en Europa y Norte de África (Sumer *et al.*, 2009), habiendo sido citada en España recientemente (Moreno *et al.*, 2010). Se trata de una de las 3 especies europeas que se han descrito como completamente teliotocas, de un total de 37 descritas en el continente. La cría masiva y conservación de *T. cacoeciae* existe en Europa Central desde antes del 1996, siendo usada comúnmente la especie como modelo para los estudios de efectos colaterales del empleo de pesticidas y como agente de control biológico de plagas de lepidópteros en manzanos (Schöller y Hassan, 2001). El ciclo biológico de *T. cacoeciae* pasa por los estados de huevo, larva, pupa y adulto. Presenta una velocidad de desarrollo muy rápida, entre 8 y 16 días dependiendo de la temperatura y el hospedante. Este pequeño himenóptero deposita sus huevos en el interior de los huevos de lepidópteros. En *Ephestia elutella*, deposita un

promedio de 4,4 puestas por huevo. Mientras se desarrolla *T. cacoeciae*, el huevo parasitado se va oscureciendo. Tres días después de la parasitación surgen las larvas, y pasados cinco días se encuentran en estado de pupa, quedando el huevo del hospedante de color negro. Finalmente, el nuevo adulto desarrollado de *Trichogramma* sale al exterior, siendo su duración de vida de hasta 3 días a 35°C en presencia de hospedantes, y de 7 días a 20°C (Schöller y Hassan, 2001).



Figura 13. Adulto de *Trichogramma cacoeciae* parasitando huevo de *Tuta absoluta*.

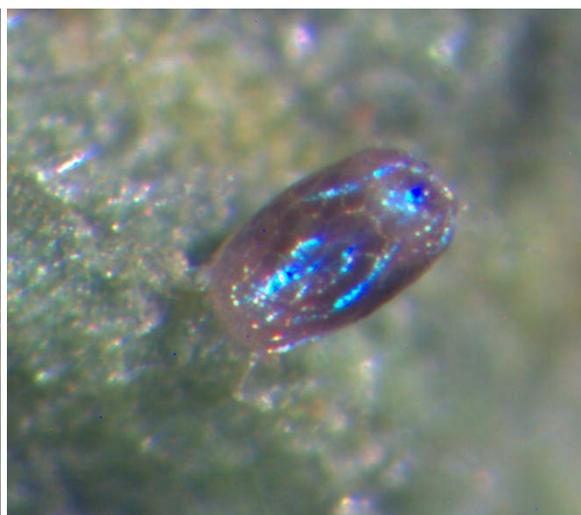


Figura 14. Huevo de *Tuta absoluta* parasitado por *Trichogramma cacoeciae*.

Bajo condiciones de laboratorio a 26°C, las hembras de *T. cacoeciae* parasitan un promedio de 26 huevos de *E. elutella* en 3 días. El 96% de la puesta se realiza en los dos primeros días (Schöller y Hassan, 2001). Este parasitismo previene la eclosión de larvas de lepidópteros, y consecuentemente su posterior daño.

T. cacoeciae es parasitoide de distintas plagas de lepidópteros, como son *Cydia pomonella* (Makee, 2005), *Lobesia botrana* (Carvajal-Montoya *et al.*, 2009), la polilla de la patata *Phthorimaea operculella* (Saour, 2004) o la polilla oriental de la fruta *Grapholita molesta* (Saour, 2004). Pero la parasitación de *T. absoluta* por *T. cacoeciae* no está aún descrita.

1.3.5. *Trichogramma achaeae*

Trichogramma achaeae Nagaraja & Nagarkatti es una especie exótica introducida intencionalmente en Europa en 1987 (Roy *et al.*, 2011). Ha sido descrita en Asia (China, India y Rusia), África (Cabo Verde), América (Argentina, Barbados, Chile, Trinidad y Tobago, U.S.A.) y, en Europa (Francia, Rusia y España) por lo que muchos autores lo consideran ya un

parasitoide autóctono de nuestro país. Tanto el macho como la hembra de *T. achaeae* miden, aproximadamente, 0,5 mm de largo y se diferencian los machos (Figura 16) de las hembras (Figura 15) porque estos tienen las antenas plumosas.



Figura 15. Hembra adulta de *Trichogramma achaeae*.

Figura 16. Macho adulto de *Trichogramma achaeae*.

T. achaeae tiene un ciclo de vida desde huevo a adulto que puede durar entre 8-10 días a temperaturas entre 22-25°C y humedades relativas entre 65-85%. Su desarrollo biológico consta de un estadio de huevo, un estadio larval, una fase de prepupa, un estadio de pupa (los tres estadios últimos se desarrollan dentro del huésped) y la avispa adulta. *T. achaeae* es un endoparásito de huevos de *Tuta absoluta*, la avispa parasitoide busca entre las hojas los huevos para realizar sus puestas. El adulto también puede depredar dichos huevos para su alimentación (Cabello *et al.*, 2009b).

T. achaeae es parasitoide de 26 especies de lepidópteros pertenecientes a diez familias diferentes, incluyendo a Noctuidae y Gelechiidae (Urbaneja *et al.*, 2012).

Este enemigo natural se mostró eficiente en experimentos piloto y bajó los niveles de infestación de *T. absoluta* en invernaderos de tomate experimentales y comerciales del sur de España (Cabello *et al.*, 2009b). Este parasitoide de huevos parece ser particularmente prometedor para el control de *T. absoluta* cuando se usa en combinación con míridos depredadores (Desneux *et al.*, 2010). *T. achaeae* está actualmente disponible en algunos países europeos (entre ellos España) y del norte de África para el control biológico de *T. absoluta* mediante sueltas inundativas (Chailleux *et al.*, 2012).

Para el uso en campo, *T. achaeae* se cría en masa sobre huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), y los huevos parasitados son distribuidos a los agricultores en dispensadores de uso sencillo. El uso de este enemigo natural está recomendado al

comienzo del ciclo de cultivo del tomate, cuando los depredadores de *T. absoluta* no están aún bien establecidos en la plantación (Desneux *et al.*, 2010).

Sin embargo, la eficiencia de este parasitoide depende de varios factores: el uso de grandes cantidades de parasitoides en cada suelta, como indican las empresas de biocontrol, aproximadamente 250.000/1.000.000/ha por semana; el nivel de infestación de *T. absoluta*; y de la presencia de otros enemigos naturales en el cultivo (Chailleux *et al.*, 2012).

Datos recientes, muestran que las sueltas masivas de *T. achaeae* para el control de *T. absoluta* pueden no resultar económicamente viables, y que estas sueltas deben ser combinadas con otros métodos de control biológico (Desneux *et al.*, 2010). Esto podría deberse a que es caro producir *T. achaeae* porque la ausencia de diapausa hace que el almacenaje y el manejo sean difíciles. Además, el pequeño tamaño de los huevos de *T. absoluta* dificulta la emergencia del adulto de avispa, lo que puede reducir la durabilidad de sueltas inoculativas (Cabello *et al.*, 2009b) y las bajas temperaturas parecen ser otro factor limitante (Urbaneja *et al.*, 2012). La identificación de una especie de *Trichogramma* más eficiente permitiría establecer un programa de control biológico económico y optimizado contra *T. absoluta* (Chailleux *et al.*, 2012).

2.- INTERÉS Y OBJETIVOS

Como ya se ha expuesto en la revisión bibliográfica, desde su detección, *T. absoluta* ha sido una plaga presente en nuestros invernaderos, que se ha mantenido siempre activa, con variaciones en la presión ejercida sobre las plantaciones pero que ha llegado a causar en ocasiones daños del 70-100% de pérdidas (Urbaneja *et al.*, 2007). Desde su aparición han sido muchos los ensayos realizados en busca de alternativas para el control de la plaga, entre ellas la búsqueda de fauna auxiliar, así como de materias activas insecticidas, capaces de controlar a este microlepidóptero. El control de esta plaga mediante el uso exclusivo de pesticidas ha mostrado una eficacia limitada debido a la aparición de resistencias a distintos insecticidas en poblaciones de *T. absoluta* (Desneux *et al.*, 2010). Este hecho, junto con la preocupación sobre riesgos tanto para la salud humana como para el medio ambiente debido al uso tan continuado de pesticidas ha motivado la búsqueda de enemigos naturales autóctonos para la mejora del control biológico como método complementario en un manejo integrado.

La utilización de fauna auxiliar es una práctica ya común en el campo almeriense, siendo muy importante para el control de la polilla del tomate la suelta de *N. tenuis*. Sin embargo, el uso de este enemigo natural no es siempre suficiente para controlar la plaga. Las avispas parasitoides de huevos *Trichogramma achaeae* (Nagaraja y Nagarkatti) también están siendo utilizadas mediante sueltas inundativas (Cabello *et al.*, 2009b). Pero sigue existiendo la necesidad de optimizar la estrategia de control de la plaga.

Existen otras especies del género *Trichogramma*, que se han encontrado parasitando huevos de *T. absoluta* (Urbaneja *et al.*, 2012). *Trichogramma cacoeciae* es una especie nativa de Europa parasitoide de algunas plagas de lepidópteros pero su parasitismo en *Tuta absoluta* no ha sido todavía descrito.

El objetivo principal de este Proyecto Fin de Carrera es evaluar la utilidad de *Trichogramma cacoeciae* contra la plaga del tomate *Tuta absoluta*. Los objetivos concretos de este Proyecto Fin de Carrera son:

- Evaluar la capacidad de parasitación de *Trichogramma cacoeciae* en condiciones de laboratorio y en condiciones de campo.
- Comparar la actividad de la avispa parásita *T. cacoeciae* con la ya utilizada en estrategias de control integrado bajo invernadero *T. achaeae*.
- Evaluar la eficacia del parasitoide citado para el control de *Tuta absoluta* en un tomate de ciclo largo cultivado en un invernadero de Almería.

- Evaluar la eficacia del control biológico para el control de *Tuta absoluta* en un tomate de ciclo largo cultivado en un invernadero de Almería.
- Plantear un modelo de manejo integrado de la plaga de *T.absoluta*.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- Parasitación in vitro de *Trichogramma cacoeciae* sobre *Tuta absoluta*

3.1.1. Metodología de cría de la plaga: *Tuta absoluta*

El material biológico necesario para el inicio del ensayo en el laboratorio se trataba de huevos de pocas horas de vida de *Tuta absoluta*. Para su obtención se recolectaron hojas de tomate con galerías en las que se encontraban larvas de *Tuta absoluta* en distintos estadíos, procedentes de varios invernaderos infectados de la provincia de Almería. Estas hojas fueron almacenadas en cajas de cartón o plástico con pequeños orificios para permitir cierta aireación. Las cajas se mantuvieron a 30°C en una estufa, durante 7 días, en presencia de agua para evitar la desecación de las hojas y larvas (Figura 17). Esto permitió la evolución de las larvas que puparon (Figura 18), emergiendo a continuación los adultos de *Tuta absoluta* en el interior de las cajas.

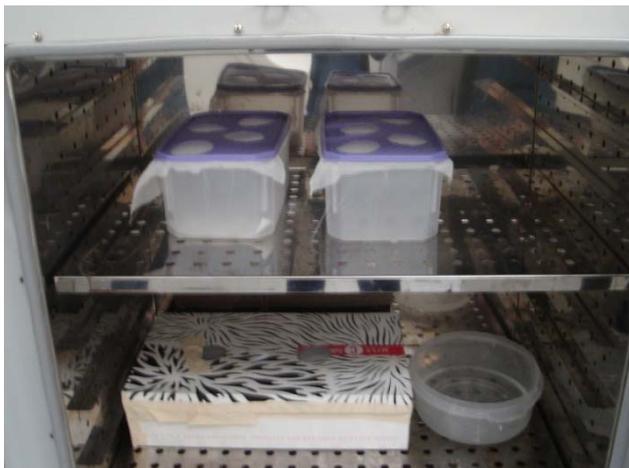


Figura 17. Hojas con galerías de *T. absoluta* en estufa.



Figura 18. Pupas de *T. absoluta* obtenidas de la estufa.



Figura 19. Jaula con plantas de tomate y adultos de *T. absoluta*

Los adultos se liberaron en jaulas de 1 x 0,6 x 0,4 m cubiertas por una malla anti insecto (Figura 19). En esas jaulas, se introdujeron plantas de tomate de la variedad Genio

(Clause) con 10 hojas verdaderas en macetas y se dejaron durante 24 horas expuestas a los adultos de *T. absoluta*. Las plantas y polillas se mantuvieron bajo condiciones controladas en el laboratorio (23-28 °C; 14 h Luz; 60-80 % H.R.). Tras la cópula, las hembras de *T. absoluta* realizaban las puestas sobre tallos y hojas, tanto en el haz como en el envés. Las plantas se sacaban de la jaula para obtener los huevos.

La manipulación de los huevos se realizó con pinceles del número 2, despegándolos de la planta con delicadeza, intentando no producirles ninguna lesión y depositándolos en placas Petri (Ø 90 mm y 15 mm de altura) para su posterior utilización (Figuras 20 y 21).

En cada placa Petri se realizó un recuento de los huevos bajo lupa binocular, para confirmar el número y el buen estado de los mismos, ya que era fácil dañarlos durante la manipulación. El número de huevos en cada placa varió según los distintos ensayos.

No se utilizó ninguna dieta para la cría de la plaga ya que la larva se alimentaba de las hojas de la planta de tomate de la que procedían y en fase de adulto y de huevo no se alimentaron.



Figura 20. Obtención de huevos de *T. absoluta*.

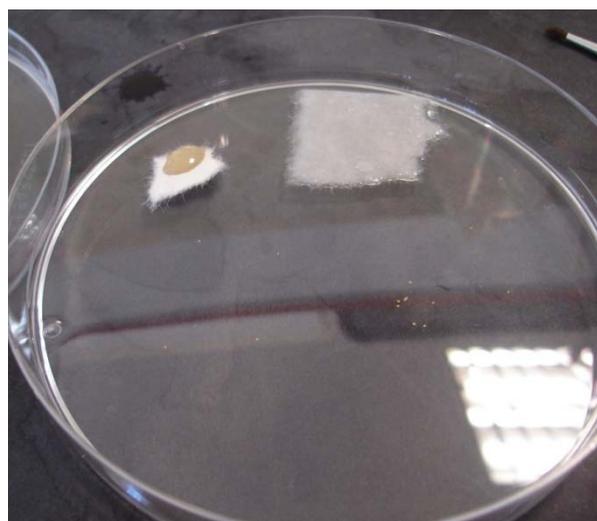
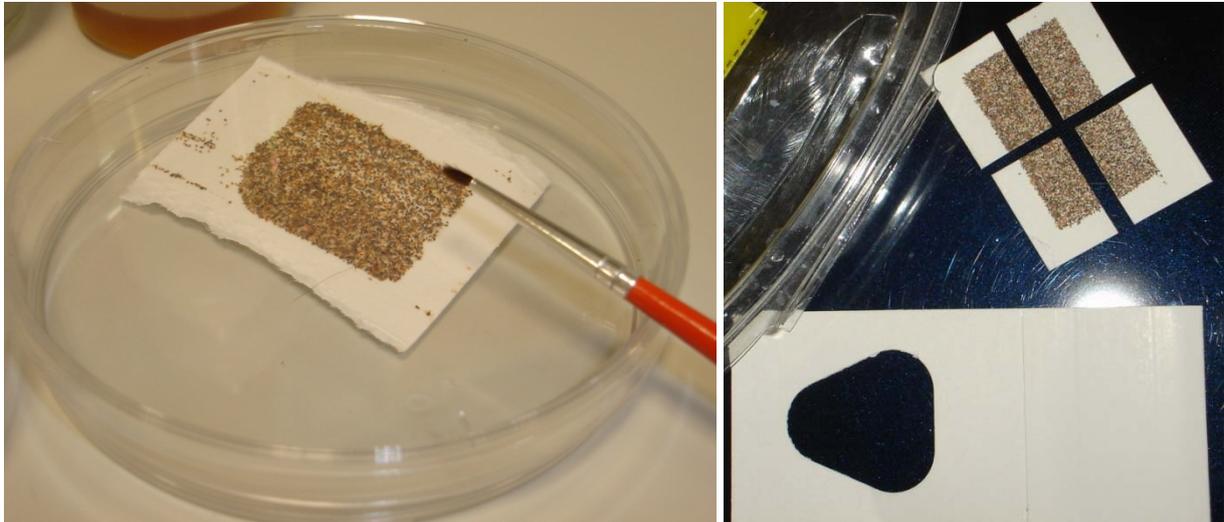


Figura 21. Preparación de los huevos para el ensayo.

3.1.2. Obtención del parasitoide: *Trichogramma cacoeciae*

Las pupas de *T. cacoeciae* procedían de una población previamente purificada e identificada por el Dr. Olaf Zimmermann (Julius Kühn Institute, Pfungstadt). En cada ensayo se utilizaron aproximadamente 4 tarjetas en formato comercial con más de 2000 pupas del parasitoide cada una (Figuras 22 y 23). Estas tarjetas se sacaron del frigorífico un par de horas antes del comienzo del ensayo para que fueran adquiriendo la temperatura ambiente y se situaron en contacto con la luz natural provocando así la emergencia de las avispas. A medida que iban emergiendo los adultos de *T. cacoeciae*, estos se trasladaban mediante un

pincel del número 2 a una placa Petri donde se llevaría a cabo la parasitación y donde anteriormente se habían depositado los huevos de *T. absoluta*. Los parasitoides no se sometieron previamente a apareamiento ni se distinguió su sexo ya que todos los adultos emergidos son hembras con capacidad de parasitar debido a su condición de teliotocas.



Figuras 22 y 23. Obtención del parasitoide *T. cacoeciae* de tarjetas comerciales.

3.1.3. Metodología utilizada para el estudio de la parasitación

Una vez introducidos los huevos de *T. absoluta* en grupos de 30 en placas Petri, se les aportó una hembra adulta de *T. cacoeciae* (de menos de 24 horas desde su emergencia de la pupa) como se explica en el apartado anterior. Según el tratamiento, se le añadió a cada placa un trozo de papel de filtro de 1 cm² empapado en agua y en algunos tratamientos otro de igual tamaño con una gota de miel (Figura 19), este modo de aplicación impedía que los parasitoides quedaran adheridos a la miel. Una vez dentro el parasitoide, la placa Petri era sellada con Parafilm® para evitar la pérdida de las hembras que por su reducido tamaño podían escapar (Figura 24).

Los huevos de *T. absoluta* fueron expuestos a las hembras de parasitoides hasta la muerte de las mismas. Las lecturas fueron realizadas cada 24 horas por observación directa o uso de lupa binocular, anotando el número de huevos parasitados (de color negro conferido por la pupa del parasitoide), número de larvas de *T. absoluta* emergidas de los huevos sin parasitar y la supervivencia de los parasitoides (vivos o muertos) de cada repetición.

En este apartado se realizaron dos bioensayos, en ellos se estudió el porcentaje de parasitación, la longevidad de las hembras del parasitoide y el porcentaje de huevos de *T. absoluta* muertos por otras causas mediante el conteo de larvas de la plaga emergidas. El

número de repeticiones de cada tratamiento empleado fue 5, cada una de ellas contando con un número inicial de 30 huevos.



Figura 24. Cierre de las placas Petri tras la preparación del ensayo.

- Primer bioensayo:

Como vimos en la introducción, los huevos de *Tuta absoluta* desde su oviposición hasta la eclosión de los mismos pasan por distintas fases. La duración de su desarrollo varía según las condiciones de temperatura y las hembras de distintos parasitoides tendrán preferencia o descartarán estos huevos según la fase en la que se encuentren. Para poder estudiar la capacidad de parasitación de *Tricogramma cacoeciae* en los distintos estadios del huevo de *T. absoluta* se diseñó el experimento con huevos de tres diferentes edades. Para ello se obtuvieron huevos del lepidóptero como está detallado en el apartado de “Metodología de cría de la plaga”, habiendo dejado la planta de tomate en presencia de adultos de *T. absoluta* durante 24 horas. Los primeros huevos obtenidos se conservaron a temperatura ambiente repitiendo la operación a las 24 horas, así sucesivamente durante tres días. Los huevos obtenidos en último lugar serían los considerados de 24 horas o menos ya que esa sería su edad cuando fueran puestos en contacto con el parasitoide, obteniendo así huevos de <24, 24-48 y 48-72 horas para el ensayo. Además se quiso comparar la actividad de los parasitoides proporcionándoles o no una fuente nutritiva azucarada, por lo que este bioensayo constó de ocho tratamientos, tomando dos de ellos el papel de testigo al enfrentar al parasitoide a un ambiente en el que únicamente encuentra miel y ningún huevo para parasitar. Las placas Petri fueron mantenidas en una estufa (de condiciones totalmente controladas) a 23-25 °C, una humedad relativa siempre superior al 60%, en oscuridad.

El primer bioensayo constó por tanto de los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1 (T1): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de <24 horas con miel

Tratamiento 2 (T2): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de <24 horas sin miel

Tratamiento 3 (T3): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 24-48 horas con miel

Tratamiento 4 (T4): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 24-48 horas sin miel

Tratamiento 5 (T5): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 48-72 horas con miel

Tratamiento 6 (T6): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 48-72 horas sin miel

Tratamiento 7 (T7): Adulto de *T. cacoeciae* con miel

Tratamiento 8 (T8): Adulto de *T. cacoeciae* sin miel

- Segundo bioensayo:

Viendo los resultados del anterior bioensayo, en el que alguno de los huevos de 72 horas eran parasitados, se decidió además de repetir en el tiempo dicho ensayo, añadir dos tratamientos más con huevos de mayor edad (72-96 horas de vida) con y sin suplemento azucarado. Por otro lado, se observó que al tomar los datos y sumar aquellos huevos de *T. absoluta* que eran parasitados y aquellos de los que eclosionaba una larva (sin parasitar) no daban el número total de huevos, ya que alguno de ellos no llegaba a término y quedaba sin eclosionar. Por este motivo se añadió otro tratamiento que funcionaría como testigo para el dato de larvas emergidas, constando del mismo número de huevos que el resto pero sin ponerlos en contacto con un parasitoide, dejando que las larvas de *T. absoluta* emergieran sin ningún tipo de impedimento pudiendo calcular así el porcentaje de mortalidad natural de huevos. La realización del experimento se llevó a cabo en cámara climatizada, con temperaturas comprendidas entre 22 y 32°C y humedad relativa entre 35 y 75%, con un fotoperiodo de 16 horas de iluminación por día y una intensidad luminosa de 12.000 lux. El segundo bioensayo constó por tanto de 11 tratamientos:

Tratamiento 1 (T1): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de <24 horas con miel

Tratamiento 2 (T2): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de <24 horas sin miel

Tratamiento 3 (T3): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 24-48 horas con miel

Tratamiento 4 (T4): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 24-48 horas sin miel

Tratamiento 5 (T5): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 48-72 horas con miel

Tratamiento 6 (T6): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 48-72 horas sin miel

Tratamiento 7 (T7): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 72-96 horas con miel

Tratamiento 8 (T8): Adulto de *T. cacoeciae*, huevos de 72-96 horas sin miel

Tratamiento 9 (T9): Adulto de *T. cacoeciae* con miel

Tratamiento 10 (T10): Adulto de *T. cacoeciae* sin miel

Tratamiento 11 (T11): Huevos de *T. absoluta*

3.1.4. Comparativa de la parasitación por *T. achaeae*

- Tercer bioensayo:

En el tercer bioensayo se quiso comparar dos parasitoides de la misma familia: *T. achaeae* y *T. cacoeciae*. El primero se utiliza recientemente de forma comercial en invernaderos de Almería, por lo que es muy interesante comparar su capacidad parasitaria con cualquier nuevo parasitoide. En este ensayo se diseñaron dos tratamientos con el mismo número de huevos (40 cada repetición) y de la misma edad (0 a 48 horas), ambos con suplemento azucarado y agua y con 5 repeticiones, el primero con el parasitoide ya estudiado (*T. cacoeciae*) y el segundo con el parasitoide comercial (*T. achaeae*). Se siguió la misma metodología que en los dos primeros bioensayos. La única diferencia fue la previa selección de hembras, en el caso de *T. achaeae*, que se llevó a cabo mediante la sencilla diferenciación visual de los machos, gracias a sus plumosas antenas (véase figuras 13 y 14) bajo lupa binocular.

Las placas Petri fueron mantenidas en una estufa (de condiciones totalmente controladas) a 23-25 °C, una humedad relativa siempre superior al 60%, en oscuridad.

3.2.- Manejo integrado de *Tuta absoluta* en tomate en finca experimental

3.2.1. Localización y descripción del invernadero

El estudio se ha realizado en un invernadero experimental de la Finca Ual-Anecoop, situada en Almería y con una superficie de 14 Ha. El invernadero donde se realizaron los ensayos recibe el nombre de A3, su orientación es este-oeste y presenta una superficie cultivada de 4000 m². Es un invernadero multitúnel tipo arco, bien aislado, con doble puerta y malla antitrip.



Figura 25. Vista aérea de la parcela en la Finca experimental Ual-Anecoop.

El cultivo es tomate tipo ramo de ciclo largo, de la variedad “Ventero”, iniciado en agosto de 2009 y con una densidad de plantación de 1,4 plantas/m². Cultivado sobre sacos de fibra de coco y entutorado (Figura 26).

3.2.2. Medidas sanitarias adoptadas

Las medidas sanitarias adoptadas para el control de plagas y enfermedades fueron las generales dadas por los técnicos de la finca, llevando a cabo el protocolo habitual de control integrado, y poniendo especial atención a los tratamientos fitosanitarios que pudieran interferir en el comportamiento de la fauna auxiliar. Se realizaron tan solo aplicaciones periódicas de azufre y/o acaricidas, según requerimientos, sobre todo para el control de vasates (*Aculops lycopersici*), hasta 5 días antes de las sueltas de *T. cacoeciae*. Se colocaron placas cromatográficas amarillas y azules para control de mosca blanca y trips.

Las sueltas de fauna auxiliar se llevaron a cabo según los protocolos de trabajo del equipo técnico de BIOMIP y los organismos beneficiosos utilizados fueron facilitados por la misma empresa. Al tratarse del cultivo del tomate, el único enemigo natural que se utilizó, además del parasitoide en estudio, fue *Nesidiocoris tenuis*, realizando dos sueltas al principio de la campaña. Para facilitar una instalación del mírido depredador previa a la aparición de la plaga, las sueltas se realizaron a granel mediante botes, en cajas de cartón, protegiendo a los auxiliares de la luz directa (Figura 26). La primera y segunda suelta, estuvieron separadas entre sí dos semanas, con una dosis de 0,5 y 1 individuos/m² respectivamente y fueron acompañadas de una suelta de huevos de *Ephesthia kuehniella* Zell (Lepidoptera: Pyralidae) sobre las plantas, como complemento alimenticio hasta la aparición de los primeros

individuos de mosca blanca o tuta (Figura 27). El reparto se hizo homogéneo por todo el invernadero.



Figura 26. Inicio de cultivo con suelta de *N. tenuis*.



Figura 27. Huevos de *Ephestia* sobre las plantas

También se realizaron sueltas semanales de *Trichogramma cacoeciae*, tras la aparición de las primeras galerías de *T. absoluta* en el cultivo. Las dosis de suelta se hicieron basándose en los muestreos, de tal manera que la cantidad de *T. cacoeciae* liberada era tres veces la del número de huevos de *T. absoluta* presentes en el cultivo, partiendo de que los huevos detectados eran menores al número real por la dificultad del conteo debido a su pequeño tamaño. Estas sueltas nunca fueron inferiores a 15 ind/m² y se hicieron en tarjetas de formato comercial (con 2000 individuos por tarjeta), que se distribuyeron en el cultivo colgándolas en las axilas de las plantas (Figura 28).



Figura 28. Cultivo avanzado con suelta de *T. cacoeciae*.



Figura 29. Trampa de agua con feromona para *T. absoluta*

A continuación se muestra una tabla con las fechas, dosis y tipos de sueltas de los dos enemigos naturales empleados durante la campaña:

Tabla 2. Seltas de enemigos naturales realizadas en el cultivo.

Fecha	Enemigo natural	Dosis (ind/m ²)	Tipo de suelta
17/09/2009	<i>Nesidiocoris tenuis</i>	0,5	A granel
18/09/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	37,5	75 tarjetas
24/09/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	50	100 tarjetas
09/10/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	15	30 tarjetas
15/10/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	31	62 tarjetas
30/10/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	30	60 tarjetas
30/10/2009	<i>Nesidiocoris tenuis</i>	1	A granel
04/11/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	30	60 tarjetas
13/11/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	30	60 tarjetas
18/11/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	30	60 tarjetas
02/12/2009	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	60	120 tarjetas
28/01/2010	<i>Trichogramma cacoeciae</i>	30	60 tarjetas

Para el mejor control de la plaga y un fácil monitoreo de la entrada de adultos de la misma, se colocaron en el invernadero, bien distribuidas, cuatro trampas de agua con feromonas de *T. absoluta* desde el inicio del cultivo. Al agua de estas se les añadió una película de sustancia jabonosa para aumentar el número de capturas de adultos de *T. absoluta*. Cada trampa disponía de un dispositivo donde iba incluida la feromona que se cambiaba cada 20 días aproximadamente, y el agua se vaciaba limpiando el recipiente cada semana para facilitar el conteo (Figura 29).

3.2.3. Monitoreo de la plaga en estudio y sus enemigos naturales

Las visitas y toma de datos comenzaron en septiembre de 2009 y se llevaron a cabo hasta febrero de 2010. La frecuencia de seguimiento era semanal y se recogieron datos por conteos visuales. Para conseguir información de la presencia de la plaga en todo el invernadero, este fue dividido en 40 bloques iguales, 20 a cada lado del pasillo (Figura 30) y de cada uno de ellos se señaló una planta, elegida al azar, de la que se tomaron los datos. El sistema de trabajo fue el siguiente:

- Monitoreo semanal de adultos de *Tuta absoluta* mediante las 4 trampas de agua, contando el número capturado en cada una de ellas.
- Monitoreo de la plaga en el cultivo, con frecuencia semanal, en todo el invernadero, anotando la presencia y número de galerías de *T. absoluta* de todas las hojas de las

plantas elegidas al azar previamente y señaladas de cada bloque. Dichas plantas no se podaron durante todo el ensayo para contar galerías de la plaga acumuladas.

- Monitoreo general, de carácter quincenal, de 20 plantas de las 40 anteriores. Para ello, de cada planta se observaron tres hojas de la parte inferior, tres de la media y tres de la superior (haz y envés), así como dos flores (cuando las había). En este monitoreo se contabilizaba la presencia de *Bemisia tabaci* (larvas y adultos), *Nesidiocoris tenuis* (ninfas y adultos), *T. absoluta* (huevos, larvas, pupas y adultos) y *T. cacoeciae* (huevos parasitados y adultos).

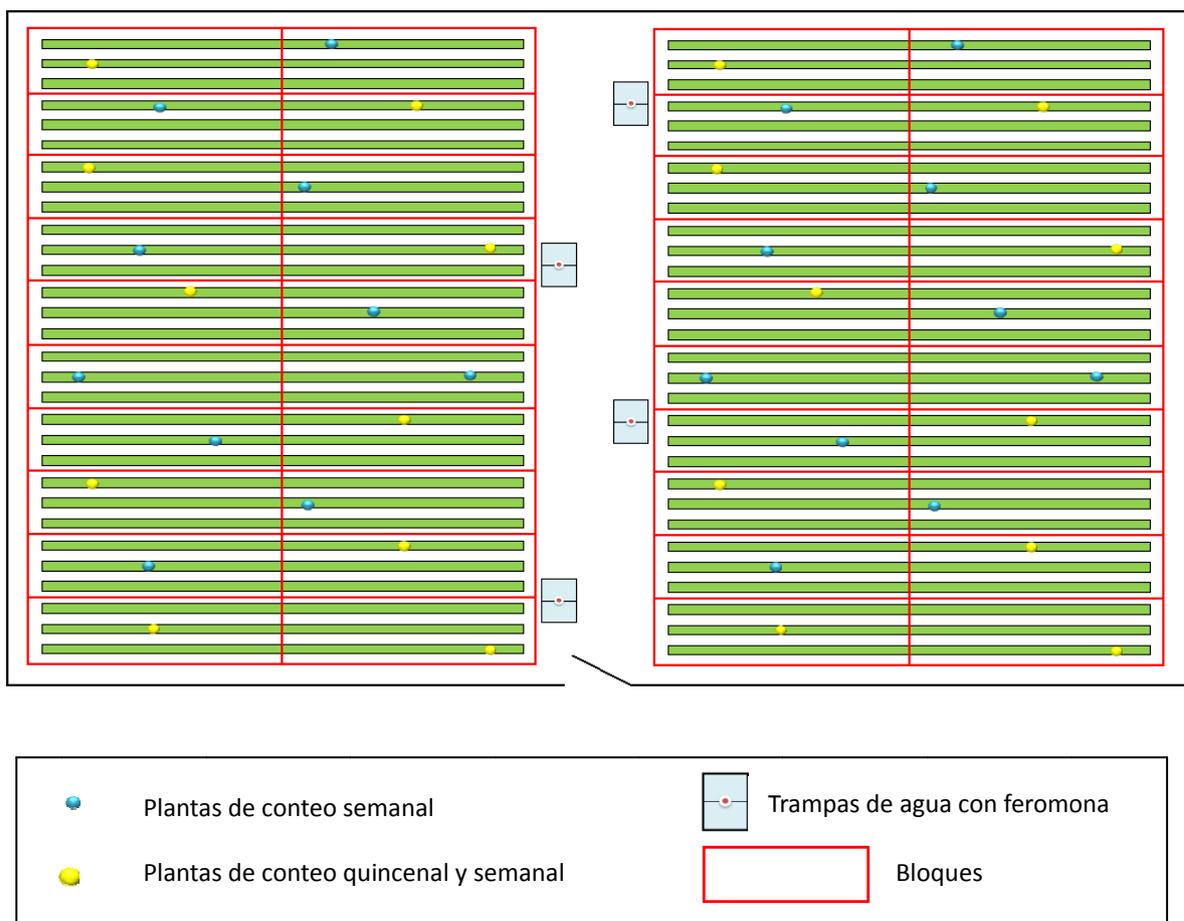


Figura 30. Croquis del ensayo de campo.

3.3.- Tratamiento estadístico de los datos

Los datos de parasitación y emergencia de larvas fueron transformados previamente mediante $\log(X+1)$. Los datos de longevidad de los adultos de parasitoides fueron transformados mediante la misma fórmula, siendo X el valor en días. Se empleó el programa de tratamiento estadístico Statgraphics v.5.1[®]. Para el primer y segundo ensayo los datos se

sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial y para el tercer ensayo una ANOVA simple, no realizándose un estudio estadístico para el cuarto ensayo.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Parasitación *in vitro* de *Trichogramma cacoeciae* sobre huevos de *Tuta absoluta* para el primer ensayo

En el primer ensayo de laboratorio se estudió la capacidad de parasitación de las hembras de *T. cacoeciae* sobre 30 huevos de tres diferentes edades (<24, 24-48 y 48-72 horas) con y sin suplemento azucarado, la longevidad de las mismas y la influencia de estos factores sobre la parasitación. También se realizó el estudio de los datos de emergencia de larvas de *T. absoluta* y la mortalidad de huevos por otras causas tras haber estado expuestos a los parasitoides. Para ello se diseñó un experimento con 8 tratamientos y 5 repeticiones cada uno (descritos en el apartado de “Material y Métodos”). Este primer ensayo se llevó a cabo bajo condiciones de temperatura y humedad muy controladas en una estufa (25°C, HR≥60 % y oscuridad) en la que las oscilaciones fueron mínimas.

En la tabla 3 se muestran los datos recogidos a lo largo del ensayo, en las distintas lecturas, de porcentaje de parasitación de *T. cacoeciae*.

Tabla 3. Porcentaje de huevos parasitados de *T. absoluta* para diferentes edades del huevo, tras haber estado expuestos al parasitoide *T. cacoeciae* en presencia o ausencia de miel y en condiciones de laboratorio (25°C, HR≥60 % y oscuridad).

Tratamientos	Días tras la suelta de parasitoides				
	4	5	8	10	12
Con miel <24 h	0,0 Aa*	10,7 ± 8,6 Aa	65,3 ± 14,1 Ab	77,3 ± 9,2 Ab	78,0 ± 10,2 Ab
Con miel 24-48 h	0,0 Aa	34,0 ± 24,1 Aa	57,3 ± 14,8 Ab	64,0 ± 12,3 Ab	65,3 ± 13,0 Ab
Con miel 48-72 h	9,3 ± 7,23 Ba	22,0 ± 17,1 Aa	51,3 ± 20,9 Ab	51,3 ± 20,9 Ab	54,7 ± 20,8 Ab
Sin miel <24 h	0,0 Aa	23,3 ± 11,8 Aa	43,3 ± 17,0 Aa	56,0 ± 23,7 Aa	56,7 ± 23,3 Aa
Sin miel 24-48 h	0,0 Aa	16,7 ± 17,0 Aa	26,7 ± 15,3 Aa	33,3 ± 22,0 Aa	36,0 ± 21,4 Aa
Sin miel 48-72 h	3,3 ± 7,45 Ba	19,3 ± 21,8 Aa	37,3 ± 25,1 Aa	41,3 ± 27,3 Aa	42,7 ± 28,6 Aa
Valor-P Edad huevos	0,0008	0,8619	0,3748	0,2192	0,2614
Valor-P Suplem. alimenticio	0,1136	0,7269	0,0126	0,0290	0,0322
Valor-P Interacciones	0,0878	0,1195	0,7909	0,7977	0,8682

* Para cada lectura, valores seguidos de diferente letra mayúscula dentro de una misma columna señalan diferencias significativas para la edad del huevo, y diferente letra minúscula señalan diferencias significativas para suplemento alimenticio, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

El primer huevo parasitado por *T. cacoeciae* apareció 4 días después de enfrentar a los parasitoides a los huevos, desde ese momento siguieron apareciendo pupas negras de los tricogramátidos diariamente hasta el duodécimo día, a partir del cual no se observó ningún huevo más parasitado.

En la primera lectura (día 4) se observa parasitación en los tratamientos de 48-72 h (con y sin miel) en un porcentaje muy pequeño ($3,3 \pm 7,45\%$) cuando no hay disponible miel y algo mayor ($9,3 \pm 7,23\%$) cuando hay miel, mostrando diferencias significativas con los tratamientos de otras edades de huevo. La falta de pupas negras procedentes de los huevos más jóvenes se debe a la falta de madurez del huevo, el cual torna con mayor rapidez al color parduzco o negro cuanto más edad tiene. No se puede decir que los huevos más jóvenes no hayan sido parasitados, sino que el desarrollo del parasitoide en ellos se verá a posteriori (Marston y Ertle, 1969).

A partir de la segunda lectura (día 5) todos los tratamientos presentaban huevos negros pero el parasitismo no siguió el patrón esperado de preferencia por los huevos más jóvenes, sin embargo, la presencia de miel siempre supuso mayor nivel de parasitación como era de esperar, mostrando diferencias significativas a partir del octavo día, siendo los huevos de tratamientos con presencia de suplemento azucarado los más parasitados.

El porcentaje de parasitación parece estabilizarse alrededor del décimo día, siendo esta lectura muy similar a la última (día 12) donde se ve un pequeño aumento del número de huevos parasitados. La última lectura nos muestra que los mayores porcentajes de parasitación corresponden con los huevos más jóvenes (<24 horas) (aunque no haya diferencias significativas). La presencia de suplemento azucarado (miel) aumentó el porcentaje de parasitismo, mostrando diferencias significativas con la ausencia de miel en todos los casos.

Este experimento muestra, en general, porcentajes de parasitación bastante elevados llegando incluso a un $78,0 \pm 10,2\%$ (para huevos de <24 h con miel) y sin ser menores del $36,0 \pm 21,4\%$ (para huevos de 24-48 h sin miel) en condiciones de laboratorio. Otros trabajos, sitúan la parasitación de *T. pretiosum* (tricogramátido americano asociado a *T. absoluta*) en valores inferiores al 28% en ensayos con plantas cultivadas en condiciones controladas (Gonçalves-Gervasio *et al.*, 2000; Faria *et al.*, 2008), siendo los valores de parasitación hallados en nuestro ensayo bastante superiores.

Como se observa en la tabla 3, el *valor-P* de la interacción entre las variables es siempre $> 0,05$, por lo que no existe ningún efecto aditivo, los dos factores actuaron de forma independiente sobre el número de huevos parasitados. La edad del huevo sola no tiene influencia en la parasitación y, sin embargo, la presencia de miel sí con un *valor-P* $< 0,05$.

4.1.1. Influencia de la edad del huevo de *Tuta absoluta* y del suplemento azucarado en el control *in vitro* de *T. cacoeciae* para el primer ensayo

A continuación se muestra la tabla 4, en la que se recogen los datos finales de porcentaje de parasitación de *T. cacoeciae*, de porcentaje final de emergencia de larvas de *T. absoluta* y de porcentaje final de huevos muertos de *T. absoluta* por causa desconocida.

Tabla 4. Porcentaje final de huevos parasitados de *T. absoluta* para diferentes edades del huevo, tras haber estado expuestos al parasitoide *T. cacoeciae* en ausencia y presencia de una fuente azucarada; porcentaje final de larvas de *T. absoluta* emergidas; y porcentaje final de huevos de *T. absoluta* muertos por causa desconocida; todo ello en condiciones de laboratorio (25°C, HR≥60 % y oscuridad).

Tratamientos	% Final de parasitación	% Larvas de <i>T. absoluta</i> emergidas	% Huevos de <i>T. absoluta</i> muertos
Con miel / <24 h	78,0 ± 10,2 Ab*	1,3 ± 1,8 Aa	20,7 ± 10,6 Aa
Con miel / 24-48 h	65,3 ± 13,0 Ab	12,0 ± 9,6 Ba	22,7 ± 12,1 Aa
Con miel / 48-72 h	54,7 ± 20,8 Ab	32,0 ± 15,0 Ba	13,3 ± 7,8 Aa
Sin miel / <24 h	56,7 ± 23,3 Aa	27,3 ± 24,1 Ab	16,0 ± 4,3 Aa
Sin miel / 24-48 h	36,0 ± 21,4 Aa	54,0 ± 19,8 Bb	10,0 ± 2,3 Aa
Sin miel / 48-72 h	42,7 ± 28,6 Aa	42,0 ± 22,9 Bb	15,3 ± 15,0 Aa
Valor-P Edad huevos	0,2614	0,0002	0,4401
Valor-P Suplem. alimenticio	0,0322	0,0000	0,2255
Valor-P Interacciones	0,8682	0,0160	0,5673

* Para cada dato estudiado, los valores seguidos de diferente letra mayúscula dentro de una misma columna señalan diferencias significativas para la edad del huevo, y de diferente letra minúscula señalan diferencias significativas para suplemento alimenticio, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

Al comparar el porcentaje final de parasitación en los tratamientos sin miel, se observa, que los huevos de menos de 24 horas presentan mayor parasitación con más de la mitad de los huevos parasitados ($56,7 \pm 23,3\%$) pero sin mostrar diferencias significativas con los tratamientos de distintas edades de huevo. Sin seguir el orden esperado, el tratamiento con huevos de 48-72 horas de vida, fue el segundo en nivel de parasitación con un $42,7 \pm 28,6\%$, sin que haya una correlación entre edad del huevo y parasitación, de nuevo sin diferencias significativas para edad de huevo. Sin embargo, otros estudios citan que *T. cacoeciae* frente a un huésped distinto, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae), muestra mayor parasitación en los huevos de 0-48 horas de edad que en los de 48-96 horas (Pizzol *et al.*, 2012).

Al contrario que en el caso anterior y coincidiendo con la bibliografía, en los tratamientos que suministran miel a los parasitoides, sí se ve una correlación entre el

porcentaje de parasitación y la edad del huevo sin llegar a encontrar diferencias significativas. Se observa que a más edad del huevo menor es la parasitación, por lo que se ve una tendencia de las hembras de parasitoides a preferir los huevos más jóvenes. Otra posible explicación de esta tendencia, vendría dada por el hecho de que la edad del parasitoide también influye en su capacidad de parasitación. Las hembras de *T. cacoeciae* de 1 día de edad, dan lugar a menos huevos parasitados de *L. botrana* que las de 3 y 4 días (Pizzol *et al.*, 2012). Así, en nuestro ensayo, para los tratamientos de 48-72 horas, en el momento de máxima actividad de parasitación de la hembra (3 y 4 días de edad), ésta se encontraría con huevos de *T. absoluta* en un estado demasiado avanzado de desarrollo, dificultando la parasitación.

La parasitación es muy elevada en los tres tratamientos con miel, alcanzando un nivel del $78,0 \pm 10,2\%$ para los huevos más jóvenes y siendo como mínimo del $54,7 \pm 20,8\%$ en los huevos de mayor edad.

Existe una clara relación entre la no emergencia de las larvas de *T. absoluta* y el nivel de parasitación. Así la emergencia de larvas menor corresponde a los tratamientos con miel mostrando diferencias significativas con los tratamientos con ausencia de miel (tabla 4). A su vez, el tratamiento con menor nivel de parasitación ($36,0 \pm 21,4\%$) que corresponde al de huevos de 24-48 horas de vida sin miel, es aquel tratamiento con un mayor porcentaje de larvas de *T. absoluta* emergidas ($54,0 \pm 19,8\%$). Esto se puede explicar por el hecho de que los huevos que no fueron objeto de oviposición no se vieron afectados por el parasitoide. Pero para llegar a esa conclusión, deberíamos conocer el porcentaje de muerte natural de los huevos, ya que, sin este dato, desconocemos si hay huevos que sin tornar a negro han sido objeto de parasitación pero no ha llegado a término el desarrollo del parasitoide, o incluso, si se ha dado el llamado “hostfeeding” o si, por el contrario, se ha dado una muerte natural del huevo en la que no interviene para nada el parasitoide.

Existe, sin embargo, una excepción, el tratamiento de 24 horas sin miel que tiene una emergencia de larvas de $27,3 \pm 24,1\%$, significativamente menor que los tratamientos con huevos de mayor edad. En el estudio estadístico del porcentaje de emergencia de larvas de *T. absoluta* existe una correlación o sinergismo entre los dos factores ya que el valor-P es menor a 0,05. El tratamiento de huevos de 24h sin miel tiene menor emergencia de larvas de *T. absoluta* tal vez debido a que los huevos jóvenes son más atractivos tanto como para la alimentación del parasitoide (“hostfeeding”) como para el intento de parasitación, manipulando el huevo aunque no se haya desarrollado el parasitoide y no haya diferencias significativas en el porcentaje de parasitación para edad de huevos. En todos los casos la

presencia de miel se relaciona con una menor emergencia de larvas, el motivo directo de esto es la mayor parasitación.

El porcentaje de huevos de *T. absoluta* muertos es bastante elevado en los tres tratamientos con suplemento azucarado, alcanzando un $22,7 \pm 12,1\%$ en los huevos de mediana edad. En el tratamiento con huevos de menos de 24 horas de edad el porcentaje de mortalidad es también alto ($20,7 \pm 10,6\%$), lo que da un porcentaje de emergencia de larvas muy pequeño ($1,3 \pm 1,8\%$), dato prometedor para el control biológico de este lepidóptero, ya que si esa emergencia correspondiera con la real en campo, los daños sobre el cultivo serían mínimos. Sin embargo, la emergencia de larvas de la plaga para el tratamiento de huevos de 48-72 horas de vida es mucho más elevada, alcanzando un $32,0 \pm 15,0\%$, porcentaje preocupante si se lleva a condiciones de cultivo.

En todos los casos existe un mayor porcentaje de parasitación, da igual la edad del huevo, cuando hay azúcar disponible para los parasitoides, lo que puede explicarse por la mayor supervivencia de las hembras gracias al suplemento azucarado, y por tanto mayor tiempo disponible para la parasitación, esto lo estudiaremos en el siguiente apartado.

4.1.2. Longevidad de *T. cacoeciae* en función de la presencia o ausencia de suplemento azucarado y su relación con la parasitación para el primer ensayo

La tabla 5 muestra los datos de longevidad de los parasitoides en días, tras haber sido expuestos o no a huevos de distintas edades y en presencia o ausencia de una fuente azucarada.

La longevidad de las hembras de parasitoides se ve claramente incrementada por la presencia del suplemento azucarado, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos con miel y sin miel. Si calculamos la media de supervivencia de los tratamientos con miel, esta resulta de $8,3 \pm 1,8$ días, llegando a aumentar en cerca de tres días la supervivencia de los tricogramátidos, cuya longevidad media es de $4,9 \pm 1,4$ días en los tratamientos sin miel. La supervivencia mayor corresponde al tratamiento <24h miel con avispa de $9,0 \pm 2,0$ días de longevidad y los tratamientos con menor longevidad del parasitoide son los de huevos de 24-48 y 48-72 horas de vida sin miel con $4,4 \pm 1,9$ y $4,4 \pm 0,5$ días de vida de los parasitoides respectivamente.

Tabla 5. Longevidad en días de las hembras de *T. cacoeciae* expuestas a huevos de distintas edades o sin huevos y con presencia o ausencia de miel en condiciones de laboratorio (25°C, HR≥60 % y oscuridad).

Tratamientos	Longevidad del parasitoide (días)
Con miel / <24 h	9,0 ± 2,0 Ab*
Con miel / 24-48 h	8,2 ± 2,4 Ab
Con miel / 48-72 h	8,2 ± 1,8 Ab
Con miel / no huevos	7,8 ± 1,5 Ab
Sin miel / <24 h	5,0 ± 0,7 Aa
Sin miel / 24-48 h	4,4 ± 1,9 Aa
Sin miel / 48-72 h	4,4 ± 0,5 Aa
Sin miel / no huevos	6,0 ± 1,7 Aa
Valor-P Edad huevos	0,4974
Valor-P Suplem. alimenticio	0,0000
Valor-P Interacciones	0,4571

* Los valores seguidos de diferente letra mayúscula señalan diferencias significativas para la edad del huevo, y de diferente letra minúscula diferencias significativas para suplemento alimenticio, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

Si comparamos la longevidad de las hembras para una misma edad de huevos, por ejemplo <24h, vemos que en el caso en el que no se le proporciona suplemento azucarado a los parasitoides, la longevidad es de $5,0 \pm 0,7$ días, llegando a ser cuatro días menor que al proporcionar miel. En los tratamientos testigo, sin huevos, se observa exactamente lo mismo, en el que hay suplemento azucarado la longevidad es significativamente mayor ($7,8 \pm 1,5$ días) que en el que no se les ofrece la miel ($6,0 \pm 1,7$ días). Según estos datos, la longevidad de *T. cacoeciae* se ve aumentada con la presencia de una fuente azucarada, sin que influya en ella la disposición o no de huevos que parasitar para la hembra, ni la edad de los mismos, ya que no existen diferencias significativas. Esto nos indica que el posible fenómeno de “hostfeeding” o no se está llevando a cabo o no influye en la longevidad de estos parasitoides para nuestras condiciones. Además, en este caso no existe ningún efecto aditivo de las variables presencia o ausencia de huevo de distintas edades y suplemento alimenticio, como se observa en la tabla 6, ya que el *valor-P* de la interacción entre las variables es mayor a 0,05.

En nuestro experimento, la presencia de miel ha supuesto siempre un aumento de la longevidad de las hembras con diferencias significativas respecto a los tratamientos sin miel (tabla 5). Koen y Lynell (2002) obtuvieron resultados similares en cuanto a la longevidad de las hembras de *T. cacoeciae*, la cual se veía altamente incrementada con la presencia de un suplemento alimenticio (miel). Puede decirse, por tanto, que la habilidad de las hembras del

parasitoide para ovipositar en los huevos huésped está relacionada con su longevidad, como ocurre en el caso de *T. brassicae* cuya parasitación total sobre huevos de *S. cerealella* estaba correlacionada positivamente con la longevidad de los parasitoides (Hassan y Zhang, 2001). El hecho de que la presencia de una fuente azucarada aumente la supervivencia de las hembras explica que la parasitación final sea significativamente mayor para todas las edades de huevo con suplemento azucarado, y esta diferencia se observa a partir del octavo día tras la suelta del parasitoide, es decir, con las hembras sin miel ya muertas e inhabilitadas para parasitar (tabla 3). Con la miel se alargan los días de vida haciendo que los parasitoides estén activos durante más tiempo y aumente su capacidad de parasitación. En diferentes estudios sucede de igual manera con otros tricogramátidos, como las hembras de *Trichogramma maidis* y de *Trichogramma nagarkatti* que presentan una longevidad y número de huevos parasitados menor cuando no se les aporta alimento que si se les ofrece miel durante toda su vida (Anunciada y Voegelé, 1982).

4.2.- Parasitación in vitro de *Trichogramma cacoeciae* sobre huevos de *Tuta absoluta* para el segundo ensayo

En este segundo ensayo de laboratorio se estudió la capacidad de parasitación de las hembras de *T. cacoeciae* sobre 30 huevos de cuatro diferentes edades (<24, 24-48, 48-72 y 72-96 horas) con y sin suplemento azucarado, la longevidad de las mismas y la influencia de estos factores sobre la parasitación. Se estudiaron también los datos de emergencia de larvas de *T. absoluta* y la mortalidad de huevos por otras causas tras haber estado expuestos a los parasitoides. El experimento se diseñó con 11 tratamientos y 5 repeticiones cada uno (descritos en el apartado de “Material y Métodos”), utilizando el último como testigo sin enfrentar los huevos al parasitoide. La realización del mismo se llevó a cabo bajo condiciones de temperatura y humedad controladas en una cámara climatizada (22-32°C; 35-75% HR y 16:8 h luz), en la que las oscilaciones de temperatura y humedad fueron mayores que en el primer ensayo.

En la tabla 6 se muestran los datos recogidos a lo largo del ensayo, en las distintas lecturas, de porcentaje de parasitación de *T. cacoeciae* de aquellos tratamientos en los que se enfrenta a la hembra del parasitoide a huevos de la plaga de distintas edades y en presencia o ausencia de suplemento azucarado. Fue cuatro días después del comienzo del ensayo, cuando aparecieron las primeras pupas negras en todos los tratamientos con huevos de más de 48 horas de edad, igual que sucedió en el primer ensayo, debido al más temprano oscurecimiento de los huevos más desarrollados.

Tabla 6. Porcentaje de huevos parasitados de *T. absoluta* para diferentes edades del huevo, tras haber estado expuestos al parasitoide *T. cacoeciae* en presencia o ausencia de miel y en condiciones de laboratorio (22-32°C, 35-75% HR y 16:8 h luz).

Tratamientos	Días tras la suelta de parasitoides				
	4	5	6	7	8
Con miel <24 h	0,0 Aa*	13,3 ± 24,4 Aa	14,0 ± 25,9 Aa	15,3 ± 25,6 Aa	15,3 ± 25,6 Aa
Con miel 24-48 h	0,0 Aa	6,7 ± 7,8 Aa	10,0 ± 15,1 Aa	12,0 ± 19,5 Aa	12,0 ± 19,5 Aa
Con miel 48-72 h	1,3 ± 2,9 Aa	4,0 ± 8,9 Aa	4,7 ± 10,4 Aa	5,3 ± 11,9 Aa	5,3 ± 11,9 Aa
Con miel 72-96 h	1,3 ± 1,8 Aa	1,3 ± 1,8 Aa	1,3 ± 1,8 Aa	1,3 ± 1,8 Aa	1,3 ± 1,8 Aa
Sin miel <24 h	0,0 Aa	11,3 ± 14,1 Aa	12,0 ± 15,0 Aa	12,7 ± 15,8 Aa	13,3 ± 16,8 Aa
Sin miel 24-48 h	0,0 Aa	12,0 ± 23,3 Aa	12,7 ± 23,1 Aa	12,7 ± 23,1 Aa	12,7 ± 23,1 Aa
Sin miel 48-72 h	10,0 ± 14,9 Aa	19,3 ± 27,1 Aa	19,3 ± 27,1 Aa	19,3 ± 27,1 Aa	19,3 ± 27,1 Aa
Sin miel 72-96 h	1,3 ± 2,9 Aa	1,3 ± 2,9 Aa	1,3 ± 2,9 Aa	1,3 ± 2,9 Aa	1,3 ± 2,9 Aa
Valor-P Edad huevos	0,0730	0,4090	0,3916	0,3591	0,3554
Valor-P Suplem. alimenticio	0,3807	0,6261	0,6749	0,7639	0,7541
Valor-P Interacciones	0,3931	0,7952	0,8143	0,8187	0,8218

* Para cada lectura, valores seguidos de diferente letra mayúscula dentro de una misma columna señalan diferencias significativas para la edad del huevo, y diferente letra minúscula señalan diferencias significativas para suplemento alimenticio, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

En la segunda lectura, que correspondía al quinto día, todos los tratamientos presentaban parasitación, pero en los tratamientos de huevos de 72-96 horas con y sin miel, el porcentaje de parasitación fue el mismo que en la primera lectura ($1,3 \pm 1,8$ y $1,3 \pm 2,9\%$ respectivamente), permaneciendo igual hasta el final del ensayo. Esta parasitación tan baja señala que los parasitoides apenas ovipositaron sobre los huevos de *T. absoluta* de más de 72 horas debido a su avanzado estado de desarrollo; estos resultados coinciden con los que presentan Moreno *et al.* (2009), en los que *T. cacoeciae* prefiere los huevos de menos de 72 horas de vida de *Lobesia botrana*.

A partir del quinto día no hubo apenas cambios en el número de huevos parasitados, aumentando levemente solo en algunos tratamientos hasta el octavo día, a partir del cual no se observó más parasitación. En este caso las lecturas acabaron 4 días antes que en el primer ensayo, durando la actividad de parasitación de las hembras mucho menos y repercutiendo, sin duda, en la parasitación final. Como consecuencia, esta resultó mucho menor, siendo el

dato de más alta parasitación final (huevos de 48-72 horas de edad y sin miel) de $19,3 \pm 27,1\%$, un porcentaje menor que el de cualquier tratamiento del primer ensayo (ver tabla 1).

En general, los valores de parasitación observados son mucho menores que los del ensayo anterior y que los citados en la bibliografía cuando se enfrenta a otros huéspedes, como es *Enarmonia formosana*, con una parasitación del 55% (Koen y Lynell, 2002). Además, como se observa en la tabla 6, el *valor-P* de la interacción entre las variables es siempre $> 0,05$, por lo que no existe ningún efecto aditivo, los dos factores actuaron de forma independiente sobre el número de huevos parasitados. Esta menor parasitación puede atribuirse a una mala adaptación de los parasitoides a las condiciones del ensayo, más próximas a las condiciones de campo que las del ensayo anterior.

4.2.1. Influencia de la edad del huevo de *Tuta absoluta* y del suplemento alimenticio en el control *in vitro* de *T. cacoeciae* para el segundo ensayo

A continuación se muestra la tabla 7, en la que se recogen los datos finales de porcentaje de parasitación de *T. cacoeciae*, de porcentaje final de emergencia de larvas de *T. absoluta* y de porcentaje final de huevos muertos de *T. absoluta* por causa desconocida, todo ello en función de la edad del huevo de *T. absoluta* y en presencia o ausencia de suplemento azucarado para el parasitoide. También se muestran los datos de porcentaje de emergencia de larvas y de mortalidad natural de huevos del tratamiento testigo.

La edad de los huevos de *T. absoluta* no actúa como factor influyente en la parasitación final para estas condiciones, no existen diferencias significativas entre edades. En los tratamientos con suplemento alimenticio sí se observa una ligera tendencia, con una mayor parasitación de los huevos más jóvenes, pero en los tratamientos sin miel, ni siquiera se cumple esta tendencia.

Al contrario de lo esperado, la presencia de suplemento azucarado para los parasitoides no provocó diferencias significativas en la parasitación de huevos, es más, para una de las edades de huevos (48-72 h) es bastante mayor la parasitación en el caso en el que la avispa no disponía de la miel.

El porcentaje de emergencia de larvas de *T. absoluta*, no presenta diferencias significativas para ninguno de los dos factores estudiados y además se encuentra entre unos valores muy por encima de los esperados para un buen control de la plaga y muy superiores a los del ensayo 1. Otra vez sin diferencias significativas, los valores de emergencia más altos corresponden con los valores de parasitación final más bajos (huevos de 72-96 h de edad) con una emergencia de larvas superior al 90%.

Tabla 7. Porcentajes finales de huevos parasitados de *T. absoluta* para diferentes edades del huevo, tras haber estado expuestos al parasitoide *T. cacoeciae* en ausencia y presencia de una fuente azucarada; porcentaje final de larvas de *T. absoluta* emergidas; y porcentaje final de huevos de *T. absoluta* muertos por causa desconocida. En condiciones de laboratorio (22-32°C, 35-75% HR y 16:8 h luz).

Tratamientos	% Final de parasitación	% Larvas de <i>T. absoluta</i> emergidas	% Huevos de <i>T. absoluta</i> muertos
Sin miel / <24 h	13,3 ± 16,8 Aa*	78,7 ± 20,6 Aa	8,0 ± 4,4 ABa
Sin miel / 24-48 h	12,7 ± 23,1 Aa	80,7 ± 25,2 Aa	6,7 ± 5,2 ABa
Sin miel / 48-72 h	19,3 ± 27,1 Aa	72,7 ± 25,9 Aa	8,0 ± 1,8 Ba
Sin miel / 72-96 h	1,3 ± 2,9 Aa	94,6 ± 4,4 Aa	4,0 ± 3,6 Aa
Con miel / <24 h	15,3 ± 25,6 Aa	75,3 ± 30,4 Aa	9,3 ± 5,9 ABa
Con miel / 24-48 h	12,0 ± 19,5 Aa	80,7 ± 20,0 Aa	7,3 ± 5,4 ABa
Con miel / 48-72 h	5,3 ± 11,9 Aa	78,0 ± 20,1 Aa	16,7 ± 9,1 Ba
Con miel / 72-96 h	1,3 ± 1,8 Aa	91,3 ± 10,4 Aa	7,3 ± 9,2 Aa
Testigo (solo huevos)	-	92,0 ± 6,9	8,0 ± 6,9
Valor-P Edad huevos	0,3554	0,3270	0,0495
Valor-P Suplem. alimenticio	0,7541	0,9333	0,1725
Valor-P Interacciones	0,8218	0,9130	0,8081

* Para cada dato estudiado, los valores seguidos de diferente letra mayúscula dentro de una misma columna señalan diferencias significativas para la edad del huevo, y de diferente letra minúscula señalan diferencias significativas para suplemento alimenticio, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

En el porcentaje de mortalidad de huevos de *T. absoluta* existen diferencias significativas para la edad del huevo. Esto resulta difícil de interpretar después de ver que en los otros dos datos no hay diferencias significativas entre tratamientos. Podríamos suponer que los huevos más jóvenes han sido más apetecibles o para intento de parasitación o para hostfeeding. Sin embargo, no existe correlación entre más edad y menos muerte, ya que los tratamientos de 96 horas sin miel y con miel sí tienen las mortalidades bajas, pero los tratamientos que presentan una mortalidad de huevos mayor, en lugar de ser los de huevos más jóvenes, son los tratamientos de 48-72 horas de edad. Si revisamos en la bibliografía, encontramos que Pizzol *et al.* (2012) no vieron diferencias significativas en la mortalidad de huevos de *L. botrana* (causada por parasitación y aborto) expuestos a *T. cacoeciae* en función de la edad de los mismos.

A pesar de que existen referencias que presentan a *T. cacoeciae* como un parasitoide que realiza hostfeeding sobre otros hospedantes (Makee, 2005), podemos deducir que el efecto hostfeeding no se está llevando a cabo en este ensayo, ya que la mortalidad de huevos no se ve reducida en los tratamientos con presencia de miel. Podría ocurrir que *T. cacoeciae* realizara una alimentación sobre el huésped no destructiva, como cita Lessard

(2013), que describe como la avispa se alimenta de los mismos huevos que parasita, y por tanto, no influyera para nada en el control de la plaga.

4.2.2. Longevidad de *T. cacoeciae* en función de la presencia o ausencia de suplemento azucarado y su relación con la parasitación para el segundo ensayo

La tabla 9 muestra los datos de longevidad de los parasitoides en días, tras haber sido expuestos o no a huevos de distintas edades y en presencia o ausencia de una fuente azucarada.

Tabla 9. Longevidad en días de las hembras de *T. cacoeciae* expuestas a huevos de distintas edades o sin huevos y con presencia o ausencia de miel en condiciones de laboratorio (22-32°C, 35-75% HR y 16:8 h luz).

Tratamientos	Longevidad del parasitoide (días)
Con miel / <24 h	4,4 ± 1,8 Bb*
Con miel / 24-48 h	5,6 ± 1,1 Cb
Con miel / 48-72 h	4,6 ± 1,5 Bb
Con miel / 72-96 h	4,2 ± 0,8 Bb
Con miel / no huevos	2,8 ± 0,8 Ab
Sin miel / <24 h	3,2 ± 0,8 Ba
Sin miel / 24-48 h	4,6 ± 0,5 Ca
Sin miel / 48-72 h	3,2 ± 1,3 Ba
Sin miel / 72-96 h	3,0 ± 1,4 Ba
Sin miel / no huevos	1,6 ± 0,5 Aa
Valor-P Edad huevos	0,0000
Valor-P Suplem. alimenticio	0,0006
Valor-P Interacciones	0,8868

* Los valores seguidos de diferente letra mayúscula señalan diferencias significativas para la edad del huevo, y de diferente letra minúscula denotan diferencias significativas para suplemento alimenticio, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

La presencia de una fuente azucarada vuelve a prolongar la longevidad de los tricogramátidos, con diferencias significativas respecto a la ausencia de miel para todos los tratamientos, coincidiendo con los resultados del ensayo 1 y de distintos autores ya citados anteriormente. Sin embargo, esta vez, se alargó la supervivencia de las avispas una media de 1 día y en el ensayo anterior casi 3, por lo que es un aumento más leve de la longevidad. La mayor longevidad no se ve reflejada en el aumento del porcentaje de parasitación sin coincidir con dicha bibliografía (Koen y Lynell, 2002; Hassan y Zhang, 2001 y Anunciada y Voegelé, 1982).

También existen diferencias significativas para el segundo factor, la disponibilidad de huevos del huésped y su edad, siendo distintos estos resultados a los del ensayo anterior. Los tratamientos en los que las hembras no disponen de huevos del huésped, tienen una longevidad significativamente menor que en los que sí tienen huevos disponibles, sin llegar a los tres días de vida, igual que ocurre en los ensayos de distintos autores, en los que la vida de *T. cacoeciae* se extendía de 5 a 9 días cuando disponían de huevos de *Cydia pomonella* (Makee, 2005) o cuando disponían de huevos de *Ephestia elutella* (Schöller y Hassan, 2001).

La edad de huevos del huésped que da lugar a una vida más longeva de los parasitoides es la de 24-48 horas, llegando a los $5,6 \pm 1,1$ días cuando hay presencia de miel. Dado que el porcentaje de mortalidad para los huevos de 24-48 horas no es significativamente mayor que el del resto de edades (tabla 8), no puede decirse que las hembras hayan mostrado una preferencia en la alimentación por ellos y así, su vida se haya alargado, a no ser que el hostfeeding fuera no destructivo (Lessard, 2013).

Comparando este ensayo con el primero, la longevidad de las hembras de *T. cacoeciae* se ve muy disminuida en el segundo, siendo menor que la encontrada en la bibliografía que cita entre 19,9 y 4,5 (Lewis *et al.*, 1976), o 10 días para condiciones de laboratorio muy similares a las nuestras (Hassan y Abdelgader, 2001). La baja parasitación podría quedar explicada por esta disminución de la longevidad de los parasitoides, la cual se debería a las distintas condiciones ambientales del ensayo.

4.2.3. Influencia de las condiciones ambientales en los parasitoides

En general, se observa que los valores de parasitación de este ensayo son mucho menores que los del anterior. Esto se puede explicar por las condiciones ambientales oscilantes y discontinuas que variaron de los 22 a los 32°C de temperatura, de 35 a 75% de humedad relativa y con 16 horas de luz frente a las condiciones continuas del primer ensayo que consistieron en 25°C, HR \geq 60 % y oscuridad .

Como ya explicamos en la revisión bibliográfica, la actividad parasitaria de los tricogramátidos depende de muchos factores, entre los abióticos destaca la temperatura que ejerce una influencia muy fuerte en las características biológicas de estos insectos (Pizzol *et al.*, 2010). Saour (2004) sitúa la temperatura óptima de parasitación de *T. cacoeciae* entre los 24 y 30 °C. En este ensayo se sobrepasa esta temperatura óptima dos grados por arriba y por abajo, pudiendo ser mayor la diferencia dentro de las placas Petri, provocando tal vez que los parasitoides disminuyeran su actividad parasitaria. La mala adaptación de los parasitoides a los cambios de temperatura y humedad que se daban en la cámara nos puede aproximar más a la realidad ya que en un invernadero la temperatura y humedad oscilan a lo largo del día.

Sin embargo, la diferencia en la longevidad de las avispas de los dos ensayos, nos hace pensar que la explicación más lógica para la baja parasitación del segundo ensayo sea la menor longevidad de los parasitoides. Pizzol *et al.*, 2010 citan la temperatura como factor determinante que afecta a la mortalidad de *T. cacoeciae*, con el porcentaje de mortalidad mayor observado a 30 °C. Así, podemos suponer que las condiciones ambientales provocaron la más temprana mortalidad de las avispas, y en consecuencia, la menor parasitación.

4.3.- Comparativa de la parasitación *in vitro* de *T. cacoeciae* y *T. achaeae* sobre huevos de *Tuta absoluta* en el tercer ensayo

En este ensayo se quiso comparar la capacidad de parasitación de las hembras de *T. cacoeciae* con las de *T. achaeae* sobre 40 huevos de entre 0 y 48 horas de edad y en presencia de suplemento azucarado, la longevidad de las mismas y la influencia de la longevidad del parasitoide sobre la parasitación. Para ello se diseñó un experimento con 2 tratamientos y 5 repeticiones cada uno (descritos en el apartado de “Material y Métodos”). Este ensayo se llevó a cabo bajo condiciones de temperatura y humedad muy controladas en una estufa (25°C; HR≥60% y oscuridad), en la que las oscilaciones fueron mínimas.

A continuación, se muestran en la tabla 10, los datos recogidos a lo largo del ensayo, en las distintas lecturas, de porcentaje de parasitación de *T. cacoeciae* y *T. achaeae*. Con la aparición de las primeras pupas negras se empezaron a tomar datos de parasitación en el quinto día del ensayo, hasta el noveno, en el que cesaron de aparecer huevos parasitados en los dos tratamientos. La duración de la actividad parasitaria de ambas especies estudiadas coincidió, siendo de 5 días. Si lo comparamos con la actividad parasitaria de *T. cacoeciae* del primer ensayo (9 días), vemos que es mucho menor, esto a su vez, estará relacionado con la longevidad de los parasitoides.

Tabla 10. Porcentaje de huevos parasitados de *T. absoluta* de 0 a 48 horas de edad, tras haber estado expuestos a los diferentes parasitoides (*T. cacoeciae* y *T. achaeae*) en presencia de miel y en condiciones de laboratorio (25°C, HR≥60 % y oscuridad).

Tratamientos	Días tras la suelta de parasitoides				
	5	6	7	8	9
<i>T. achaeae</i>	20,0 ± 18,8 a*	39,5 ± 36,2 a	40,5 ± 37,0 a	43,0 ± 39,5 a	43,5 ± 39,8 a
<i>T. cacoeciae</i>	8,0 ± 7,8 a	20,5 ± 10,5 a	33,5 ± 14,3 a	40,0 ± 18,7 a	41,5 ± 20,1 a
Valor-P Parasitoide	0,5885	0,8545	0,4979	0,4420	0,4329

* Para cada lectura, valores seguidos de diferente letra dentro de una misma columna señalan diferencias significativas, según el análisis de la varianza ($P<0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

No se observan diferencias significativas en el porcentaje de parasitación de los dos tricogramátidos en ninguna de las lecturas realizadas. Si comparamos los datos de las primeras lecturas de los ensayos anteriores, *T. achaeae* mostró en este caso, un porcentaje de parasitación elevado ($20,0 \pm 18,8$ %) siendo ligeramente superior el porcentaje de parasitación de *T. cacoeciae* ($8,0 \pm 7,8$ %) sin mostrar diferencias significativas. *T. achaeae* fue aumentando el número de pupas negras hasta el séptimo día en el que el porcentaje de parasitación se establece prácticamente con un $40,5 \pm 37,0$ % y subiendo solo hasta $43,5 \pm 39,8$ %, en la última lectura. *T. cacoeciae*, sin embargo, aumenta el número de huevos parasitados más lentamente hasta la última lectura en la que se estanca con $41,5 \pm 20,1$ %, porcentaje muy elevado y sin diferencias significativas con el del otro parasitoide.

Tabla 11. Porcentajes finales de huevos parasitados de *T. absoluta* de 0 a 48 horas de edad, tras haber estado expuestos a los parasitoides *T. cacoeciae* y *T. achaeae* en presencia de una fuente azucarada; porcentaje final de larvas de *T. absoluta* emergidas; y porcentaje final de huevos de *T. absoluta* muertos por causa desconocida. En condiciones de laboratorio (25°C , $\text{HR} \geq 60$ % y oscuridad).

Tratamientos	% Final de parasitación	% Larvas de <i>T. absoluta</i> emergidas	% Huevos de <i>T. absoluta</i> muertos
<i>T. achaeae</i>	$43,5 \pm 39,8$ a*	$48,0 \pm 40,13$ a	$8,5 \pm 4,5$ a
<i>T. cacoeciae</i>	$41,5 \pm 20,1$ a	$48,0 \pm 23,68$ a	$10,5 \pm 4,8$ a
Valor-P Parasitoide	0,4329	0,6414	0,4964

* Para cada dato estudiado, los valores seguidos de diferente letra dentro de una misma columna señalan diferencias significativas, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

T. achaeae ha sido muy estudiado como parasitoide de *T. absoluta*, en otros trabajos de laboratorio su porcentaje de parasitación es muy variable, alcanzando en ocasiones el 100 % (Cabello *et al.*, 2009b) o sin llegar al 40 % (Saelizes *et al.*, 2012), encontrándose nuestros resultados en una situación intermedia (tabla 11).

El porcentaje de larvas de *T. absoluta* emergidas, que es el dato que realmente nos dice el control que ejerce el parasitoide sobre la plaga, es exactamente igual para los dos tratamientos (48%). No existen diferencias significativas para ningún dato de la tabla 11, siendo los P-valores siempre mayores a 0,05. Con un porcentaje de parasitación y de emergencia de larvas prácticamente igual, cabía esperar que tampoco existieran diferencias significativas en la mortalidad de huevos de *T. absoluta*, dándose probablemente una muerte natural ya que se aproxima muchísimo al porcentaje de mortalidad natural hallado en el segundo ensayo (8 %). Por lo que se asume que las hembras tanto de *T. cacoeciae* como de *T. achaeae* no se han alimentado de los huevos coincidiendo con los resultados de Cabello *et al.*, 2009 en los que el parasitoide *T. achaeae* en presencia de miel no se alimentó de huevos de *T. absoluta*.

T. achaeae está siendo utilizada en campo con buenos resultados para el control de *T. absoluta* (Desneux *et al.*, 2010; Chailleux *et al.*, 2012). La similitud de resultados que muestra *in vitro* con nuestro parasitoide en estudio, *T. cacoeciae*, le hace a este interesante para su estudio bajo condiciones de invernadero.

4.3.1. Longevidad de los parasitoides y su relación con la parasitación

La tabla 12 muestra los datos de longevidad de los parasitoides *T. cacoeciae* y *T. achaeae* en días, tras haber sido expuestos a huevos de *T. absoluta* de 0 a 48 horas de edad y en presencia de una fuente azucarada.

Tabla 12. Longevidad en días de las hembras de *T. cacoeciae* y *T. achaeae* expuestas a huevos de 0 a 48 horas de edad o sin huevos y con presencia de miel en condiciones de laboratorio (25°C, HR≥60 % y oscuridad).

Tratamientos	Longevidad del parasitoide (días)
<i>T. achaeae</i>	5,4 ± 1,7 a*
<i>T. cacoeciae</i>	6,8 ± 2,5 a
Valor-P Parasitoide	0,3003

* Los valores seguidos de diferente letra señalan diferencias significativas, según el análisis de la varianza ($P < 0,05$). Cada valor es media de 5 repeticiones.

No se vieron diferencias significativas entre la longevidad de las dos especies de *Trichogramma*, por lo que se puede comparar la capacidad de parasitación sin que influya este factor. En la bibliografía existe mucha información acerca de la longevidad de estos parasitoides, por ejemplo, Guerrero (2011) estudió la longevidad de hembras de *T. achaeae* en presencia de huevos de *E. kuehniella* y en condiciones de laboratorio muy similares a las nuestras (25±1°C, 80-60% H.R. y 16:8 horas de L:O) siendo de 7,3 a 11,9 días de vida, longevidad bastante mayor que los 5,4 ± 1,7 días de nuestro ensayo. Para *T. cacoeciae* podemos comparar la longevidad hallada en el primer ensayo, con las mismas condiciones ambientales, que fue como mínimo de 8,2 ± 2,4 días (para la misma edad de huevo y presencia de miel), siendo menor en este caso con 6,8 ± 2,5 días de vida. Si lo comparamos con otras referencias ya citadas (en el apartado 4.2.2.) también son menores las obtenidas en nuestro tercer ensayo.

4.4.- Parasitación de *Trichogramma cacoeciae* sobre huevos de *Tuta absoluta* en finca experimental sobre cultivo de tomate

Una vez terminados los ensayos *in vitro*, el siguiente paso fue evaluar al parasitoide en campo, por lo que se realizó un estudio en finca experimental llevando a cabo un manejo integrado de la plaga, intentando evitar lo máximo posible los tratamientos que pudieran ser

perjudiciales para los enemigos naturales, todo ello bajo las condiciones ya explicadas en material y métodos.

4.4.1. Monitoreo de *T. absoluta* mediante trampas de agua con feromonas

Cuando la densidad de la plaga es baja (principio del cultivo), las poblaciones de *T. absoluta* son discretas, por lo que las sueltas de enemigos naturales deberán ser masivas y periódicas para que actúen sobre un estadio concreto, en este caso los tricogramátidos atacarán al huevo (Cabello, 2009). El monitoreo de la plaga mediante las trampas de agua con feromonas permitió conocer el momento óptimo de suelta de los parasitoides de huevos de *T. absoluta*, ya que cuando la presencia de adultos en el invernadero era mayor, se suponía el momento en el que se producirían más puestas. Para observar la parasitación del himenóptero, el momento óptimo de suelta de *T. cacoeciae* se consideraba aquel con más adultos capturados en las trampas, y a su vez, más huevos de *T. absoluta* en la planta.

En octubre se vio un aumento de capturas en las trampas, por lo que se realizó una suelta semanal de *T. cacoeciae*, con dosis de 30-60 individuos/m², hasta finales de noviembre donde se observó un descenso en la población de adultos de *T. absoluta* (Figura 31). La utilización de una dosis de “choque” suficiente para causar la mortalidad de la plaga en pocos días, sobre el estadio susceptible, es una técnica empleada también en otros experimentos similares (Cabello *et al.*, 2012), en los que el parasitoide en estudio era *T. achaeae* y las dosis algo mayores con 50 individuos/m² dos veces en semana.

Más avanzada la campaña, en enero, se vio un pico en el número de adultos capturados, llegando a los 400 individuos por trampa, por lo que se recurrió a una última suelta de parasitoides, ya que el ciclo de cultivo se encontraba próximo a su fin.

Además de la función de conteo de adultos, las trampas pudieron también ayudar al manejo de la plaga, reduciendo el número de adultos, llegando a capturar más de 400 individuos cada semana entre las cuatro trampas, con un máximo de 1600 individuos en una sola semana, aunque al no disponer de parcela control sin trampas, no se puede afirmar esta observación. Otros autores coinciden en capturas de cantidades muy elevadas de polillas con la utilización de trampas de feromonas (Van der Blom *et al.*, 2011), ejerciendo además del papel de monitoreo, un control de los adultos eficaz, sumado a las demás medidas culturales establecidas.

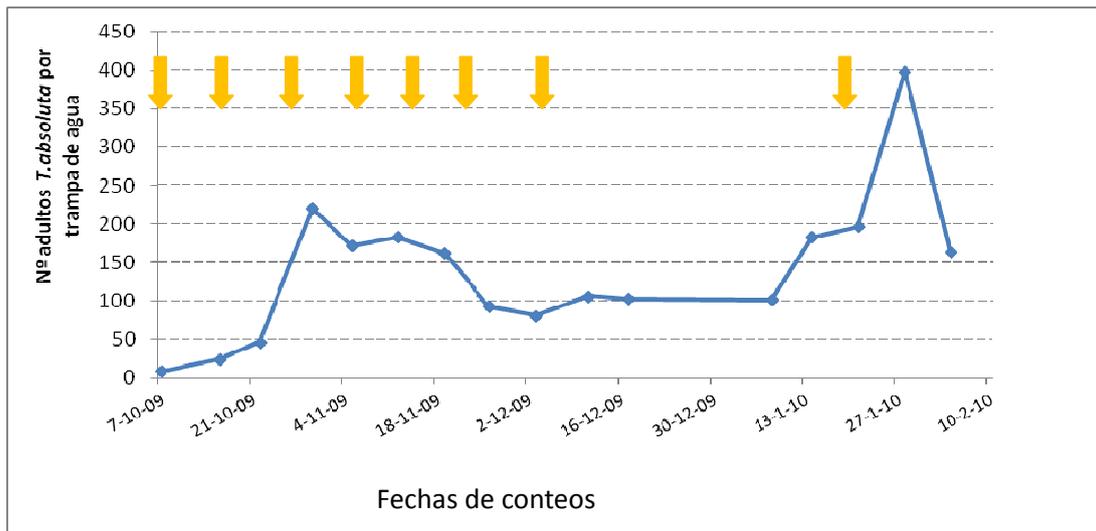


Figura 31. Promedio del número de adultos de *T. absoluta* capturado en las cuatro trampas de agua del invernadero. Las flechas naranjas representan las sueltas de *T. cacoeciae*.

4.4.2. Evolución de la población de la plaga sobre el cultivo

La figura 32 muestra la evolución de la población de la plaga en estudio, presentando la media del número de galerías de *T. absoluta* contabilizadas en cada planta de los 40 bloques del invernadero, en las lecturas semanales a lo largo del ciclo de cultivo.

Se ajustó una línea de regresión para demostrar la relación entre estas dos variables, número de galerías de *T. absoluta* y tiempo, la ecuación para el ajuste de la línea fue $Y=0,7083x-28416$ y el valor del coeficiente de determinación $R^2 = 0,9913$ (figura 32). En esta regresión se observa cómo el número de galerías en planta crece linealmente con el transcurso del tiempo, desde noviembre hasta el final del conteo en diciembre.

Las primeras lecturas desde septiembre a principios de noviembre no aparecen representadas en la figura debido al bajo número de galerías encontradas en el invernadero, sin llegar a ser representativas. La presencia de la plaga se hace notar en hoja a partir de la lectura del 5 de noviembre con unas $3,7 \pm 4$ galerías por planta. Desde ese momento, existe un crecimiento lineal a lo largo del tiempo del número de galerías en todo el invernadero, llegando a alcanzar a finales de diciembre una media de $32,5 \pm 12,3$ galerías por planta. Sin embargo, según otros autores, el crecimiento de la plaga en condiciones favorables es exponencial (Pereyra y Sánchez 2006).

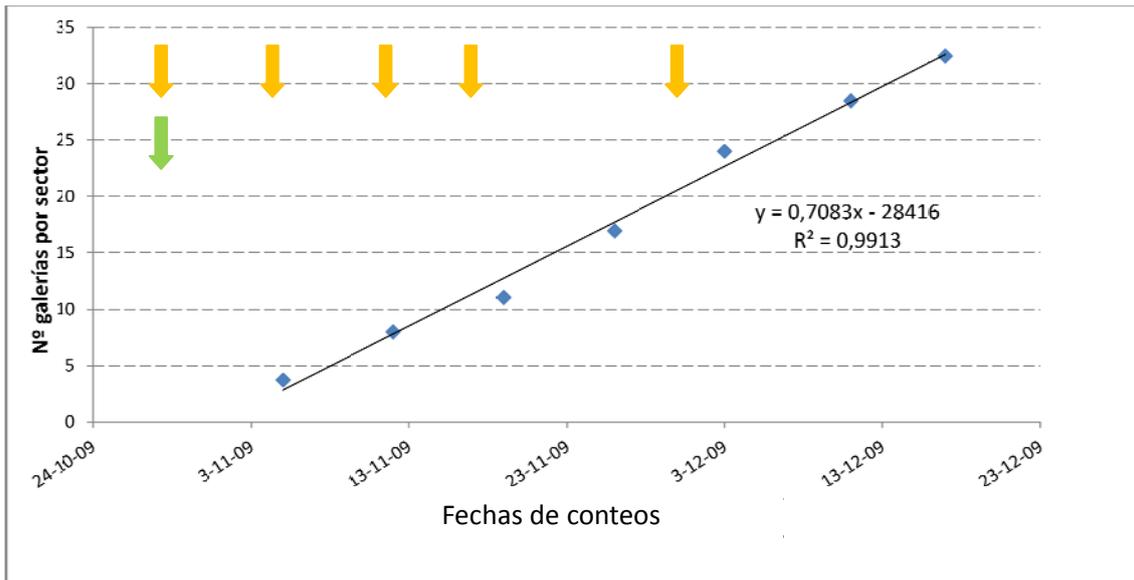


Figura 32. Evolución del número de galerías de *T. absoluta* en el invernadero. Las flechas naranjas representan las sueltas de *T. cacoeciae* y las verdes las sueltas de *N. tenuis*.

4.4.2. Incidencia de plagas y enemigos naturales en el cultivo

En la Figura 33 se muestra la incidencia de los individuos de la plaga en estudio, *T. absoluta* (galerías y huevos), de otra plaga importante en tomate, *Bemisia tabaci* (larvas y adultos) y de uno de los enemigos naturales introducidos para la lucha contra ambas plagas durante el ensayo, *N. tenuis* (ninfas y adultos).

T. absoluta no llegó a alcanzar niveles de presencia significativos en el cultivo hasta principios de noviembre, probablemente gracias al adecuado cerramiento del invernadero y el trampeo de adultos. La figura 33 muestra como la población de *T. absoluta* no superó los 10 individuos por planta a lo largo del ensayo, siendo los umbrales de daño de individuos por planta mucho mayores. Algunos autores observaron que a partir de 26 larvas de *T. absoluta* por planta comenzaba la disminución en calidad y número de frutos de tomate (Cely, 2006).

En la segunda quincena de enero se produjo un notable aumento tanto de las larvas de la plaga como de huevos, aunque no llegó a ser un número preocupante ya que no alcanzó el umbral de daños y el cultivo estaba próximo a su fin.

La primera suelta de *N. tenuis* se realizó en septiembre ($0,5 \text{ ind/m}^2$), sin embargo, el mío no se instaló en el cultivo hasta noviembre, después de la segunda suelta (1 ind/m^2). Seguramente la implantación en el cultivo del depredador, *N. tenuis*, tuvo algo que ver en el control de la proliferación del lepidóptero en estudio, aunque a pesar de estar instalado en el cultivo, la población de *T. absoluta* siguió creciendo, sin llegar a controlarla. Algunos autores (Gabarra y Arnó, 2010) indican que la incidencia de *T. absoluta* es menor cuando se aplican estrategias de control biológico basadas en la utilización de depredadores polífagos (*N. tenuis*), sin embargo otros investigadores citan que estos depredadores no responden a

incrementos de las poblaciones de *T. absoluta* para nuestras condiciones de cultivos en invernaderos (Gómez *et al.*, 2009).

Por lo que respecta a la mosca blanca, *Bemisia tabaci*, no llegó a alcanzar niveles significativos. Estos resultados indican que *N. tenuis* mostró cierta actividad depredadora sobre la mosca blanca, reduciendo sus poblaciones. Durante la mayor parte del ciclo de cultivo se mantuvo un cierto equilibrio entre la población de mosca blanca y la del mírido depredador en el invernadero, que permitió mantener el nivel de esa plaga muy bajo. Hay que tener en cuenta que, *N. tenuis*, es capaz de alimentarse de larvas tanto de mosca blanca como de *T. absoluta*, así como de huevos y de otras especies, incluso de la propia planta. En nuestro ensayo no se ha observado interacción entre ambas plagas, además, no se conoce la predilección del mírido por la mosca blanca antes que por *T. absoluta*, siendo el control del mírido sobre *T. absoluta* igual en presencia de mosca blanca que en ausencia (Calvo *et al.*, 2012).

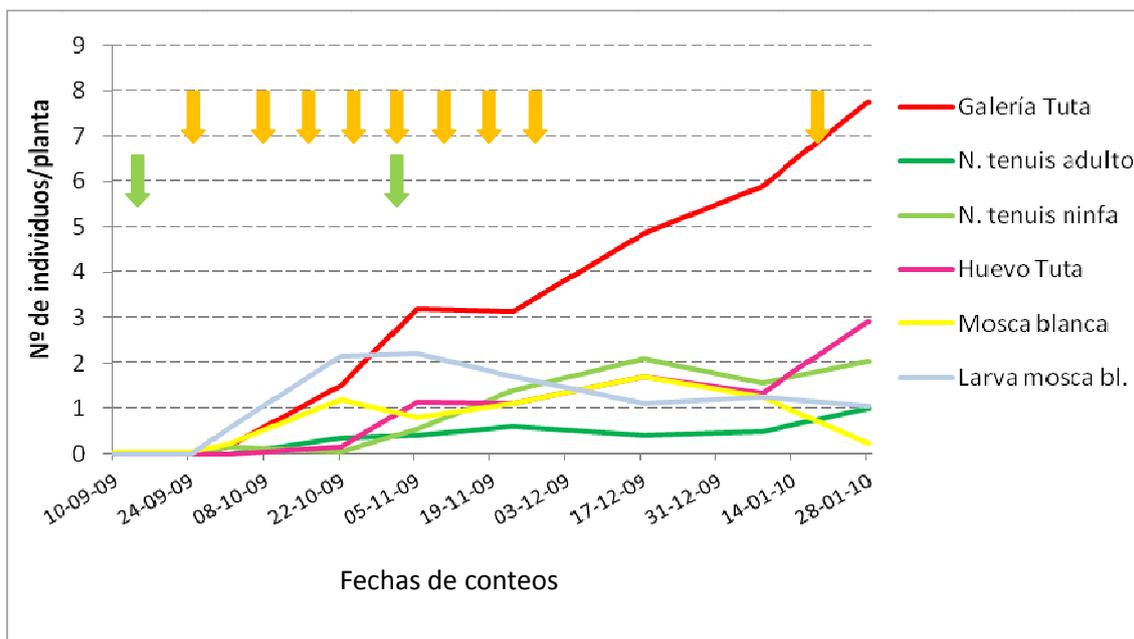


Figura 33. Evolución de las poblaciones de *T. absoluta*, mosca blanca y *N. tenuis* a lo largo del ciclo de cultivo. Las flechas naranjas representan las sueltas de *T. cacoeciae* y las verdes las sueltas de *N. tenuis*.

Debido al pequeño tamaño del parasitoide *T. cacoeciae*, no fue posible su conteo en el cultivo de forma visual, y no se encontraron además huevos parasitados. El motivo de la falta de parasitación quizá tenga que ver con una mala adaptación de los parasitoides al cultivo del tomate y al nuevo huésped, aunque son necesarias futuras líneas de investigación para apoyar esta idea. Todo parece indicar que la avispa tiene una reducida capacidad para moverse sobre la planta de tomate o a través del cultivo. Esta incapacidad sobre tomate se da también en otras especies de enemigos naturales, que mostrando una alta eficacia en otros cultivos, a nivel comercial no son utilizados por su incapacidad para instalarse en cultivo de tomate (Robledo *et al.*, 2009).

Sin embargo, el parasitoide *T. achaeae*, de la misma familia y con igual comportamiento que *T. cacoeciae* en nuestros ensayos de laboratorio, consigue un nivel de parasitismo sobre huevos de *T. absoluta* de $85,63 \pm 7,70\%$. Cabello *et al.*, (2012.) obtuvieron estos resultados en invernadero durante ciclo de invierno, tras periódicas sueltas con 50 adultos/m² dos veces en semana. Combinando *T. achaeae* y *N. tenuis*, Cabello *et al.*, 2009b obtuvieron un porcentaje de eficacia en el control de la plaga del 91,74%.

Otros autores han observado poblaciones de *T. absoluta* conviviendo únicamente con *N. tenuis*, estando instalado en el invernadero con una media de más de 1 individuo por planta (Van der Blom *et al.*, 2011), concluyendo que los míridos no muestran un control contundente sobre la plaga por sí solos. Por lo que, en nuestro ensayo, sin tener evidencias de parasitación, la baja incidencia de la plaga podría deberse, además de la acción de *N. tenuis* y de las medidas culturales adoptadas, a la bajada de temperaturas correspondiente a la época del año. Se ha estudiado, que en cultivos de otoño-invierno en invernaderos de Andalucía, los ataques de la plaga son menores y de más fácil control que los de primavera-verano (Cabello *et al.*, 2009c).

5.- CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas en el presente estudio de evaluación del parasitoide *T. cacoeciae* como parasitoide de huevos de *T. absoluta* bajo condiciones de laboratorio y bajo condiciones de campo en finca experimental son las siguientes:

- *Trichogramma cacoeciae* se ha mostrado como parasitoide de huevos de *Tuta absoluta* en condiciones de laboratorio, presentando un porcentaje de parasitación de hasta 78 %.
- La parasitación *in vitro* de *T. cacoeciae* se ha dado en huevos de *T. absoluta* de cuatro distintas edades, menos de 24, de 24 a 48, de 48 a 72 y de 72 a 96 horas, sin mostrar diferencias significativas de porcentaje de parasitación entre distintas edades.
- La longevidad del parasitoide *T. cacoeciae* se ha visto incrementada por la presencia de miel y ha influido significativamente en el porcentaje de parasitación de huevos de *T. absoluta*, siendo las avispas con suministro de miel las más longevas y las más activas.
- Las condiciones ambientales como la temperatura, humedad relativa y horas de luz, influyen en el comportamiento de la parasitación de *T. cacoeciae*, siendo mucho más activa en condiciones constantes con 25°C, HR≥60 % y oscuridad, que en condiciones oscilantes con 22-32°C, 35-75% HR y 16:8 h luz .
- Los parasitoides *T. cacoeciae* y *T. achaeae* han presentado un comportamiento similar en cuanto a la parasitación *in vitro* de *T. absoluta* para nuestras condiciones, sin mostrar diferencias significativas en el porcentaje de parasitación, el porcentaje de larvas de *T. absoluta* emergidas, porcentaje de mortalidad de huevos de *T. absoluta* y longevidad de las avispas.
- El manejo de *T. absoluta*, en un cultivo establecido en finca experimental, mediante trampas de agua con feromona y sueltas de *Nesidiocoris tenuis* y de *T. cacoeciae* ha permitido contralar eficazmente a la plaga, aunque no se ha visto que la avispa en estudio haya mostrado parasitación en el cultivo. La presencia de mosca blanca no parece haber influido en el control de *T. absoluta* y esta plaga ha sido controlada por *N. tenuis*.

6.- BIBLIOGRAFÍA

Agustí, N.; Aramburu, J. y Gabarra, R. 1999. Immunological detection of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) ingested by heteropteran predators: time-related decay and effect of meal size on detection period. *Ann Entomol Soc Am* 92:56–62.

Alomar, O.; Gabarra, R.; González, O. y Arnó, J. 2006. Selection of insectary plants for ecological infrastructure in Mediterranean vegetable crops. *IOBC/WPRS Bull* 20:5–8.

Alves, S.B. 1998. Fungos Entomopatogenicos. In: Alves, S.B. (Ed.), Controle microbiano de insetos. Fealq, Piracicaba, pp. 289–381.

Andrade, G.S.; Pratisoli, D.; Dalvi, L.P.; Desneux, N. y Gonçalves, H.J. 2011. Performance of four *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as biocontrol agents of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) under various temperature regimes. *J Pest Sci* 84:313–320.

Anunciada, L. y Voegelé, J. 1982. L'importance de la nourriture dans le potential biotique des *Trichogramma maidis* et *T. nagarkatti*, et l'oosorption dans le femelles en contention ovarienne. Les Trichogrammes, Antibes (France) I 20-23 avri 1, Ed. INRA Publ., (Les Colloques de INRA, 9): 79-84 pp.

Apablaza, J. 1992. La polilla del tomate y su manejo. *Tattersal* 79, 12–13.

Arnó, J.; Sorribas, R.; Prat, M.; Montse, M.; Pozo, C.; Rodriguez, D.; Garreta, A.; Gómez, A. y Gabarra, R. 2009. *Tuta absoluta*, a new pest in IPM tomatoes in the northeast of Spain. *IOBC/WPRS Bull* 49: 203–208.

Bajonero, J.; Córdoba, N.; Cantor, F.; Rodríguez, D. y Ricardo, J. 2008. Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agronomía Colombiana* 26(3), 417-426.

Barrientos, Z.R.; Apablaza, H.J.; Norero, S.A. y Estay, P.P. 1998. Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ciencia e Investigación Agraria* 25: 133–137.

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.

Benvenga, S.R.; Fernandes, O.A. y Gravena, S. 2007. Decision of making for integrated pest management of the South American tomato pinworm based on sexual pheromone traps. *Hortic Bras* 25: 164-169.

Berta, D.C. y Colomo, M.V. 2000. Dos especies nuevas de Bracon sp. y primera cita para la Argentina de *Bracon lucileae* Marsh (Hymenoptera, Braconidae), parasitoides de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insecta Mundi* 14:211–219.

Blaeser, P.; Sengonca, C. y Zegula, T. 2004. The potential use of different predatory bug species in the biological control of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *J Pest Sci* 77:211–219.

Bolt, E. 1974. Temperature, humidity and host: effect on rate of search of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma minutum* auctt. (not Riley, 1871). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 67: 706-708.

Botto, E.N.; Ceriani, S.A.; López, S.N.; Saini, E.D., Cedola, C.V.; Segade, G. y Vizcarret, M. 2000. Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La experiencia argentina hasta el presente. *RIA INTA* 29:83–98.

Burbutis, P.P. y Koepke, C.H. 1981. European corn borer control in peppers by *Trichogramma nubilale*. *J. Econ. Entomol.*, 74: 246-247.

Butler, G.D. y López, J.R. 1980. *Trichogramma pretiosum*: Development in two host in relation to constant and fluctuating temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 73: 671-673.

Cabello, T. 1985. Biología de dos especies de *Trichogramma* parásitas de *Heliothis* spp. en algodónero: posibilidades de su empleo como agentes de control. PhD Diss, Universidad de Córdoba.

Cabello, T. 2009. Control biológico de la polilla del tomate, *Tuta absoluta*, en cultivos en invernaderos de España. *Phytoma España* 214:21–27.

Cabello, T. 2010. Sistemas de control biológico de la polilla del tomate. *Agricultura*, 925:20-24.

Cabello, T. y Vargas, P. 1985. Influencia del tipo de alimento aportado a los adultos de *T. cordubensis* Vargas y Cabello y *T. sp. p. buesi* (Hym.: Trichogrammatidae) sobre su potencial biológico. *Bol. Serv. Plagas*, 11:243-249.

Cabello, T.; Gallego, J.R.; Fernández-Maldonado, F.J.; Soler, A.; Beltran, D.; Parra, A. y Vila, E. 2009a. The damsel bug *Nabis pseudoferus* (Hem.: Nabidae) as a new biological control agent of the South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae), in tomato crops of Spain. *Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate IOBC/wprs Bulletin Vol 49*: 219-223.

Cabello, T., Gallego, J.R., Vila, E., Soler, A., del Pino, M., Carnero, A., Hernández-Suárez, E., Polaszek, A. 2009b. Biological control of the South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta* (Lep.:Gelechiidae), with releases of *Trichogramma achaeae* (Hym.:Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate. IOBC/WPRS Bull 49: 225-230.

Cabello, T.; Gallego, J.R.; Fernández-Maldonado, F.J.; Soler, A.; Parra, A. y Vilá, E. 2009c. Estrategia de control biológico del minador suramericano del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:Gelechiidae), mediante *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae), en invernaderos de Andalucía. Actas del VI Congreso Nacional de Entomología Aplicada. Palma de Mallorca. P. 13.

Cabello, T.; Gallego, J.R.; Fernández, F.J.; Gámez, M.; Vilá, E.; Pino, M.D. y Hernández-Suárez, E. 2012. Biological control strategies for the south American tomato moth (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomatoes. Journal of Economic Entomology. Vol: 105, Issue: 6. pp. 2085-2096.

Cáceres, S. 1992. La polilla del tomate en Corrientes. Biología y control. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bella Vista, Argentina. 19 pp.

Cáceres, S. 2007. Manejo de la polilla del tomate en Corrientes. Hoja de Divulgación No 32. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bella Vista, Argentina.

Calvo, J.; Belda, J.E. y Giménez, A. 2010. Una nueva estrategia para el control biológico de mosca blanca y *Tuta absoluta* en tomate. Phytoma España 216:46–52.

Calvo, J.; Lorente, J.; Stansly, P.A. y Belda, J.E. 2012. Preplant release of *Nesidiocoris tenuis* and supplementary tactics for control of *Tuta absoluta* and *Bemisa tabaci* in greenhouse tomato. Entomologia Experimentalis et Applicata. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2012.01238.x

Carneiro, J.R. y Medeiros, M.A. 1997. Potencial de consumo de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) utilizando ovos de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). En: Abstracts of Congresso Brasileiro de Entomologia, vol 16, Salvador, Brazil pp 117–118.

Carvajal-Montoya, L.D.; Pérez-Moreno, I.; Marco, V.; López-Olguín, J.F. y Hernández-Álamos, M.M. 2009. Efecto de la densidad de huésped, temperatura y tipo de recinto, en el parasitismo de *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre huevos de *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae). *Proceedings VI*

Congreso Nacional de Entomología Aplicada-Sociedad Española de Entomología Aplicada, 19-23 October 2009, Palma de Mallorca, Spain. pp. 110.

Cely, P.N. 2006. Determinación de niveles de daño ocasionados por diferentes densidades de población de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en tomate bajo invernadero. Tesis de Facultad de Ciencias. Universidad militar de Nueva Granada.

Chailleux, A.; Desneux, N.; Seguret, J.; Khanh, H.; Maignet, P. y Tabone, E. 2012. Assessing European Egg Parasitoids as a Mean of Controlling the Invasive South American Tomato Pinworm *Tuta absoluta*. PLoS ONE 7(10): e48068. doi:10.1371/journal.pone.0048068.

Clarke, J.F. 1962. New species of microlepidoptera from Japan. Entomol News 73:102

Coelho, M.C.F. y França, F.H. 1987. Biología e quemotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. Pesqui Agropecu Bras 22:129–135.

Colomo, M.V.; Berta, D.C. y Chocobar, M.J. 2002. El complejo de himenópteros parasitoides que atacan a la “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en la Argentina. Acta Zool Lilloana 46:81–92.

Desneux, N.; Wajnberg, E.; Wyckhuys, K.; Burgio, G.; Arpaia, S.; Narváez-Vasquez, C.A.; González-Cabrera, J.; Catalán, R.D.; Tabone, E.; Frandon, J.; Pizzol, J.; Poncet, C.; Cabello, T. y Urbaneja, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. J Pest Sci (2010) 83:197–215.

Doutt, R.L. y Viggiani, G. 1968. The classification of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). Proceedings of the California Academy of Sciences, Fourth series 35: 447-586.

EC Report. 2009. Summary report of the meeting of the standing committee on plant health, D(2009)411880, 19–20 Oct 2009, 5 pp.

EPPO. 2005. Data sheets on quarantine pests: *Tuta absoluta*. OEPP/EPPO Bul 35:434–435.

EPPO. 2008. First report of *Tuta absoluta* in Spain. EPPO Reporting service no. 1, 2008-01-01.

EPPO. 2009. Data sheets on quarantine pests: *Tuta absoluta*. Disponible en http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta_absoluta/DS_Tuta_absoluta.pdf (consultado en junio de 2011).

- EPPO. 2010.** EPPO Reporting service—Pest & Diseases. No 1, Paris, 2010-01-01.
- EPPO. 2013.** Software PQR, Standalone Version. *Tuta absoluta* (GNORAB).
- Escobar, R.; Rodríguez-López, M.J.; Alba, J.M.; Fernández-Muñoz, R.; Baccarin, P.; Castelo-Branco, M.; Boiteux, L.S. y Fonseca, M.E.N. 2010.** Resistencia a *Tuta absoluta* en una entrada de la especie silvestre de tomate *Solanum pimpinellifolium*. Phytoma España. Nº 217 Marzo, 2010. Póster.
- Estay, P. y Bruna, A. 2002.** Insectos y ácaros asociados al tomate en Chile. En: Estay, P. y Bruna, A. (eds) Insectos, ácaros y enfermedades asociados al tomate en Chile. Centro regional de Investigación INIA La Platina, Santiago, Chile, pp 9–22.
- Faria, C.A.; Torres, J.B.; Vierira-Fernandes, A.M. y Farias A.M. 2008.** Parasitism of *Tuta absoluta* in tomato plants by *trichogramma pretiosum* Riley in response to host density and plant structures. Ciencia Rural, Santa Maria, 6(38): 1504-1509.
- Gabarra, R. y Arnó, J. 2010.** Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña. Phytoma España. Nº 217. 66-68.
- Gámez, M; Garay, J.; Varga, Z.; Gallego, J.R. y Cabello, T. 2009.** Desarrollo de un modelo matemático fitófago-depredador-parasitoide para su aplicación en Lucha Biológica en cultivos en invernaderos. VI Congreso Nacional de Entomología Aplicada. 19-23 octubre. Palma de Mallorca. Pág. 134.
- García, P.; Wajnberg, E.; Oliveira, L. y Tavares, J. 2001.** Is the parasitization capacity of *Trichogramma cordubensis* influenced by the age females? Entomol Exp Appl 98:219–224.
- Gilardón, E.; Gorustovich, M.; Petrinich, C.; Olsen, A.; Hernández, C.; Collavino, G. y Gray, L. 1998.** Evaluación del nivel de resistencia de plantas de tomate a la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick) mediante un bioensayo simple. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 103 (2). 173.
- Giustolin, T.A.; Vendramim, J.D.; Alves, S.B. y Vieira, S.A. 2001.** Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep, Gelechiidae) reared on two species of Lycopersicon to *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. J Appl Entomol 125:551–556.
- González-Cabrera, J. y Ferré, J. 2008.** Bacterias entomopatógenas. En Control Biológico de Plagas Agrícolas (J.A. Jacas y A. Urbaneja, eds.), Phytoma.pp. 86-96.

González-Cabrera, J.; Mollá, O.; Montón, H. y Urbaneja, A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol* 56:71–80.

Gonçalves-Gervasio, R.; Ciociola, A.I.; Santa-Cecilia, L.V. y Maluf, W.R. 2000. Egg parasitism of *Tuta absoluta* by *Trichogramma pretiosum* in different genotypes of tomato. *Pesq. Agropec. Bras.*, 6(35): 1269-1274.

Goula, M. y Alomar, O. 1994. Míridos (Heteroptera: Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación. Vol. San. Veg. Plagas, 20: 131-143.

Guenaoui, Y. 2008. Nouveau ravageur de la tomate en Algérie. Première observation de *Tuta absoluta*, mineuse de la tomate invasive, dans la région de Mostaganem, au printemps. *Phytoma La Défense des Végétaux* 617: 18-19.

Guerrero, M.J. 2011. Compatibilidad del control biológico y químico en el mirador del tomate: *Tuta absoluta*. Proyecto fin de carrera. Universidad de Almería.

Haji, F.N.P. 1997. Controle biológico da traca do tomateiro com *Trichogramma* no Nordeste do Brasil. In: Parra JRP, Zucchi RA (eds), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. FEALQ, Piracicaba, Brasil, pp 319–324.

Hassan, S.A. y Zhang, W.Q. 2001. Variability in quality of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from commercial suppliers in Germany. *Biological Control* 22: 115-121.

Hassan, S. y Abdelgader, H. 2001. A sequential testing program to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). IOBC / WPRS Working Group “Pesticides and Beneficial Organisms” Castelló de la Plana, Spain. 71-82.

Hickel, E.R. y Vilela, E.F. 1991. Comportamento de chamamento e aspectos de acasalamento de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), sob condições de campo. *An. Soc. Entomol. Brasil* 20:173–182.

Hirose, Y.; Kimoto, H. y Hiehata, K. 1976. The effect of host aggregation on parasitism by *Trichogramma papilionis* Nagarkatti (Hym.: Trichogrammatidae), on egg parasitoid of *Papilio xunthus* Linné (Lep.: Papilionidae). *Appl. Ent. Zool.* 11:116-125 pp.

Honda, J.Y.; Taylor, L.; Rodriguez, J.; Yashiro, N. e Hirose, Y. 2006. A taxonomic review of the Japanese *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) with descriptions of three new species. *Appl. Entomol. Zool.* 41 (2):247-267.

Imms, 1970. Biosystematics of Trichogramma and Trichogrammatoidea Species. Annual Review of Entomology Vol. 22: 157-176 (Volume publication date January 1977).

Izquierdo, J.I.; Solans, P. y Vitalle, J. 1994. Parasitoids and predators of *Helicoverpa armigera* (Hübner) on table tomato crops. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 20:521–530.

Izquierdo, L. 2011. Actividad de las toxinas de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Tuta absoluta*. Tesis doctoral en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. pp. 1-194.

Kharroubi, A. 2008. Le *Tuta absoluta* menace la tomate marocaine. Available via <http://www.oujdacity.net/nacionale-article-14740-fr.html> (Consultado en enero 2013).

Knutson, A. 1998. The Trichogramma manual. Texas Agricultural Extension Service report no. B-6071;5-98. Agricultural Communications, The Texas A&M University System, College Station, TX.

Koen, G.H. y Lynell, K. T. 2002. *Trichogramma cacoeciae*, an egg parasitoid for control of Cherry Bark Tortrix. Proceedings of the 76th Annual Western Orchard Pest & Disease Management Conference. Washington.

Lara, L.; Aguilar, R.; Salvador, E. y Téllez, M.M. 2010. Estudios de control biológico de la polilla del tomate *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera; Gelechiidae) en cultivos hortícolas de invernadero del Sureste Español. Phytoma España 221:39.

Loni, A.; Rossi, E. y Van Achterberg, K. 2011. First report of *Agathis fuscipennis* in Europe as parasitoid of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. Bull Insectol 64:115–117.

Luna, M.G. y Wada, V. 2006. Ectoparasitoides (Hymenoptera: Eulophidae) de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): abundancia estacional y biología en el laboratorio. 1ª Reunión Argentina de Parasitoides – Sección Ecología de Poblaciones y Comunidades, Bariloche, Argentina.

Leite, G.L.D.; Picanço, M.; Della-Lucia, T.M.C. y Moreira, M.D. 1999. Role of canopy height in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *Tuta absoluta* (Lep., Gelechiidae). J. Appl. Ent. 123: 348-352.

Leite, G.L.D.; Picanço, M.; Guedes, R.N.C. y Zanuncio, J.C. 2001. Role of plant age in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Sci. Hort. 89, 103–113.

Lessard, E. 2013. The effect of temperature, age and hunger on adult female fitness and on host-feeding behaviour in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Thesis. Department of Natural Resource Sciences. McGill University, Montreal.

Lewis, W.J.; Donald, A.N.; Gross, H.R.; Perkins, W.D.; Knipling, E.F. y Voegelé, J. 1976. Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. Environ. Entomol., 5: 449-452 pp.

Lietti, M.M.M.; Botto, E. y Alzogaray, R.A. 2005. Insecticide Resistance in Argentine Populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop Entomol 34: 113-119 212 J Pest Sci (2010) 83:197-215.

López, E. 1991. Polilla del tomate: Problema crítico para la rentabilidad del cultivo de verano. Empresa y Avance Agrícola 1, 6–7.

Luna, M.G.; Sánchez, N. y Pereyra, P.C. 2007. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions. Environ Entomol 36:887–893.

Makee, H. 2005. Effects of repeated and delayed exposure to codling moth eggs on reproduction of *Trichogramma cacoeciae* and *T. principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females. J Pest Sci 78: 83–89.

Marston, N. y Ertle, L.R. 1969. Host Age and Parasitism by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Annals of the Entomological Society of America, Volume 62, Number 6, November 1969 , pp. 1476-1482(7).

Martel, V.; Darrouzet, E. y Boivin, G. 2011. Phenotypic plasticity in the reproductive traits of a parasitoid. J Insect Physiol 57:682–687.

Miranda, M.M.; Picanco, M.; Zanuncio, J.C. y Guedes, R.N.C. 1998. Ecological Life Table of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Biocontrol Sci Technol 8:597–606.

Miranda, M.M.; Picanço, M.C.; Zanuncio, J.C.; Bacci, L. y da Silva, E.M. 2005. Impact of integrated pest management on the population of leafminers, fruit borers, and natural enemies in tomato. Cienc Rural 35:204–208.

Mollá, O.; Montón, H.; Beitia-Crespo, F.J. y Urbaneja, A. 2008. La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una nueva plaga invasora. Terralia 69: 36-42.

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 Bull 49:209–214.

Mollá, O.; Alonso, M.; Montón, H.; Beitia, F.; Verdú, M.J.; González-Cabrera, J. y Urbaneja, A. 2010. Control Biológico de *Tuta absoluta*. Catalogación de enemigos naturales y potencial de los míridos depredadores como agentes de control. Phytoma España 217:42–46.

Montserrat, A. 2009. La Polilla del Tomate *Tuta absoluta* en la Región de Murcia: Bases Para su Control. Consejería de Agricultura y Agua, Región de Murcia, Murcia, pp. 1–74.

Morales, J.; Vázquez, C.; Pérez, B.N.; Varela, N.; Ríos, Y.; Arrieche, N. y Querino, R.B. 2007. Especies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitoides de huevos de lepidópteros en el estado de Lara, Venezuela. Neotropical entomology 36 (4): 542-546.

Moreno, F.; Pérez-Moreno, I. y Marco, V. 2009. Effects of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) Egg Age, Density, and UV Treatment on Parasitism and Development of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Environmental Entomology, Volume 38, Number 5, pp. 1513-1520(8).

Moreno, F.; Menéndez, C.; Pérez-Moreno, I. y Marco, V. 2010. Identificación molecular de una población autóctona de *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927 (Hym., Trichogrammatidae) capturada en La Rioja (España). Bol. San. Veg. Plagas, 36: 91-99.

Nagarkatti, S. y Nagaraja, H. 1971. Redescriptions of some known species of *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae), showing the importance of the male genitalia as a diagnostic character. Bull. Ent. Res., 61: 13-31 pp.

Nagarkatti, S. y Nagaraja, H. 1977. Biosystematics of *Trichogramma* and *Trichogrammatoidea* species. Ann. Rev. Entomol., 22: 157-176 pp.

Navarro, M.A. 1986. Biological control of *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) by *Trichogramma* sp. in the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: 11nd international symposium, *Trichogramma* and other egg parasitoids, Guangzhou, China, pp 453– 458.

Notz, A.P. 1992. Distribution of eggs and larvae of *Scrobipalpula absoluta* in potato plants. Rev Facultad de Agronomía Maracay 18:425–432.

Oatman, E.R. y Platner, G.R. 1989. Parasites of the potato tuberworm, tomato pinworm and other closely related Gelechiids. Proc Hawaiian Entomol Soc 29:23–30.

Oliveira, C.R.F.; Matos, C.H.C. y Hatano, E. 2007. Occurrence of *Pyemotes* sp on *Tuta absoluta* (Meyrick). Braz Arch Biol Techn 50:929–932.

Oliveira, A.F.; da Silva, H.D.; Leite, G.L.D.; Jham, G.N.; Newandram, G. y Picanço, M. 2009. Resistance of 57 greenhouse-grown accessions of *Lycopersicon esculentum* and three

cultivars to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Scientia Horticulturae* 119 (2009) 182–187.

Pak, G.A. y Oatman, E.R. 1982. Biology of *Trichogramma brevicapillum*. *Ent. Exp. & appl.*, 32: 61-67 pp.

Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A. 2004. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. *Neotropical Entomology* 33: 271–281.

Parra, J.; Gázquez, J.C.; López, J.C.; Baeza, E.; Meca, D.; Pérez, C. 2010. Tecnología de invernaderos y control biológico. Técnicas de cultivo que afectan a la viabilidad del control biológico en los invernaderos de Almería. Fundación Cajamar. Cuadernos de Estudios Agroalimentarios. pp. 07-26.

Perdikis, D.C. y Lykouressis, D.P. 2004. *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) as suitable prey for *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) population increase on pepper plants. *Environ Entomol* 33:499–505.

Pereyra, P.C. y Sánchez, N.E. 2006. Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 35(5):671-676.

Pinto, J.D. 1998. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In: *Memoirs of the entomological Society of Washington*. Number 22.

Pires, L.M.; Marques, E.J.; Wanderley-Teixeira, V.; Teixeira, A.C.; Alves, L.C. y Alves S.B. 2009. Ultrastructure of *Tuta absoluta* parasitized eggs and the reproductive potential of females after parasitism by *Metarhizium anisopliae*. *Micron* 40:255–261.

Pitcher, S.A.; Hoffmann, M.P.; Gardner, J.; Wright, M.G. y Kuhar, T.P. 2002. Cold storage of *Trichogramma ostriniae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. *Biocontrol* 47: 525-535.

Pizzol, J.; Pintureau, B.; Khoualdia, O. y Desneux, N. 2010. Temperature dependent differences in biological traits between two strains of *Trichogramma cacoeciae* (Hym., Trichogrammatidae). *J Pest Sci* 83:447–452.

Pizzol, J.; Desneux, N.; Wajnberg, E. y Thiery, D. 2012. Parasitoid and host egg ages have independent impact on various biological traits in a *Trichogramma* species. *J Pest Sci* 85:489–496.

Polack, A. 2007. Perspectivas para el control biológico de la polilla de tomate. Horticom News, Octubre 2009.

Potting, R. 2009. Pest risk analysis, *Tuta absoluta*, tomato leaf miner moth. Plant protection service of the Netherlands, 24 pp. www.minInv.nl (Consultado en diciembre 2010).

Pratissoli, D.; Fernandes, O.A.; Zanuncio, J.C. y Pastori, P.L. 2004. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae) on *Sitotroga cerealella* (Lep.: Gelechiidae) eggs at different constant temperatures. Ann. Entomol. Soc. Am. 97 (4): 729-731.

Pratissoli, D.; Thuler, R.T.; Andrade, G.S.; Zanotti, L.C.M.; da Silva, A.F. 2005. Estimate of *Trichogramma pretiosum* to control *Tuta absoluta* in stalked tomato. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 40: 715–718.

Probst, K.; Pülschen, L.; Sauerborn, J. y Zebitz, C.P.W. 1999. Influencia de varios regímenes de uso de plaguicidas sobre la entomofauna de tomate en las tierras altas de Ecuador. Manejo Integrado de Plagas, No. 54. CATIE, Costa Rica.

Querino, R.B.; Zucchi, R.A. y Pinto, J.D. 2010. Systematic of the Trichogrammatidae with focus on the genera attacking Lepidoptera. En.: Consoli, F.L; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A. (Eds.) Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma. Springer: 191-218.

Ram, A. y Sharma, A.K. 1977. Effect of host egg size on fecundity of *Trichogramma fasciatum* (Perkins) (Hym.: Trichogrammatidae). Entomol., 2:253-254 pp.

Resende, J.T.V.; Maluf, W.R.; Faria, M.V.; Pfann, A.Z. y Nascimento, I.R. 2006. Acylsugars in tomato leaflets confer resistance to the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta* Meyr. Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.), 63(1): 20-25.

Ripa, S.R.; Rojas, P.S. y Velasco, G. 1995. Releases of biological control agents of insect pests on Easter Island (Pacific Ocean). Entomophaga 40:427–440.

Riquelme, M.B. y Botto, E. 2010. Estudios Biológicos de *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Parasitoide de Huevos de *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotropical Entomology 39(4):612-617.

Robledo, A.; Van der Blom, J.; Sánchez, J.A. y Torres, S. 2009. Control biológico en invernaderos hortícolas. Coexphal, FAECA. 176p.

Rodríguez, M.S.; Gerding, M.P. y France, A.I. 2006. Entomopathogenic fungi isolates selection for egg control of tomato moth *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs. *Agric Técnica* 66:151–158.

Rojas, S. 1981. Control de la polilla del tomate: enemigos naturales y patógenos. *IPA La Platina* 8:18–20.

Romeis, J.; Babendreier, D.; Wäckers, F.L. y Shanower, T.G. 2005. Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids—underlying mechanisms and implications. *Basic Appl Ecol* 2005;6:215-236.

Rothschild, G.H.L. 1970. Parasites of rice stemborers in Sarawak (Malasian Borneo) *Entomophaga*, 15: 21-51pp.

Roy, H.E.; Roy, D.B. y Roques, A. 2011. Inventory of terrestrial alien arthropodpredators and parasites established in Europe. *BioControl* 56:477–504.

Saelices, R.; López, A.; Amor, F.; Bengochea, P.; Fernández, M.M.; Garzón, A.; Morales, I.; Velázquez, E.; Medina, P.; Adán, A.; Del Estal, P.; Viñuela, E. y Budia, F. 2012. Ecotoxicidad de insecticidas de uso frecuente en el cultivo del tomate, en el enemigo natural *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Bol San Veg Plagas*, 38: 95-107.

Salas, J. 1995. *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) su presencia en la región Centro Occidental de Venezuela. *Agron Trop* 45:637–645.

Sánchez, N.E.; Pereyra, P.C. y Luna, M.G. 2009. Spatial patterns of parasitism of the solitary parasitoid *Pseudapanteles dingus* (Hymenoptera: Braconidae) on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environ Entomol* 38:365–374.

Saour, G. 2004. Efficacy assessment of some *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in controlling the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zell. (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Pest Sci* 77: 229–234.

Shirazi, J. 2007. Comparative biology of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hym.: Trichogrammatidae) on eggs of *Corcyra cephalonica* (Stainton) and *Helicoverpa armigera* (Hübner). *J. Biol. Control*, 21(1):37-42.

Shöller, M. y Hassan, S.A. 2001. Comparative biology and life tables of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* with *Ephestia elutella* as host at four constant temperatures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98: 35–40.

Silva, C.C.; Jham, G.N.; Picanço, M. y Leite, G.L.D., 1998. Comparison of leaf chemical composition and attack patterns of *Tuta absoluta* in three tomato species. *Agron. Lus.* 46, 61-71.

Silvério, F.O.; de Alvarenga, E.S.; Moreno, S.C. y Picanço, M.C. 2009. Synthesis and insecticidal activity of new pyrethroids. *Pest Manage Sci* 65:900-905.

Siqueira, H.A.; Guedes, R.N. y Picanço, M.C. 2000. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agric For Entomol* 2:147–153.

Smith, S.M. 1996. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology* 41: 375–406.

Stavraki, H.G. 1976. Effects of diet and temperature on development, fecundity and longevity of a *Trichogramma sp.*, parasite of olive moth (*Prays oleae*). *Z. ang. Ent.*, 81: 381-386 pp.

Sumer, F.; Tuncbilek, A.S.; Oztemiz, S.; Pintureau, B.; Rugman-Jones, P. y Stouthamer, R. 2009. A molecular key to the common species of *Trichogramma* of the Mediterranean region. *BioControl*. DOI 10.1007/s10526-009-9219-8.

Torres, J.B.; Evangelista, W.S.; Barras, R. y Guedes, R.N.C. 2002. Dispersal of *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) nymphs preying on tomato leafminer: effect of predator release time, density and satiation level. *J Appl Entomol* 126:326–332.

Torres, G. J.; Argente, J.; Díaz, M.A. y Yuste, A. 2009. Aplicación de *Beauveria bassiana* en la lucha biológica contra *Tuta absoluta*. *Agrícola Vergel* 326:129–132.

Uchoa-Fernandes, M. A. y Vilela, E. F. 1995. Field trapping of tomato worm, *Scrobipalpaloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) using virgin females. *An. Soc. Entomol. Brasil* 23:271–276.

Urbaneja, A.; Tapia, G.; Fernández, E.; Sánchez, E.; Contreras, J. y Gallego, A. 2003. Influence of the prey on the biology of *Nesidiocoris tenuis* (Hem.: Miridae). *Bull OILB/SROP* 26:159.

Urbaneja, A.; Vercher, R.; Navarro, V.; García-Mari, F. y Porcuna, J.L. 2007. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma España*, 194: 16-23.

Urbaneja, A.; Montón, H. y Mollá, O. 2009. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus caliginosus* and *Nesidiocoris tenuis*. *J Appl Entomol* 133:292–296.

Urbaneja, A.; González-Cabrera, J.; Arnó, J. y Gabarra, R. 2012. Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/ps.3344.

Van der Blom, J.; Robledo, A. y Torres, S. 2011. Control de *Tuta absoluta* mediante medidas culturales. Documento técnico 04. Fundación Cajamar. Almería. 12-35 pp.

Vallejo, F.A. 1999. Mejoramiento genético y producción de tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, 216 pp.

Vargas, H.C. 1970. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Idesia 1:75–110.

Vercher, R.; Calabuig, A. y Felipe, C. 2010. Ecología, muestreos y umbrales de *Tuta absoluta* (Meyrick). Phytoma España 217:23–26.

Voegelé, J. y Pintureau, B. 1982. Caracterisation morphologica des groupes et especes du genre *Trichogramma* Westwood. Les Trichogrammes, Antibes (France, 20-23 avril. Ed. INRA Publ., (Les Colloques de l'INRA,9): 45-75 pp.

Voegelé, J.; Brun, P. y Daumal, J. 1974. Les Trichogrammes. I. modalités de la prise de possession et de l'élimination de l'hôte chez les parasites embryonnaire *Trichogramma brasiliensis* (Hym.: Trichogrammatidae). Anns Soc. ent. Fr. (N.S.), 10: 757-761 pp.

Wei, D.; Xian, X.; Zhou, Z.; Wang, Z.; Zhou, X. y Huang, J. 1998. Preliminary study on the functional responses of *Cyrtopeltis tenuis* to *Spodopteralitura*. *Acta Agric Univ Henanensis* 32:55–59.

Witzgall, P.; Kirsch, P. y Cork, A. 2010. Sex pheromones and their impact on pest management. *J Chem Ecol* 36:80-100.

Yousuf, M. y Shafee, S.A. 1986. Checklist of species and bibliography of the world Trichogrammatidae (Hymenoptera). *Indian Journal of Systematic Entomology*, 3: 29-82.

Zappalà, L.; Biondi, A.; Siscaro, G.; Tropea, G.G.; Achterberg, K. y Desneux, N. 2011. Adaptation of indigenous parasitoids to the invasive tomato pest *Tuta absoluta* in Italy: biology and behaviour of the braconid wasp *Bracon nigricans*. Joint EPPO/IOBC/FAO/NEPPO symposium on management of *Tuta absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae)". Agadir, Morocco, November 16-18, 2011.