

## ***Cold-tolerance variability in different Mediterranean populations of Orius laevigatus (Fieber)*** **(Hemiptera: Anthocoridae)**

**J. E. Mendoza, V. Balanza, M. Garre-Carrasco, P. Bielza**

Departamento de Producción Vegetal, ETSIA. Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, 30203, Cartagena, España. E-mail: enrique.menriv@gmail.com.

### **Resumen**

La ausencia de diapausa en *Orius laevigatus* le permite controlar a *Frankliniella occidentalis* durante el invierno. Sin embargo, su potencial reproductivo se ve muy reducido con las bajas temperaturas, por lo que sería interesante obtener individuos capaces de multiplicarse de manera efectiva en esas condiciones. Se estudió la variabilidad de 14 poblaciones mediterráneas en su fecundidad a 15 °C, así como su tolerancia al frío, calculada como el porcentaje respecto de la fecundidad del control, a 26 °C. Además de probar que las poblaciones comerciales son optimizables, se hallaron diferencias significativas entre las poblaciones en cuanto a su fecundidad a bajas temperaturas. Por otro lado, al ponderar estos resultados con los obtenidos en el control, destaca Cartagena como una población de elevada tolerancia al frío, aunque su baja fecundidad la hace poco recomendable para su cría en biofábricas, mientras que Portonovo mostró una alta fecundidad en ambas condiciones de ensayo. Este estudio es el inicio de un proceso de selección con el fin de obtener una población tolerante al frío, lo que permitirá un control óptimo del trips en invierno, evitando sucesivas sueltas del insecto.

**Palabras clave:** antocóridos; fecundidad diaria media; trips; invierno.

### **Abstract**

Diapause absence in *Orius laevigatus* enables it to control *Frankliniella occidentalis* over the winter. However, its reproductive potential is reduced at low temperatures, so it would be interesting to obtain individuals with that effectively overgrow under those conditions. Thus, the variability in 14 Mediterranean populations was studied according to their fecundity when exposed at 15 °C, as well as their cold-tolerance, calculated as the percentage relative to the control fecundity, tested at 26 °C. Apart from showing that commercial stocks can be improved, significant differences were found between populations according to their low-temperature fecundity. On the other hand, when these results were weighted up, taking account those obtained in control, we could emphasize Cartagena as a high cold-tolerance population, but its low fecundity makes it inadvisable for the artificial rearing; whereas that collected in Portonovo showed a high fecundity under both experimental conditions. This study will serve as a basis for a selection to obtain a cold tolerant population, thus enabling an optimum control of thrips over the winter and avoiding successive insect releases.

**Key words:** anthocorids; average daily fecundity; thrips; winter.

### **1. Introducción**

El uso de enemigos naturales para combatir a las plagas se está convirtiendo en una práctica cada vez más habitual. Entre los más usados, gracias a su eficiencia en numerosos agroecosistemas, se encuentra *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae), depredador polífago y común en la cuenca Mediterránea y el norte de Europa [1].

En los últimos años, la atención sobre este insecto como agente de control biológico ha aumentado notablemente, sobre todo desde que empezara a considerarse como el principal enemigo de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae), una de las plagas que mayores daños económicos provoca en cultivos de invernadero de todo el mundo [2,3], en los

que se establece este chinche y donde logra un éxito similar al control químico [4].

*O. laevigatus*, a diferencia de otras especies del género, no presenta diapausa reproductiva en invierno, lo que supone una ventaja tanto para su manejo en períodos climáticos desfavorables como para su efectividad en el control del trips, ya que tampoco éste sufre diapausa [5].

Sin embargo, ciertos factores como la humedad y la temperatura tienen una elevada influencia en la instalación de *O. laevigatus* en el cultivo [5], limitando, por ejemplo en el sur de España, los períodos del año en los que se aconseja la suelta del antocórido. Así pues, a estas latitudes es difícil encontrar *Orius* en invierno aunque se haya realizado una suelta efectiva durante el otoño, ya que el frío reduce drásticamente su fecundidad.

Las poblaciones de la plaga, por su parte, vuelven a proliferar durante esta época.

Es por eso que mejorar la fecundidad de *Orius* a bajas temperaturas aumentaría su eficacia en el control de la plaga, pudiendo incluso evitar las posteriores sueltas del insecto. En esa línea de trabajo, se estudió la variabilidad genética de *O. laevigatus* en el Mediterráneo en su tolerancia al frío, con el objeto de evaluar, más tarde, la respuesta a la selección de dicho carácter.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Recolección y cría de *Orius laevigatus*.

El material biológico usado se obtuvo de la cría artificial de *O. laevigatus* a partir de poblaciones silvestres recolectadas en distintas localidades de clima mediterráneo. El mantenimiento y la multiplicación se llevaron a cabo en recipientes de plástico en los que a los individuos se les administró un vial de agua sellado con algodón hidrófilo como fuente de hidratación, una judía como sustrato de puesta, huevos de *Ephestia kuehniella* como alimento y cáscara de trigo como refugio para evitar el canibalismo.

Las poblaciones objeto de estudio en el actual trabajo fueron Moreira, Portonovo (ambas de Pontevedra), Cabrils (Barcelona), Cabo de Gata, Cuevas de Almanzora (ambas de Almería), Cartagena (Murcia), La Zenia (Alicante), Hellín (Albacete), Ruidera (Ciudad Real), Carmona (Sevilla), Acate (Ragusa, Italia) y Samaria (Creta, Grecia), además de una población comercial y una población mezcla de todas las anteriores, con una mayor variabilidad genética.

### 2.2 Métodos de bioensayo.

Se partió de ninfas de último estadio de cada población, formando dos grupos de individuos que fueron introducidos en sendos recipientes con las mismas condiciones que en la cría pero con una diferencia fundamental en cuanto a la temperatura: mientras el control se mantuvo a  $26 \pm 1$  °C, el tratamiento diferencial consistió en un enfriamiento rápido a  $15 \pm 1$  °C, todo ello realizado mediante sendas cámaras de cultivo.

Tras un tiempo durante el cual emergen los adultos y se realiza la cópula, se individualiza a las hembras para estudiar la diferencia de fecundidad entre los dos tratamientos y entre las poblaciones. En pequeños recipientes de polipropileno de 45 mL con tapa ajustable se proporciona a cada hembra un trozo de judía como sustrato de puesta e hidratación, así como huevos de *Ephestia* como alimento. Mientras el

control se mantuvo a 26 °C de temperatura, el tratamiento diferencial continuó a 15 °C. Todos los bioensayos realizaron con fotoperiodo 16:8 (Luz: Oscuridad).

### 2.3 Lectura y toma de datos.

Cada 2-3 días se cambió la judía a las hembras aisladas, anotando el número de huevos puestos durante ese tiempo. Este proceso se repitió a lo largo de dos semanas.

### 2.3 Tratamiento estadístico.

Los bioensayos se realizaron completamente al azar, con dos tratamientos por cada población y un total de 10 a 20 réplicas por tratamiento ( $n=10-20$ ). Mediante un test de correlación se evaluó la interacción entre los tratamientos, y mediante una prueba t-Student se estudió la diferencia de medias entre ambos.

Transformadas las medias de tolerancia al frío y confirmados los criterios de normalidad y homocedasticidad tanto para éstas como para las medias de fecundidad en los tratamientos, se realizó un ANOVA para cada parámetro en función de la población. Cuando se observaron diferencias significativas entre las poblaciones, se separaron sus medias mediante un test de comparaciones múltiples. Todos los test se evaluaron al 95% de confianza ( $p < 0,05$ ) [6-7].

## 3. Resultados y Discusión

El análisis de correlación constató que no existe relación alguna entre la fecundidad diaria media (FDM) de los tratamientos ensayados ( $F=2,085$ ; g.l.=1;  $r=0,010$ ;  $P=0,150$ ).

En primer lugar, hay que destacar que todas las poblaciones de *O. laevigatus* pusieron huevos independientemente de la temperatura, gracias a que esta especie presenta cierta capacidad de adaptación al frío por la ausencia en ella de diapausa reproductiva durante el invierno. Además, Lara et al. [8] ya observaron en Almería una presencia mayor de *O. laevigatus* que de *O. albidipennis* en tres invernaderos durante todo el invierno de 2001. En cambio, Nagai y Yano [9] notaron que el 50% de las hembras de *O. sauteri* morían a 15 °C sin poner huevos.

Sin embargo, en la Tabla 1 podemos ver cómo la FDM desciende claramente al someter a todas las poblaciones de *O. laevigatus* a 15 °C ( $t= 27,267$ ; g.l.=205;  $P=0,000$ ). De hecho, el valor medio de FDM fue de 6,56 huevos por hembra y día en el control, frente a los 1,19 huevos a 15 °C, lo que supone una reducción del 82%. Este efecto del

frío se ha documentado para muchas especies de *Orius*. Así, Jeong-Hwan et al. [10] observaron una disminución de un 55% en la fecundidad de *O. laevigatus* y un 77% en la de *O. strigicollis* al bajar la temperatura de 25 a 15 °C; además, Nagal y Yano [9] advirtieron una reducción del 91,7% en la fecundidad de *O. sauteri* a esas mismas temperaturas de ensayo.

Por otro lado, en la Tabla 1 también se muestran los resultados para las tres variables evaluadas en función de la población: FDM en el control, FDM a 15 °C y tolerancia al frío.

En primer lugar, aunque se observan diferencias entre las distintas poblaciones en cuanto a su FDM en el control ( $F=6,983$ ;  $g.l.=13$ ;  $P=0,000$ ), éstas pueden considerarse dentro del rango de variabilidad natural de la especie. A pesar de ello, se distinguen dos poblaciones con una elevada FDM, Portonovo y Hellín, así como otra con una baja FDM, Cabo de Gata, existiendo una diferencia de casi 6 huevos por hembra y día entre ellas. Además, parece evidente que las poblaciones comerciales son susceptibles de ser optimizadas, ya que se han hallado algunas con una fecundidad más alta en condiciones óptimas que la población comercial ensayada, teniendo en cuenta que la alimentación ha tenido lugar *ad libitum*, al igual que ocurre en las biofábricas.

Por otro lado, en el tratamiento a 15 °C también se obtuvieron diferencias significativas entre las poblaciones ( $F=4,081$ ;  $g.l.=13$ ;  $P=0,000$ ), con una FDM muy baja para Samaria ( $0,91\pm 0,34$ ), La Zenia ( $0,83\pm 0,41$ ) y Cabo de Gata ( $0,72\pm 0,33$ ); y relativamente alta para Cartagena ( $1,80\pm 0,74$ ).

Finalmente, en cuanto a la tolerancia al frío, calculada aquí como el porcentaje de la FDM a 15 °C respecto de la registrada en el control, también se observaron diferencias entre las poblaciones tratadas ( $F=7,598$ ;  $g.l.=13$ ;  $P=0,000$ ). Destaca, entre ellas, Cartagena por su elevada tolerancia al frío, ya que su FDM supera el 40% de la FDM en el control. Además, ésta fue la población menos fecunda en el control, lo que podría deberse al coste ecológico provocado por un posible proceso de adaptación para hacer frente a una situación adversa. En el otro extremo se encuentran Hellín, Samaria y Acate, en las que la FDM en el tratamiento diferencial fue inferior al 19% respecto del control. Estos resultados son similares a los obtenidos por este mismo grupo de trabajo [11] cuando se estudió la variabilidad en la tolerancia a alimentación con polen respecto de un control alimentado con huevos de *Ephesia*, y en el que las poblaciones más tolerantes fueron las de menor fecundidad

en condiciones óptimas. Además, en aquel caso, la población de Portonovo mostró una tolerancia similar a la registrada en este ensayo (19% de tolerancia a la alimentación sin presa respecto al 19,3% de tolerancia al frío), lo cual puede estar relacionado con su capacidad para afrontar cualquier situación de estrés.

En cuanto a las poblaciones aquí estudiadas, es interesante señalar que la que mejor beneficio ofrecería para la cría masiva en biofábricas no es la población de Cartagena sino la recolectada en Portonovo, la cual posee una fecundidad alta en frío y también a una temperatura de desarrollo óptimo, ofreciendo un rendimiento inmediato.

#### 4. Conclusiones

Las observaciones realizadas en este estudio revelan que la supervivencia y la reproducción de *O. laevigatus* dependen en gran medida de la temperatura, aspecto que resulta fundamental a la hora del manejo en campo de este insecto, ya que cualquier mejora que tuviese lugar en su tolerancia al frío permitiría aumentar su eficacia en el control de la plaga durante el invierno, al conservar un efectivo poblacional más alto.

No obstante, la extrapolación al campo de los resultados aquí expuestos debe hacerse con precaución, ya que el potencial reproductivo de *Orius* en condiciones de laboratorio puede ser muy distinto al que presente en el invernadero.

En cualquier caso, este trabajo servirá de base para el estudio de la respuesta a la selección de la tolerancia al frío en *O. laevigatus*, cuyo éxito implicará un mejor establecimiento en el cultivo, poblaciones de enemigos naturales más estables a medio y largo plazo desde su suelta en el invernadero, y un control más óptimo de las poblaciones de trips durante el invierno, el cual lleva muchos años siendo el talón de Aquiles del manejo de esta plaga en muchos cultivos.

#### 5. Agradecimientos

Los autores se muestran agradecidos a M. J. Sánchez-Martínez y E. Martínez-Díaz por su inestimable ayuda técnica.

#### 6. Referencias bibliográficas

- [1] Péricart, J. 1972. Hémiptères. Anthocoridae, Cimicidae et Microphysidae de l'Ouest-Paléartique. Masson et Cie. Paris. 402 pp.
- [2] van den Meiracker, R. A. F., Ramakers, P. M. J. 1991. Biological control of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in sweet pepper,

with the anthocorid predator *Orius insidiosus*. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 56 (2a): 241-249.

[3] Urbaneja, A., Arán, E., León, P., Gallego, A. 2003. Efecto combinado de altas temperaturas y de humedades en la supervivencia, fecundidad y fertilidad de *Orius laevigatus* y *Orius albidipennis* (Hemiptera: Anthocoridae). Bol. San. Veg. Plagas 29: 27-34.

[4] Vergara, L., Giacometti, R., Cupo, P. 2009. Integrated control in peppers: functional and advisable. Informatore Agrario 65(20), 53-58.

[5] Tommassini, M. G. y van Lenteren, J. C. 2003. Occurrence of diapause in *Orius laevigatus*. Bull. of Insect. 56: 225-251.

[6] Statacorp, 2005. Stata statistical Software/ Release 9. StataCorp LP.

[7] Spss Inc., 2006. Guide to data analysis, version 15.0. Spss Inc.

[8] Lara, L., Blom, J. v. d. Urbaneja, A. 2002. Instalación, distribución y eficacia de *Orius laevigatus* (Fieber) y *Orius albidipennis* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) en invernaderos de

pimiento en Almería. Bol. San. Veg. Plagas 28: 251-261.

[9] Nagai, K. y Yano, E. 1999. Effects of temperature on the development and reproduction of *Orius sauteri* (Poppius) (Heteroptera: Anthocoridae), a predator of *Thrips palmi* (Karny) (Thysanoptera: Thripidae). Appl. Entomol. Zool. 34 (2): 223-229.

[10] Jeong-Hwan, K., Hwang-Yong, K., Young-Woong, B. y Yong-Heon, K. 2008. Biological characteristics of two natural enemies of thrips, *Orius strigicollis* (Poppius) and *O. laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae). Korean J. Appl. Entomol. 47 (4): 421-428.

[11] Mendoza, J. E., Balanza, V., Sánchez-Martínez, M. J., Bielza, P. 2014. Variabilidad de la tolerancia a la alimentación sin presa en distintas poblaciones mediterráneas de *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae). En: Actas del III Workshop en Investigación Agroalimentaria. Ed.: Universidad Politécnica de Cartagena. ISBN: 978-84-697-1358-7. 155-158.

## Tablas y Figuras

**Tabla 1.** Diferencias en la Fecundidad Diaria Media de las distintas poblaciones de *Orius laevigatus* ensayadas en función de la temperatura. Diferencias en la tolerancia al frío (ANOVA).

Población	n <sup>a</sup>	FDM control <sup>b</sup>	FDM frío <sup>b</sup>	Tolerancia (%) <sup>c</sup>
Hellín	18	8,55 ± 2,00 d	1,07 ± 0,52 abc	12,49 ± 6,07 a
Samaria	16	6,98 ± 2,16 bcd	0,91 ± 0,34 a	13,00 ± 4,89 a
Acate	11	7,60 ± 1,90 cd	1,06 ± 0,55 ab	13,90 ± 7,28 a
La Zenia	14	5,46 ± 3,32 abc	0,83 ± 0,41 a	15,26 ± 7,42 ab
Cuevas de Almanzora	19	7,23 ± 2,67 bcd	1,18 ± 0,59 abc	16,27 ± 8,13 ab
Comercial	17	7,64 ± 1,74 cd	1,26 ± 0,57 abc	16,51 ± 7,51 ab
Mezcla	16	6,22 ± 1,88 bcd	1,04 ± 0,47 ab	16,65 ± 7,55 ab
Cabrils	15	7,44 ± 3,42 bcd	1,34 ± 0,56 abc	17,98 ± 7,49 ab
Carmona	12	6,44 ± 2,25 bcd	1,17 ± 0,52 abc	18,21 ± 8,01 ab
Portonovo	14	9,11 ± 2,64 d	1,76 ± 0,88 bc	19,26 ± 9,60 ab
Moreira	11	6,24 ± 3,09 bcd	1,27 ± 0,86 abc	20,30 ± 13,87 ab
Cabo de Gata	12	3,16 ± 1,20 a	0,72 ± 0,33 a	22,76 ± 10,55 abc
Ruidera	14	4,42 ± 2,29 ab	1,19 ± 0,50 abc	26,93 ± 11,42 bc
Cartagena	17	4,43 ± 1,84 ab	1,80 ± 0,74 c	40,55 ± 16,67 c

Las medias ± SE de cada columna seguidas por la misma letra no son significativamente distintas,  $p > 0,05$ , Test de Tukey.

<sup>a</sup> n: número de hembras ensayadas para cada tratamiento, una vez corregidos los valores perdidos.

<sup>b</sup> FDM: Fecundidad Diaria Media, expresada en número de huevos puestos por cada hembra al día.

<sup>c</sup> Tolerancia al frío (%) =  $FDM \text{ frío } (15 \text{ }^{\circ}\text{C}) \cdot 100 / FDM \text{ control } (26 \text{ }^{\circ}\text{C})$ .