

Selectividad de insecticidas biorracionales hacia
Pseudapanteles dignus (Hymenoptera: Braconidae),
parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)

Tesis presentada para optar al título de Magister Scientiae
de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
Universidad Nacional de La Plata

Autor: Ing. Agrónoma María Noel Ferraris



Director: Ing.Agrónomo Santiago Sarandón

Co director: Dr. Enrique Castiglioni

Jurado: Dra. Silvia Lopez

Dr. Cesar Basso

Dra. Claudia Lopez Lastra

DEDICATORIA

A mis abuelos

AGRADECIMIENTOS

- ◆ Esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
- ◆ Gracias a mi Director Santiago Sarandón y mi Co director Enrique Castiglioni por su generosidad y por sus grandes aportes, por apoyarme y enseñarme a pesar de la distancia y por aceptar ser mis guías teniendo en cuenta la situación en la que me encontraba.
- ◆ A mis padres, mis grandes confidentes mi sosten y apoyo para poder atravesar esta instancia, siempre una palabra de aliento, su compañía me fortaleció el alma. Agradezco tenerlos como padres y por acompañarme en todas las etapas de mi vida, por darme consejos y sobre todo por alentarme en momentos difíciles.
- ◆ A mi hermana Jimena Ferraris una hermosa persona por dentro y por fuera.
- ◆ A mi familia amada, mi marido Eduardo y mi hija Sol que hicieron que esta etapa fuera mas sencilla para mi, sin vos amor no hubiera podido finalizar este objetivo tan deseado, te amo.
- ◆ A mis amigas mendocinas y cordobesas Lorena, Silvana, Mariela, Ines y Gina por su apoyo incondicional, por hacer todo mas fácil.
- ◆ A mis amigas platenses y compañeras de laboratorio en mi estadia en mí querida ciudad de La Plata, que me han brindado su apoyo y su ayuda, gracias Natalia Francesena, Emilia Perez y en especial a Luciana Mirande y mi querida Marina Haramboure, que me levantaron, me acompañaron y me apoyaron en los momentos difíciles, las quiero mucho.
- ◆ Y mi amor incondicional a mis cuatro abuelos que me miran desde el cielo, los amo a cada uno de ustedes y atesoro mis mejores recuerdos.

INDICE GENERAL

	paginas
Contenidos.....	X
Resumen.....	XI
Abstract.....	1
CAPITULO 1. Introducción general.....	2
Sección I. Antecedentes.....	9
I.1. Hipótesis y Objetivos.....	11
Sección II. Sistema de estudio.....	11
II.1. El cultivo de tomate. Generalidades.....	12
II.2. Importancia económica y nutricional.....	12
II.3. Producción en la Argentina.....	14
Sección III. La Plaga <i>Tuta absoluta</i>	14
III.1. Importancia económica y distribución geográfica.....	15
III.2. Ciclo biológico.....	18
III.3. Daños directos e indirectos.....	20
III.4. Control químico.....	21
III.4.1. Agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina.....	22
III.4.2. Reguladores del crecimiento.....	23
III.4.2.1. Miméticos de la hormona juvenil (HJ).....	24
III.4.2.2. Compuestos aceleradores de la muda (CAM).....	24
III.4.2.3. Compuestos inhibidores de la muda.....	25
III.4.2.4. Compuestos inhibidores de la formación de quitina.....	25
III.4.3. Moduladores de la rianodina.....	26
III.4.4. Activadores de los canales de cloro.....	27
III.4.5. Bloqueadores de los canales de sodio.....	29
Sección IV. El parasitoide <i>Pseudapanteles dignus</i>	29
IV.1. Importancia y distribución geográfica.....	30
IV.2. Aspectos ecológicos.....	31
IV.3. Ciclo biológico de un endoparasitoide solitario.....	32
IV.4. Ciclo biológico de <i>Pseudapanteles dignus</i>	

CAPITULO 2. Materiales y métodos generales.....	33
2.1. Recoleccion de insectos a campo.....	34
2.2. Cría de insectos en laboratorio.....	35
2.2.1. Cría de <i>Tuta absoluta</i>	36
2.2.2. Cría de <i>Pseudapanteles dignus</i>	38
2.3. Metodología general de preparación y aplicación de insecticidas.....	40
2.3.1. Preparación de soluciones insecticidas.....	40
2.3.2. Métodos de aplicación de insecticidas.....	40
2.4. Determinaciones.....	42
2.5. Análisis estadístico.....	43
CAPITULO 3. Toxicidad de insecticidas biorracionales sobre pupas de <i>Pseudapanteles dignus</i>	44
3.1. Introducción.....	45
3.2. Materiales y métodos.....	46
3.2.1. Bioensayos.	46
3.3. Resultados	50
3.3.1. Emergencia de adultos (%).....	50
3.3.2. Longevidad de adultos.....	50
3.3.3. Parasitismo efectivo (%).....	51
3.3.4. Emergencia de la progenie (%).	52
3.3.5. Longevidad de la progenie.....	54
3.4. Discusión.....	55
3.5. Conclusión.....	57
CAPITULO 4. Toxicidad de insecticidas biorracionales sobre adultos de <i>Pseudapanteles dignus</i>	59
4.1. Introducción.....	60
4.2. Materiales y métodos.....	61
4.2.1. Bioensayos.....	61
4.3. Resultados.....	66
4.3.1. Supervivencia.....	66
4.3.2. Longevidad de adultos.....	67

4.3.3. Parasitismo efectivo (%).....	68
4.3.4. Emergencia de la progenie (%).....	69
4.3.5. Longevidad de la progenie.....	70
4.4. Discusión.....	71
4.5. Conclusión.....	74
CAPITULO 5. Conclusiones finales.....	76
Referencia Bibliográfica.....	78
Anexo.....	97

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.II.1. Principales provincias productoras de tomate a campo en la Argentina. Fuente: Rothman y Tonelli 2010.....	13
Tabla 1.II.2. Principales provincias productoras de tomate bajo cubierta en la Argentina. Fuente: Rothman y Tonelli 2010.....	13
Tabla 1.IV.1. Historia de vida de <i>Pseudapanteles dignus</i> (resumido de Luna <i>et al.</i> 2010; Nieves 2013).	30
Tabla 2.1 Insecticidas utilizados en los experimentos de <i>Pseudapanteles dignus</i>	40
Anexo Tabla 3.1 Variables reproductivas evaluadas sobre hembras de <i>Pseudapanteles dignus</i> sobrevivientes del tratamiento de pupas con insecticidas.	98
Tabla 4.1 Resultados del test χ^2 Log rango aplicado para la comparación entre curvas de supervivencia de adultos de <i>P. dignus</i> expuestos a azadiractina, benzoato de emamectina, acetamiprid, clorantraniliprol y metaflumizona	67
Anexo.Tabla 4.2 Variables reproductivas evaluadas sobre hembras de <i>Pseudapanteles dignus</i> sobrevivientes del tratamiento de adultos con insecticidas.	99

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. III.1. Fotografía bajo lupa binocular de huevo de <i>Tuta absoluta</i> . .	15
Figura 1.III.2. Fotografía de larva de <i>Tuta absoluta</i>	16
Figura 1.III.3. Pupa recién formada de <i>Tuta absoluta</i>	16
Figura 1.III.4. Adulto de <i>Tuta absoluta</i>	17
Figura 1.III.5. Daño en fruto ocasionado por <i>Tuta absoluta</i> (Fuente: CSIC 2015).	19
Figura 1.III.6. Daño en hoja ocasionado por <i>Tuta absoluta</i> (Fuente: www.minihuertos.net)	19
Figura 1.III.7. Daño en brote ocasionado por <i>Tuta absoluta</i> (Fuente: www.planetahuerto.es).	20
Figura 1.III.8. Estructura química de acetamiprid.	22
Figura 1.III.9. Estructura química de azadiractina.	25
Figura 1.III.10. Estructura química de clorantraniliprol.	26
Figura 1.III.11. Estructura química de benzoato de emamectina.	27
Figura 1.III.12. Estructura química de metaflumizona.	28
Figura 1.IV.1. Esquema general del ciclo de vida de un endoparásitoide solitario.	32
Figura 1.IV.2. Esquema del ciclo biológico de <i>Pseudapanteles dignus</i>	32
Figura 2.1. Sitio 1 de recolección de <i>Tuta absoluta</i> y <i>Pseudapanteles dignus</i> en Colonia Urquiza.....	34
Figura 2.2. Sitio 2 de recolección de <i>Tuta absoluta</i> y <i>Pseudapanteles dignus</i> en la Estación Experimental Julio Hirschhorn.....	35
Figura 2.3. Cámara de cría de <i>Tuta absoluta</i> y <i>Pseudapanteles dignus</i>	35
Figura 2.4. Esquema de cría de <i>Tuta absoluta</i>	37
Figura 2.5. Esquema de cría de <i>Pseudapanteles dignus</i>	39
Figura 2.6. Método tópico de aplicación de insecticida sobre pupas de <i>Pseudapanteles dignus</i>	41
Figura 2.7. Resumen del diseño de los bioensayos para evaluación de efectos tóxicos sobre pupas y adultos de <i>Pseudapanteles dignus</i> en condiciones de laboratorio.	43
Figura 3.1. Microaplicador Burkard para tratar pupas de <i>Pseudapanteles dignus</i>	46
Figura 3.2. Unidad experimental para el ensayo de pupas de <i>Pseudapanteles dignus</i>	46
Figura 3.3. Recipiente de mantenimiento de adultos de <i>Pseudapanteles dignus</i>	47
Figura 3.4. Hembras de <i>Pseudapanteles dignus</i> parasitando larvas de <i>Tuta absoluta</i>	48
Figura 3.5. Esquema de obtención de cocones de <i>Pseudapanteles dignus</i> . ..	49
Figura 3.6. Porcentaje de emergencia de adultos, obtenidos de pupas de <i>Pseudapanteles dignus</i> tratadas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$).Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	50

Figura 3.7. Longevidad de los adultos emergidos de pupas de <i>Pseudapanteles</i> tratadas con distintos insecticidas. Los tratamientos indetificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	51
Figura 3.8. Porcentaje de parasitismo efectivo de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de hembras sobrevivientes del tratamiento de pupas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	52
Figura 3.9. Porcentaje de emergencia de la progenie de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de hembras sobrevivientes del tratamiento de pupas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$).Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	53
Figura 3.10. Pupa de la progenie de especímenes de <i>Pseudapanteles dignus</i> expuestos a azadiractina en el estadio pupal con el tejido licuado y de color rojizo.	53
Figura 3.11. Pupa de la progenie de especímenes de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de coloración y consistencia normales, perteneciente al tratamiento control.	54
Figura 3.12. Larva de la progenie de especímenes de <i>Pseudapanteles dignus</i> expuestos a azadiractina en el estado pupal sin la ceda que la protege.	54
Figura 3.13. Longevidad de la progenie de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de hembras sobrevivientes del tratamiento de pupas con distintos insecticidas Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	55
Figura 4.1. Bebederos utilizados para ingestión de insecticidas por adultos de <i>Pseudapanteles dignus</i>	62
Figura 4.2. Unidades experimentales utilizadas para los ensayos de ingestión en adultos de <i>Pseudapanteles. dignus</i>	62
Figura 4.3. Ensayos de adultos de <i>Pseudapanteles. dignus</i> en cámara de cría.	62
Figura 4.4. Recipiente para la parasitación de larvas de <i>T. absoluta</i> por las hembras de <i>Pseudapanteles dignus</i>	63
Figura 4.5. Esquema de obtención de cocones de <i>Pseudapanteles dignus</i>	65
Figura 4.6. Efecto de los insecticidas sobre la supervivencia del estado adulto de <i>Pseudapanteles dignus</i> Kaplan Meier, χ^2 , test Log rango ($p \leq 0,05$).....	66
Figura 4.7. Longevidad de adultos de <i>Pseudapanteles dignus</i> tratados con diferentes insecticidas ofrecidos por ingestión en bebederos. Los tratamientos identificados con distinta letra fueron significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	68

Figura 4.8. Porcentaje de parasitismo efectivo de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de hembras sobrevivientes del tratamiento de adultos con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento	69
Figura 4.9. Porcentaje de emergencia de la progenie de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de hembras sobrevivientes del tratamiento de adultos con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	69
Figura 4.10 Longevidad de la progenie de <i>Pseudapanteles dignus</i> , de hembras sobrevivientes del tratamiento de adultos con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.....	70

RESUMEN

La avispa endoparásita *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) es un importante enemigo natural de la plaga clave del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Cinturón Hortícola de la Plata (provincia de Buenos Aires). Los daños causados por la plaga pueden llegar hasta el 80% si no se toman los recaudos necesarios. Para su control se utilizan insecticidas altamente tóxicos que generan contaminación ambiental, perjudican la presencia de los EN y promueven la generación de resistencia. Los insecticidas denominados biorracionales, constituyen una buena alternativa para el control por su modo de acción más específico hacia las plagas y más selectivo hacia los EN, resultando adecuados a las premisas del manejo integrado de plagas. En la actualidad hay evidencias de que algunos de estos productos generan efectos nocivos y que su acción sobre los controladores biológicos es muy variable. Por lo tanto, resulta indispensable su evaluación sobre *P. dignus*. El objetivo de esta tesis fue determinar la toxicidad de cinco insecticidas biorracionales (clorraniliprol, benzoato de emamectina, acetamiprid, metaflumizona y azadiractina) utilizados para el control de la plaga, aplicados en sus máximas concentraciones, con dos métodos de exposición y en dos etapas de la vida de *P. dignus*: pupas (estado protegido; tópico) y adulto (estado desprotegido; ingestión). Acetamiprid causó una toxicidad elevada en ambos estadios mientras que clorraniliprol resultó de baja toxicidad para ambos estadios evaluados. El resto de los insecticidas presentaron valores de toxicidad medios, destacándose azadiractina por su acción altamente negativa sobre las variables reproductivas evaluadas. Este estudio permitió detectar diferencias de impacto de los insecticidas sobre el parasitoide y se pudo determinar la opción más recomendable, previa evaluación a campo, para ser utilizada en manejos conservacionistas del control natural o en conjunto con agentes de control biológico, aplicados en programas de manejo integrado de plagas.

ABSTRACT

The endoparasitic wasp, *Pseudapanteles dignus*, (Hymenoptera: Braconidae) is an important natural enemy of the tomato pest, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) affecting the La Plata Horticultural belt (Buenos Aires province). Damage caused by the pest can reach up to 80% if the necessary precautions are not taken. To control this pest, highly toxic insecticides are used generating pollution, harming of natural enemies and promoting the generation of resistance. The insecticides called biorationals are a good alternative for pest control due to their mode of action towards more specific pests and more selective to natural enemies, resulting suitable to the premises of integrated pest management. Currently there is evidence that some of these products generate harmful effects and that its action on biological control is very variable. Therefore, the evaluation of the effect of these insecticides on *P. dignus* is indispensable. The aim of this thesis was to determine the toxicity of five biorational insecticides (chlorantraniliprole, emamectin benzoate, acetamiprid, metaflumizone and azadirachtin) used for pest control, applied in their maximum concentrations, with two methods of exposure and two life stages of *P. dignus*: pupae (protected state; topical) and adult (unprotected state, ingestion). Acetamiprid caused high toxicity in both stages meanwhile, chlorantraniliprole showed low toxicity for both stages evaluated. The other insecticides displayed intermediate toxicity values, highlighting azadirachtin by its highly negative action on the reproductive variables evaluated. This study allowed us to identify the different impact of insecticides on the parasitoid and determine the recommended option, prior field evaluation, to be used in conservation of natural control or in conjunction with biological control agents used in integrated pest management.

CAPITULO I

Introducción general

Sección I. Antecedente

Desde 1950 la producción agrícola ha ido aumentando continuamente. Este incremento se debió al rendimiento por superficie de tierra, es decir a una mayor producción por hectárea cultivada. Las razones de este aumento en la productividad están relacionadas con la mecanización agrícola, el uso intensivo de combustibles fósiles, la aplicación de agroquímicos (pesticidas y fertilizantes) en enormes cantidades y la producción de cultivos de alto potencial de rendimiento (Sarandón 2008). Algunos beneficios traídos por la mejora agrícola de la llamada Revolución Verde son indiscutibles, sin embargo, han llevado a diferentes problemáticas, convirtiéndolo en un modelo poco sustentable por su impacto sobre el medio ambiente, degradación de recursos naturales, pérdida de capacidad productiva del suelo, contaminación, pérdida de biodiversidad, y erosión genética (Sarandón 2008). El “éxito” de este modelo está basado en un elevado uso de fertilizantes y de compuestos de síntesis utilizados para el control de plagas y enfermedades. Sin embargo, su uso masivo ha contribuido al aumento de la contaminación ambiental (agua, suelo y aire), con niveles de toxicidad y debilitamiento de los sistemas de protección natural (Devine *et al.* 2008). Este hecho llevó a entidades de control como la EPA (Environmental Protection Agency) a restringir el uso de ciertos pesticidas y a realizar revisiones periódicas de la toxicidad de muchos otros (Devine *et al.* 2008). Por todo esto, es necesario un cambio hacia un modelo de agricultura más sustentable. Este cambio requiere nuevos enfoques y conocimientos.

En la década del '70 la Agroecología surge como una nueva disciplina con una visión distinta con un fuerte componente ético para un manejo sustentable (Sarandón 2008). Incorpora ideas sobre un enfoque de la agricultura más ligado al medio ambiente y más sensible socialmente; centrada no solo en la producción sino también en la sostenibilidad ecológica del sistema de producción (Hecht 1999). De esta manera, la agroecología se va perfilando como la ciencia fundamental para orientar la conversión de sistemas convencionales de producción a sistemas más diversificados y autosuficientes (Altieri y Nicholls 2007). La sustentabilidad ambiental es la base de la agroecología y se la define como “aquella que responde a las necesidades del presente, de forma igualitaria, pero sin comprometer las posibilidades de supervivencia y prosperidad de las generaciones futuras (Folarodi 1999). Sin embargo, no siempre es posible un cambio abrupto de sistemas altamente dependientes de insumos, a otro manejado según los principios Agroecológicos. No obstante, el Manejo Integrado de

Plagas (MIP) puede ser una alternativa compatible con esta filosofía (Strassera *et al.* 2009). El mismo nació después de 1950 con la crisis de la agricultura debido al uso excesivo de pesticidas (Brunner 1994) y constituye una alternativa de control basada en la combinación armoniosa de dos o más tácticas seleccionadas bajo criterios ecológicos y socioeconómicos (Walter 2003) para satisfacer los criterios de sustentabilidad y cuidado ambiental. Las principales tácticas en las que se ha basado el MIP son el control químico y el biológico (Vigiani 1990; Walter 2003) y se encuentra fundamentalmente encaminado en reducir el uso de pesticidas, favorecer la acción de enemigos naturales (EN), emplear técnicas culturales y utilizar pesticidas más amigables con el medio ambiente, para así obtener una producción económica con productos de calidad, asegurando el medio ambiente y la salud humana. El principal objetivo del MIP es mantener las poblaciones de plagas por debajo de los umbrales económicos, utilizando técnicas adecuadas para proteger tanto al medio ambiente como a las especies “no blanco” (Tantau y Lang 2003).

El control biológico como técnica del MIP fue concebido a inicios del siglo XIX (Badii *et al.* 2000), cuando algunos naturistas de diferentes países reseñaron el importante papel de los organismos entomófagos en la naturaleza. Con el empleo del control biológico se intenta restablecer el perturbado equilibrio ecológico, mediante la utilización de organismos vivos o sus metabolitos, para eliminar o reducir los daños causados por organismos perjudiciales. El control biológico se aplica en varios países, como por ejemplo Brasil, México, Estados Unidos, España, Holanda, Italia, Francia y China, entre otros (van Lenteren 2003; van Lenteren y Bueno 2003; van Lenteren *et al.* 2006).

Los métodos para aplicar el control biológico son:

1 control biológico clásico, que se define como la introducción intencionada de un agente de control biológico exótico, normalmente coevolucionado con la plaga, para establecerlo permanentemente y controlar la plaga a largo plazo.

2 control biológico aumentativo, que consiste en la cría y liberación periódica de EN nativos o exóticos, en grandes cantidades (inundativo) o de unos pocos individuos que sobrevivirán por varias generaciones (inoculativo) (van Driesche *et al.* 2007). El control biológico inoculativo tiene como finalidad la colecta de EN en el área donde se origina la plaga y luego es liberada en nuevas áreas en las que se introdujo accidentalmente la plaga.

3 control biológico por conservación, que se basa en la modificación del medioambiente o de las prácticas existentes para proteger y aumentar los EN específicos con la finalidad de reducir el efecto de las plagas (DeBach 1964). Es la forma más antigua de control biológico de plagas.

Definido también por Gurr *et al.* (2000) como todas las acciones del hombre para proteger y estimular el rendimiento de los EN (van Lenteren 2012), el mismo se diferencia de las otras estrategias de control biológico en que no se realizan sueltas de individuos, sino que pretende establecer, mediante la aplicación de determinados métodos, un entorno ambiental adecuado en el que se desarrollen los EN. La mayoría de las técnicas encaminadas a la optimización del control biológico por conservación se pueden englobar bajo el término manejo de hábitat. Landis *et al.* (2000) establecen los principios del manejo de hábitat para la conservación de EN de plagas de artrópodos en agricultura. Algunos trabajos hacen hincapié en el uso de compuestos volátiles de plantas de origen sintético para generar atracción de EN, una técnica arriesgada porque el enemigo natural se puede sentir tan atraído que disminuye la eficiencia de búsqueda y por ende el control de la plaga (Kaplan 2012).

Con respecto al costo de su implementación cuando se lo compara con el uso de insecticidas, estimaciones dan cuenta de una relación de 20-500:1 para el control biológico clásico (introducciones de especies exóticas) y de 2-5: 1 para la estrategia de liberaciones aumentativas (van Lenteren 2006).

Los EN, que son la base del control biológico, se pueden clasificar en tres grandes grupos: parasitoides, depredadores y patógenos (Van Driesche *et al.* 2007; Badii y Abreu 2006). El término parasitoide fue acuñado por el naturista alemán O. M. Reuter en 1913, describiendo al insecto que durante su fase larvaria vive dentro o sobre el cuerpo de un único hospedador, para finalmente darle muerte originando un adulto de vida libre. Los mismos se incluyen en 7 órdenes de insectos, de los cuales el orden Hymenoptera abarca el 80 % y el orden Diptera entre un 14 y 20 %.

En la región del Cinturón Hortícola Platense (CHP), en el cultivo de tomate, posee abundancia natural de importancia el endoparasitoide *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera, Braconidae), que presenta atributos bioecológicos que lo potencian como controlador biológico de la plaga más importante de este cultivo, “la polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae) (Colomo *et al.* 2002; Luna *et al.* 2007; Sánchez *et al.* 2009). La importancia de esta plaga se debe a los

perjuicios que trae aparejados sobre el cultivo cuando no es manejada adecuadamente (Polack *et al.* 2002).

El Cinturón Hortícola Platense (CHP) es la región más importante y la más relevante de la provincia de Buenos Aires (García y Le Gall 2009), posiblemente debido a la denominada tecnología del invernáculo, caracterizada por estructuras de madera recubiertas con polietileno que buscan controlar el ambiente, y que demanda y depende de un gran volumen de agroquímicos. Esta combinación ha generado en los últimos veinte años una serie de ventajas productivas, económicas y técnicas, como así también transformaciones en la tenencia y uso de la tierra, y en la estructura social (García y Kebab 2008).

Entre los cultivos que sobresalen en el CHP se encuentran el *Solanum lycopersicum* “tomate”; *Beta bulgarias* “acelga”; *Zea mays* “choclo”; *Spinacia oleracea* “espinaca”, *Capsicum annum* “morrón”; *Cynara scolymus* “alcaucil”; *Brassica oleracea* “brócoli” y *Allium cepa* “cebolla” (Garat *et al.* 2009).

Para el control de la plaga *T. absoluta* se hace una fuerte apuesta a la utilización de insecticidas de amplio espectro (Strassera *et al.* 2009). Las aplicaciones se realizan con excesiva frecuencia y con productos de dudosa eficacia (Mitidieri y Polack 2012). A través de un relevamiento de uso de agroquímicos, llevado a cabo en la provincia de Buenos Aires¹, se encontró más de 60 principios activos utilizados en la actividad hortícola, la mayoría en el cultivo de tomate, siendo más de un 40% de clase toxicológica extremada a altamente tóxica. Esta situación ha traído como consecuencia la resistencia a los plaguicidas por parte de la plaga *T. absoluta* (Lietti *et al.* 2005; Campos *et al.* 2015a, b; Roditakis *et al.* 2015). Estos tratamientos fitosanitarios, en el contexto del MIP, suelen afectar más a los EN que a las mismas plagas (Croft 1990), por lo que una premisa previa e imprescindible a la implementación de estos manejos es estudiar los efectos secundarios de los plaguicidas sobre los organismos no blanco (Medina *et al.* 2008). Los plaguicidas pueden afectar a los EN ya sea directamente (contaminación con residuos sobre la planta, contacto con gotas durante el tratamiento, ingestión de líquidos o sustancias azucaradas contaminadas) como indirectamente (ingestión de presas contaminadas por los depredadores, parasitismo sobre un huésped contaminado en parasitoides o porque reduzcan demasiado las poblaciones del huésped

¹ Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la provincia de Buenos Aires. Defensoría del pueblo. UNLP

plaga y los EN se ven incapaces de actuar). Por lo tanto, la selección de materias activas y de menor impacto sobre el ecosistema, resulta imprescindible para poder usar en conjunto EN y plaguicidas selectivos de forma tal que aporten a la sustentabilidad del sistema. En base a esto, a partir de la década del '90 se desarrollaron plaguicidas modernos, denominados plaguicidas biorracionales. Los mismos son compuestos, naturales o sintéticos, que derivan de microorganismos, plantas o minerales. Son selectivos a plagas, por lo general presentan un único modo de acción, son compatibles con organismos benéficos y de bajo impacto ambiental (Ishaaya y Horowitz 2009). Resultan menos tóxicos y ecológicamente aceptables, ajustándose a las exigentes normas internacionales (FAO-WHO 2010), en general con una actividad específica contra un orden particular de artrópodos (Stadler *et al.* 2010). Algunos insecticidas biorracionales tales como spinosad, metaflumizona, flubendiamida, diflubenzuron, benzoato de emamectina, azadiractina, *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki*, imidacloprid y clorraniliprol, en el cultivo de tomate de mostraron una alta actividad biológica sobre larvas de *T. absoluta*, determinándose una eficacia del 100% a los 9 días después de aplicados (Eleonora y Villi 2014).

A pesar de su naturaleza y modo de acción, hay evidencias de que algunos de estos productos generan efectos nocivos y que su acción sobre los controladores biológicos es muy variable. Devine *et al.* (2008) expresa que estos compuestos recientemente desarrollados también pueden ser más dañinos de lo que se indica en los paquetes de datos ecotoxicológicos presentados durante su proceso de registro. Por lo tanto, es importante determinar su efecto sobre los EN. La IOBC (Internacional Organización for the Biological Control of Noxious Organisms) en Europa realizó los primeros estudios a través de un grupo de trabajo denominado "Plaguicidas y Organismos Benéficos", que inició su actividad en 1974, y validó y normalizó métodos de ensayo para más de 30 EN y evaluó unos 160 productos comerciales (Hassan *et al.* 1985; Samsoe-Petersen 1990). Sus estudios se basan en la utilización de métodos normalizados exponiendo a los enemigos a residuos frescos de los plaguicidas (puesto que es la forma por la que se contaminan más comúnmente en el campo) (Croft 1990) aplicados con diversos tipos de pulverizadores, a la dosis más elevada de registro para su uso en el campo. Se sigue un esquema secuencial que comienza en laboratorio (residuos en sustrato inerte) y continúa, si es preciso, con laboratorio extendido (residuo sobre hoja), semicampo y campo, cuando los plaguicidas resultan ser nocivos en los pasos previos. En el laboratorio hay que lograr que la exposición de los enemigos a los plaguicidas sea

máxima y según los efectos que les produzca, se clasifican en cuatro categorías: 1 inocuo, 2 ligeramente tóxico, 3 moderadamente tóxico y 4 tóxico (Hassan 1994).

Como puede haber grandes diferencias de susceptibilidad entre los diferentes estados de desarrollo de un enemigo (Medina *et al.* 2001; Viñuela *et al.* 2001), hay que estudiar tanto el estado más susceptible o expuesto (adultos de parasitoides y larvas o ninfas de depredadores) como el estado más protegido o menos expuesto (que suelen ser los parasitoides dentro del huésped y los adultos de depredadores), aunque también se podrían considerar huevos y pupas (Hassan 1994; Medina *et al.* 2001). Para identificar los plaguicidas no persistentes, cuando los residuos frescos resultan perjudiciales para el enemigo natural, es muy importante determinar la duración de este efecto negativo. Para ello hay que exponer los EN a residuos en las plantas con diferentes edades hasta la pérdida de toxicidad (categoría 1) o hasta 1 mes tras el tratamiento y clasificar los plaguicidas en 4 categorías: A = poco persistente < 5 días, B = ligeramente persistente 5-15 días; C = moderadamente persistente 16-30 días; D = persistente >30 días (Hassan 1994). Los ensayos en semicampo se llevan a cabo bajo condiciones de uso más reales, en un contenedor o caja expuesto a las condiciones ambientales con plantas pulverizadas hasta el punto de goteo con la dosis máxima recomendada en campo y los testigos con agua destilada; exponiendo a los organismos, que provienen de laboratorio y poseen edad uniforme, al residuo reciente y seco del producto (González *et al.* 1998).

La última etapa de evaluación son estudios de campo, bajo condiciones reales y poblaciones naturales de especies benéficas. No obstante, esta metodología es actualmente bastante discutida a nivel mundial, de acuerdo a los avances en la ecotoxicología moderna y a la preocupación por la sustentabilidad de los sistemas agrícolas. Stark *et al.* (2007) han demostrado que la metodología de la IOBC subestima, en la mayoría de los casos, la acción tóxica de un plaguicida, debido a que los parámetros evaluados (“endpoints”) no son siempre los más relacionados con el desempeño de los EN, presentando dificultades para explicar los efectos subletales. Por ello, se generó un interés en evaluar efectos sobre la historia de vida y la aptitud de los EN, centrándose específicamente en la velocidad de crecimiento de la población, ofreciendo una visión más holística de la capacidad de los agentes de control biológico para mitigar las poblaciones de insectos plaga (Louda *et al.* 2003; Stark y Banks 2003).

Se deben tener en cuenta las diferencias en la ecología y el comportamiento de los EN y que sus reacciones al mismo insecticida pueden ser diferentes. Por ejemplo, los depredadores que consumen toda la presa (por ejemplo, Coleoptera) están

potencialmente expuestos a cualquier insecticida que persiste en cualquier lugar de la presa, incluyendo el intestino, mientras que los depredadores hemípteros pueden recibir una menor exposición debido a su consumo selectivo de tejidos (Theiling y Croft 1988). Se considera que es necesario incorporar estudios a nivel ecológico para que la evaluación sea más realista (Stark y Banks 2003; Desneux *et al.* 2007). Estudios de este tipo, con un enfoque ecológico en artrópodos asociados a agroecosistemas, fundamentalmente EN de las plagas, son novedosos en el país, con resultados preliminares importantes (Schneider *et al.* 2006a, b, 2008, 2009; Rimoldi *et al.* 2007,2008; Francesena 2008; Fogel *et al.* 2008, 2009; Haramboure 2010). Desde hace ya unos años existe una demanda importante en esta temática por parte del sector hortícola, tal como lo demuestran los temas prioritarios establecidos en diferentes jornadas, como por ejemplo en el XXX Congreso Argentino de Horticultura y I Simposio Internacional sobre Cultivos Protegidos, La Plata, Bs. As., 25-28/09/07. En particular, en estos eventos fue señalada la falta de información local sobre la efectividad de insecticidas, la necesidad de recuperar la diversidad en los sistemas hortícolas y del empleo de EN como agentes de Control Biológico.

I.1 Hipótesis y Objetivos

Objetivo general

Evaluar en condiciones de laboratorio la selectividad de insecticidas biorracionales registrados para el control químico de la polilla del tomate, *T. absoluta*, en la Republica Argentina, sobre dos estados de desarrollo del parasitoide *P. dignus*, para determinar los insecticidas más compatibles con el parasitoide, para su integración al MIP.

Objetivos específicos

1) Evaluar en condiciones de laboratorio los efectos letales de los insecticidas biorracionales (clorantraniliprol, benzoato de emamectina, azadiractina, acetamiprid y metaflumizona) sobre pupas y adultos de *P. dignus*.

2) Evaluar en condiciones de laboratorio los efectos subletales de los insecticidas biorracionales (clorantraniliprol, benzoato de emamectina, azadiractina, acetamiprid y metaflumizona) sobre pupas y adultos de *P. dignus*.

Hipótesis General

Los insecticidas biorracionales para el control de *T. absoluta* presentan selectividad diferente hacia el parasitoide *P. dignus*, resultando ésta una característica de importancia para su inclusión en programas de MIP.

Hipótesis de trabajo

1. Los insecticidas sintetizados en base a moléculas de origen natural (benzoato de emamectina y azadiractina) presentan mayor selectividad hacia el parasitoide independientemente del estado de desarrollo considerado.

2. Los insecticidas clorantraniliprol (con modo de acción sobre los receptores rianodinicos) y metaflumizona (con modo de acción sobre los canales de sodio) resultan selectivos hacia ambos estadios del parasitoide.

3. El insecticida neonicotinoide (acetamiprid), resulta el menos selectivo, dentro de los evaluados, para ambos estadios del parasitoide.

Sección II. Sistema de estudio

II.1. El cultivo de Tomate. Generalidades

El tomate, cuya especie es *Solanum lycopersicum* (familia Solanaceae) es de origen americano (Perú-Ecuador) y fue una planta utilizada como ornamental en sus comienzos. Su introducción en Europa se realizó en el siglo XVI y se sabe que a mediados del siglo XVIII era cultivado con fines alimenticios, principalmente en Italia. Su alto contenido en vitaminas hace del fruto del tomate una hortaliza fundamental y de gran uso en la alimentación mundial actual. Se consume, tanto en fresco como industrializado. (Argerich *et al.* 2011).

Morfológicamente es una planta de hábito perenne de porte arbustivo que puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta y se cultiva como anual. El sistema radical está compuesto de una raíz principal corta y débil, raíces secundarias numerosas y potentes, y raíces adventicias. El tallo principal posee un grosor de entre 2- 4 cm sobre el que se desarrollan hojas, tallos secundarios e inflorescencias (Paredes 2009). Su desarrollo es variable en función de distintos cultivares, existiendo dos tipos fundamentales de crecimiento:

- cultivares de crecimiento determinado o definido: el crecimiento del tallo principal, una vez que ha producido lateralmente varios pisos de inflorescencia en donde la primera aparece luego de 7-12 hojas, (normalmente entre cada 1 o 2 hojas), detiene su crecimiento como consecuencia de la formación de una inflorescencia terminal (Argerich *et al.* 2011).
- cultivares de crecimiento indeterminado o indefinido: tienen la particularidad de poseer siempre en su ápice un meristema de crecimiento que produce un alargamiento continuado del tallo principal, originando inflorescencias solamente en su posición lateral también diferenciando la primera entre 7-12 hojas. Luego, normalmente aparece una inflorescencia cada tres hojas en forma indefinida.

Las hojas son compuestas e imparipinadas, la flor es perfecta con 5 o más sépalos e igual número de pétalos. El fruto o baya bi o plurilocular, puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Los requerimientos para la germinación son: humedad 75% y temperatura óptima entre 18 y 25 °C. El crecimiento vegetativo depende de la temperatura, donde una mayor suba térmica provoca menor cantidad de días de duración del periodo. La floración se ve influenciada por la temperatura y la intensidad lumínica. El período de formación de frutos está

influenciado por la irradiación solar, facilitando la provisión de fotoasimilados (Bima 2014).

II.2. Importancia económica y nutricional

El cultivo de tomate ocupa el cuarto lugar en la producción mundial de hortalizas, después de la papa, batata y mandioca, con una superficie cultivada de alrededor de 3.700.000 ha y una producción de unas 125.000.000 tn. En la Argentina, es una de las principales hortalizas consumidas (16 kg/persona/año) según la FAO (2010). Desde el punto de vista alimenticio, es la hortaliza más importante por su versatilidad de consumo. En Norte y Centroamérica, el consumo per cápita/año es de alrededor de los 26,9 kg, mientras que a nivel mundial es de 12,6 kg. (Ferrato y Mondino 2008). Nutricionalmente es un alimento con escasa cantidad de calorías, siendo una fuente importante de minerales (potasio y magnesio) y vitaminas B1, B2, B5 y C (Soto-Zamora *et al.* 2005). El licopeno es un carotenoide que se encuentra principalmente en el tomate, conserva sus propiedades funcionales después de ser procesado, no presenta toxicidad y posee efectos antioxidantes, antiinflamatorios y quimioterapéuticos sobre las enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer. La ingesta de licopeno puede considerarse como una medida preventiva y terapéutica no farmacológica para diferentes tipos de enfermedades, pero se requiere el trabajo de los profesionales de la nutrición y la salud para incrementar su consumo a través de la educación alimentaria y proponer a partir de los resultados de investigaciones científicas sus niveles de ingesta diaria (Bojórquez *et al.* 2013).

II.3. Producción en la Argentina

La Argentina es el segundo país agro productor de tomate después de Brasil. La superficie cultivada es de 22.000 ha, de las cuales 1.185 ha corresponden a cultivo bajo cubierta. Presenta una producción de 750.000 tn anuales, de los cuales un 60 a 65% se consume en fresco, mientras que entre el 35-40% se industrializa (CNA 2002). La producción de tomate se encuentra distribuida a lo largo de todo el país, excepto en el sur de la Patagonia. El cultivo se realiza a campo (Tabla 1.II.1) y bajo cubierta (Tabla 1.II.2), con producción de tomate perita para destino industrial y tomate redondo para destino de mercado, respectivamente. En cuanto a la producción de tomate a campo, Mendoza es la principal provincia productora, le siguen en orden de importancia, las

provincias de Salta, Jujuy, Río Negro, San Juan y Buenos Aires (Rothman y Tonelli 2010).

Por su parte, el CHP que es la región más importante en superficie y producción de hortalizas, tiene una superficie cultivada bajo invernáculo de 1250 ha, una producción de 16.600 tn y un rendimiento de 180-200 tn/ha (CHFBA 2005).

Tabla 1.II.1. Principales provincias productoras de tomate a campo en la Argentina. Fuente: Rothman y Tonelli 2010.

Provincia	Superficie (ha)	Porcentaje (%) sobre la superficie total nacional (4389 ha)
Mendoza	5201	36
Salta	1714	11,9
Jujuy	1695	11,7
Río negro	1300	8,9
San Juan	700	4,8
Buenos Aires	650	4,5
Catamarca	550	3,8
Santiago del Estero	466	3,2

Tabla 1.II.2. Principales provincias productoras de tomate bajo cubierta en la Argentina. Fuente: Rothman y Tonelli 2010.

Provincia	Superficie (ha)	Porcentaje sobre de la superficie total nacional (1185 ha)
Corrientes	632	53,3
Buenos Aires	407	34,4

Sección III. La Plaga *Tuta absoluta*

III.1. Importancia económica y distribución geográfica

La FAO define como plaga agrícola a cualquier especie, raza o biotipo vegetal, animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales que genere una disminución en la cosecha, aumentando sus costos o causando detrimento al valor del producto cosechado.

En el cultivo de tomate la presencia de numerosos artrópodos plaga produce una importante disminución en su rendimiento, siendo *T. absoluta* su principal insecto plaga.

Esta especie fue reportada inicialmente por Meyrick en 1917, como *Phthorimaea absoluta*, posteriormente Busk (1900) la incluyó en el género *Gnorimoschema*, después (1975) la determinó como género *Scrobipalpula*. Más recientemente, en una última revisión de la sistemática de la familia los Gelechiidae, se ubicó en el género *Tuta*, conociéndose actualmente como *Tuta absoluta*.

Aunque es considerada una plaga primaria del cultivo de tomate, también se alimenta de otras solanáceas como la papa (Pereyra y Sánchez 2006). Desde la década de 1960, se ha convertido en una de las principales plagas de cultivos de tomate en muchos países de América del Sur (Larraín 1986). Se pudo haber introducido en Mendoza (Argentina) por una importación de fruta proveniente de Chile (Bahamondes y Mallea 1969) en abril de 1964, difundiéndose a otras regiones de producción de tomate a través de la comercialización. En España fue reportada a finales de 2006 (Urbaneja *et al.* 2007). Se desplazó rápidamente llegando a los países de la cuenca del Mediterráneo y el Cercano Oriente, alcanzando territorios al norte de Suiza al sur de Marruecos y Argelia, y llegando al este hasta Turquía y al sudeste, incluso a los países árabes del Golfo (FAO, 2012) Actualmente constituye una amenaza agrícola clave para Europa, el Norte de África (Desneux *et al.* 2010) y la India en el año 2014 (ICAR 2015).

Las larvas de este lepidóptero tienen preferencia por los brotes nuevos, lo que afecta el crecimiento global y el rendimiento de la planta. Ha sido responsable de las pérdidas de 80 a 100% en las plantaciones de tomate, tanto en cultivo protegido como a campo abierto (Korycinska y Moran 2009).

III.2. Ciclo biológico

La polilla del tomate es un micro lepidóptero cuyo ciclo biológico presenta cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto (Ortega 2013). El huevo es ovalado, de 0,3 mm de largo (García y Espul 1982; Larraín 2001). Recién formado su color es blanco cremoso, luego en pleno desarrollo se torna de color amarillo anaranjado (Figura 1.III.1) y antes de eclosionar la larva se vuelve de color plomizo (Estay 2000) debido a la diferenciación de las placas cefálicas y del protórax del embrión (Vargas 1970).



Figura 1.III.1. Fotografía bajo lupa binocular de huevo de *Tuta absoluta*.

La larva es eruciforme, con cinco pares de pseudópodos o propatas (Ramos y Juárez 2011) y pasa por cuatro estadios larvales bien definidos y diferentes en tamaño y color (Figura 1.III.2). En el primer estadio, inmediato a la eclosión, la larva tiene forma cilíndrica levemente aplastada, es de color blanco y la cabeza de color café oscuro (Estay 2000). A medida que se alimenta, la larva se va tornando de color verde (Fernández y Montagne 1990). En el tercer estadio presenta un color gris blanquecino en un primer momento, para pasar a verde y luego a blanco al final del período (Larraín 2001; Vargas 1970). Al llegar al cuarto estadio aparece una mancha rojiza dorsal que se extiende desde los ocelos hasta el margen posterior (Estay y Bruna 2002). Próximas a pupar, las larvas cesan su alimentación y comienzan a tejer un capullo, dejándose caer al suelo por medio de un hilo de seda, al mismo tiempo que se van acortando en longitud (Vargas 1970).



Figura 1.III.2. Fotografía de larva de *Tuta absoluta*.

La pupa (Figura 1.III.3) es de tipo obtecta, y se pueden diferenciar claramente sus extremidades. Recién formada es de color verde y luego se torna color café oscuro (Estay 2000). La pupa se forma principalmente entre la hojarasca y sobre la superficie del suelo (Fernández y Montagne 1990), así como también en las hojas u otras partes aéreas de la planta (Biurrun 2008).



Figura 1.III.3. Pupa recién formada de *Tuta absoluta*.

Los adultos alcanzan hasta 7 mm de longitud (Figura 1.III.4) y una expansión alar de 10 mm en machos y hasta 11 mm en hembras (Larraín 2001). El estado adulto se desarrolla en un período de entre nueve y veintitrés días. Ambos sexos presentan las alas anteriores de color ceniza con matices que varían de oscuro a gris claro, las alas posteriores color negruzco brillante con las ciliás oscuras. La cabeza, tórax y palpos de color gris cenizo con tintes oscuros; la longitud de las alas anteriores es de 4,5- 4,7 mm (Harizanova *et al.* 2009). Las antenas de *T. absoluta* son filiformes (en forma de collar) y largas con anillos de color café claro y oscuro alternado, palpos maxilares vestigiales y palpos labiales gruesos, aguzados, largos y vueltos hacia arriba; el palpo labial presenta el tercer segmento con un gran anillo negro en el primer tercio distal y otro en

el ápice del segmento. El abdomen, de color café cremoso, es más grueso en las hembras que en los machos (Brambila y Passoa 2010). Los adultos presentan actividad nocturna, durante el día permanecen escondidos entre las hojas (Fernández y Montagne 1990). Estudios realizados por Fernández y Montagne (1990) indican que la cópula se realiza principalmente en horas de la mañana. Las hembras se aparean solo una vez al día, tienen un máximo de seis cópulas y oviponen 240 huevos en promedio. La postura se concentra durante los primeros 5 días en los que es colocado el 72% de los huevos.



Figura 1.III.4. Adulto de *Tuta absoluta*.

Las plantas pueden ser atacadas en cualquier etapa del desarrollo, las hembras ovipositan de manera individual y en algunas ocasiones agrupadas, hasta un máximo de 5 huevos (Fernandez y Montagne 1990). La oviposición ocurre preferentemente sobre las hojas (73%), en un grado menor sobre tallos nuevos (21%) y brácteas de los frutos (6%). Sin embargo, al someter a las hembras a condiciones forzadas, por ejemplo, plantas deshojadas, débiles y con alta infestación, pueden ovipositar sobre la superficie de los frutos verdes, pero no en los maduros (Estay 2003). Al nacer las larvas de primer estadio penetran inmediatamente en el mesófilo de la hoja. A medida que la larva se alimenta, va formando una galería en el interior de dicha hoja, pasando allí los 4 estadios larvales. En los dos primeros estadios, la galería es estrecha y larga (Pereyra 2002); mientras que en los dos últimos la larva aumenta considerablemente su tamaño y con él su capacidad de ingesta. Es en esta etapa del desarrollo donde adquiere más capacidad de desplazamiento, siendo el período en el cual puede ocasionar los más serios daños económicos al cultivo causando pérdidas de rendimiento importantes en diferentes regiones de producción y bajo sistemas de producción diversos (Cáceres 1992). Al finalizar el cuarto estadio alcanza el estado de pre-pupa, en el cual deja de

alimentarse, luego empupa recubierta por un tenue capullo de seda, en las hojas, otras partes de la planta o bien en el suelo. Con el tiempo, los adultos van emergiendo para aparearse y continuar el proceso con nuevas puestas.

Tuta absoluta tiene generaciones continuas durante todo el año (puede alcanzar entre 9 a 10 generaciones al año, en cultivos al aire libre y 12 en invernadero), es decir que es una especie multivoltina. Su corto tiempo de generación y su alto potencial biótico la predisponen al desarrollo de resistencia a los insecticidas (Siqueira *et al.* 2000).

III.3. Daños directos e indirectos

Tuta absoluta es un grave problema para la producción de tomate, no solamente por la intensidad del daño sino también por atacar en todo el ciclo de cultivo (Giustolin *et al.* 2002). Se han citado niveles de disminución en la producción de hasta 100% considerando los daños directos e indirectos (Uchoa 1992; Vilela y Della 2001; Korycinska y Moran 2009; De Evert *et al.* 2015).

Los daños directos se producen en los frutos (Figura 1.III.5) donde el ataque comienza cuando están apenas cuajados, produciendo galerías en su interior que llevan a la putrefacción, llegando a afectar hasta el 81% de los frutos (Dughetti 1993; Aznar *et al.* 2010) quitándole valor comercial y constituyendo una vía de entrada de patógenos, que contribuyen a la putrefacción de la zona afectada.

Los daños indirectos son las galerías realizadas por el estadio larval en las hojas (Figura 1.III.6), respetando la epidermis, alimentándose del mesófilo y generando una importante pérdida de capacidad fotosintética (Bogorni *et al.* 2003; Ramos s/a). En ataques severos puede comprometer también a los frutos (Estay 2000). En los brotes (Figura 1.III.7), las galerías destruyen la yema apical, abortando el crecimiento simpodial de la planta (Betancourt y Scatoni 1995).



Figura 1.III.5. Daño en fruto ocasionado por *Tuta absoluta*
(Fuente: CSIC 2015).



Figura 1.III.6. Daño en hoja ocasionado por *Tuta absoluta*
(Fuente: www.minihuertos.net).



Figura 1.III.7. Daño en brote ocasionado por *Tuta absoluta* (Fuente:www.planetahuerto.es).

III.4. Control químico

Para reducir al mínimo las pérdidas provocadas por una plaga invasora, como el caso de *T. absoluta*, el control químico es el principal método adoptado. Sin embargo, *T. absoluta* tiene un alto riesgo de evolución de la resistencia a los insecticidas, como muchos casos que han sido reportados hasta la fecha (Campos *et al.* 2015 b; Roditakis *et al.* 2015; Lino 2010; Salazar y Araya 1997). Las aplicaciones son realizadas al aparecer los primeros adultos de la plaga y generalmente deben ser repetidas en el tiempo generando un aumento de costos económicos y ambientales (Ripa *et al.* 1992). Los insecticidas de contacto comúnmente usados hasta la década del 90 (piretroides, carbamatos y fosforados) no eran lo suficientemente eficaces debido al hábito minador de las larvas, lo que conducía a un elevado número de aplicaciones en cada campaña. Los piretroides son una clase importante de insecticidas sintéticos ampliamente utilizados por su acción rápida, alta actividad insecticida y baja toxicidad en mamíferos. Interactúan con los canales de sodio dependientes de voltaje, modificando su función cinética, conduciendo al sistema nervioso al agotamiento y la muerte. Uno de los principales problemas suscitados fue la resistencia asociada con la presencia de las mutaciones en los canales de sodio (Silva *et al.* 2015; Lietti *et al.* 2005). La resistencia junto con la aparición de plagas secundarias, contaminación y baja eficiencia de aplicación, generaron la búsqueda continua de otras alternativas para el control de la

polilla del tomate, dando lugar a nuevas clases de insecticidas (Galarza y Larroque 1984; Polack 1999; Cáceres 2000). Algunos de estos nuevos insecticidas tienen una actividad específica contra un orden particular de artrópodos y han sido introducidas en los últimos quince años, como resultado de una conciencia ambiental cada vez mayor, la pelea por la credibilidad ambiental entre las corporaciones (Kroma y Flora 2003) y los procesos de registro, armonización y evaluación del riesgo cada vez más rigurosos como aquellos que siguen adelante en Europa.

La nueva clase de insecticidas denominados biorracionales abarca a productos tales como neonicotinoides, insecticidas reguladores del crecimiento (IG), inhibidores de la síntesis de lípidos, moduladores de la rianodina (neurotransmisor), bioplaguicidas (de origen natural y botánicos), spinosinas y derivados de la fermentación del microorganismo *Streptomyces avermitilis* (CASAFE 2009). Cada uno de ellos con modos de acción y orígenes distintos. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica (USEPA) diferencia un insecticida biorracional de uno convencional de amplio espectro, por tener un modo de acción diferente, una mayor selectividad, actividad residual relativamente breve y una baja toxicidad sobre organismos “no blanco” y el ambiente (Sullivan y Goh 2008). Por estas características, son considerados adecuados para su uso como componentes en los programas de Manejo Integrado de Plagas (Ishaaya *et al.* 2007).

III .4.1. Agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina.

La nicotina es un metabolito secundario que integra el grupo de los alcaloides, que ha sido identificado en quince diferentes especies del género *Nicotiana*. Entre los alcaloides se mencionan la anabasina, 1-nornicotina y nicotimina (Soloway 1976). En el tabaco, el contenido de nicotina puede variar entre 0,3 y 3,0%, aunque en algunas variedades puede alcanzar el 10%. La nicotina actúa como insecticida de contacto y se ha formulado como sulfato de nicotina, polvo de tabaco y en preparaciones jabonosas. Su mayor actividad se ha observado en las preparaciones jabonosas, sin embargo, son este tipo de preparados los que presentan más altos niveles de toxicidad a mamíferos (LD50 = 50 mg/kg) y hacen que la nicotina sea considerada por la Organización Mundial de la Salud como altamente dañina (Casanova *et al.* 2002), hecho que ha limitado su uso. La toxicidad es ocasionada por la alta afinidad de la nicotina sobre los receptores nicotínicos de acetilcolina en mamíferos, y menor afinidad por los

respectivos receptores de los insectos, mostrando de esta manera una baja potencia como insecticida. Este último aspecto ha sido ampliamente estudiado (Tomizawa *et al.* 2000, 2003; Ohno *et al.* 2009) y ha impulsado el desarrollo de insecticidas de síntesis como los neonicotinoides (Duke 1990; Miceli *et al.* 2005).

Los neonicotinoides se encuentran en las categorías II y III de toxicidad de la clasificación de la Agencia de Protección Ambiental (EPA). Entre ellos se puede citar: acetamiprid, clotianidina, imidacloprid, tiacloprid y tiametoxam. El insecticida acetamiprid (Figura 1.III.8) es utilizado para combatir plagas tales como mosca blanca, pulgón, minadores de hoja y trips. Actúa por contacto e ingestión, es altamente sistémico y tiene acción translaminar. (Kahal 2015).

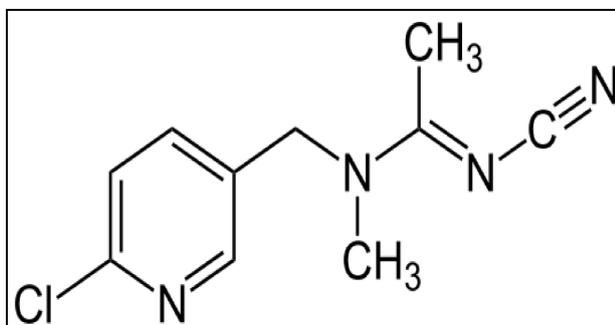


Figura 1.III.8. Estructura química de acetamiprid.

Los neonicotinoides poseen un nuevo modo de acción que actúa a nivel del sistema nervioso central, presentando una menor toxicidad en mamíferos y alto potencial insecticida. Actualmente son uno de los grupos de insecticidas más usados a nivel mundial. Sin embargo el uso de ciertos químicos de esta familia está siendo restringido en distintos países debido a una posible conexión con el desorden del colapso de colonias apícolas como desorientación, problemas de alimentación, y la perturbación de comunicación (Chauzat *et al.* 2006, Yang *et al.* 2008). También se han evidenciado efectos nocivos sobre parasitoides y depredadores (Stapel *et al.* 2000; Hewa Kapuge *et al.* 2003; Michaud y Grant 2003).

III.4.2. Reguladores del crecimiento

Los reguladores de crecimiento actúan en el proceso de la metamorfosis de los insectos, proceso que comprende una serie de cambios estructurales internos y externos que ocurren en el insecto inmaduro hasta dar lugar al adulto. Antes de llegar al estadio

adulto, los artrópodos realizan una serie de mudas. En el proceso de la muda, se libera de la cutícula vieja para poder crecer. Tras esto se tiene que formar una nueva cutícula acorde a su nueva forma y dimensión. Estos cambios suponen un proceso en el cual el insecto inmaduro debe ir creciendo en tamaño y en los que intervienen procesos gobernados por una serie de sustancias hormonales (Riddiford 1980).

El primer proceso involucrado es el crecimiento en tamaño del insecto, para lo cual es necesaria la muda. Las células neurosecretoras de una parte del cerebro son las que secretan la hormona denominada ecdisotropina (hormona protoracicotrópica) en función de diversos estímulos. Esta hormona se almacena en los cuerpos cardíacos, pasando a través de los nervios que los unen al cerebro. De los cuerpos cardíacos se vierte directamente a la hemolinfa, de forma que al llegar a las glándulas protorácicas estimula en ellas la producción de la hormona de la muda (HM) o ecdisona.

El segundo proceso fundamental en la metamorfosis está conformado por la serie de cambios que debe sufrir todo insecto inmaduro para formar al insecto adulto. En este proceso interviene, entre otras, la denominada hormona juvenil (HJ). (Viñuela *et al.*1991).

La importancia de la muda y la metamorfosis en el desarrollo de los insectos, y su carácter hormonal, han estimulado el desarrollo de sustancias insecticidas que interfieren en alguno de estos procesos. Los productos de síntesis similares (agonistas) la ecdisona aceleran la muda, mientras otros compuestos sintéticos interfieren con la deposición de la cutícula. Otros productos son agonistas de la hormona juvenil, manteniendo indefinidamente los caracteres juveniles en los inmaduros. De forma contraria, las sustancias antagonistas de la hormona juvenil provocan la aparición prematura de características de adulto. (Bellés 2015).

III.4.2.1. Miméticos de la hormona juvenil (HJ)

A la vista del importante papel que juega la HJ en el desarrollo de los insectos, Willians (1956) propuso su utilización como insecticida, al obtener efectos morfogenéticos en la metamorfosis del gusano de seda, cuando le aplicaba extractos del abdomen del macho de *Hyalophora cecropia* (Lepidoptera: Saturniidae). Sin embargo, la HJ es costosa de sintetizar y se degrada rápidamente, por lo que se han desarrollado diferentes sustancias

análogas y miméticas (sintéticas, y aisladas de plantas y animales) conocidas como juvenoides que afectan básicamente al último estadio de la larva o ninfa antes de llegar adulto. (Viñuela *et al.* 1991).

Los compuestos miméticos de la hormona juvenil más recientes como el piriproxifén y el buprofezin han mostrado buenos resultados tanto en laboratorio como en campo (Laveissiere y Sane 1994; Perner *et al.* 1997) Estos compuestos presentan actividad insecticida por contacto e ingestión. En el interior del organismo, el principio activo actúa como agonista de la hormonal juvenil, interfiriendo sobre el desarrollo, crecimiento y vitelogenénesis de los insectos (Sullivan y Goh 2008).

III.4.2.2. Compuestos aceleradores de la muda (CAM)

Son principalmente efectivos para controlar larvas de lepidópteros en desarrollo, y como consecuencia de su modo de acción controlan formas juveniles incipientes (larvas pequeñas). Los CAM (Metoxifenozone o Intrepid, es la única marca comercializada en el país), cuando son ingeridos por los insectos desequilibran la relación hormonal que gobierna el desarrollo de los insectos acelerando el pasaje de un estadio al siguiente y por lo tanto produce larvas deformes o pupas que terminan muriendo o adultos con menor fecundidad o fertilidad (Lobos s/a). Entre estas insecticidas se puede citar a metoxifenocida que actúa principalmente por ingestión, aunque se han verificado altos niveles de penetración en el tegumento de algunos insectos. Evidenciándose efectos negativos significativamente bajos en parasitoides para tebufenocida (Schneider *et al.* 2003).

III.4.2.3. Compuestos inhibidores de la muda

Los primeros compuestos que inhibían la muda de los insectos fueron descubiertos en plantas (azadiractina, brasinolida, digitonina) (Marco y Tomás 1988). La azadiractina es un tetranortriterpeno del tipo limonoide (Figura 1.III.9), producido por el metabolismo secundario de las plantas del orden Rutales. Dentro de este orden se encuentran más frecuentemente en la familia Meliaceae y con menor frecuencia en las familias Rutaceae y Cneoráceae (Champagne *et al.* 1989). Dentro de la familia Meliaceae, la azadiractina se extrae del árbol de nim, *Azadirachta indica*. Es uno de los derivados más importantes de plantas usados en el control de insectos plaga (Adel y Sehna 2000). Este compuesto tiene propiedades anti alimentarias y causa esterilidad en

los insectos debido a que altera la concentración de los ecdisteroides y de la hormona juvenil. Los insecticidas derivados del árbol del nim presentan determinadas características que los presentan como una alternativa en programas de manejo integrado de plagas. Actúan principalmente sobre estados inmaduros de insectos fitófagos, mostrándose más selectivos hacia EN (Schmutterer 1990). Si bien la azadiractina presenta baja toxicidad hacia vertebrados, su acción sobre EN y polinizadores es discutida (Barbosa *et al.* 2015).

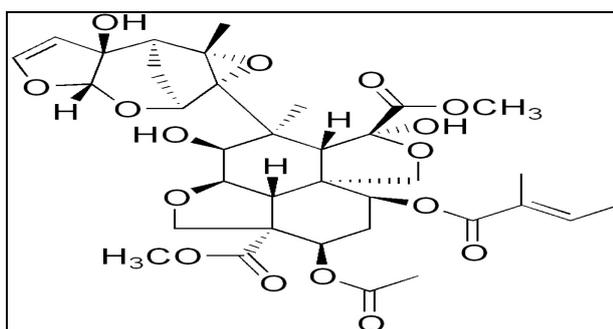


Figura 1.III.9. Estructura química de azadiractina.

III.4.2.4. Compuestos inhibidores de la formación de quitina

Estos compuestos interfieren en el proceso de producción de la cutícula de los insectos, proceso en el cual es fundamental la quitina. Si el insecto ha recibido dosis de un inhibidor de la quitina, no podrá formar una cutícula que le proteja del exterior y le confiera dureza. Como consecuencia, la larva o la ninfa morirán. Las benzoilfenilureas (BPU) son insecticidas selectivos que interfieren en la síntesis de la quitina (Oberlander y Silhacek 1998).

III.4.3. Moduladores de la rianodina

La rianodina estimula la liberación de calcio de las reservas internas de los músculos de los insectos e induce contracción, afectando actividades como la alimentación y movilidad, produciendo parálisis y finalmente la muerte de los insectos. Posee amplio rango de acción sobre insectos del Orden Lepidoptera (Cordova *et al.* 2006).

El insecticida clorantraniliprol que pertenece al grupo de las diamidas antranilicas (Figura 1.III.10) posee este modo de acción. Clorantraniliprol es un excelente

insecticida no solo porque muestra alta potencia larvicida, actividad de larga duración e insignificante toxicidad en mamíferos, sino también porque tiene un notable perfil ecotoxicológico. Es muy seguro para las aves, crustáceos y artrópodos beneficiosos incluyendo abejas y arañas (Lahm *et al.* 2009).

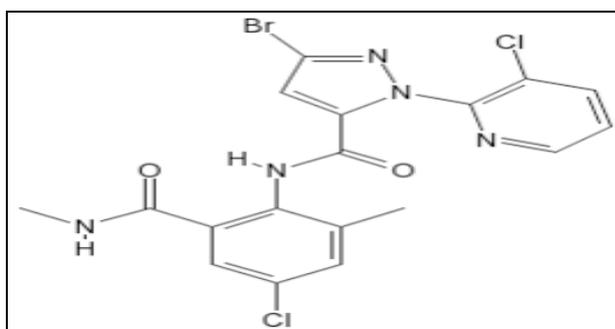


Figura 1.III.10. Estructura química de clorantraniliprol.

III 4.4. Activadores de los canales de cloro

Las avermectinas, dentro de las cuales se encuentra la emamectina, son producidas por el microorganismo natural del suelo *S. avermitilis*. Estas sustancias se adhieren y activan los canales de cloruro en las membranas de las células nerviosas interrumpiendo el pasaje de iones y la transmisión de impulsos entre las células nerviosas. (Devine *et al.* 2008) El benzoato de emamectina (Figura 1.III.11) es un nuevo insecticida, desarrollado para controlar plagas de lepidópteros en una amplia gama de los cultivos en todo el mundo (Liguori *et al.* 2008). Este insecticida es muy activo para *T. absoluta*, (Liguori *et al.* 2010; López *et al.* 2010) y podría ser utilizado cuando estén presentes los organismos benéficos que controlan la plaga. Con respecto a esto, estudios de laboratorio indican ciertos niveles de nocividad por aplicación tópica y residuos frescos en especies de himenópteros tales como: *Aphidius gifuensis* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) (Kobori y Amano 2004) y *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) (Van De Veire y Tirry 2003).

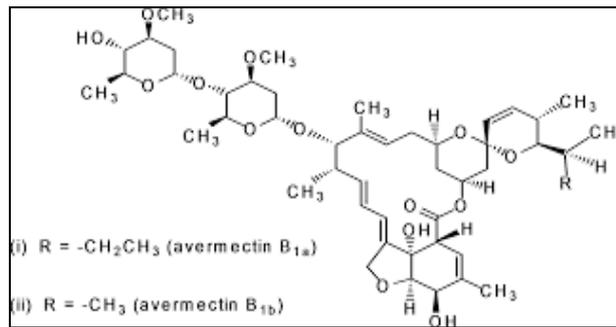


Figura 1.III.11. Estructura química de benzoato de emamectina.

III.4.5. Bloqueadores de los canales de sodio

Casi tres décadas separan el descubrimiento inicial de los primeros insecticidas inhibidores de los canales de sodio (SCI) y la disponibilidad de los primeros insecticidas comerciales de esta clase (Mulder *et al.* 1975). A pesar de su excelente actividad insecticida, estos compuestos han fracasado repetidamente para producir insecticidas comerciales debido a su foto inestabilidad, persistencia inaceptable en el suelo y su alta toxicidad en mamíferos (Meier *et al.* 1992). Sin embargo, el desarrollo comercial de indoxacarb y metaflumizona ilustra el valor práctico de esta clase y el potencial para el desarrollo de nuevos SCI insecticidas con favorables propiedades ambientales y toxicológicas. Ambos producen idénticos síntomas neurotóxicos agudos en los insectos, caracterizados por una pseudoparálisis, en que los insectos parecen ser envenenados, pero se pueden mover, a veces violentamente, cuando se les molesta (Wing *et al.* 2005, Salgado y Hayashi 2007)

Metaflumizona (Figura 1.III.12) fue descubierta por Nihon Nohyaku en el año 1990 y pertenece a la nueva clase de insecticidas de las semicarbazona (Takagi *et al.* 2007). Ofrece una alta eficacia contra las plagas de insectos, y un bajo riesgo para los organismos no blanco incluyendo insectos benéficos y polinizadores, así como a los seres humanos y el medio ambiente (Hempel *et al.* 2007). Su modo de acción consiste en bloquear los canales de sodio, sin necesidad de activación por parte del metabolismo del insecto; los llamados bloqueadores del canal de sodio dependiente del voltaje. Los canales de sodio dependientes del potencial, son proteínas transmembrana que permiten el paso de iones sodio a través de la membrana celular. El transporte de los iones sodio

a través de estos canales es pasivo (no requiere energía en la forma de ATP) y solo depende del potencial electroquímico del ion (Goncalves 2010).

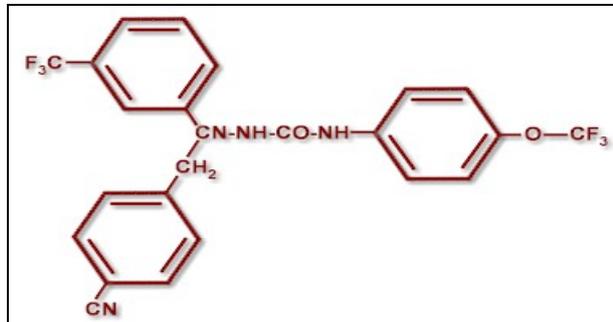


Figura 1.III.12. Estructura química de metaflumizona.

Sección IV. El parasitoide *Pseudapanteles dignus*

IV.1. Importancia y distribución geográfica

Se han reportado más de 20 especies de parasitoides primarios de *T. absoluta* (De Santis 1983; Cònsoli *et al.* 1998; Faria *et al.* 2000; Berta y Colomo 2000; Luna *et al.* 2005). Las especies de parasitoides primarios comprenden seis gremios de parasitoides definidos por Mills (1992) como: **(1) parasitoides de huevos:** *Trichogramma fasciatum* (Perkins), *T. pretiosum* Riley, *T. rojasi* Nagaraja y Nagarkatti y *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja; **(2) parasitoides larvales tempranos:** *Apanteles* sp. y *A. gelechiidivoris* Marsh; **(3) endoparasitoides de larvas:** *Agathis* sp., *Bracon lucileae* Marsh, *Bracon* spp., *Earinus* sp., *Diadegma* sp., *Horismenus* sp., *Orgilus* sp., *P. dignus*, y *Temelucha* sp.; **(4) ectoparasitoides de larvas:** *Cirrospilus* sp., *Neochrysocharis formosa* (Westwood), *Dineulophus phthorimaeae* (De Santis) y *Parasierola nigrifemur* (Ashmead); **(5) parasitoides de huevos – larvas:** *Chelonus* sp. y *Copidosoma* sp.; y **(6) el parasitoide larval-pupa:** *Campoplex haywardii* Blanchard.

Los parasitoides de larvas de *T. absoluta* están clasificados en los órdenes de insectos Hymenoptera y Diptera. En Hymenoptera, diferentes familias (Encyrtidae, Eulophidae, Braconidae, Bethylidae, Chalcididae, Torymidae, Pteromalidae e Ichneumonidae) incluyen varios parasitoides, mientras que Tachinidae es la única familia en el orden Diptera que incluye algunos pocos parasitoides (Ghoneim 2014). Braconidae es una de las familias más grandes de parasitoides de Hymenoptera (LaSalle y Gauld 1993; Jones *et al.* 2009).

Entre las especies que atacan las larvas de *T. absoluta*, el endoparasitoide *P. dignus* y el ectoparasitoide *D. phthorimaeae* son las principales especies autóctonas en la Argentina, produciendo un 50 % de parasitismo natural (Sanchez *et al.* 2009; Luna *et al.* 2010). Estos parasitoides exhiben atributos relevantes como agentes de control en estudios de laboratorio y campo. Muestreos realizados en las provincias de Tucumán y Buenos Aires, mostraron que *D. phthorimaeae* y *P. dignus* coexisten en los cultivos de tomate y de berenjena, y también *P. dignus* se encuentra en otras solanáceas no cultivadas presentes en los predios hortícolas (Luna *et al.* 2015). Estos parasitoides pueden ser utilizados en programas de control biológico por conservación de *T. absoluta* (Colomo *et al.* 2002; Luna *et al.* 2007; Sánchez *et al.* 2009; Savino *et al.* 2012).

Pseudapanteles dignus fue descrita en California, EEUU (Muesebeck 1938). En la Argentina fue reportada como el enemigo natural dominante de *T. absoluta* (Colomo *et*

al. 2002) en el Cinturón Hortícola Platense (Botto 1999) encontrándose en cultivo al aire libre y en invernadero, ya sea orgánico o con alguna aplicación de pesticidas (Luna *et al.* 2007. Colomo *et al.* (2002) citan a este parasitoide como el más abundante para *T. absoluta* en el cultivo de tomate desde 1995 en la provincia de Tucumán. Por su parte, Botto (1999) y Luna *et al.* (2007) lo mencionan como una especie común en la provincia de Buenos Aires. Además, se cuenta con registros de su presencia en otras regiones productoras de tomate de nuestro país, como Mendoza y Corrientes (Cáceres *et al.* 2011).

IV.2. Aspectos ecológicos

Pseudapanteles dignus exhibe ciertas características de su ciclo de vida, rasgos ecológicos y poblacionales que lo posicionan como controlador de *T. Absoluta* (Tabla 1.IV.1) (Luna *et al.* 2010; Sanchez *et al.* 2009).

Tabla 1.IV.1. Historia de vida de *Pseudapanteles dignus* (resumido de Luna *et al.* 2010; Nieves 2013).

Ciclo de vida	<i>Pseudapanteles dignus</i>
Media de la fecundidad de la hembra	192 huevos / hembra
Proporción de sexo (M:H)	1:1.25
Ciclo de vida(día)	36
Media del tiempo de desarrollo (huevos hasta emergencia de los adultos)(días)	22
Estadio larval que parasita	1er estadio al 4°
Tiempo de forrajeo	Limitado
Cría masiva	Sencilla

Nieves (2013) concluyó que el estadio larval L1-L2 de *T. absoluta* es el óptimo para ser utilizado por el parasitoide, al no afectar su tiempo de desarrollo y el número de cocones producidos por la hembra. También concluyó que el parasitismo promedio por hembra es de 47%, y en campo entre 33 y 64% (Nieves *et al.* 2015). Además, *P. dignus* posee el potencial para suprimir las densidades de *T. absoluta* (Nieves 2013 (Sánchez *et al.* 2009). Esta información coincide con las afirmaciones de Folcia (2013) quien concluyó que *P. dignus* actuó eficazmente a bajas densidades, permitiéndole actuar en las etapas iniciales de la colonización de la plaga, reduciendo entre 33-49% la población de *T.*

absoluta en los primeros tomates (septiembre-diciembre) y un 64% en los tomates tardíos (Nieves 2013).

Folcia (2013) concluyó que *P. dignus* cumple con ciertas condiciones que debe presentar un enemigo natural óptimo: un tiempo de desarrollo menor o igual que el de la plaga, su ciclo sincronizado con la misma, una elevada capacidad de búsqueda y una tasa intrínseca de crecimiento poblacional similar a la de su hospedero. Luna *et al.* (2015), por su parte, justificaron su uso en liberaciones experimentales en invernaderos de tomate, basado en su fácil manipulación y cría en laboratorio.

IV.3. Ciclo biológico de un endoparásitoide solitario

Las hembras adultas de parasitoides de vida libre, deben localizar a sus hospederos para realizar la puesta. Una vez localizado el hospedero utilizan las antenas y el ovipositor para evaluar si el hospedador es apto. Para ello recurren a una gran cantidad de estímulos del hospedador (marcas químicas, detección visual de huevos en su cutícula, etc.) (Badii *et al.* 2010). Tras la aceptación, la hembra puede seguir dos estrategias: la primera consiste en clavar el ovipositor en el cuerpo del hospedador e inyectarle un veneno que puede matarlo, paralizarlo de manera definitiva o frenar su desarrollo, para a continuación poner un huevo sobre su cuerpo o próximo al mismo, de forma que la larva que emerge se alimente del cuerpo indefenso. La segunda estrategia se basa en permitir que el hospedador continúe desarrollándose, de manera tal que muera al momento de pupar (koinobionte) (Ríos- Casanova 2011). Tras la puesta, las larvas de los endoparasitoides (Figura 1.IV.1) se desarrollan dentro del cuerpo de su hospedador. En estos parasitoides el o los huevos hacen frente a la respuesta inmunitaria del hospedador, que tenderá a encapsular el material extraño. Las hembras pueden poner huevos grandes y ricos en vitelo (llamados anhidrópicos), que asegura su alimento en el posterior desarrollo embrionario. Este tipo de huevos conlleva a un gasto fisiológico por parte de la hembra, que se deberá alimentar de sustancias nutritivas (hemolinfa) obtenidas a través de la picadura realizada con el ovipositor. (Nicholls 2008).

El huevo se desarrolla dentro del huésped, pasa a pupa y en ese momento produce la muerte del huésped al emerger el adulto del parasitoide.

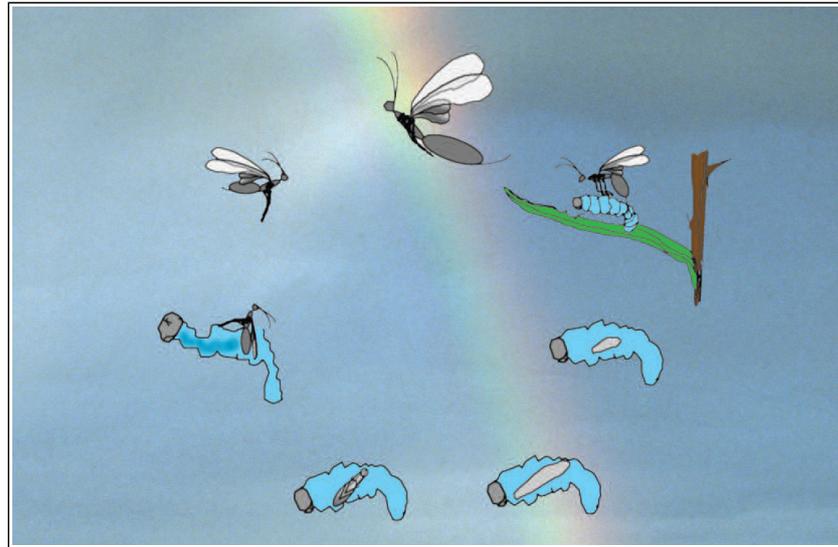


Figura 1.IV.1. Esquema general del ciclo de vida de un endoparásitoide solitario.

IV.4. Ciclo biológico de *Pseudapanteles dignus*

Pseudapanteles dignus es un endoparásitoide solitario, cuya hembra adulta realiza la oviposición sobre la larva del huésped. El huevo se desarrolla dentro de la larva sin matarla (koinovionte), hasta llegar al último estadio larval, momento en que sale del huésped y empupa a un costado del mismo, envolviéndose en un capullo o cocón de seda (Figura 1.IV.2). A campo suele observarse el cocón en las minas generadas por *T. absoluta* y en su costado el pelecho de la larva huésped.

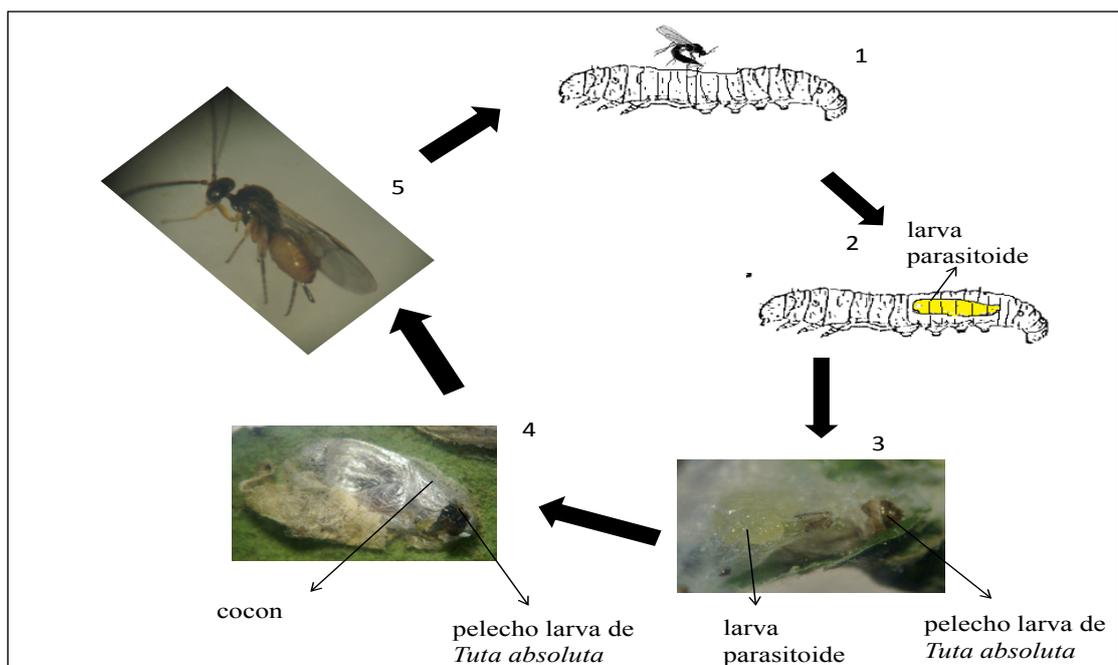


Figura 1.IV.2. Esquema del ciclo biológico de *Pseudapanteles dignus*

CAPITULO 2

Materiales y métodos generales

2.1. Recolección de insectos a campo

La recolección de *T. absoluta* y del parasitoide *P. dignus* se realizó en el periodo de noviembre a febrero, en los años 2014 y 2015. Para ello se seleccionaron dos sitios dentro del Cinturón Hortícola Platense.

Sitio 1: Ubicado en Colonia Urquiza, al aire libre y bajo cubierta con manejo orgánico y vegetación espontánea. Destino de la producción: mercado interno (Figura 2.1).

Sitio 2: Ubicado en Los Hornos. “Estación Experimental Julio Hirschhorn”, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP). Producción bajo cubierta. Cultivo no comercial, con fines de estudio para la Universidad. Sin aplicación de agroquímicos (Figura 2.2).

En los mismos, se recolectaron brotes con hojas que contenían daños frescos de larvas del lepidóptero, se colocaron en bolsas de plástico y luego en conservadoras (sin hielo) hasta llegar al laboratorio. También se utilizó un aspirador manual para capturar adultos de ambas especies.



Figura 2.1. Sitio 1 de recolección de *Tuta absoluta* y *Pseudapanteles dignus* en Colonia Urquiza.



Figura 2.2. Sitio 2 de recolección de *Tuta absoluta* y *Pseudapanteles dignus* en la Estación Experimental Julio Hirschhorn

2.2 Cría de insectos en laboratorio

Las crías del parasitoide *P. dignus* y la plaga *T. absoluta*, fueron llevadas a cabo en el Centro Parasitológico y de Vectores (CEPAVE) en la ciudad de La Plata, provincia de Buenos Aires, en un bioterio (Figura 2.3) bajo condiciones ambientales controladas (25 ± 5 °C, 70 ± 5 % HR y 14: 10 h L: O).



Figura 2.3. Cámara de cría de *Tuta absoluta* y *Pseudapanteles dignus*.

El material proveniente de campo fue revisado bajo lupa binocular esteroscópica (Motic-SFC-11-2LBB) y colocado en cuarentena con el fin de descartar enfermedades e hiperparasitismo. Las hojas que contenían larvas fueron colocadas en recipientes con agua corriente, las que a su vez se dispusieron dentro de un recipiente (20cm de diámetro por 20 de alto) ventilado superiormente con tela de *voile*. A estos recipientes se les introdujeron de manera periódica plantines de tomate para alimentación de las larvas que, al fin de ciclo, fueron fuentes de adultos de la polilla o del parasitoide, de acuerdo a si estuvieron o no parasitadas. A partir de esta etapa las crías se realizaron de manera separada.

Los plantines de tomate utilizados fueron comprados en plantineras y acondicionados en macetas de 9,5cm de alto por 9 cm de ancho con un sustrato de tierra orgánica y perlita en proporción 1:2, manteniéndose para su utilización en invernáculo, con riego y fertilización.

2.2.1 Cría de *Tuta absoluta*

Los adultos provenientes de la cría de insectos en laboratorio anteriormente descrita y aquellos aspirados en el campo, se traspasaron a la jaula de oviposición (Figura 2.4) de plástico; con aberturas para la respiración y una manga para la manipulación. Para alimentación de los adultos de la plaga se colocó un algodón embebido en agua destilada con miel al 15% y plantines sanos de tomate con 5 ó 6 hojas para la oviposición. Los plantines se mantuvieron en la jaula 24 y 48 horas dependiendo el destino. Las plantas con huevos de 24 horas se identificaron con la fecha y se llevaron a una jaula hecha con tela de *voile* en el invernáculo, hasta eclosión de los huevos y la llegada de las larvas al segundo estadio larval (L2) (aproximadamente 12 días desde huevo). De estas plantas con larvas en estadio L2, la mitad se utilizó para los ensayos y la otra mitad para la cría del parasitoide.

Las plantas con huevos de 48 horas se introdujeron en recipientes de plástico de 18 cm de diámetro por 15 cm de alto, ventilados, donde las larvas fueron alimentadas con hojas de tomate fresco hasta obtener adultos. Estos se aspiraron y se colocaron en la jaula de oviposición, cerrando el circuito de la cría.

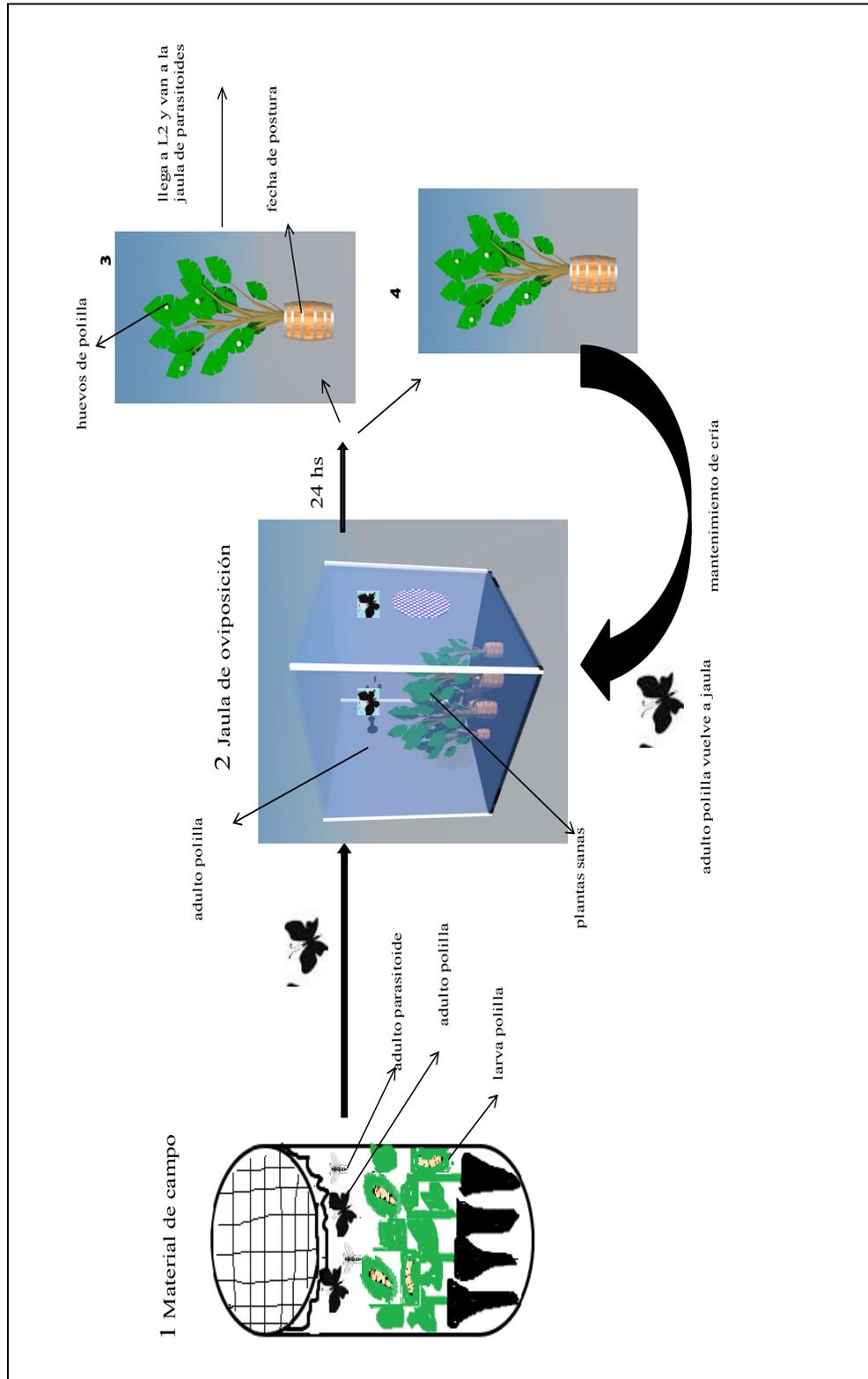


Figura 2.4. Esquema de cría de *Tuta absoluta*

2.2.2. Cría de *Pseudapanteles dignus*

Los adultos del parasitoide provenientes de la cría de insectos en laboratorio anteriormente descrita y los aspirados en el campo fueron depositados con un aspirador en la jaula de parasitismo (Figura 2.5), de plástico, con aberturas para la ventilación y con una manga para la manipulación. Dentro de la misma se colocaron plantas con larvas de segundo estadio de *T. absoluta* para ser parasitadas, provenientes de la cría del lepidóptero. Para alimento de los parasitoides se dispuso un algodón embebido en agua con miel al 50%.

Las plantas con larvas L2 se mantuvieron en la jaula durante 48 horas en presencia de machos y hembras, para asegurar la cópula y la oviposición. Esas larvas posiblemente parasitadas tuvieron 2 destinos: a) mantener la cría del parasitoide, para lo cual la mitad de esas plantas se depositaron en tachos ventilados en su parte superior, con adición de hojas nuevas de tomate fresco *ad libitum* hasta la obtención de adultos, b) a la otra mitad de las plantas se les cortaron las hojas con larvas expuestas, se las depositaron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con algodón humedecido y se les adicionó hojas frescas y sanas de tomate hasta la obtención de cocones. Una parte de los mismos fueron destinados para los ensayos de pupas y los otros fueron traspasados a otras cajas de Petri con una traza de miel pura, hasta la emergencia de los adultos. Una vez emergidos, los adultos fueron sexados y utilizados para los ensayos con adultos. El pasaje de las hojas con larvas L2 parasitadas a cajas de Petri se fundamenta en el cuidado especial que necesita el parasitoide para poder obtener la mayor cantidad de cocones posibles. El parasitismo no fue del 100% por lo cual los adultos de *T. absoluta* emergidos de los cocones no parasitados fueron transferidos a la jaula de oviposición para contribuir a la cría de la plaga.

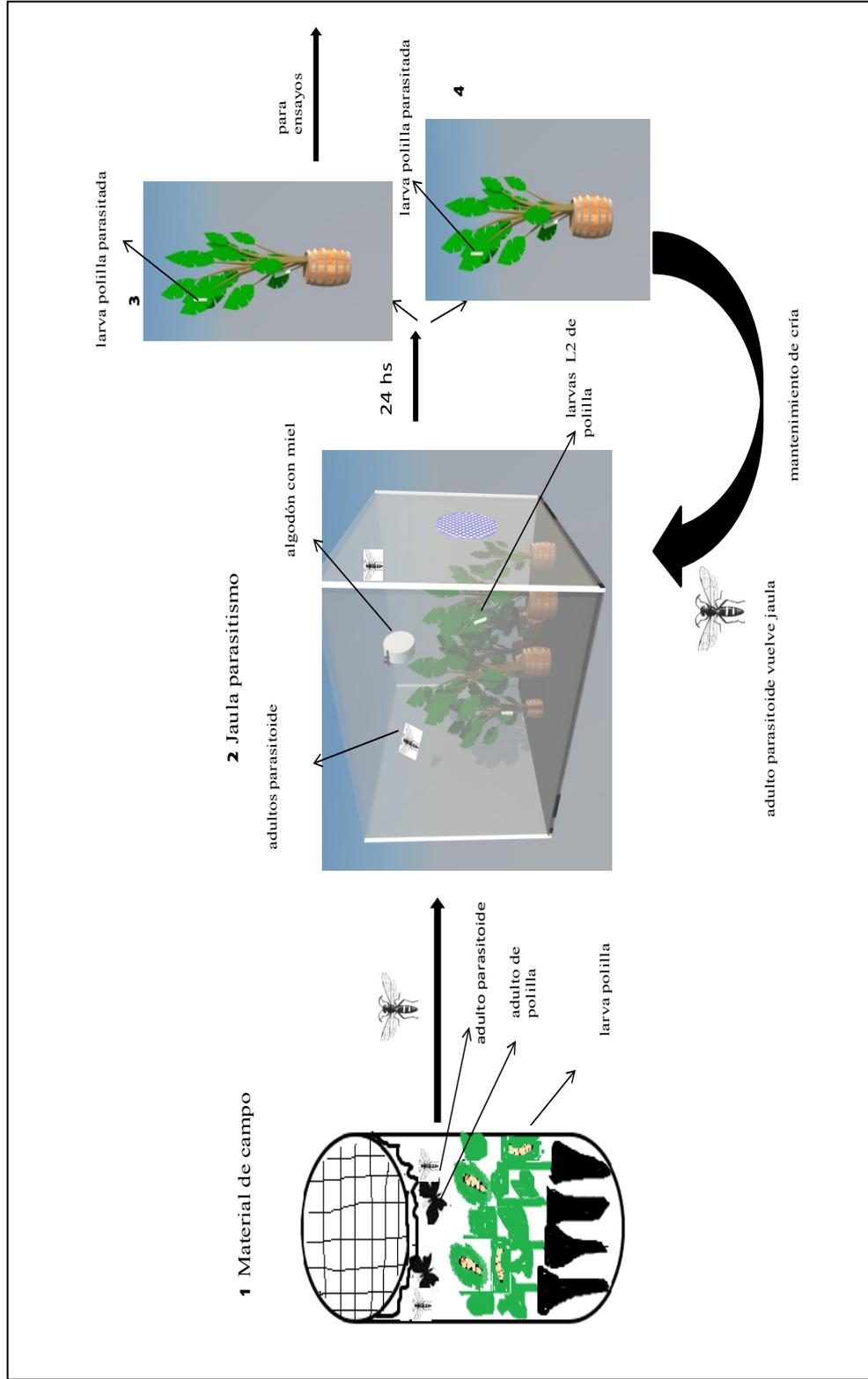


Figura 2.5. Esquema de cría de *Pseudapanteles dignus*.

2.3. Metodología general de preparación y aplicación de los insecticidas

2.3.1. Preparación de soluciones insecticidas

Las soluciones de insecticidas fueron preparadas al comienzo de cada ensayo. Los solventes utilizados fueron agua destilada y acetona grado analítico 50%, dependiendo del tipo de ensayo y método de exposición seleccionado. Para cada insecticida se observó la Máxima Concentración para su uso a Campo (MCRC) (CASAFE 2013-2015) (Tabla 2.1) y para convertir las máximas concentraciones a campo en concentraciones a laboratorio se debió utilizar información de la riqueza del insecticida en materia activa y la concentración máxima recomendada a campo. Por transformación se obtuvo la concentración en laboratorio expresada en ppm (mg/l).

Tabla 2.1. Insecticidas utilizados en los experimentos de *Pseudapanteles dignus*.

Ingrediente activo	Modo de acción	Nombre comercial	Pureza (p/v)	Máxima concentración recomendada a campo	Empresa fabricante
clorantraniliprol	Modulador de la rianodina	Coragen	4	200	Dupont
emamectina	Activador de los canales de cloro	Proclaim	5	50	Syngenta
acetamiprid	Receptor de la acetilcolina	Mospilan	20	200	Summit-Agro SA
azadiractina	Agonista de ecdisoma(muda)	Nemm-azal	1,2	40	Agristar SA
metaflumizona	Bloqueador de los canales de sodio	Alverde	24	240	BASF

2.3.2. Métodos de aplicación de los insecticidas.

Tópico: en el ensayo con pupas se aplicó una gota de 1 ul, con microaplicador (Burkard, Hamilton PB 600), sobre la pupa del parasitoide (Figura 2.6). En los testigos se aplicó solo acetona pura y en los tratamientos con insecticidas diluidos en ese mismo solvente, se utilizó acetona al 50%, ya que en concentraciones mayores la acetona precipitaba.

Para comenzar a utilizar los insecticidas hay que convertir su concentración en campo a laboratorio(ppm o mg de ingrediente activo(i.a)/1000 ml de solución(A)) a través de una

formula que utiliza los valores de la concentración a campo , la riqueza del insecticida y un factor de conversión. Una vez obtenido la concentración en laboratorio se comienza a preparar la dilución que va a ser aplicada en 1 ul sobre cada pupa Para los ensayos de aplicación tópica se calculan los mg de i.a/1000 ml(A) en 20 ml de solución(B). Con los datos de pureza del insecticida (% = mg de i.a cada 10 ml de solución madre) se calcula a travez de una regla de tres simple cuanto de solución madre se pipetea para los mg de i.a que se obtuvieron en 20 ml de solución(B). La solución madre esta conformada por (9 ml de acetona + 1 ml de insecticida en formulación líquida o 1 gramo de insecticida en formulación granulada). A los ml de solución madre resultante se les adicionó acetona al 50% hasta completar los 20 ml, definiendo las soluciones tratamiento para cada insecticida.

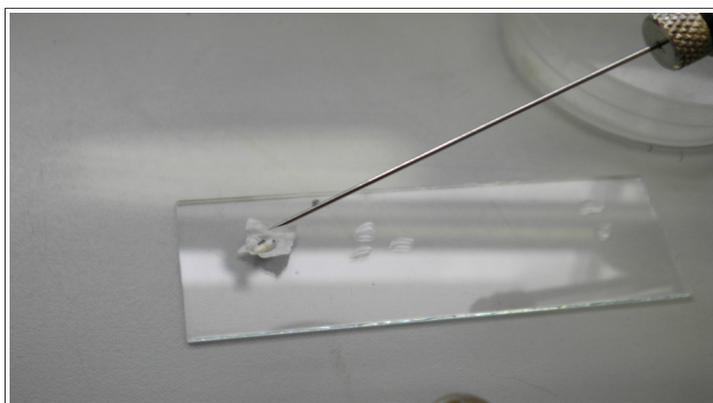


Figura 2.6. Método tópico de aplicación de insecticida sobre pupas de *Pseudapanteles dignus*.

Ingestión: en los ensayos con parasitoides adultos de 24 hs de edad, a cada pareja se les ofrecieron *ad libitum* las soluciones de los insecticidas en agua destilada, contenidas en un bebedero de 5 ml. Para los testigos se utilizó agua pura destilada. Con la concentración de cada insecticida en mg de ingrediente activo por cada 1000 ml de solución (ppm), se calculó la concentración equivalente a la dosis máxima de campo en las soluciones madre a utilizar. En función de la concentración y pureza de cada insecticida se prepararon 250 ml de cada solución a utilizar en un total de 50 bebederos, con los volúmenes correspondientes de cada solución madre (preparada inicialmente con 9 ml de agua y 1 ml del insecticida), y completando el volumen total con agua.

2.4. Determinaciones

En los ensayos realizados con aplicación tópica sobre pupas fueron determinadas las siguientes variables: emergencia y longevidad de los adultos, parasitismo efectivo, emergencia y longevidad de la progenie (Figura 2.7).

En los ensayos de ingestión realizados con adultos se determinaron las siguientes variables: supervivencia y longevidad de adultos, parasitismo efectivo, emergencia y longevidad de la progenie.

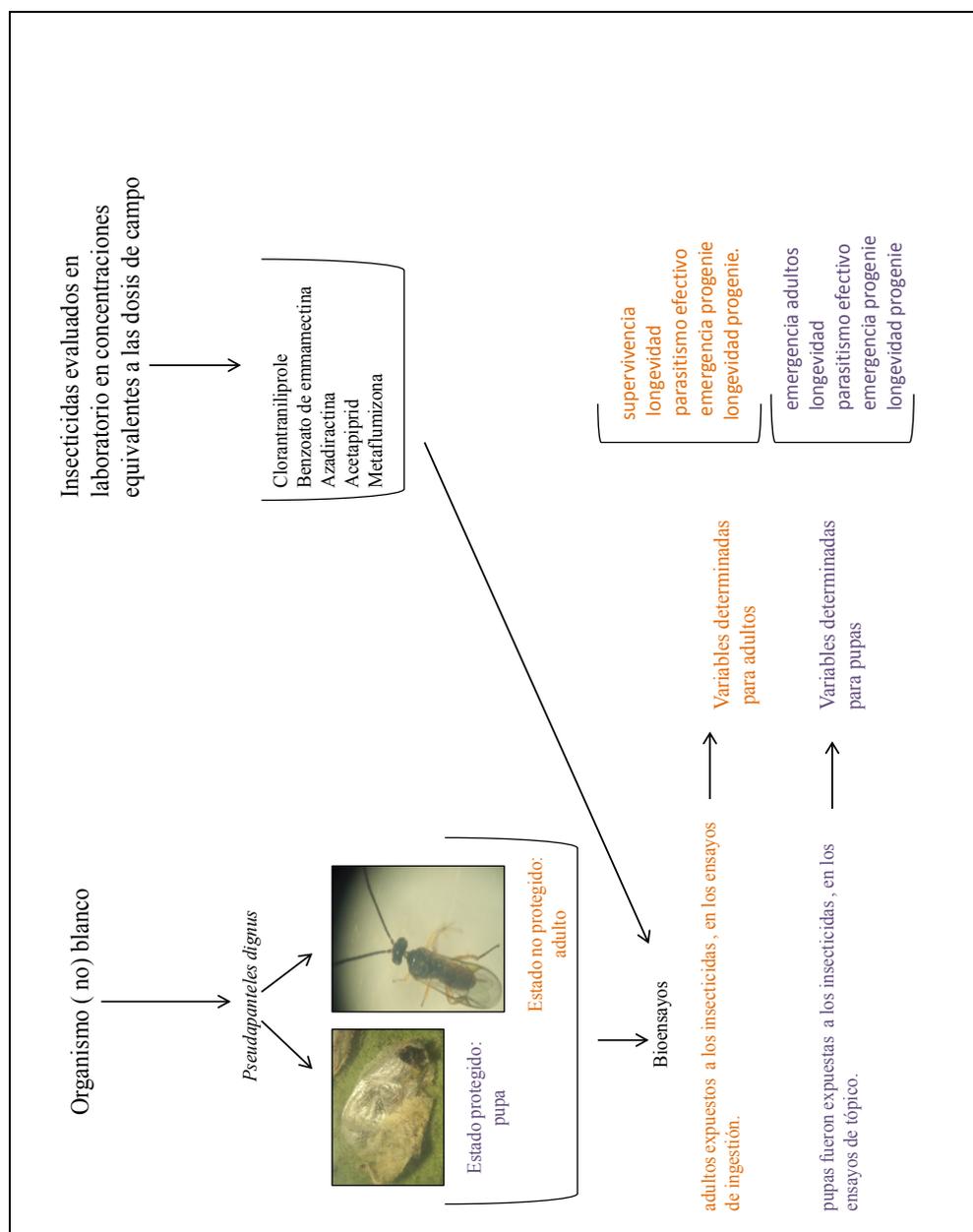


Figura 2.7. Resumen del diseño de los bioensayos para evaluación de efectos tóxicos sobre pupas y adultos de *Pseudapanteles dignus* en condiciones de laboratorio.

2.5. Análisis estadístico

La normalidad de los datos (emergencia de adultos, longevidad, parasitismo efectivo y emergencia de progenie) se analizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad de las varianzas a través de la prueba de Barlett. Cuando los resultados se ajustaron a estos supuestos, se procedió a realizar el método paramétrico de Análisis de la Varianza (ANOVA). Si alguna de las premisas no fue cumplida, se realizaron transformaciones, seleccionándose según la escala en la cual estaban expresados los datos (Zar 1996). Para los valores expresados en proporciones se utilizó la transformación angular: $p' = \arcseno p$, donde p corresponde al valor original y p' corresponde a su valor transformado. Una vez realizadas las transformaciones correspondientes, los datos fueron sometidos nuevamente a la comprobación de la normalidad y homocedasticidad. Si los supuestos siguieron sin cumplirse, se procedió al análisis de los resultados mediante el test no paramétrico de Kruskal Wallis. Para el análisis a posteriori de los datos sometidos a ANOVA, se realizó la separación de medias mediante el test LSD Fisher.

En el Capítulo IV, para el análisis de supervivencia de los adultos expuestos a la ingestión de los distintos insecticidas, se utilizó el estimador Kaplan Meier. La comparación entre curvas de supervivencia se realizó a través del test Log rango con el análisis χ^2 . Se tomó el día 10 para censurar los datos, y se tomó la variable independiente dicotómica viva o muerta.

Las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, utilizando el programa Infostat versión 2008.

CAPITULO 3

Toxicidad de insecticidas biorracionales sobre
pupas de *Pseudapanteles dignus*

3.1. Introducción

El uso conjunto de EN y plaguicidas sustentado por el Manejo Integrado de plagas (MIP) tiene un problema: los tratamientos fitosanitarios suelen afectar más a los EN que a las plagas, porque la forma más común en que estos se contaminan es al entrar en contacto con los residuos. Los EN suelen ser de talla más pequeña que las plagas, más móviles, muy dependientes de sus huéspedes, pudiendo morir en ausencia de una densidad suficiente de estos y tienen sistemas enzimáticos muy pobres. (Viñuela 2005). Estos sistemas enzimáticos no le permiten al EN la detoxificación de los plaguicidas, en contraposición con las plagas agrícolas que constituyen uno de los mecanismos de resistencia metabólica para la degradación de los plaguicidas. Estas enzimas lo que hacen es romper la invasión del plaguicida (toxina) en el cuerpo del insecto. (FAO 2012).

El estadio de pupa es considerado el más protegido por la IOBC, incluyendo el estado de huevo (Medina *et al.* 2001). Algunos trabajos describen y argumentan esa protección por la dureza de la corteza que lo recubre (Medina *et al.* 2007; Schneider *et al.* 2004). En el Orden Hymenoptera, los parasitoides suelen ser notablemente más sensibles en los estados adultos que en los inmaduros dentro del huésped. El hecho de que lo que puede ser perjudicial para el adulto puede no serlo para el estado inmaduro (pupas/ larvas dentro del huésped), permite ajustar una adecuada sincronización de plaguicidas (Jacas *et al.* 1992, Biondi *et al.* 2015). Para ello, es esencial evaluar el efecto de los insecticidas sobre ambos estados. Por otra parte, la falta de mortalidad no es indicativa de la seguridad de los pesticidas para los EN, debido a que muchos productos pueden causar efectos subletales para las especies, afectando otras características en términos de la dinámica de la población y, en consecuencia, afectando su rendimiento como controlador (Biondi *et al.* 2012, 2013; Liu *et al.* 2012).

El objetivo de este estudio fue determinar, en condiciones de laboratorio, la toxicidad de insecticidas modernos hacia el estadio de desarrollo pupal de *P. dignus*, para poder compatibilizar la lucha química con la biológica.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1. Bioensayos

El bioensayo con pupas de *P. dignus* se realizó mediante la aplicación tópica (1 ul de las soluciones de insecticidas con un microaplicador Burkard® (Figura 3.1).

Las pupas se dispusieron, en grupos de cinco, en cajas de Petri (9 cm diámetro) (Figura 3.2), con seis repeticiones por tratamiento. Las pupas fueron tratadas con las soluciones correspondientes de los insecticidas en acetona al 50% y las pupas testigo solo con acetona.



Figura 3.1. Microaplicador Burkard para tratar pupas de *Pseudapanteles dignus*.



Figura 3.2. Unidad experimental para el ensayo de pupas de *Pseudapanteles dignus*.

Transcurridos 5 ó 6 días de la aplicación, se registró el porcentaje de los adultos emergidos (Figura 3.3) y se los individualizó, transfiriéndolos a cajas de Petri tipo “pastilleros” de 5 cm diámetro ventiladas, con una gota de miel pura aplicada con pincel en la tapa, se los mantuvo hasta su muerte. Se determinó el sexo y la longevidad.

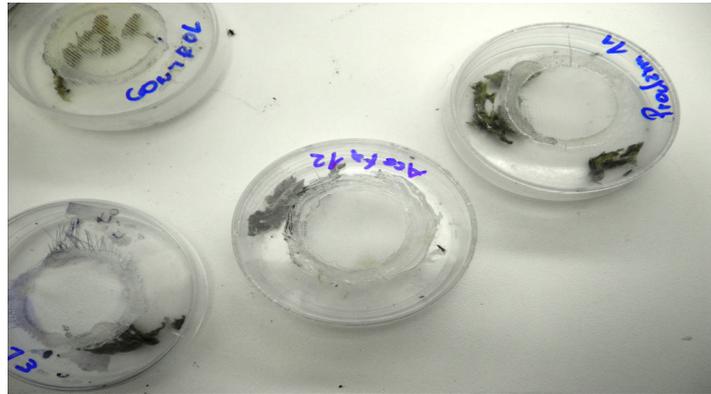


Figura 3.3. Recipiente de mantenimiento de adultos de *Pseudapanteles dignus*.

A medida que fueron emergiendo los adultos, se formaron cinco parejas en cada tratamiento, cada pareja de manera individual fue dispuesta y mantenida durante 48 horas en una caja de Petri con una traza de miel, para asegurar la cópula. Transcurrido ese tiempo se extrajeron los machos y se expusieron a las cinco hembras de manera individual durante tres días consecutivos a parasitar 15 larvas de segundo estadio de *T. absoluta* por día. Las larvas estaban dispuestas en hojas de tomate contenidas en un tubo Eppendorf de 1,5 ml con agua para su mantenimiento, dentro de un vaso de vidrio (11 cm de alto por 9 cm de diámetro) tapado con una tela de *voile* donde se adicionaron unas gotas de miel pura para la alimentación de las hembras del parasitoide (Figura 3.4).



Figura 3.4. Hembras de *Pseudapanteles dignus* parasitando larvas de *Tuta absoluta*.

Las larvas parasitadas (por hembra y por día) se transfirieron a una caja de Petri (9 cm de diámetro) con papel absorbente húmedo, donde se les adicionaron diariamente hojas frescas de tomate (Figura 3.5). Las placas se rotularon con la identificación de la hembra y el día de parasitación, y se mantuvieron hasta la obtención de cocones del parasitoide. Se evaluó el porcentaje (%) de parasitismo efectivo, (sumatoria de cocones en los 3 días de parasitación / cantidad de larvas expuestas a lo largo de los 3 días). Cada cocón obtenido fue dispuesto de manera individual en una caja de Petri de plástico de 5 cm de diámetro, identificado con el número de hembra y el día de parasitación. En esta etapa se determinó el porcentaje de emergencia de la progenie diaria por hembra (adultos emergidos/cocones obtenidos) y el porcentaje acumulado de emergencia. Se registró la longevidad de los adultos emergidos (longevidad progenie, en días), alimentados con una traza de miel pura.

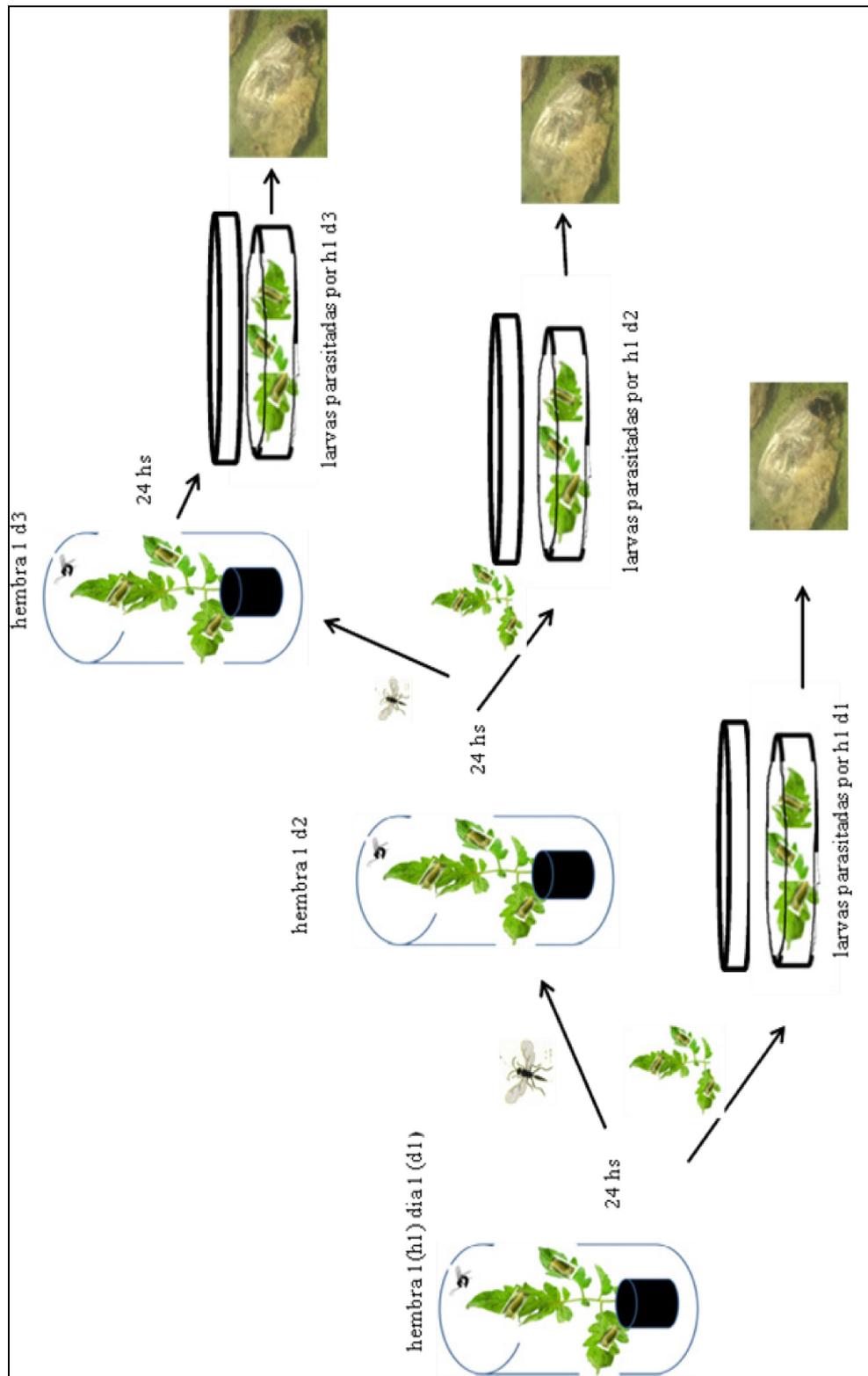


Figura 3.5. Esquema de obtención de cocones de *Pseudapanteles dignus*

3.3. Resultados

3.3.1. Emergencia adultos (%)

Los tratamientos no afectaron el porcentaje de emergencia de adultos de las pupas tratadas (F: 0,48; gl 5, gl 30; P = 0,7910). Todos los tratamientos, incluyendo el tratamiento control sin aplicación de insecticidas presentaron entre un 60 y 66,6% de emergencia de adultos. (Figura 3.6).

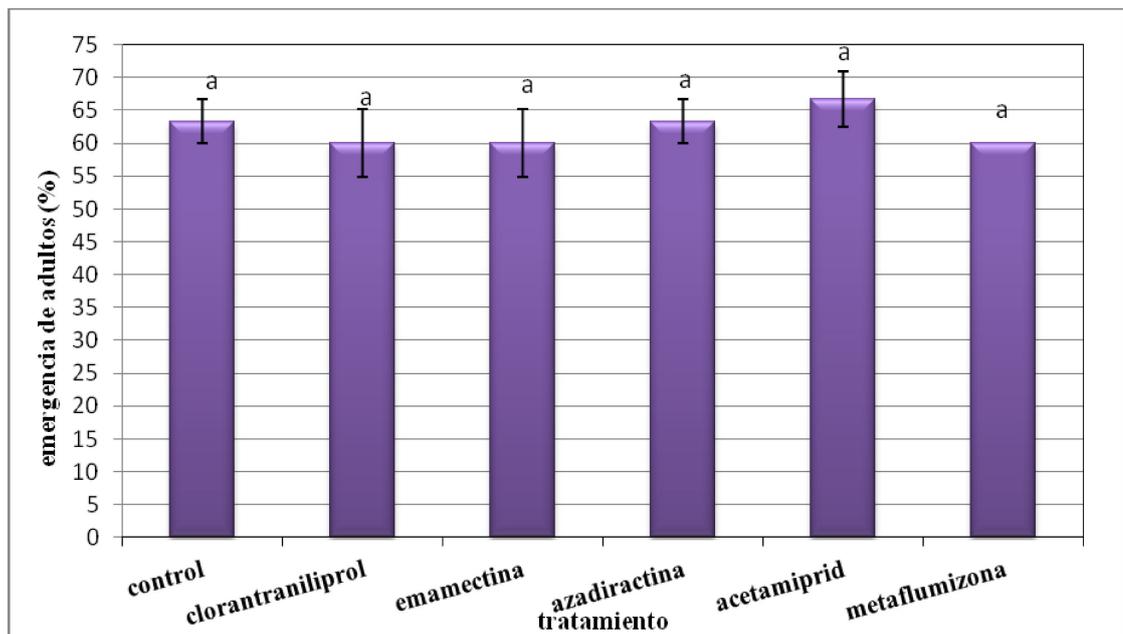


Figura 3.6. Porcentaje de emergencia de adultos, obtenidos de pupas de *Pseudapanteles dignus* tratadas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

3.3.2. Longevidad de adultos

El único insecticida que no afectó la longevidad de los adultos fue clorantraniliprol, con un promedio de longevidad de 20,6 días, similar a la de los adultos del tratamiento testigo (F: 70,73; gl 5, gl 106; P < 0,0001). Acetamiprid fue el insecticida que más afectó la longevidad de los adultos, con un promedio de 1,9 días. Benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona presentaron longevidades promedio de 8; 7,4 y 9,3 días respectivamente, resultando diferentes a los tratamientos testigo y clorantraniliprol (Figura 3.7).

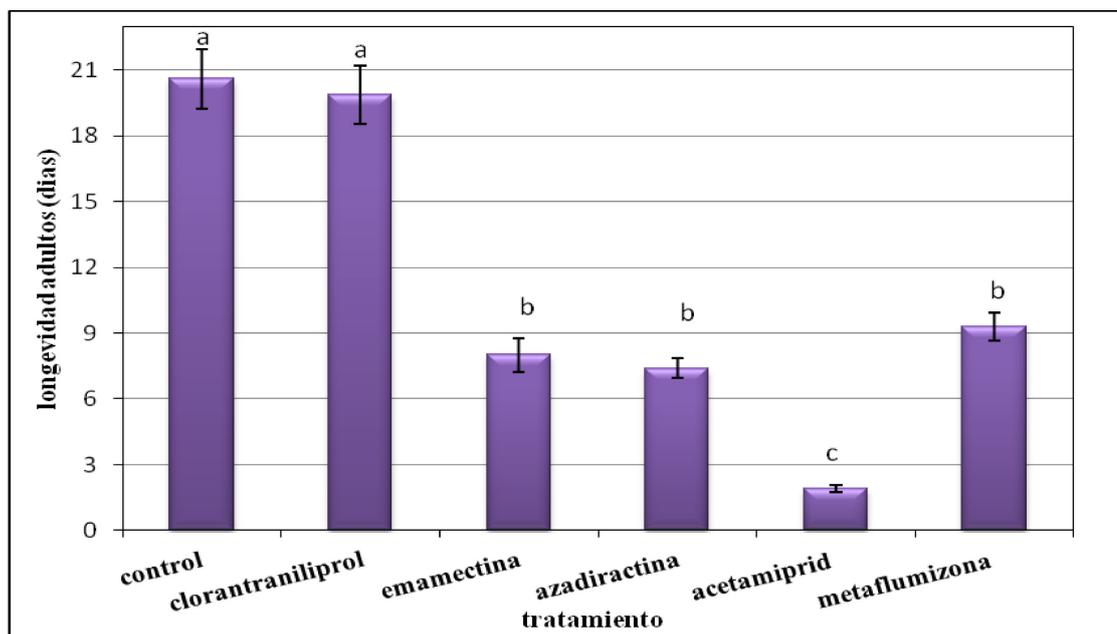


Figura 3.7. Longevidad de los adultos emergidos de pupas de *Pseudapanteles dignus* tratadas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

3.3.3. Parasitismo efectivo (%)

En el Anexo se detallan en la tabla 3.1 las variables reproductivas evaluadas.

El acetamiprid quedó fuera de análisis por no poder contar con las hembras ya que murieron entre las 24 y 48 horas de emergidas de las pupas.

Los tratamientos insecticidas afectaron de manera significativa el porcentaje de parasitismo efectivo acumulado ($H: 18,6; P < 0,0009$). Clorantraniliprol no afectó el porcentaje de parasitismo efectivo con respecto al control (Figura 3.8). Benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona (15,5; 15,5 y 11,5 %, respectivamente) afectaron de manera significativa el parasitismo efectivo, en comparación con el tratamiento control sin insecticida, sin diferenciarse significativamente entre sí.

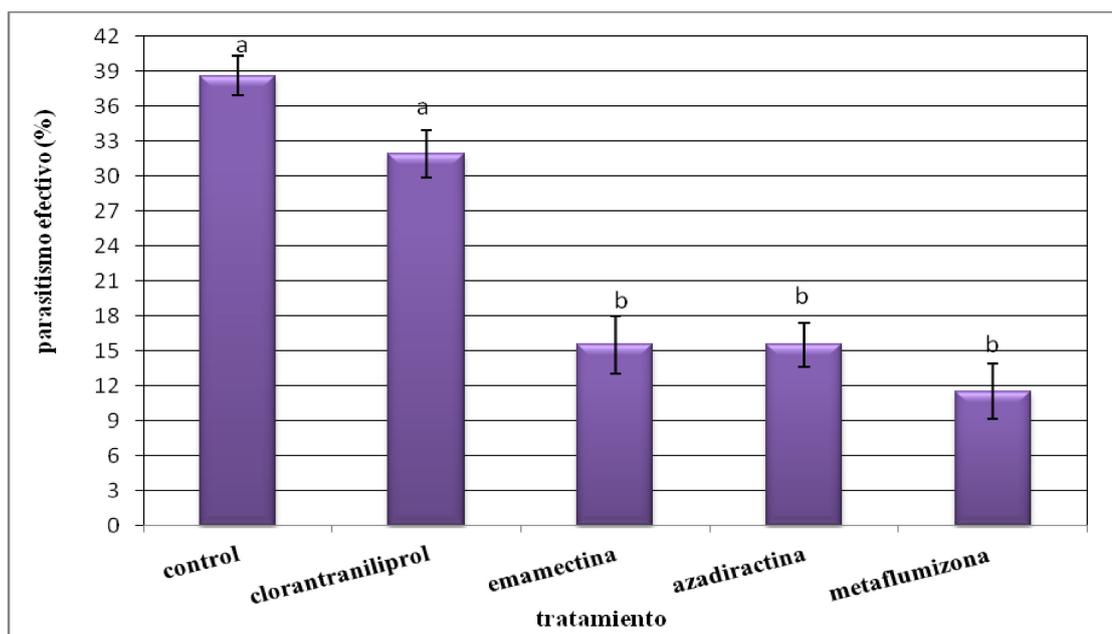


Figura 3.8. Porcentaje del parasitismo efectivo de *Pseudapanteles dignus*, de hembras sobrevivientes del tratamiento de pupas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

3.3.4. Emergencia de la progenie (%)

La emergencia de la progenie (%) se vio afectada de manera significativa ($H: 11,15; P < 0,0246$) por el tratamiento con azadiractina, que determinó un 26,8 % menos que el tratamiento control. Los tratamientos con clorraniliprol, benzoato de emamectina y metaflumizona no afectaron de manera significativa al porcentaje de emergencia de la progenie (Figura 3.9).

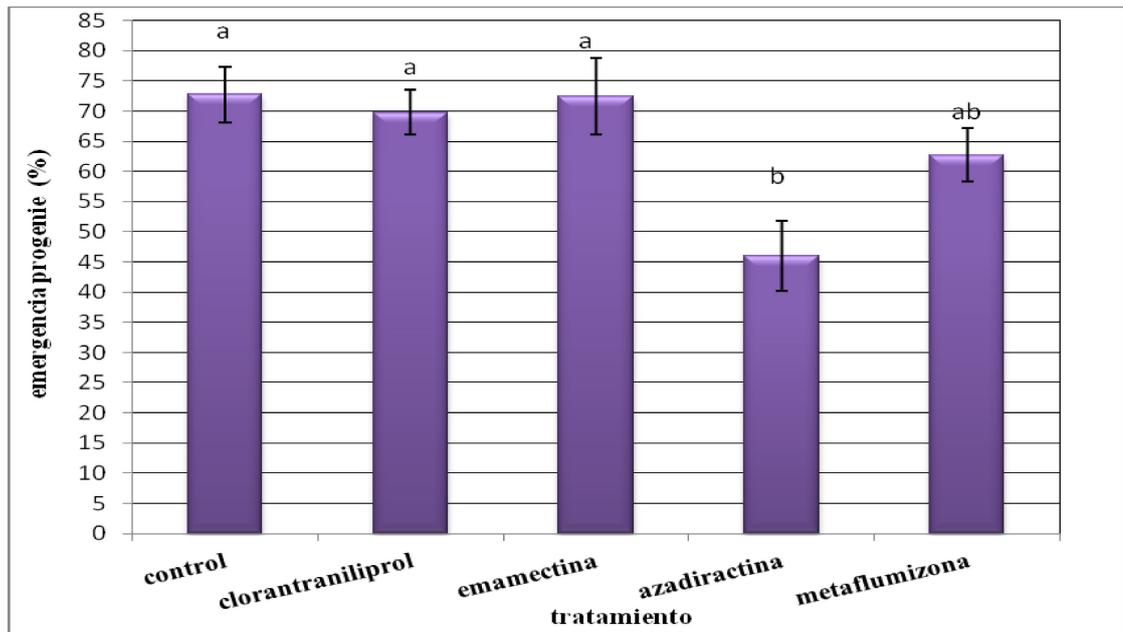


Figura 3.9. Porcentaje de emergencia de la progenie de *Pseudapanteles dignus*, de hembras sobrevivientes del tratamiento de pupas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

La observación de los cocones formados, pero no emergidos, cuyas hembras fueron tratadas con azadiractina, evidenció que el 55% de los mismos contenía en su interior el tejido licuado y de color rojizo (Figura 3.10). El 45% restante de los cocones no llegó a formar la seda que normalmente las rodea y protege (Figura 3.11), haciendo más expuesto y susceptible al insecto en desarrollo en su interior (Figura 3.12).



Figura 3.10. Pupa de la progenie de especímenes de *Pseudapanteles dignus* expuestos a azadiractina en el estado pupal con el tejido licuado y de color rojizo.



Figura 3.11. Pupa de la progenie de especímenes de *Pseudapanteles dignus*, de coloración y consistencia normales, perteneciente al tratamiento control.



Figura 3.12. Larva de la progenie de especímenes de *Pseudapanteles dignus* expuestos a azadiractina en el estado pupal sin la ceda que la protege.

3.3.5. Longevidad de la progenie

Clorraniliprol no afectó la longevidad de la progenie (20,0 días) (H: 31,87; $P < 0,0001$) al no diferenciarse significativamente del tratamiento control (21,7 días). Los tratamientos con benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona afectaron la longevidad de la progenie (14,6; 15,1 y 15,5 días, respectivamente), diferenciándose de manera significativa del control y del tratamiento con clorraniliprol (Figura 3.13).

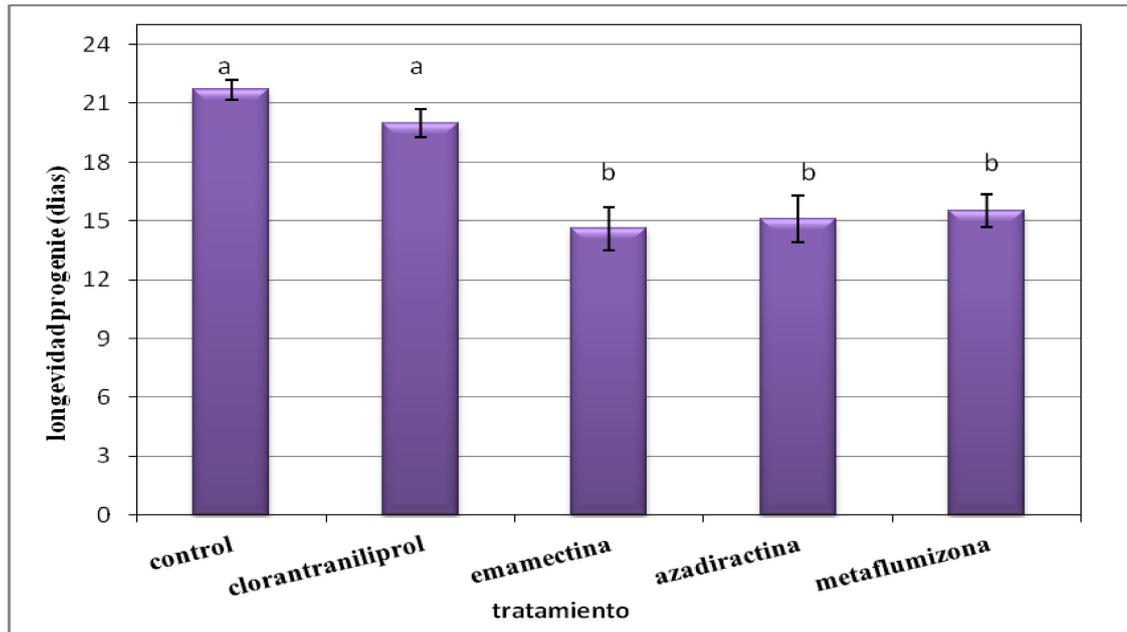


Figura 3.13. Longevidad de la progenie de *Pseudapanteles dignus*, de hembras sobrevivientes del tratamiento de pupas con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

3.4. Discusión

Todos los insecticidas permitieron la emergencia de los adultos de *P. dignus* provenientes de las pupas tratadas. Esto se podría deber al efecto protector que genera el cocón del parasitoide, tal como concluyeron Medina *et al.* (2007) en ensayos sobre pupas del endoparasitoide larval *Hyposoter dydimator* Thunberg, al determinar que los capullos del parasitoide constituyeron una excelente protección contra los insecticidas evaluados. Contrariamente, Fernández *et al.* (2015) al tratar pupas del endoparasitoide *Eretmocerus mundus* Mercet con metaflumizona, determinaron que el porcentaje de la emergencia de los adultos se redujo un 4,6% con respecto al control, mientras que el tratamiento con benzoato de emamectina produjo una reducción entre 30 y 79% de la emergencia de adultos. Los resultados obtenidos con el tratamiento con azadiractina no coinciden con los de Schneider *et al.* (2003), que evaluaron una emergencia de adultos del endoparasitoide *Hyposoter didymator* un 26% menor que en el tratamiento control cuando las pupas fueron tratadas con este insecticida. Contrariamente, Zuazua *et al.* (2003) no encontraron efecto sobre la emergencia de adultos, en tratamientos de

inmersión de pupas de *Aphidius ervi* con azadiractina y con imidacloprid (grupo de acetamiprid).

Si bien todos los adultos emergieron, para algunos insecticidas la longevidad se vio afectada. Esto podría deberse a que el insecto al salir del cocon roe con sus mandíbulas la capa que lo protege y se expone al producto, que resulta tóxico. Esto mismo es expresado por Schneider *et al.* (2003) al evaluar el efecto sobre pupas de *Hyposoter didymator* vía tópica, afectando la longevidad de los adultos emergidos.

Acetamiprid afectó negativamente la longevidad de los adultos emergidos, produciendo su muerte entre las 24 y 48 horas. A pesar de que los estudios sobre el efecto de clorraniliprol sobre los estadios inmaduros de parasitoide son escasos, se podría inferir que si se obtuvieron resultados de baja toxicidad en adultos, sobre pupas deberían ser considerablemente menores. Huang *et al.* (2011), tratando adultos del endoparasitoide larval *Cotesia chilonis* Matsumura con este insecticida, determinaron que posee una toxicidad aguda insignificante por contacto, ($CL_{50} < 500 \text{ mgL}^{-1}$) sugiriendo que constituye una buena alternativa para los programas de gestión integrada.

Azadiractina, metaflumizona y benzoato de emamectina también disminuyeron la longevidad de los adultos emergidos (8 días de longevidad media aproximada), sin diferenciarse entre ellos. Fernández *et al.* (2015) encontraron que la aplicación de benzoato de emamectina sobre pupas del parasitoide *E. mundus* determinó un incremento de la mortalidad de adultos de 27% hasta las 72 horas, mientras que con aplicación de metaflumizona, el incremento en la mortalidad de adultos fue de 3,4%, a las 72 horas. La disminución significativa en la longevidad observada en los adultos emergidos de las pupas tratadas con azadiractina no es coincidente con los resultados de Turchen *et al.* (2016) quienes no detectaron efecto de este insecticida en la mortalidad de adultos emergidos del parasitoide de huevos *Telenomus podisi*. Los efectos de la azadiractina han sido bastante variables y dependientes de la especie en estudio. Schneider *et al.* (2003) estudiaron el efecto de la MCRA de azadiractina sobre pupas del endoparasitoide *H. didymator*, determinando que la mortalidad de adultos fue 46% a los dos días y 83% a los 15 días.

Con respecto a los efectos subletales, el clorraniliprol no evidenció diferencia con respecto al control en las variables: porcentaje de parasitismo efectivo, emergencia de la

progenie y longevidad de la progenie. Contrariamente, los efectos negativos de azadiractina sobre el parasitismo efectivo, el porcentaje de emergencia y la longevidad de la progenie, coinciden con los resultados de Francesena (2008) quien determinó que la emergencia y la longevidad de la progenie habían disminuido con la inmersión de pupas de *E. mundus* en este insecticida. Rugno *et al.* (2015), al someter pupas del neuróptero *Ceraeochrysa cubana* a azadiractina observaron que ningún parámetro subletal (fertilidad y fecundidad) fuera afectado.

En estos ensayos se evidencio una reducción en el porcentaje de emergencia de la progenie (32%) en los tratamientos con azadiractina debió a la gran cantidad de cocones sin seda, pudiendo relacionarse con lo estudiado por Scudeler *et al.* (2013) que alimentaron larvas de *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae) con huevos tratados con azadiractina. Los autores observaron que el hilado de los cocones se formó muy laxo, explicando que esto sucede por el hecho de que la seda es construida con la secreción de los tubos de Malpighi, que son uno de los principales sitios de retención de dihidroazadiractín, compuesto que tiene la misma actividad biológica que la azadiractina.

La longevidad de la progenie se vio afectada por todos los tratamientos, pero en menor medida que la longevidad de los adultos emergentes de las pupas tratadas, lo que se podría deber a que el efecto del insecticida se diluye con el correr de las generaciones. Azadiractina afectó de forma significativa la longevidad de la progenie tanto en machos como en hembras, lo que coincide con los resultados obtenidos por Schneider *et al.* (2003).

3.5. Conclusión

Los insecticidas biorracionales presentan diferencias de selectividad sobre el estado protegido de pupa de *Pseudapanteles dignus*. Solamente clorantraniliprol resulta selectivo hacia este estadio de pupa del parasitoide, en función de la ausencia de efectos letales y subletales, para la casi totalidad de las variables estudiadas.

En coincidencia con la hipótesis planteada, el neonicotinoide acetamiprid no es selectivo sobre el estadio de pupa del parasitoide. Los efectos letales del neonicotinoide

acetamiprid son de gran impacto, no permitiendo la evaluación de los efectos subletales de este insecticida.

En contraposición a la hipótesis inicial, los restantes insecticidas biorracionales; benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona tampoco son selectivos para este estadio del parasitoide, de acuerdo al impacto negativo que ejercen sobre algunas de las variables estudiadas.

CAPITULO 4

Toxicidad de insecticidas biorracionales sobre
adultos de *Pseudapanteles dignus*

4.1. Introducción

En la producción agrícola hay una tendencia encaminada a la adaptación de los sistemas productivos convencionales a los sistemas sustentables. En los sistemas convencionales prevalecía la utilización desmedida de insecticidas de amplio espectro y altamente tóxicos. En estos modernos sistemas productivos, uno de los elementos esenciales de la producción es la protección de los cultivos, en la que el control de plagas se realice desde la perspectiva del Manejo Integrado de Plagas (MIP). Dentro del MIP una de las herramientas en la que se están depositando más esperanzas es el uso conjunto de EN y pesticidas selectivos (Viñuela 2011), cuando fuera necesario. Estos pesticidas selectivos denominados biorracionales, podrían jugar un rol importante dentro del MIP. Se los describe como sustancias que derivan de microorganismos, plantas o minerales; también pueden ser sustancias sintéticas que se caracterizan por tener una toxicidad muy baja para los humanos, descomponerse en pocas horas y ser específicos para las plagas que se desea controlar (O'Farril-Nieves 2003). Sus efectos en la vida silvestre y medio ambiente son menos perjudiciales que los insecticidas convencionales. Algunos de ellos son de origen botánico como la azadiractina, otros provienen de microorganismos como el benzoato de emamectina, otros son de origen sintético con mecanismos de acción distintos como el clorantraniliprol, que es regulador de la rianodina actuando en la estimulación de la liberación del calcio, otros son los neonicotinoides, como el acetamiprid y por último las semicarbazonas, con un modo de acción novedoso como bloqueadores de los canales de sodio dependiente del voltaje (IRAC 2011).

Diversos trabajos han mostrado y evidenciado el efecto de los insecticidas convencionales (piretroides, organofosforados) comparados con los biorracionales, aseverando la toxicidad de los convencionales sobre todo en estados adultos tanto de parasitoides como depredadores (Ferrero *et al.* 2000; Bayram *et al.* 2010; Liu *et al.* 2012; Wang *et al.* 2012; Francesena 2008; Gholamzadeh Chitgar *et al.* 2014; Abedi *et al.* 2014). Para ser utilizados en programas de MIP es necesario determinar los efectos letales y subletales de estos insecticidas biorracionales hacia los EN. Los efectos letales, determinados a corto plazo, se relacionan directamente con la mortalidad. Los efectos a largo plazo son los relacionados con los cambios en la historia de vida de los insectos (Devine *et al.* 2008). En general, los himenópteros parasitoides adultos son tan susceptibles al contacto con los insecticidas como sus respectivos huéspedes. Las hembras adultas de los parasitoides himenópteros son en parte las responsables de

mantener las poblaciones de sus huéspedes a través de la parasitación (Bellows y Fisher 1999). Así, muchos parasitoides adultos son destruidos durante programas de control con insecticidas no selectivos (Barlett 1958), siendo clasificados por la IOBC (Organización Internacional de Control Biológico) como el estado de los parasitoides más susceptible a los insecticidas.

Existen trabajos desarrollados sobre los efectos secundarios de los insecticidas biorracionales en depredadores (Darvas y Polgar 1998) pero muy pocos fueron aplicados en parasitoides, considerados los más susceptibles dentro de los EN (Vogt y Heimbach 2000; Alba 2005).

El objetivo de este estudio fue determinar, en condiciones de laboratorio, la toxicidad de modernos insecticidas hacia el estadio de desarrollo adulto de *P. dignus*.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Bioensayos

El bioensayo con adultos de *P. dignus* se realizó ofreciendo, por ingestión, las soluciones de los insecticidas.

La vía de exposición fue por ingestión de soluciones en agua destilada, durante 72 horas, en bebederos consistentes en vasos de vidrio de 5 ml con una tira de esponja absorbente amarilla para asegurar la atracción y, por ende, el contacto con el insecticida (Figura 4.1). Los bebederos fueron colocados dentro de un tubo de plástico de 6 cm de diámetro por 9 cm de altura con un voile en la parte superior. En cada bebedero se colocaron 5 ml de solución de los insecticidas en agua destilada, cuyo volumen era repuesto, cuando era necesario, de una solución *stock*, debidamente rotulada y mantenida en heladera.

Cada unidad experimental (Figura 4.2) estaba conformada por uno de estos recipientes con una pareja de adultos (♀+♂) del parasitoide, con 30 repeticiones por tratamiento. Estos conjuntos fueron mantenidos, debidamente identificados y en forma aleatorizada en una cámara de cría, a (25 ± 5 °C, 70 ± 5 % HR y 14: 10 h L: O) (Figura 4.3).

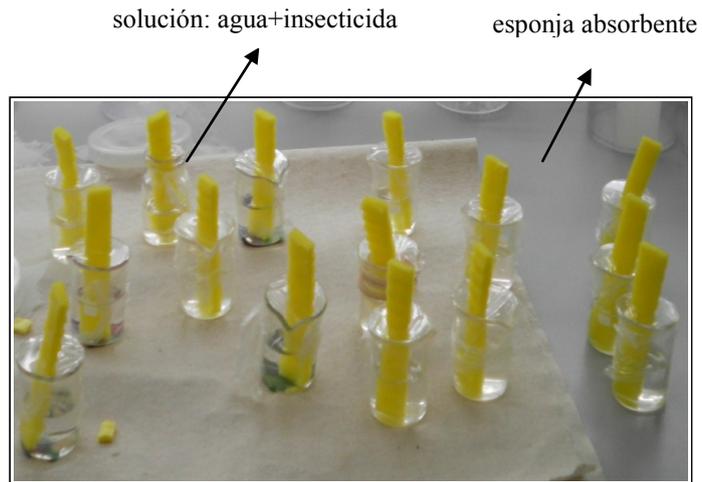


Figura 4.1. Bebederos utilizados para ingestión de insecticidas por adultos de *Pseudapanteles dignus*.

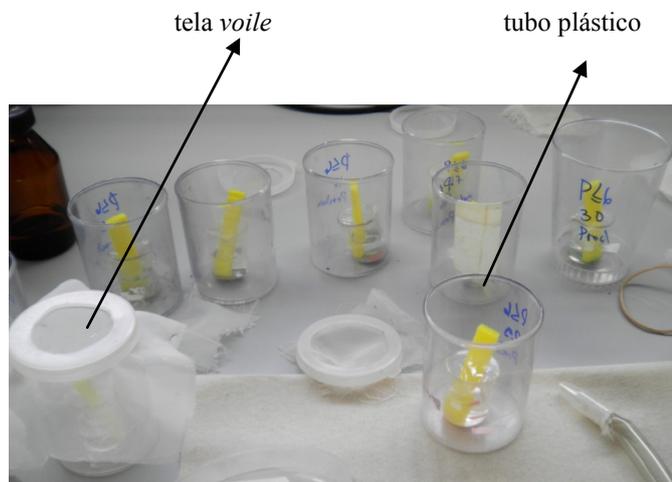


Figura 4.2. Unidades experimentales utilizada para los ensayos de ingestión en adultos de *Pseudapanteles dignus*.

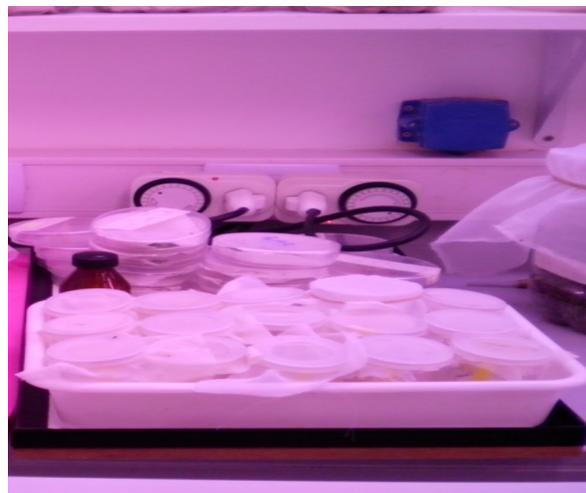


Figura 4.3. Ensayos de adultos de *Pseudapanteles dignus* en cámara de cría.

Transcurridas las 72 horas de exposición a la ingestión de las soluciones, se extrajeron los bebederos de los recipientes y se colocó sobre el *voile* superior una gota de miel, registrándose supervivencia y longevidad.

En aquellos tratamientos en que los adultos sobrevivieron a la exposición durante 72 horas, se evaluaron variables reproductivas en 5 hembras. Para ello, las hembras individualizadas se colocaron en recipientes conteniendo hojas de tomate con 15 larvas de segundo estadio de *T. absoluta* en un tubo de microcentrífuga tipo “Eppendorf (1,5 ml), con agua para su mantenimiento. Estos recipientes estaban contenidos, a su vez, en un vaso de plástico de 9 cm de diámetro por 11 cm de altura con una tapa superior de tela de *voile*, donde se adicionó unas gotas de miel pura para alimentación de la hembra. La exposición se desarrolló durante tres días consecutivos, reponiendo las hojas de tomate con 15 larvas de *T. absoluta* cada 24 horas (Figura 4.4).

hembra de *Pseudapanteles dignus*

tubo eppendorf con hojas de tomate con larvas de segundo estadio de *Tuta absoluta*

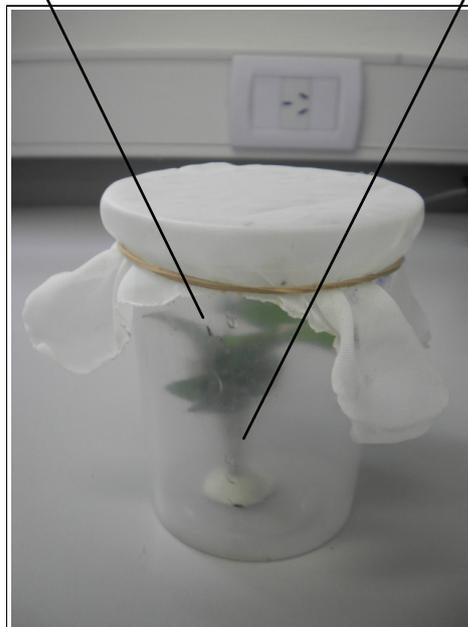


Figura 4.4. Recipiente para la parasitación de larvas de *Tuta absoluta* por las hembras de *Pseudapanteles dignus*

Las larvas parasitadas se transfirieron a una caja de Petri de 9 cm de diámetro, con papel absorbente mojado con agua para mantener la humedad, rotulada con la identificación de la hembra y el día de parasitación. Se mantuvieron hasta la obtención de los cocones, adicionando diariamente hojas frescas de tomate para alimento de las larvas en desarrollo. Se evaluó el porcentaje (%) de parasitismo efectivo, (sumatoria de cocones en los 3 días de parasitación / cantidad de larvas expuestas a lo largo de los 3 días). Cada cocón obtenido diariamente fue individualizado en una caja de Petri de plástico de 5 cm de diámetro e identificado con el número de hembra y el día de parasitación. Se determinó el porcentaje de emergencia de la progenie por hembra (adultos emergidos/cocones obtenidos a lo largo de los 3 días). Una vez emergidos los adultos de la progenie, se les colocó una traza de miel pura y se determinó la longevidad (longevidad progenie en días) (Figura 4.5).

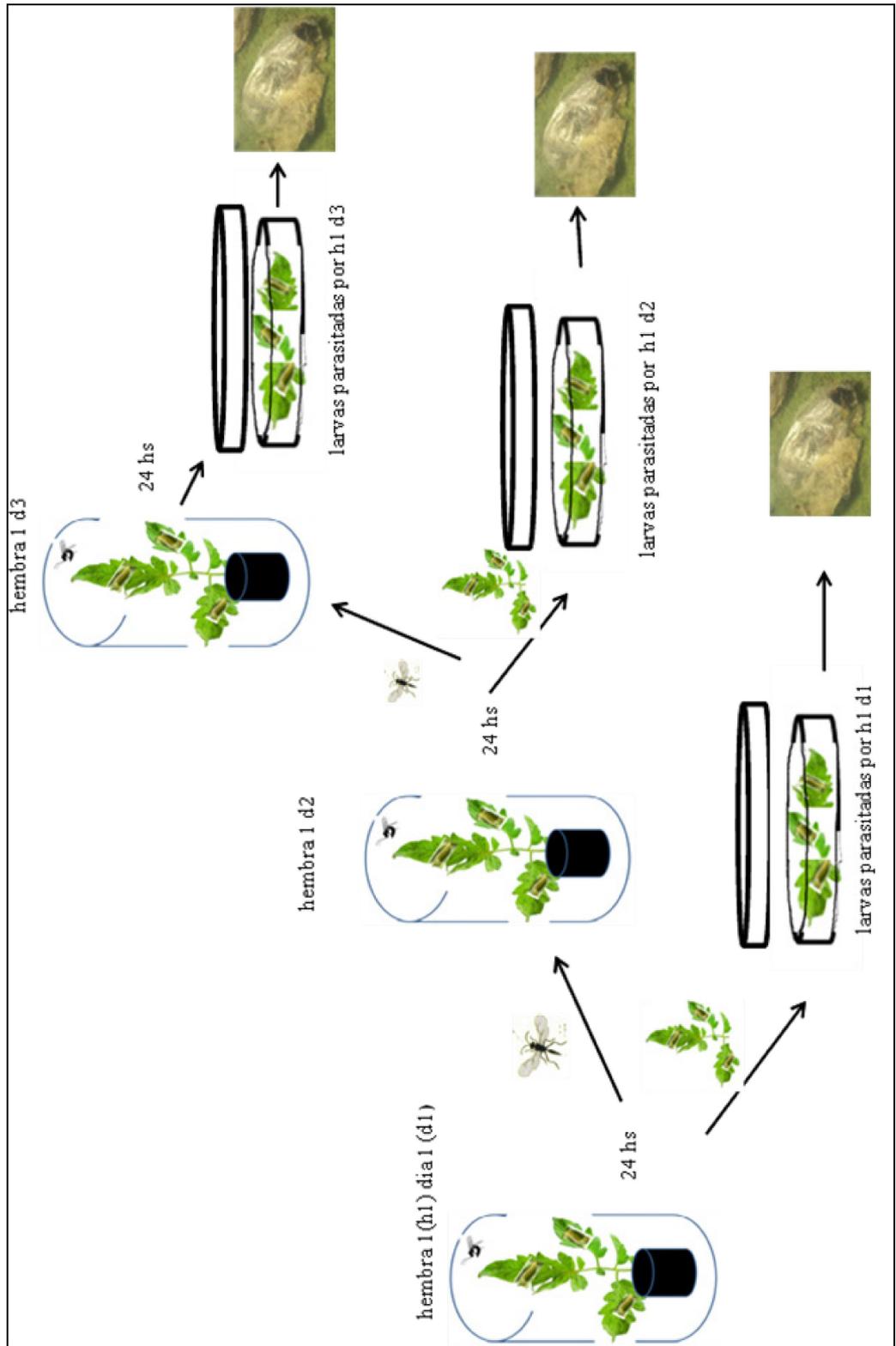


Figura 4.5. Esquema de obtención de cocones de *Pseudapanteles dignus*.

4.3. Resultados

4.3.1. Supervivencia

La supervivencia de los adultos difirió significativamente entre tratamientos (Log Rank: 493,255; $P < 0,0001$), siendo de 100% en el control y de 0% en el tratamiento con acetamiprid, donde los adultos tratados murieron entre las 24 y 48 horas. Benzoato de emamectina, clorantraniliprol, metaflumizona y azadiractina con valores de supervivencia de 20%, 66,7%, 1,7%, y 10%, respectivamente, difirieron significativamente (Figura 4.6 y Tabla 4.1).

Figura 4.6. Efecto de los insecticidas sobre la supervivencia del estado adulto de *Pseudapanteles dignus* Kaplan Meier, χ^2 , test Log rango ($P \leq 0,05$)

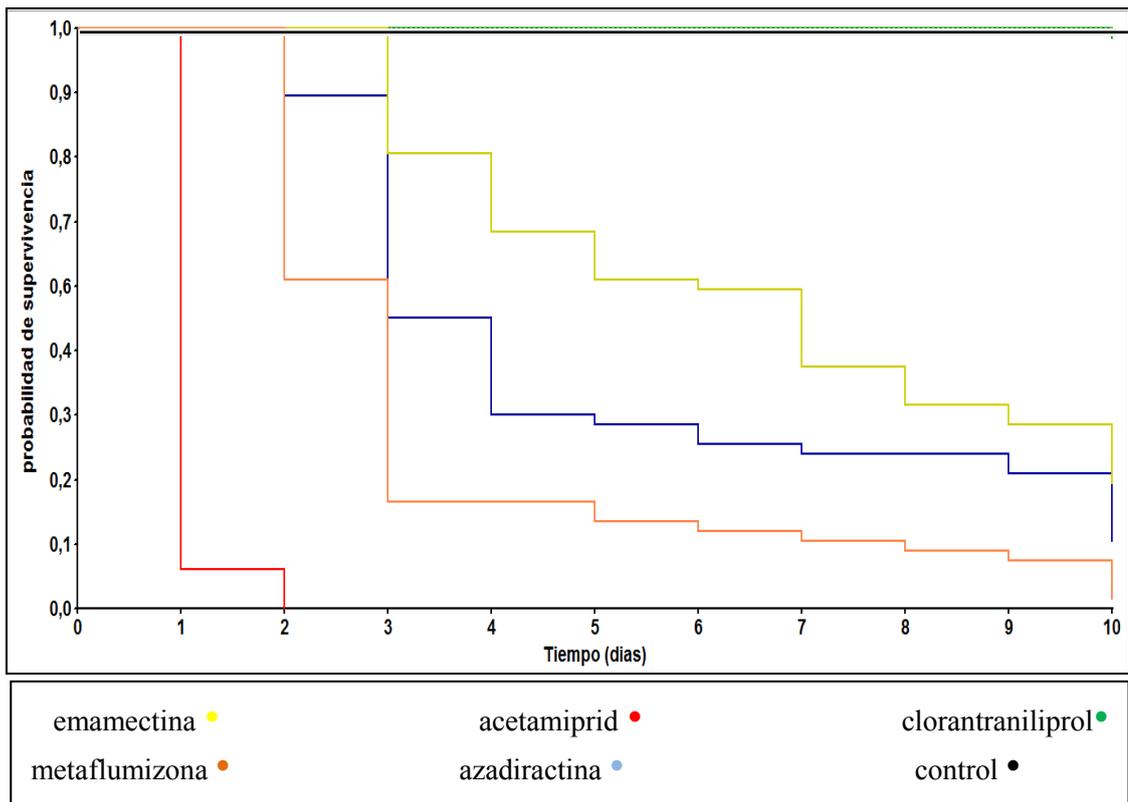


Tabla 4.1. Resultados del test χ^2 Log rango aplicado para la comparación entre curvas de supervivencia de adultos de *P. dignus* expuestos a azadiractina, benzoato de emamectina, acetamiprid, clorantraniliprol y metaflumizona

	χ^2	p
control- clorantraniliprol	0,98	0,32
control- emamectina	83,982	< 0,0001
control- acetamiprid	128,945	< 0,0001
control-azadiractina	106,73	< 0,0001
control - metaflumizona	131,022	< 0,0001
clorantraniliprol-emamectina	24	< 0,0001
clorantraniliprol-acetamiprid	126,519	< 0,0001
clorantraniliprol-azadiractina	47	< 0,0001
clorantraniliprol-metaflumizona	81	< 0,0001
emamectina-acetamiprid	126,51	< 0,0001
emamectina-azadiractina	6,926	0,008
emamectina-metaflumizona	34,718	< 0,0001
azadiractina-acetamiprid	110,171	< 0,0001
azadiractina-metaflumizona	15,05	0
acetamiprid-metaflumizona	78,354	< 0,0001

4.3.2. Longevidad de adultos

Todos los insecticidas afectaron la longevidad de los adultos tratados (F: 459,52; gl: 5; gl 354 P: < 0,0001), resultando todos los tratamientos significativamente diferentes (Figura 4.7). El menor efecto negativo sobre la longevidad de los adultos fue observado con clorantraniliprol, mientras que la menor longevidad se observó en el tratamiento con acetamiprid.

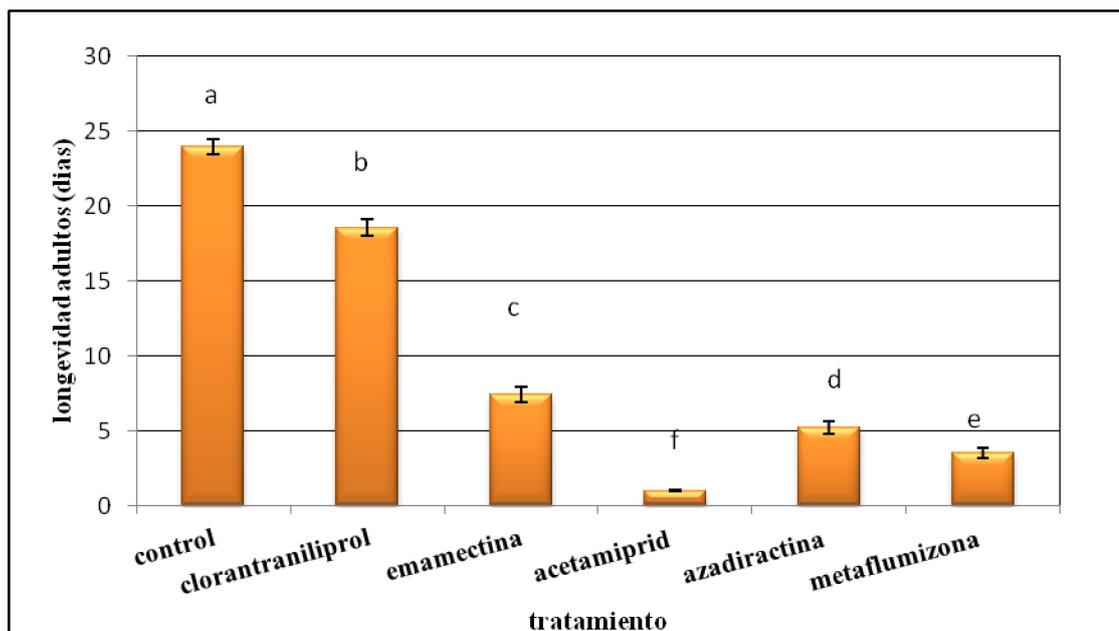


Figura 4.7. Longevidad de adultos de *Pseudapanteles dignus*, tratados con diferentes insecticidas ofrecidos por ingestión en bebederos. Los tratamientos identificados con distinta letra fueron significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

4.3.3. Parasitismo efectivo (%)

En el Anexo se detallan en la tabla 4.2 las variables reproductivas evaluadas.

Acetamiprid no fue analizado en la evaluación del efecto sobre las variables reproductivas, al no haber supervivencia de hembras pasadas las 72 horas de exposición a las soluciones insecticidas en los bebederos.

Los tratamientos con insecticidas afectaron el porcentaje promedio de parasitismo efectivo ($H: 19,09$ $P: 0,0007$). No obstante, el tratamiento con clorantraniliprol no se diferenció significativamente del testigo (39,2% y 26,7%, respectivamente) (Figura 4.8). Los promedios más bajos de parasitismo efectivo acumulado fueron determinados en los tratamientos con azadiractina, metaflumizona y emamectina que no se diferenciaron entre sí.

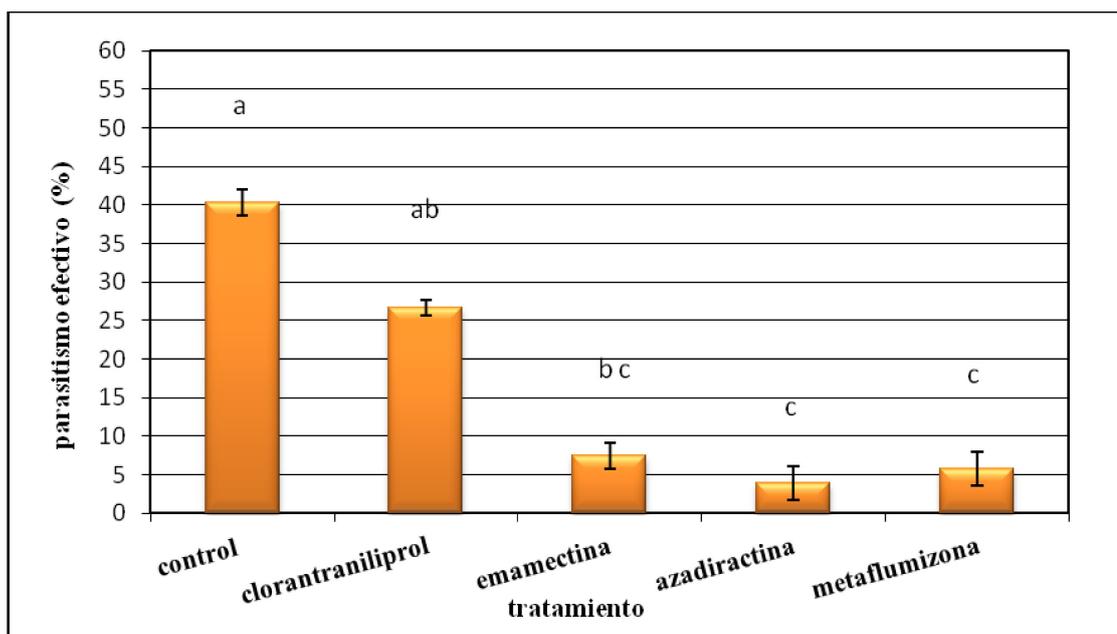


Figura 4.8. Porcentaje de parasitismo efectivo de *Pseudapanteles dignus*, de hembras sobrevivientes del tratamiento de adultos con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

4.3.4. Emergencia de la progenie (%)

La emergencia de la progenie se vio afectada negativamente de manera significativa solo por el tratamiento con azadiractina diferenciándose del resto de los tratamientos (H: 12,94; $P = 0,0107$) (Figura 4.9).

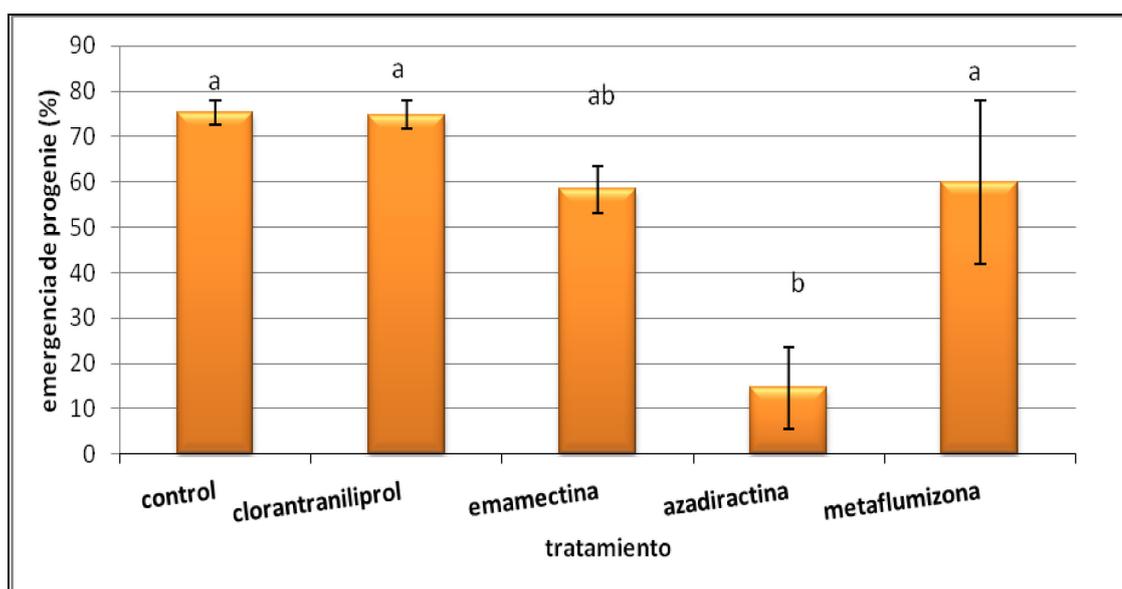


Figura 4.9. Porcentaje de emergencia de la progenie de *Pseudapanteles dignus*, de hembras sobrevivientes del tratamiento de adultos con distintos insecticidas. Los tratamientos indentificados con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

4.3.5. Longevidad de la progenie

La longevidad media de la progenie en el tratamiento de los adultos con clorantraniliprol (19,4 días) no difirió significativamente de la longevidad de la progenie del testigo (21,2 días). La longevidad de la progenie fue afectada significativamente (H.52; $P < 0,0001$) por el resto de los insecticidas en relación al control, pero sin diferenciarse entre sí (8,5; 11,0 y 12,3 días para benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona, respectivamente) (Figura 4.10).

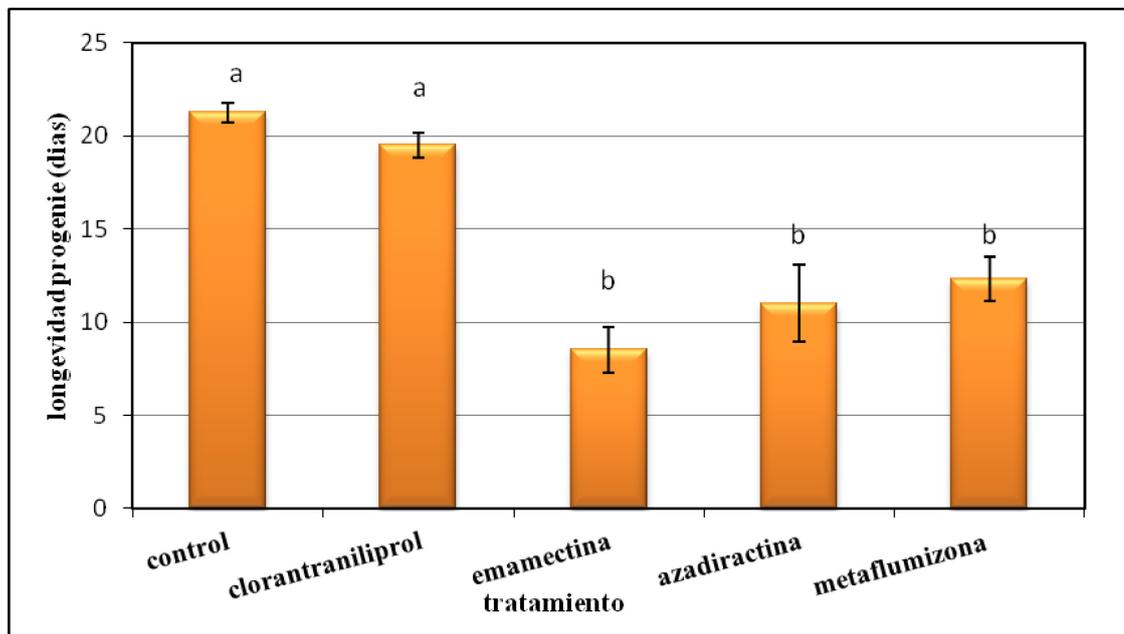


Figura 4.10. Longevidad de la progenie de *Pseudapanteles dignus*, de hembras sobrevivientes del tratamiento de adultos con distintos insecticidas. Los tratamientos identificados con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). Cada barra indica el promedio por tratamiento.

Si bien los ensayos efectuados en adultos y pupas no son comparables estadísticamente, se destaca que los efectos negativos observados fueron mayores – relativamente- en la fase desprotegida que, en la protegida, excepto para el Acetamiprid en donde los efectos negativos fueron para ambos estados iguales.

4.4. Discusión

Acetamiprid resulto ser el insecticida menos selectivo hacia los adultos del parasitoide, causando una disminución de todas las variables evaluadas, destacándose una supervivencia de 1 a 2 días, tanto de los machos como de las hembras expuestas a su ingestión. Estos resultados coinciden con los de Estay *et al.* (2005) quienes, en ensayos de aplicación en Torre de Potter sobre *E. formosa*, un parasitoide de “mosca blanca”, determinaron que el acetamiprid eliminó la totalidad de los adultos a las 8 horas de la aplicación. Este insecticida aumentó de categoría 3 a 4 en la escala de toxicidad de Hassan (1992). También Carvalho *et al.* (2010) realizaron evaluaciones sobre adultos del parasitoide de huevo *Trichogramma pretiosum*, exponiendo a la hembra a huevos tratados con insecticidas, concluyeron que el acetamiprid, junto con otros neonicotinoides, redujo la longevidad de las hembras luego de haber pasado 1 hora de que el huevo fue tratado. Cordero *et al.* (2007) expusieron adultos de *Diadegma insulare* y *Oomyzus sokolowskii* a residuos de acetamiprid, registrando la muerte del 77% de los adultos *D. insulare* y del 91% de *O. sokolowskii*, después de 72 horas de exposición. En concordancia, Hill y Foster (2000) encontraron que la exposición de adultos de *D. insulare* a hojas tratadas con imidacloprid, (neonicotinoide), mató el 100% de los adultos después de 24 horas de exposición. Brunner *et al.* (2001) y Hewa-Kapuge *et al.* (2003) encontraron que el imidacloprid era altamente tóxico para los himenópteros parásitos. Turchen *et al.* (2016) expusieron de forma residual el imidacloprid al parasitoide de huevos *Telenomus podisi*, concluyendo que este neonicotinoide exhibe una alta actividad letal aguda hacia el parasitoide bajo el contacto con los residuos del insecticida en seco.

Clorraniliprol afectó de forma significativa la longevidad y la supervivencia de los adultos tratados. A pesar de ello para ambas variables resulto más selectivo que el resto de los insecticidas. No tuvo efecto sobre las variables medidas en la progenie (subletales) pero sí la afectó de forma directa. Huang *et al.* (2011) evaluaron los efectos letales de clorraniliprol sobre *Chilo suppressalis*, un parasitoide larval, y concluyeron que tuvo una toxicidad aguda por contacto y oral insignificante, destacando que los trabajos sobre el efecto de clorraniliprol sobre parasitoide son escasos. Liu *et al.* (2012) evaluaron los efectos subletales de clorraniliprol sobre el parasitoide de huevos *Anagrus nilaparvatae* (Hymenoptera: Mymaridae), sin observar disminuciones en sus características comportamentales ni en su capacidad de parasitar y sugiriendo la

compatibilidad del insecticida con el parasitoide. Fernandez *et al.* (2016) evaluaron los efectos letales y subletales de varios insecticidas sobre tres controladores biológicos: *Cycloneda sanguinea*, *Orius insidiosus* y *Chauliognathus flavipes*. Clorantraniliprol fue el insecticida que tuvo los efectos letales menos tóxicos, resultando ser el insecticida más prometedor entre los evaluados, con una baja toxicidad en laboratorio. Dinter *et al.* (2008) realizaron una revisión de los efectos causados por clorantraniliprol sobre artrópodos, concluyendo que este insecticida es seguro para numerosas especies no objetivo. Por lo tanto se evidencia una fuerte coincidencia con respecto a la acción del clorantraniliprol, entre los diversos autores y los resultados concluyentes de la tesis.

Schmutterer y Ascher (1995) afirman que la azadiractina es muy variable en su acción sobre los EN. En relación a *P. dignus*, sus efectos han sido muy perjudiciales, sobreviviendo el 10% de los adultos tratados y afectando de manera significativa los parámetros reproductivos, que son los que permiten al parasitoide perpetuarse. Estos resultados coinciden con los de Viñuela *et al.* (1996) que trataron en laboratorio larvas de *Chrysoperla externa* y concluyeron que la mortalidad de las mismas fue del 100% y se evidenciaron efectos negativos sobre la fecundidad y fertilidad de los adultos. La baja supervivencia observada en los ensayos coincide con el trabajo de Iannacone y Lamas (2003) quienes expusieron a los adultos de tres especies de micro himenópteros por el método residual y evidenciaron efectos significativos en la mortalidad de las tres especies, en sus máximas dosis. Medina *et al.* (2001) concluyeron que la azadiractina inhibe la oviposición del depredador *Chrysoperla carnea*, afectando indirectamente la fertilidad y la fecundidad. Stara *et al.* (2011) contrariamente, encontraron que la azadiractina sobre *Aphidius colemani* no afectó indirectamente la fecundidad del parasitoide. Turchen *et al.* (2016) evaluaron los efectos letales y subletales de azadiractina sobre *T. podisi* y determinaron que aunque provocó baja letalidad aguda, el insecticida produjo importantes efectos subletales negativos sobre el parasitismo y el crecimiento demográfico del parasitoide de huevos, advirtiendo de la necesidad de realizar evaluaciones de semicampo y de campo para confirmar tal impacto. Francesena (2008) evaluó efectos letales y subletales de azadiractina a la mitad de la MCRA sobre el parasitoide adulto de *Eretmocerus mundus* y determinó una disminución de la supervivencia de los adultos, aunque no verificó efectos sobre el parasitismo efectivo, pero sí sobre la emergencia de la progenie y su longevidad.

Benzoato de emamectina afectó los parámetros evaluados a corto y largo plazo, constatados en una baja supervivencia, disminución de la longevidad, el parasitismo efectivo y la longevidad de la progenie, aunque no afectó la emergencia de la misma. Mahdavi *et al.* (2011) evaluaron el efecto letal y subletal de benzoato de emamectina junto con otro insecticida sobre estados inmaduros y adultos del ectoparasitoide larval *Habrobracon hebetor* mediante el uso de métodos de inmersión y contacto con residuos. Los resultados mostraron que variables biológicas como la tasa intrínseca de crecimiento (r_m), la tasa finita de crecimiento (λ), la tasa neta de reproducción (R_0) y la tasa bruta de reproducción (GRR) se vieron afectadas de manera significativa por los insecticidas. Zhang y Sanderson (1990) expresaron que a pesar de la toxicidad de avermectina (perteneciente al mismo grupo sub químico que emamectina), su utilización junto con especies benéficas está amparada en su corta persistencia en el ambiente. Jin *et al.* (2014) estudiaron efectos subletales de avermectina sobre el parasitoide larval *Asecodes hispinarum* a través de la inmersión de las larvas parasitadas de su plaga huésped *Brontispa longissima*. Observaron altos niveles de mortalidad en las momias y disminución de la emergencia y longevidad de los adultos. Saelices *et al.* (2012) evaluaron la ecotoxicidad de ese insecticida expuesto de manera residual a adultos del parasitoide de huevos *Trichogramma achaeae*, y obtuvieron un 80% de mortalidad a las 24 horas, sugiriendo que la susceptibilidad estaría relacionada con el tipo de parasitoide y al mecanismo de detoxificación. Sugiyama *et al.* (2011) determinaron que avermectina ocasionó un 100% de mortalidad sobre *Eretmocerus mundus*, *Eretmocerus seremicus* y *Encarsia formosa* a las 24 horas. Contrariamente, López *et al.* (2011) evaluaron el efecto del insecticida sobre la mortalidad producida en semicampo a través de la exposición a residuos secos de adultos de las especies *Nesidiocoris tenuis*, *Macrolophus pygmaeus* y *Diglyphus isaea* y concluyeron que tanto el residuo fresco como el de siete días resultaron compatibles con las tres especies estudiadas. Estay *et al.* (2005) encontraron leve toxicidad de avermectina en laboratorio sobre *E. formosa* a la hora de exposición (42%: categoría 2), moderada toxicidad a las 8 horas (83%: categoría 3), y alcanzando alta toxicidad (categoría 4) a las 24 horas. Hewa-Kapuge *et al.* (2003), bajo condiciones de laboratorio e invernadero, concluyeron que avermectina causó hasta 97% de mortalidad de adultos de *Trichogramma brassicae*, 1 hora después de la aplicación directa. Coincidiendo con estos resultados, Shipp *et al.* (2000) llevaron a cabo ensayos de laboratorio sobre adultos del ácaro *Amblyseius degenerans*, los parasitoides *Aphidius colemani*, *Aphidoletes aphidimyza*, *Dacnusa*

sibirica, *E. formosa* y el depredador *Orius insidiosus*, encontrando niveles de mortalidad de hasta el 85% cuando se los expone a los residuos de avermectina.

Metaflumizona produjo efectos negativos sobre los adultos de *P. dignus* similares a los de azadiractina sobre los parámetros evaluados, diferenciándose en la emergencia de prole, que fue tan alta como en el control. Biondi *et al.* (2012) evaluaron el efecto de los residuos del insecticida en el depredador *Orius loevigatus* y concluyeron que esto afectó la supervivencia, produciendo 87% de mortalidad a los 7 días de la exposición, clasificándolo por la OILB como moderadamente tóxico por su bajo impacto sobre la descendencia. Cordero *et al.* (2007) expusieron adultos de *D. insulare* y *O. sokolowskii* a residuos del insecticida indoxacarb (que tiene el mismo modo de acción de metaflumizona) en su concentración a campo, y observaron un 100% de mortalidad en ambas especies a las 72 horas de exposición. Martinou *et al.* (2014) realizaron ensayos de tres vías de exposición con el insecticida metaflumizona entre otros, sobre adultos del depredador *Macrolophus pygmaeus*, clasificándolo como nocivo en función de una mortalidad observada de 80%, aunque fue clasificado como relativamente compatible en función de sus escasos efectos subletales. En contraposición, Garzón *et al.* (2015) evaluaron los efectos letales y subletales de metaflumizona sobre los depredadores *C. carnea* y *Adalia bipunctata* determinando que el insecticida debe clasificarse como inofensivo, clase 1 de la OILB.

4.5. Conclusión

Los insecticidas biorracionales evaluados difieren en su selectividad hacia el estado adulto de *Pseudapanteles dignus*. Solamente resulta selectivo el insecticida biorracional clorantroliprol, en función de no presentar efectos negativos significativos sobre este estadio del parasitoide.

El neonicotinoide acetamiprid no es selectivo hacia los parasitoides adultos, en función de los impactos altamente negativos sobre los mismos, hecho que coincide con la hipótesis inicial.

En contraposición a la hipótesis inicial, los restantes insecticidas biorracionales; benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona no son selectivos hacia el estado

adulto del parasitoide, debido al impacto negativo que ejercen sobre algunas de las variables estudiadas.

Capitulo 5

Conclusiones finales

Los insecticidas biorracionales presentan diferente selectividad con relación a *Pseudapanteles dignus* en sus estados de pupa y adulto. Solo clorantraniliprol es selectivo para este parasitoide debido a la ausencia de efectos negativos significativos sobre las variables estudiadas.

El neonicoinoide acetamiprid en función de su impacto significativo sobre ambos estadios de desarrollo, cumple con la hipótesis planteada de no ser selectivo hacia el parasitoide. Debido a los efectos letales significativos, no resulta posible analizar el impacto de sus efectos subletales sobre el parasitoide.

Los restantes insecticidas biorracionales; benzoato de emamectina, azadiractina y metaflumizona no cumplen con la hipótesis original de selectividad hacia *P. dignus* ya que presentan efectos negativos sobre algunas variables evaluadas, en ambos estadios de desarrollo del parasitoide.

El estado de pupa resultó menos sensible a los efectos negativos que el estado de adulto para todos los insecticidas excepto para acetamiprid cuyo impacto negativo fue para ambos estadios.

El presente estudio constituye un precedente de evaluación de insecticidas biorracionales registrados en el país para *T. absoluta*, en relación a su selectividad para *P. dignus*, el principal parasitoide natural de esta plaga. En función de la importancia de esta característica, clorantraniliprol resulta recomendable para su inclusión en programas de MIP, previa confirmación mediante evaluación de su efecto en estudios de campo. Por el contrario, acetamiprid no resulta recomendable para un plan de MIP de *T. absoluta*, para no perjudicar la acción benéfica de *P. dignus*, debido a su gran impacto negativo sobre los estados de pupa y adulto de este parasitoide.

Referencia Bibliográfica

- Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G., Mehrvar, A., & Kamita, S.G. 2014. Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(2): 638-645.
- Adel, M., & Sehnal, F. 2000. Azadirachtin potentiates the action of ecdysteroid agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis*. *Journal of Insect Physiology*, 46: 267-274
- Alba, S. 2005. Predadores o parasitoides, dos formas de vida. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, 185: 56-59.
- Altieri, M.A., & Nicholls, C.I. 2007. Conversión agroecológica de sistemas convencionales. *Ecosistemas*, 16(1): 3-12.
- Argerich, C., Troilo, L., Rodrigue, M., Izquierdo, J., Strassera, M.E., Balcaza, L., Dal Santo, S., *et al.* 2011. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas en la cadena de tomate. Disponible en: http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/economias_regionales/_fao/03_capitulo3.pdf
Ultimo acceso: 16/6/2016.
- Aznar, R.V., Calabuig, A., & Felipe, C. 2010. Ecología, muestreos y umbrales de *Tuta absoluta* (Meyrick). *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 217: 23-26.
- Badii, M.H., & Abreu, J.L. 2006. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. *International Journal of Good Conscience*, 1(1): 82-89.
- Badii, M.H., Cerna, E., & Landeros, J. 2010. EN: Nociones Etológicas (Natural Enemies: Etological Notions). *International Journal of Good Conscience*, 5(1): 256-269
- Badii, M.H., Flores, A.E., & Galán Wong, L.J. 2000. Fundamentos y perspectivas de control biológico. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, Mexico. 462 pp.
- Bahamondes, L.A. & Mallea, A.R. 1969. Biología en Mendoza de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) Povolny (Lepidoptera Gelechiidae), especie nueva para la República Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 15: 96-104.
- Barbosa, W.F., De Meyer, L., Guedes, R.N.C. & Smagghe, G. 2015. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology*, 24(1): 130-142.
- Bartlet, B. 1958. Laboratory studies on selective aphicides favoring natural enemies of the spotted alfalfa aphid, *Journal of Economic Entomology*, 51(3): 374-378.

- Bayram, A., Salerno, G., Onofri, A., Conti, E. 2010. Sub-lethal effects of two pyrethroids on biological parameters and behavioral responses to host cues in the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. *Biological Control*, 53: 153–160.
- Bellés, X. 2015. Regulación hormonal de la metamorfosis en los insectos. *Investigación y Ciencia*, 469: 11-13.
- Bellows, T.S. & Fisher, T.W. 1999. Handbook of biological control. T. S. Bellows y T. W. Fisher (Eds.), San Diego, California, 1046 pp.
- Berta, C., & Colomo, M.V. 2000. Dos especies nuevas de *Bracon F.* y primera cita para la Argentina de *Bracon lucileae* Marsh (Hymenoptera, Braconidae), parasitoides de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Insecta mundi*, 14(4): 211-219.
- Betancourt, C.M.Y., & Scatoni, I.B. 1995. Description of the development stages of the “tomato borer”, *Scrobipalpuloides absoluta* (Mayrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Boletín de investigación, Facultad de Agronomía, Universidad de la República*, 45: 1-14. Uruguay.
- Bima, P. 2014. Sistemas de Producción de Cultivos Intensivos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, 1-14 pp.
- Biurrun, R. 2008. *Tuta absoluta*: La polilla del tomate. *Navarra Agraria*, 169: 16-18.
- Biondi, A., Campolo, O., Desneux, N., Siscaro, G., Palmeri, V., and L. Zappala, L. 2015. Life stage-dependent susceptibility of *Aphytis melinus* DeBach (Hymenoptera: Aphelinidae) to two pesticides commonly used in citrus orchards. *Chemosphere*, 128: 142–147.
- Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., Zappalà, L. 2012. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, 87: 803–812.
- Biondi, A., Zappalà, L., Stark, J.D., Desneux, N. 2013. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? *PLOS ONE*, 8(9): 1-11.
- Bogorni, P.C., da Silva, R.A., and Carvalho, G.S. 2003. Consumo de mesofilo foliar por *Tuta absoluta* (Meyrick, 1971) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tres cultivares de *lycopersicon esculentum* Mill. *Ciencia Rural*, 33(1): 7-11.
- Bojórquez, R.M.C., Gallego, J.G., Sánchez Collado, P. 2013. Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1): 6-15.
- Botto, E. N. 1999. Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 58 (1-2): 58-64.

- Brambila, J., Lee, S., & Passoa, S. 2010. Tuta absoluta the tomato leafminer. Field Screening Aid. USDA Cooperative Agricultural Pest Survey (CAPS). 2010. National Agricultural Pest Information System (NAPIS). http://www.ceris.purdue.edu/caps/files/screening_aids/Tuta_absoluta_screening_aids_for_CAPS.pdf.
- Brunner, J.F. 1994. Integrated pest management in tree fruit crops. Food Review International, 10: 135–157.
- Brunner, J.F., Dunley, J.E., Doerr, M.D., Beers, E.H. 2001. Toxicity and pharmacokinetics of insect growth regulators and other novel insecticides on pupae of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of early larval instars of lepidopteran pests. Journal of Economic Entomology, 94: 1075–1084.
- Cáceres, S. 1992. La polilla del tomate en Corrientes. Biología y control. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista, INTA, 19 pp.
- Cáceres, S. 2000. La polilla del tomate: manejo químico cultural. Hoja de divulgación no. 15. Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista, INTA, 5 pp
- Cáceres S., Aguirre A., Miño, V. y Almonacid, R. 2011. Líneas de trabajo para el manejo integrado de la polilla del tomate en Corrientes. Taller: La polilla del tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. INTA-UNLP.
- Campos, M.R., Silva, T.B.M., Silva, W.M., Silva, J.E., Siqueira, H.A.A. 2015a. Susceptibility of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Brazilian populations to ryanodine receptor modulators. Pest Manager Science, 71: 537-544
- Campos, M.R., Silva, T.B.M., Silva, W.M., Silva, J.E., Siqueira, H.A.A. 2015b. Spinosyn resistance in the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), Journal of Pest Science, 88: 405-412.
- Carvalho, G.A., Godoy, M.S., Parreira, D.S., Lasmar, O., Souza, J.R., and Moscardini, V.F. 2010. Selectivity of growth regulators and neonicotinoids for adults of *Trichogramma pretiosum*. Revista Colombiana de Entomología, 36: 195-201
- CASAFE. 2009. Cámara Argentina de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes: Guía de productos fitosanitarios. Tomo 1. CASAFE. Buenos Aires. Argentina
- Casanova, H., Ortiz, C., Pelbez, C., Vallejo, A., Moreno, M. E., & Acevedo, M. 2002. Insecticide formulations based on nicotine oleate stabilized by sodium caseinate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 6389-6394.
- Champagne, D.E., Isman, M.B.; Towers, G.H.N. 1989: Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae. En J, Arnason., B, Philogene, R, Morand, P. Am(Ed.). Chemical Society Symposium Series, 387: 95–109.

- Chauzat, M.P., Faucon, J.P., Martel, A.C., Lachaize, J., Cougoule, N., Aubert, M. 2006. A Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. *Journal of Economic Entomology*, 99: 253–262.
- CHFBA. 2005. Censo Hortiflorícola Prov. de Bs. As. MAA y MDE. pp 115. Disponible en: www.ec.gba.gov.ar/estadistica/chfba/censohort.htm
- CNA. 2002. Censo Nacional Agropecuario. Disponible en: www.indec.mecon.gov.ar/agropecuaria/cna
- Colomo, M.V., Berta, D.C., and Chocobar, M.J. 2002. El complejo de himenópteros parasitoides que atacan a la “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en la Argentina. *Acta Zoologica Lilloana*, 46: 81-92.
- Cônsoli, F.L., Parra, J.R.P and Hassan, S.A. 1998. Side effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*, 122: 43-47.
- Cordero, R.J.; Bloomquist, J.R.; Kuhar, T.P. 2007. Susceptibility of two diamondback moth parasitoids, *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera; Ichneumonidae) and *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera; Eulophidae), to selected commercial insecticides. *Biological Control*, 42: 48–54.
- Cordova, D., Benner, E.A., Sacher, M.D., Rauh, J.J., Sopa, J.S., Lahm, G.P., Selby, T.P., Stevenson, T.M., Flexner, L., Gutteridge, S., Rhoades, D.F., Wu, L., Smith, R.M., Tao, Y. 2006. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84: 196-214.
- Croft, B.A. 1990. *Arthropod biological control agents and pesticides*. J. Wiley and Sons, New York, 235 pp.
- Darvas, B., & Polgar, L.A. 1998. Novel-type insecticides: specificity and effects on non-target organisms. In *Insecticides with novel modes of action*, pp, 188-259. Springer Berlin Heidelberg.
- DeBach, P. 1964. *Biological control of insect pests and weeds*. Chapman and Hall. London, 844 pp.
- De Evert, M.B.T., Gómez López, A.V y Ramírez de López, M.B. 2015. Evaluación de extractos vegetales para el control de la palomilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) en condiciones de invernadero. *Investigación Agraria*, 17(2): 138-142.
- Defensoria del pueblo. UNLP. 2011. Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la provincia de Buenos Aires. Disponible en: http://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/paginas/informe_agroquimicos_comprimido.pdf

- De Santis, L. 1983. Un nuevo género y dos nuevas especies de eulophidos neotropicales (Insecta, Hymenoptera). *Revista Peruana de Entomología*, 26: 1- 4.
- Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52: 81-106.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A., Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C. A. & Pizzol, J. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83(3): 197-215.
- Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., Furlong, M. J. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista peruana de medicina experimental y Salud Pública*, 25(1): 74-100.
- Dinter, A., Brugger, K., Bassi, A., Frost, N.M., Woodward, M. 2008. Cloranthraniliprol: a novel anthranilic diamide insecticide demonstrating low toxicity and low risk for beneficial insects and predatory mites. *IOBC WPRS Bull*, 35: 128-136.
- Dughetti, A.C. 1993. Trabajos preliminares sobre la incidencia de daño y programas de control químico de la polilla del tomate en el cinturón verde del Gran Buenos Aires. Resúmenes del XVI Congreso Argentino de Horticultura, Corrientes, Argentina.
- Duke, S.O. 1990. Natural pesticides from plants. Pp.511-517 en Janick, J. y Simon, J.E. (eds). *Crops*, J. Janick and J. Simon (Eds). *Advances in new crops*. Timber Press, Portland, OR.
- Eleonora, A.D., & Vili, B.H. 2014. Efficacy evaluation of insecticides on larvae of the tomato borer *Tuta absoluta*, Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. *Agriculture & food*, 2: 158-164.
- Estay, P. 2000. «Polilla del tomate *Tuta absoluta*», Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA La Platina), Disponible en <http://www.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR25648.pdf>
- Estay, P. 2003. «Manejo Integrado de plagas del tomate en Chile», Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en Tomate, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA-La Platina), Disponible en: <http://www.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/NR27109.pdf>
- Estay, P.; Araya, J.E. & Araya, M.H. 2005. Toxicidad en laboratorio de imidacloprid, acetamiprid y abamectina sobre adultos de *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera, Aphelinidae). *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 37: 369 – 371.

- Estay P, y Bruna A. 2002. Insectos y ácaros asociados al tomate en Chile. En Estay P, 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., & Farias, A.M. 2000. Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): efeito da idade do hospedeiro. *Annal Sociedad Entomologica Brasil*, 2: 85-93.
- FAO .2012. Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/152718/icode/>
- FAO. 2012. Código Internacional de Conducta para la Distribucion y Utilizacion de Plaguicidas. Directrices sobre la Prevencion y Manejo de la Resistencia de Plaguicidas. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Codigo/FAO_RMG_SP.pdf
- FAO,WHO. 2010. Codex Alimentarius. Pesticide Residues. Disponible en: www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/mrls/en/
- Fernandes, M.E., Alves, F.M., Pereira, R.C., Aquino, L.A., Fernandes, F.L., & Zanuncio, J.C. 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. *Chemosphere*, 156: 45-55.
- Fernández, M.M., Medina, P., Fereres, A., Smagghe, G. and Viñuela, E. 2015. Are Mummies and Adults of *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae) Compatible with Modern Insecticides? *Journal of Economic Entomology*, 108: 2268 - 2277.
- Fernández, S., & Montagne, A. 1990. Biología del minador del tomate *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Boletín Entomológico*, 5: 89-99.
- Ferrato, J., & Mondino, C.M. 2008. Producción, consumo y comercialización de hortalizas en el mundo. *Revista Agromensajes*, pp 24.
- Ferrero, A., Laumann, R., Gutierrez, M.M., Stadler, T. 2000. Evaluación en laboratorio de la toxicidad de insecticidas en *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) y en su enemigo natural *Goniozus legneri* Gordh (Hymenoptera: Bethyilidae). *Bol. Sanidad Vegetal. Plagas*, 26: 559-575.
- Fogel, M., Rimoldi, F., Pineda, S., Schneider, M.I. y Ronco, A. 2009. Side effects of teflubenzuron and chlorfenapyr in *Eriopis connexa* eggs (Coleoptera: Coccinellidae). *Communications in Applied Biological Sciences*, 74 (2): 419-423.
- Fogel, M., Schneider, M.I. y Ronco, A. 2008. Efectos de cipermerina y teflubenzurón sobre larvas del depredador *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). En Libro de Resúmenes de la XXIII Reunión Argentina de Ecología, pp. 135.
- Foladori, G. 1999. Sustentabilidad y contradicciones sociales. *Ambiente y sociedad*, 5(2): 19-36.

- Folcia, A.M. 2013. Evaluación de *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera-Braconidae) como posible agente de control biológico de *Tuta Absoluta* (Lepidoptera-Gelechiidae), plaga clave del cultivo de tomate en los alrededores del Gran Buenos Aires. Disertación doctoral. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina, 167 pp.
- Francesena, N. 2008. Efectos letales y subletales de insecticidas sobre *Bemisia tabaci* y su principal parasitoide *Eretmocerus mundus* e impacto sobre aspectos. Disertación doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- Galarza, J., & Larroque. O. 1984. Control de *Scrobipalpula absoluta* (Meyr.) (Lepidoptera: Gelechiidae) en tomate. IDIA 421-424: 15-18.
- Garat, J.J., Ahumada, A., Otero, L., Terminiello, L., Bello, G., Ciampagna, M.L. 2009 Las hortalizas típicas locales en el cinturón verde de La Plata: su localización, preservación y valorización. Horticultura Argentina, 28: 66
- Garcia, M.F., y Espul, J.C. 1982. Bioecología de la polilla del tomate (*Scrobipalpula absoluta*) en Mendoza, República Argentina. Revista de Investigación Agropecuaria, 17(2): 135-145.
- García, M., y Kebat, C. 2008. Transformaciones en la horticultura platense. Una mirada a través de los censos. Realidad Económica, 237: 110-134.
- García, M., y Le Gall, J. 2009. “Reestructuraciones en la Horticultura del AMBA: tiempos de boliviano”. IV Congreso Argentino y Latinoamericano de Antropología Rural. Mar Del Plata, Argentina.
- Garzón, A., Medina, P. Amor, F., Viñuela, E., Budia, F. 2015. Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). Chemosphere, 132: 87–93.
- Giustolin T., Postali J., Vendramim J. 2002. Número de ínstares larvais de *Tuta absoluta* (Meyrick) em genótipos de tomateiro. Revista Científica Agrícola, 59 (2): 393-396.
- Gholamzadeh Chitgar, M., Hajizadeh, J., Ghadamyari, M., Karimi-Malati, A., & Hoda, H. 2014. Sublethal effects of diazinon, fenitrothion and chlorpyrifos on the functional response of predatory bug, *Andrallus spinidens* Fabricius (Hem. Pentatomidae) in the laboratory conditions. Journal of King Saud University-Science, 26 (2): 113-118.
- Ghoneim, K. 2014. Parasitic insects and mites as potential biocontrol agents for a devastating pest of tomato, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) in the world: a review. International Journal of Advanced, 2(8): 81-115.
- Gonçalves, A.A. 2010. Alverde®: la solución BASF para el control de *Tuta absoluta*. Phytoma España, 217: 21-22.

- González, M.F., Bahena, E., Viñuela, E. 1998. Desarrollo de un método de semicampo para el estudio de los efectos secundarios de los productos fitosanitarios sobre el parasitoide *Opius concolor* Szèpligeti. Boletín Sanidad Vegetal. Plagas, 24: 661-668.
- Gurr, G.M, Wratten, S.D y Barbosa, P. 2000. Success in conservation biological of arthropods Biological. Pp 105-132 en Gurr, G. y Wratten, S. (eds) Measures of success in biological control. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Haramboure, M. 2010. Evaluación de la tolerancia y susceptibilidad a insecticidas convencionales y biorracionales en *Chrysoperla externa* y *Chrysoperla asoralis* (Neuroptera: Chrysopidae). Disertación doctoral, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina, 118 pp.
- Harizanova, V.; Stoeva, A. Mohamedova, M. 2009. Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* (Povolny) (Lepidoptera: gelechiidae). Agricultural Science and Technology, 1(3): 95-98.
- Hassan, S.A. 1994. Activities of the IOBC/WPRS working group “Pesticides and Beneficial Organisms”. IOBC wprs Bulletin 17(10): 1-5.
- Hassan, S.A., Bigler, F., Blaisinger, H. *et al.* 1985. Standard methods to test the side effects of pesticides on natural enemies of insects and mites. EPPO Bull, 15: 214-255.
- Hassan, S.A. 1992. Guideline for the evaluation of side effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. IOBC/WPRS Working Group: Pesticides and beneficial Organisms Bulletin, 14(3): 18-39
- Hempel, K., Hess, F.G., Bogi, C., Fabian, E., Hellwig, J., Fegert, I. 2007. Toxicological properties of metaflumizone. Veterinary Parasitology, 150: 190–195.
- Hecht, S. 1999. La evolución del pensamiento agroecológico. En: Agroecología. Bases Científicas Para Una Agricultura Sustentable, Altieri (ed.) pp.15-30. Nordan-Comunidad, Uruguay.
- Hewa-Kapuge, S., McDougall, S., Hoffmann, A.A. 2003. Effects of methoxyfenozide, indoxacarb, and other insecticides on the beneficial egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and field conditions. Journal of Economic Entomology, 96: 1083–1090.
- Hill, T.A., & Foster, R.E. 2000. Effect of insecticides on the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Journal of Economic Entomology, 93: 763–768.
- Huang, J., Wu, S.F., & Ye, G.Y. 2011. Evaluation of lethal effects of cloranthraniliprol on *Chilo suppressalis* and its larval parasitoid, *Cotesia chilonis*. Agricultural Sciences in China, 10 (7): 1134-1138.

- Iannacone, J., & Lamas, G. 2003. Efectos toxicológicos del nim, rotenona y cartap sobre tres microavispa parasitoides de plagas agrícolas en Perú. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 29: 123-142.
- ICAR, 2015. *Tuta Absoluta* a New Invasive Pest Alert. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- InfoStat. Software estadístico. Versión 2008.
- IRAC. 2011. Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas. Clasificación del Modo de Acción de Insecticidas y Acaricidas. Disponible en: http://www.irac-online.org/content/uploads/modo_de_accion.pdf.
- Ishaaya I., Barazani A., Kontsedalov S. and Horowitz A.R. 2007. Insecticides with novel modes of action: Mechanism, selectivity and cross-resistance. *Entomological Research*, 37: 148–152.
- Ishaaya, I., & Horowitz, A. R. (Eds.). 2009. *Biorational control of arthropod pests*. Springer.
- Jacas, J., Viñuela, E., Adan, A., Budia, F., Del Estal, P. and Marco, V. 1992. Laboratory evaluation of selected pesticides against *Opius concolor* Szepf. *Annals of Applied Biology*, 13: 40–41.
- Jin, T., Lin, Y.Y., Jin, Q.A., Wen, H.B. & Peng, Z.Q. 2014. Sublethal effect of avermectin and acetamiprid on the mortality of different life stages of *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae) and its larvae parasitoid *Asecodes hispinarum* Bouček (Hymenoptera: Eulophidae). *Crop Protection*, 58: 55-60.
- Jones, O.R., Purvis, A., Baumgart, E. and Quicke, D.J. 2009. Using taxonomic revision data to estimate the geographic and taxonomic distribution of undescribed species richness in the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Insect Conservation and Diversity*, 2(3): 204-212.
- Kahal, M. 2015. Los insecticidas parte XI. *Boletín Entomológico del Sistema de Alerta en Red*. nro 179. Ediciones INTA.
- Kaplan, I. 2012. Attracting carnivorous arthropods with plant volatiles: The future of biocontrol or playing with fire? *Biological Control*, 60: 77–89.
- Kobori, Y., & Amano, H. 2004. Effects of agrochemicals on life history parameters of *Aphidius gifuensis*. *Applied Entomology and Zoology*, 39 (2): 255-261.
- Korycinska A., & Moran H. 2009. South American tomato moth *Tuta absoluta*. *Food and Environment Research Agency. Plant Pest Notice*, 56: 4.
- Kroma, M.M., & Flora, C.B. 2003. Greening pesticides: A historical analysis of the social construction of farm chemical advertisements. *Agriculture and Human Values*, 20 (1): 21-35.

- Lahm, G.P., Cordova, D., Barry, J.D. 2009. New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17: 4127-4133.
- Landis, D.A., Wratten, S.D., Gurr, G.M. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, 45: 175-201.
- Larraín, P. 1986. Eficacia de insecticidas y frecuencia de aplicación basada en niveles poblacionales críticos de *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick), en tomates. *Agricultura Técnica*, 46: 329-333.
- Larraín, P. 2001. Polilla del tomate y su manejo integrado. Informativo n° 1 INIA Intihuasi. Disponible en: <http://www.inia.cl/medios/intihuasi/documentos/informativos>.
- LaSalle, J., & Gauld, I.D. 1993. Hymenoptera: their diversity, and their impact on the diversity of other organisms. In: LaSalle, J., Gauld, I.D. (Eds.), *Hymenoptera and Biodiversity*. CAB International, Wallingford, UK, pp1-26.
- Laveissiere, C., & Sane, B. 1994. Régulateur de croissance et piégeage pour la lutte contre *Glossina palpalis palpalis* en Côte d'Ivoire: Essai sur le terrain de L'OMS 3019 (Pyrriprosyfen SUMITOMO). *Insect Science Application*, 15: 105-110.
- Lietti, M.M., Botto, E., & Alzogaray, R.A. 2005. Insecticide resistance in argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*, 34 (1): 113-119.
- Liguori, R., Cestari, P., Serrati, L., & Fusarini, L. 2008. Emamectina benzoato (AFFIRM®): innovativo insetticida per la difesa contro i lepidopteri fitofagi. *Atti Giornate Fitopatologiche*, pp 3-8.
- Liguori, R., Correia, R., Thomas, C., Decaudin, B., Cisneros, J., López, A. 2010. Emamectin benzoate (Affirm®), a modern insecticide for the control of Lepidoptera larvae on fruits, grapes and vegetables crops. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 75(3): 247-253
- Lino, P.B. 2010. La resistencia a insecticidas en *Tuta absoluta* (Meyrick). *Phytoma España*, 217: 103-106.
- Liu, F., Zhang, X., Gui, Q.Q., & Xu, Q. J. 2012. Sublethal effects of four insecticides on *Anagrus nilaparvatae* (Hymenoptera: Mymaridae), an important egg parasitoid of the rice planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Crop Protection*, 37: 13-19.
- Lobos, E. s/a. Uso de insecticidas reguladores del crecimiento. Nota nro 8058. Disponible en: www.agritotal.com

- Lopez, J.A., Amor, F., Bengochea, P., Medina, P., Budia, F. and Viñuela, E. 2011. Toxicity of emamectin benzoate to adults of *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Heteroptera, Miridae) and *Diglyphus isaea* Walker (Hymenoptera, Eulophidae) on tomato plants. Semi-field studies. *Journal of Agricultural Research*, 9(2): 617-622.
- López, J.M., Martín, L., López, J.A., Correia, R., González, F., Gallardo, M., Cantus, J.M. 2010. Affirm (emamectina), una nueva arma contra la *Tuta absoluta* y otras orugas de lepidópteros. *Phytoma España*, 217: 90-94.
- Louda, S.M., Arnett, A.E., Rand, T.A., Russell, F.L. 2003. Invasiveness of some biological control insects and adequacy of their ecological risk assessment and regulation. *Conservation Biology*, 17: 73–82.
- Luna, M.G., Nieves, E., Estivariz, M.C. and Wada, V. 2005. *Closterocerus formosus* y *Dineulophus phtorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae) ectoparasitoides de *Tuta absoluta* en cultivos de tomate: estudio comparativo para su identificación. *Actas del VI Congreso Argentino de Entomología*, Tucumán, Argentina
- Luna, M.G., Pereyra, P.C., Coviella, C.E., Nieves, E., Savino, V., Salas, N.G Gervassio., Lufi, E., Eduardo Virla, E. and Sánchez, N.E. 2015. Potential of biological control agents against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): current knowledge in Argentina. *Florida Entomologist*, 98(2): 598-494.
- Luna, M.G., Sánchez, N.E. and Pereyra, P.C. 2007. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under Laboratory Conditions. *Environ. Entomol.*, 36(4): 887-893.
- Luna, M.G., Wada, V.I., & Sánchez, N.E. 2010. Biology of *Dineulophus phtorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae) and field interaction with *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato. *Annals of the Entomological Society of America*, 103(6): 936-942.
- Mahdavi, V., Saber, M., Rafiee-Dastjerdi, H., & Mehrvar, A. 2011. Comparative study of the population level effects of carbaryl and abamectin on larval ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 56(6): 823-830.
- Marco, M.P., & Tomas, J. 1988. Hormonas de muda y antagonistas. Pp 187-226 en Belles, X. (Ed.) *Insecticidas Biorracionales*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, Spain.
- Martinou, A.F, Seraphides, N., Stavrinides, M.C. 2014. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. *Chemosphere*, 96: 167–173.

- Medina, P., Budia, F., Tirry, L., Smagghe, G. & Viñuela, E. 2001. Compatibility of Spinosad, Tebufenozide and Azadirachtin with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* under laboratory conditions. *Biocontrol Science & Technology*, 11: 597-610.
- Medina, P., del Río, A. A., del Estal Padillo, P., Marigil, F.B., & Sandoval, E.V. 2008. Integración del control biológico con otros métodos de control. In *Control biológico de plagas agrícolas*. Phytoma España, pp 469-476.
- Medina, P., Morales, J.J., Budia, F., Adan, A., Del Estal, P. and Viñuela, E. 2007. Compatibility of Endoparasitoid *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Protected Stages with Five Selected Insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 100(6): 1789-1796.
- Meier, G.A., Silverman, R., Ray, P.S., Cullen, T.G., Ali, S.F., Mared, F.L., Webster, C.A. 1992. Insecticidal dihydropyrazoles with reduced lipophilicity. Pp 313-326 en Baker DR, Fenyves JG, Steffens JJ (eds) *Synthesis and chemistry of agrochemicals*. American Chemical Society, Washington.
- Meyrick, E. 1917. Descriptions of South American Micro-Lepidoptera. *The Transactions of the Entomological Society of London For the year 1917*, 1: 1-52
- Miceli, F., Minici, F., Tropea, A., Catino, S., Orlando, M., Lamanna, G., & Lanzone, A. 2005. Effects of nicotine on human luteal cells in vitro: a possible role on reproductive outcome for smoking women. *Biology of reproduction*, 72(3): 628-632.
- Michaud, J.P., & Grant, A.K., 2003. IPM-compatibility of foliar insecticides for citrus: indices derived from toxicity to beneficial insects from four orders. *Journal of Insect Science*, 3: 1-10.
- Mills, N.J. 1992. Parasitoid guilds: defining the structure of the parasitoid communities of endopterygote insect hosts. *Environmental Entomology*, 23: 1066-1083.
- Mitidieri, M. S. y Polack, L. A. 2012. *Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas, enfermedades y EN de tomate y pimiento*. Ed. INTA San Pedro (2° ed.). 89 pp.
- Muesebeck, C.F.W. 1938. Three new rearder species of *Apanteles* from California (Hymenoptera: Braconidae). *Proceedings of the Entomology Society of Washington*, 40: 201-204.
- Mulder, R., Wellinga, K. & Daalen, J.J. 1975. A new class of insecticides. *Naturwissenschaften*, 62(11): 531-532.
- Nicholls, C.I. 2008. *Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico*. Universidad de Antioquia, Colombia.

- Nieves, E.L. 2013. Evaluación del parasitoide, *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) como agente de control biológico de la “polilla del tomate”, *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). Disertación doctoral, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina, 129 pp.
- Nieves, E.L., Pereyra, P.C., Luna, M.G., Medone, P., & Sánchez, N.E. 2015. Laboratory population parameters and field impact of the larval endoparasitoid *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) on its host *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato crops in Argentina. *Journal of economic entomology*, 108(4): 1553-1559.
- Oberlander, H.; & Silhacek, D. L. 1998. New perspectives on the mode of action of benzoylphenylurea insecticides. Pp 92-105 en Ishaaya I.; Degheele D (eds) *Insecticides with novel modes of action*. Springer, Berlin.
- O’Farrill-Nieves, H. 2003. Insecticidas Biorracionales. Disponible en: <http://academic.uprm.edu/ofarrill/HTMLObj-323/biorational.pdf>
- Ohno, I., Tomizawa, M., Durkin, K. A., Naruse, Y., Casida, J. E., & Kagabu, S. 2009. Molecular features of neonicotinoid pharmacophore variants interacting with the insect nicotinic receptor. *Chemical research in toxicology*, 22: 476-482.
- Ortega, Y.R. 2013. La palomilla del tomate (*Tuta absoluta*): una plaga que se debe conocer en Cuba. *Fitosanidad*, 17(3) :171-181.
- Paredes, A. 2009. Cultivo del tomate en invernadero. Cundinamarca-Colombia. Corpoica, pp 54.
- Pereyra, P. 2002. Evidencia de competencia intraespecífica en estadios larvales tempranos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), *Ecología Austral*, 12: 143-148.
- Pereyra, P. y Sánchez, N. 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.
- Perner, M.P.; Ayali, A.; Kelmer, G.; Bennetova, V.; Nemeč, V.; Rejzec, M. y Wimmer, Z. 1997. Comparative testing of several juvenile hormone analogues in two species of locusts, *Locusta migratoria migratorioides* and *Schistocerca gregaria*. *Pesticide Science*, 51: 443-449.
- Polack, L.A. 1999. Ensayos de eficacia de plaguicidas empleados contra la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Buenos Aires, Centro Agrícola El Pato, INTA, 2p.
- Polack, L.A.; Saini, E. & García Sampedro, C. 2002. Guía de Monitoreo y Reconocimiento de Plagas y EN de tomate y pimiento. Ediciones INTA, 52 pp.

- Povolny, D. 1975. On three neotropical species of gnorimischemini (Lepidoptera-Gelechiidae) mining Solanaceas. *Acta Universitatis Agriculturae Facultas Agronomica*, 2: 379-393.
- Ramos, s/a: «La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una plaga muy agresiva», Disponible en: <http://www.oirsa.org/portal/documents/tuta/La-Polilla-del-tomate-una-plaga-muy-agresiva.pdf>
- Ramos, C. & Juárez, M. 2011. Protocolo de identificación de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick) Lepidóptera: Gelechiidae», OIRSA. Organismo Internacional Regional de Sanidad Vegetal. Disponible en: <http://www.oirsa.org/portal/documents/tuta/protocolo-de-identificacion-de-tuta-absoluta.pdf>.
- Riddiford, L.M. 1980. Insect endocrinology: action of hormones at the cellular level. *Annual Review Physiology*, 42: 511–528.
- Rimoldi, F., Schneider, M.I., Pineda, S., & Ronco, A. 2007. Effect of conventional and biorational insecticides on larvae of *Chrysoperla externa*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 72(3): 561-565.
- Rimoldi, F., Schneider, M.I., & Ronco, A. 2008. Susceptibility of *Chrysoperla externa* eggs (Neuroptera: Chrysopidae) to conventional and biorational insecticides. *Environmental Entomology*, 37(5): 1252-1257.
- Ríos-Casanova, L. 2011. Que son los parasitoides?. *Revista Ciencia*, 62(2): 20-25.
- Ripa, R., Rojas, S., & Rodriguez, F. 1992. Consideraciones sobre el control de la polilla del tomate. *IPA La Plata*, n° 68.
- Roditakis, E., Vasakis, E., Grispu, M., Stavrakaki, M., Nauen, R., Gravouil, M., Bassi, A. 2015. First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *Journal Pest Science*, 88: 9-16.
- Rothman, S. y Tonelli, B. 2010. El cultivo del tomate. Cátedra de Horticultura. FCA UNER, pp 31.
- Rugno, G.R., Zanardi, O.Z., & Yamamoto, P.T. 2015. Are the Pupae and Eggs of the Lacewing *Ceraeochrysa cubana* (Neuroptera: Chrysopidae) Tolerant to Insecticides? *Journal of economic entomology*, 108: 2630 - 2639.
- Saelices, M.R.; Lopez, A.; Amor, F.; Bengochea, P.; Fernandez, M.M.; Garzon, A.; Morales, I.; Velazquez, P.; Medina, P.; Adan, A.; Del Estal, P.; Viñuela, E.; Budía, F. 2012. Ecotoxicidad de insecticidas de uso frecuente en el cultivo de tomate, en el enemigo natural *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*, 38: 95-107.
- Salazar, E.R; & Araya, J.E. 1997. Detección de resistencia a insecticidas en la polilla del tomate. *Simiente*, 67: 8–22.

- Salgado, J.V.L., & Hayashi, J.H. 2007. Metaflumizone is a novel sodium channel blocker insecticide. *Vet. Parasitol.*, 150: 182–189.
- Samsoe-Petersen, L. 1990. Sequences of standard methods to test effects of chemicals on terrestrial arthropods. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 19: 310-319.
- Sánchez, N.E., Pereyra, P.C., & Luna, M.G. 2009. Spatial patterns of parasitism of the solitary parasitoid *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae) on the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environmental Entomology*, 38(2): 365-374.
- Sarandón, S.J. 2008. ¿Es sustentable la agricultura actual? En X Jornadas de Investigación del Centro de Investigaciones Geográficas y del Departamento de Geografía, La Plata, Argentina.
- Savino, V., Coviella, C.E., & Luna, M.G. 2012. Reproductive biology of *Dineulophus pthorimaeae* de Santis (Hymenoptera: Eulophidae), a natural enemy of the tomato moth *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Insect Science*, 12(1): 1-14.
- Scudeler, E.L., Garcia, A.S.G., Padovani, C.R., & Santos, D.C. 2013. Action of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on cocoon spinning in *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae). *Ecotoxicology and environmental safety*, 97: 176-182.
- Schmutterer, H. 1990. Properties of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, 35: 271-297.
- Schmutterer, H., & Ascher, K.R.S. 1995. The Neem tree *Azadirachta indica* A. Juss and other Meliaceae Plants. Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other purposes. VCH, Weinheim, Germany.
- Schneider, M.I., Pineda, S., & Aliardi, D. 2006b. Estudios preliminares del impacto ecológico de plaguicidas convencionales y de nueva generación sobre larvas de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). En: Libro de Resúmenes del XXI Reunión Argentina de Ecología, pp 62.
- Schneider, M.I., Pineda, P., & Smagghe, G. 2006a. Side effects of conventional and non-conventional insecticides on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) in Argentine. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 71 2b: 425-427.
- Schneider, M.I., Sanchez, N.E., Pineda, S., Chi, H., & Ronco, A. 2009. Side effects of glyphosate on development rate and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Chemosphere*, 76: 1451-1455.
- Schneider, M. I., Smagghe, G., Gobbi, A., & Viñuela, E. 2003. Toxicity and pharmacokinetics of insect growth regulators and other novel insecticides on pupae of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of early larval instars of lepidopteran pests. *Journal of Economic Entomology*, 96(4): 1054-1065.

- Schneider, M.I., Smagghe, G., Pineda, S., & Viñuela, E. 2008. The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym, Ichneumonidae). Pharmacokinetics approach. *Ecotoxicology*, 17 (3): 181-188.
- Schneider, M.I., Smagghe, G., & Viñuela, E. 2004. Comparative effects of several insect growth regulators and spinosad on the different developmental stages of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. *IOBC-WPRS Bull.* 27: 13-19.
- Shipp, J.L., Wang, K., Ferguson, G. 2000. Residual toxicity of avermectin b1 and pyridaben to eight commercially produced beneficial arthropod species used for control of greenhouse pests. *Biological Control*, 17: 125-131.
- Silva, W.M., Berger, M., Bass, C., Balbino, V.Q., Amaral, M.H., Campos, M.R., & Siqueira, H.A. 2015. Status of pyrethroid resistance and mechanisms in Brazilian populations of *Tuta absoluta*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 122: 8-14.
- Siqueira, H.A., Guedes, R.N., Picanco, M.C. 2000. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 2: 147-153.
- Soloway, S.B. 1976. Naturally occurring insecticides. *Environmental health perspectives*, 14: 109.
- Soto-Zamora, G.; Yahia, E. M.; Brecht, J. K.; Gardea, A. 2005. Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 38: 657- 663.
- Stadler, T., Buteler, M., Weaver, D.K. 2010. Nanoinsecticidas: Nuevas perspectivas para el control de plagas. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 69 (3-4): 149-156.
- Stapel, J.O., Cortesero, A.M., Lewis, W.J. 2000. Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biological Control*, 17: 243-249.
- Stara, J., Ourednickova, J., & Kocourek, F. 2011. Laboratory evaluation of the side effects of insecticides on *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiidae), *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae), and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseidae). *Journal of Pest Science*, 84(1): 25-31.
- Stark, J.D., & Banks, J.E., 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48: 505-519.
- Stark, J.D., Vargas, R., & Banks, J.E. 2007. Incorporating ecological relevant measures of pesticide effects for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. *Journal Economic Entomology*, 100: 1027-1032.

- Strassera, M.E., Luna, M.G., Sarandon, S.J., Polack, L.A. 2009. Análisis de dos alternativas de Manejo de Plagas en Tomate Bajo Cubierta en el Cinturón Hortícola Platense. *Revista Brasileira de Agroecología*, 4(2).
- Sugiyama, K., Katayama, H., Saito, T. 2011. Effect of insecticides on mortalities of three whitefly parasitoid species, *Eretmocerus mundus*, *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia Formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Applied Entomology and Zoology*, 46: 311-317.
- Sullivan J.J., & Goh K.S. 2008. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. *Journal of Pesticide Science*, 33(4): 339-350.
- Takagi, K., Hamaguchi, H., Nishimatsu, T., Konno, T. 2007. Discovery of metaflumizone, a novel semicarbazone insecticide. *Veterinary Parasitology*, 150: 177–181.
- Tantau., J.H. & Lang, D. 2003. Greenhouse climate control: an approach for integrated pest management. *Computers and Electronics in Agriculture* 40: 141-152.
- Theiling, K.M., & Croft, B.A., 1988. Pesticide side effects on arthropod natural enemies. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 21: 191–218.
- Tomizawa, M., Lee, D.L., & Casida, J.E. 2000. Neonicotinoid insecticides: molecular features conferring selectivity for insect versus mammalian nicotinic receptors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48: 6016-6024.
- Tomizawa, M., Zhang, N., Durkin, K.A., Olmstead, M.M., & Casida, J.E. 2003. The neonicotinoid electronegative pharmacophore plays the crucial role in the high affinity and selectivity for the *Drosophila nicotinic* receptor: an anomaly for the nicotinoid cation-interaction model. *Biochemistry*, 42: 7819-7827.
- Turchen, L.M., Golin, V., Butnariu, A.R., Guedes, R.N.C., & Pereira, M.J.B. 2016. Lethal and Sublethal Effects of Insecticides on the Egg Parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). *Journal of economic entomology*, 109: 84-92.
- Uchoa, M. 1992. Comportamento da traça do tomateiro *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidóptera: Gelechiidae) e emprego de armadilhas com feromônio natural para monitoro no campo. Tesis de Maestria, Universidad Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Urbaneja A, Vercher R, Navarro V, Garcia Marti, F, Porcuna, J.L. 2007. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma España*, 194:16–23.
- van De Veire, M., & Tirry, L. 2003. Side effects of pesticides of four species of beneficials used in IPM in glasshouse vegetables crops “worst case” laboratory tests. *IOBC/WPRS Bull* ,26(5): 41-50.
- van Driesche, R.G., Hoddle, M.S. & Center, T.D. 2007. Control de plagas y malezas por EN. USDA, 751 pp.

- van Lenteren, J.C. 2003. Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Pp 167-179 en van Lenteren, J.C.(Ed). Commercial availability of biological control agents. CAB International, Wallingford
- van Lenteren, J.C. (Ed). 2006. Mass production, storage, shipment and release of natural enemies IOBC Internet Book of Biological Control. Disponible en: <http://www.unipa.it/iobc/downlaod/IOBC%20InternetBookBiCoVersion4Octobe.pdf>
- van Lenteren, J.C. 2012. The state of commercial augmentative biological control: Plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Bio Control*, 57(1): 1-20.
- van Lenteren, J.C.; Bale, J.; Bigler, F.; Hokkanen, H.M.T. & Loomans, A.J.M. 2006. Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annual Review Entomology*, 51: 609-34
- van Lenteren, J.C. & Bueno, V.H.P. 2003. Aumentative biological control of arthropods in Latin America. *Rev. BioControl*, 48: 123-139.
- Vargas, H. 1970. Observaciones sobre la biología y EN de la polilla del tomate, *Gnorismoschema absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Idesia*, (Chile) 1: 75 - 110.
- Vigiani, A.R. 1990. Hacia el Control Integrado de Plagas. Hemiferio Sur, Argentina.
- Vilela, E.F.; & Della Lucia, T.M.C. 2001. Introducao aos semioquímicos e terminología. Pp 9-23 en Vilela, E.F; Della Lucia, T.M.C. (Org) Feromônio de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas. Ribeirão Editorial Holos, Ribeirao.
- Viñuela, E., Budin, F., & de Estal, P. 1991. Los insecticidas reguladores del crecimiento y la cutícula. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 17(3): 391-400.
- Viñuela, E. 2005. La lucha biológica, pieza clave de la agricultura sostenible. Pp 15-30 en Jacas J., Caballero P. & Avilla J. (eds). El control biológico de plagas, enfermedades y malas hierbas y la sostenibilidad de la agricultura. Spain, Univ. Pública Navarra
- Viñuela, E. 2011. La importancia de la compatibilidad de EN y plaguicidas en los modernos sistemas productivos. 12º SICONBIOL, Simpósio de Controle Biológico. “Mudanças climáticas e sustentabilidade: quebra de paradigmas”.
- Viñuela, E., Handel, U., Vogt, H. 1996. Evaluación en campo de los efectos secundarios de dos plaguicidas de origen botánico, una piretrina natural y un extracto de neem, sobre *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera: Chrysopidae) *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*, 22: 97-106.

- Viñuela, E., Medina, M. P., Schneider, M.I., González, M., Budia, F., Adán, A., & Del Estal, P. 2001. Comparison of side effects of spinosad, tebufenozide and azadirachtin on the predators *Chrysoperla carnea* and *Podisus maculiventris* and the parasitoids *Opius concolor* and *Hyposoter didymator* under laboratory conditions. *iobc wprs bulletin*, 24(4): 25-34.
- Vogt, H., & Heimbach, U. 2000. Sensitivity of non-target arthropod species to plant protection products according to laboratory results of the IOBC WG'Pesticides and Beneficial Organisms'. *Bulletin OILB/SROP*, 23(9): 3-15.
- Walter, G. 2003. *Insect Pest Management and Ecological Research*. New York, Cambridge.
- Wang, Y., Yu, R., Zhao, X., Chen, L., Wu, C., Cang, T., & Wang, Q. 2012. Susceptibility of adult *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to selected insecticides with different modes of action. *Crop Protection*, 34: 76-82.
- Willians, C.M. 1956: The juvenil hormone of insects. *Nature*, 178: 212-213.
- Wing, K.D., Andaloro, J.T., Mc Cann, S.F., Salgado, V.L. 2005. Indoxacarb and the sodium channel blocker insecticides: chemistry, physiology, and biology in insects en.Pp. 30-53 en Gilbert, L, Iatrou, K (eds.). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, New York.
- Yang, E.C., Chuang, Y.C., Chen, Y.L., Chang, L.H., 2008. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honeybee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(6): 1743–1748.
- Zhang, Z.Q., & Sanderson, J.P., 1990. Relative toxicity of abamectin to the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) and two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1783–1790.
- Zuazúa, F., Araya, J.E., Guerrero, M.A. 2003. Efectos letales de insecticidas sobre *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae), parasitoide de *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae) *Boletin Sanidad Vegetal. Plagas*, 29: 299-307.

Anexo

Tabla 3.1. Variables reproductivas evaluadas sobre hembras de *Pseudapanteles dignus* sobrevivientes del tratamiento de pupas con insecticidas.

Tratamiento	parasitismo efectivo (%)	emergencia progenie (%)	longevidad progenie (promedio)
control	37,7	70,5	21,7
control	35,5	68,7	
control	40	77,7	
control	44,4	60	
control	35,5	87,5	
clorantraniliprol	31,1	71,4	20
clorantraniliprol	28,8	61,5	
clorantraniliprol	28,8	76,9	
clorantraniliprol	31,1	78,5	
clorantraniliprol	40	61,1	
emamectina	17,7	87,5	14,6
emamectina	22,2	70	
emamectina	17,7	50	
emamectina	11,1	80	
emamectina	8,8	75	
azadiractina	15,5	57,1	15,1
azadiractina	8,8	25	
azadiractina	20	55,5	
azadiractina	15,5	42,8	
azadiractina	17,7	50	
metaflumizona	13,3	66,6	15,5
metaflumizona	8,8	75	
metaflumizona	20	55,5	
metaflumizona	8,8	50	
metaflumizona	6,6	66,6	

Tabla 4.2. Variables reproductivas evaluadas sobre hembras de *Pseudapanteles dignus* sobrevivientes del tratamiento de adultos con insecticidas.

Tratamiento	parasitismo efectivo (%)	emergencia progenie (%)	longevidad. progenie (promedio)
control	37,7	70,5	21,2
control	44,4	75	
control	37,7	76,4	
control	44,4	85	
control	37,7	70,5	
clorantraniliprol	24,4	63,6	19,4
clorantraniliprol	24,4	81,8	
clorantraniliprol	28,8	76,9	
clorantraniliprol	27,2	75	
clorantraniliprol	28,8	76,9	
emamectina	4,4	50	8,5
emamectina	6,6	66,6	
emamectina	8,8	75	
emamectina	4,4	50	
emamectina	13,3	50	
azadiractina	6,6	33,3	11
azadiractina	11,1	40	
azadiractina	2,2	0	
azadiractina	0	0	
azadiractina	0	0	
metaflumizona	4,4	100	12,3
metaflumizona	13,3	50	
metaflumizona	0	0	
metaflumizona	4,4	50	
metaflumizona	6,6	100	