



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

**Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales
Programa de Maestría en Producción Agropecuaria con
opción terminal Agrícola**

“Efectividad de un depredador y un parasitoide en el control del psílido del tomate: dispersión de un baculovirus por parte del depredador”

TESIS

Que presenta:

Ing. Alejandro Oxalis Guzmán Pedraza

Como requisito para obtener el grado académico de:

Maestro en Producción Agropecuaria

Director de tesis:

Dr. Samuel Pineda Guillermo

Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales

Co-directora de tesis:

Ana Mabel Martínez Castillo

Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales

Morelia, Michoacán, México, noviembre de 2020.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Coordinación de la Investigación Científica por el financiamiento y apoyo económico para poder llevar a cabo este proyecto.

A mi asesor, el Dr. Samuel Pineda Guillermo, por el tiempo, oportunidad, confianza, y todas esas largas jornadas de trabajo, agradezco su compromiso y esfuerzo gracias por ayudarme en mi formación académica.

A mi co-asesora, la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, por las incontables enseñanzas dedicación y apoyo para la culminación de este proyecto, gracias por enseñar con el ejemplo.

A mis sinodales:

Dr. José Isaac Figueroa de la Rosa, por todas sus enseñanzas, consejos y por esas buenas charlas antes de clases, gracias por contribuir a mi formación.

Dr. Sinue I. Morales Alonso, por su apoyo y orientación con las cuestiones estadísticas además de enriquecer el trabajo con sus acertados comentarios.

Dr. Ángel Rebollar Alviter, por el apoyo con instalaciones además de sus comentarios y conocimientos enriquecedores.

A los maestros Jesús Palma Castillo y Manuel Chavarrieta por su apoyo y colaboración para la elaboración de este proyecto, además de las buenas charlas.

A la empresa Koppert de México S.A de C.V. (Querétaro, México), por los especímenes proporcionados de *Tamarixia triozae*.

A mi familia, sin mencionar a alguno en específico, gracias por ser ese motor que me alienta día con día.

A la familia Serrato Herrera, por sus buenas charlas, cariño y hospitalidad.

A mis compañeros y amigos de Morelia y del laboratorio de Entomología Agrícola, por los buenos ratos, fue un gusto conocerlos y pasar tanto tiempo con ustedes.

DEDICATORIA

“A mis padres por todos los consejos, cariño y regaños, gracias por ser parte de este sueño y alentarme hasta el final. Los quiero.”

“A mi abuela por siempre estar para mí, la que lo da todo por apoyarme, gracias”

“A mis tíos, compadres y demás familiares que me alentaron para seguir adelante, sin su cariño y apoyo esto no sería posible”

“A mi novia por ser pieza fundamental de este logro, gracias por no dejarme rendir y por confiar en mí ante todo”

En memoria de:

Alan David Estrada Zamudio, por tantos recuerdos de nuestra niñez junto con chuy. Te decimos adiós para toda la vida, aunque toda la vida sigamos pensando en ti.

Ay estamos canelo.....

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN GENERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
 CAPÍTULO I	 3
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
2. ANTECEDENTES GENERALES.....	5
2.1 Cultivo de chile a nivel mundial.....	5
2.2 Cultivo de chile en México	5
2.3 Cultivo de tomate a nivel internacional	6
2.4 Cultivo de tomate en México	6
2.5 Problemas fitosanitarios del cultivo de chile	7
2.6 Daños directos e indirectos	8
2.7 Morfología y ciclo de vida	9
2.8 Daños directos e indirectos	10
2.8.1 Directos	10
2.8.2 Indirectos.....	11
2.8.3 Zebra chip	11
2.9. El gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> : Importancia económica, hospederos y distribución.....	12
2.10 Morfología y ciclo de vida	12
2.11 Tipos de control.....	13
2.11.1 Control biológico	13
2.11.1.1 Los baculovirus	14
2.11.1.2 <i>Tamarixia triozae</i>	14
2.11.1.3 <i>Engytatus varians</i>	15
2.12 Taxonomía de míridos	15
2.13 Biología de míridos zoofitófagos.....	16
2.14 Daños míridos zoofitófagos.....	17
2.15 Relaciones tróficas	17
2.15.1 Depredador-depredador	18
2.15.2 Parasitoide-parasitoide.....	18
2.15.3 Depredador-parasitoide.....	18
3. Literatura Citada	18
 CAPÍTULO II.....	 31
Control effectiveness of two natural enemies on <i>Bactericera cockerelli</i> (Hemiptera: Triozidae) in pepper plants.....	31
Abstract	31
1. Introduction	32

2. Materials and Methods	34
2.1 Plant material	34
2.2 Insects and rearing	34
2.3 Experimental greenhouse	35
2.4 Experimental design and procedure	35
2.5 Sampling and evaluations	36
2.6 Data analysis	37
3. Results	37
3.1 <i>Bactericera cockerelli</i> population density	37
3.2 <i>Engyptatus varians</i> and <i>T. triozae</i> populations density	40
4. Discussion	43
5. Acknowledgements	46
6. References	46

CAPÍTULO III	53
NOTA CIENTÍFICA	53
La dispersión del nucleopoliedrovirus múltiple de <i>Spodoptera exigua</i> (Lepidoptera: Noctuidae) por un mórfo depredador en plantas de tomate	53
Resumen	53
1. Introducción	54
2. Materiales y Métodos	54
2.1 Cría de insectos	54
2.2 Material vegetal y aislamiento del SeMNPV	55
2.3 Dispersión del virus	56
3. Análisis de datos	57
4. Resultados	58
4.1 Mortalidad de larvas	58
4.2 Tiempo de mortalidad	60
5. Discusión	62
5. Literatura citada	64

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

CAPÍTULO I	
Cuadro 1. Principales estados productores de Chile durante el año 2018.	5
Cuadro 2. Principales estados productores de tomate durante el año 2018	7
Cuadro 3. Duración promedio de los diferentes estados de vida de <i>B. cockerelli</i> . Tomado de Marin et al. 1995 en Bujanos y Ramos 2015	10
Figura 1. Problemas fitosanitarios de los cultivos de Chile y tomate. A) <i>Myzus persicae</i> ; B) <i>Bemisia tabaci</i> ; C) <i>Bactericera cockerelli</i> ; D) <i>Frankliniella occidentalis</i> ; E)	

<i>Antohonomus eugenni</i> ; F) <i>Heliothis zea</i> ; G) <i>Spodoptera exigua</i> ; H) virus del enrollamiento de la hoja amarilla del tomate (TYLCV); I) <i>Xanthomonas campestris</i> ; J) <i>Fusarium</i> spp.; K) <i>Clavibacter michiganensis</i> var. <i>Michiganensis</i> y L) <i>Candidatus liberibacter solanasearum</i>	8
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Bactericera cockerelli</i>	10

CAPÍTULO II

Figure 1. Population density of <i>B. cockerelli</i> nymphs (average number of individuals/plant $\pm$ SE) on pepper plants under greenhouse conditions. The black arrow () indicates the release of <i>B. cockerelli</i> adults in the control (<i>B. cockerelli</i> only), <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> , <i>B. cockerelli</i> + <i>T. tritoxae</i> , and <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> + <i>T. tritoxae</i> , as well as <i>E. varians</i> adults in the <i>E. varians</i> + <i>B. cockerelli</i> treatment. The blue arrow () indicates the release of both <i>E. varians</i> and <i>T. tritoxae</i> adults, alone or in combination, in <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> , <i>B. cockerelli</i> + <i>T. tritoxae</i> , and <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> + <i>T. tritoxae</i> treatments, as well as <i>B. cockerelli</i> in the <i>E. varians</i> + <i>B. cockerelli</i> treatment.	38
Figure 2. Population density of <i>B. cockerelli</i> adults (average number of individuals/plant $\pm$ SE) on pepper plants under greenhouse conditions. The black arrow () indicates the release of <i>B. cockerelli</i> adults in the control (<i>B. cockerelli</i> only), <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> , <i>B. cockerelli</i> + <i>T. tritoxae</i> , and <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> + <i>T. tritoxae</i> , as well as <i>E. varians</i> adults in the <i>E. varians</i> + <i>B. cockerelli</i> treatment. The blue arrow () indicates the release of <i>E. varians</i> and <i>T. tritoxae</i> adults, alone or in combination, in <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> , <i>B. cockerelli</i> + <i>T. tritoxae</i> , and <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> + <i>T. tritoxae</i> treatments, as well as <i>B. cockerelli</i> in the <i>E. varians</i> + <i>B. cockerelli</i> treatment. .	39
Figure 3. Population density (average number of individuals/plant $\pm$ SE) of A) <i>E. varians</i> adults; B) <i>E. varians</i> nymphs; C) <i>T. tritoxae</i> adults; D) <i>T. tritoxae</i> pupae. The black arrow () indicates the release of <i>E. varians</i> adults in the <i>E. varians</i> + <i>B. cockerelli</i> treatment. The blue arrow () indicates the release of <i>E. varians</i> and <i>T. tritoxae</i> adults, alone or in combination, in the <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> , <i>B. cockerelli</i> + <i>T. tritoxae</i> , and <i>B. cockerelli</i> + <i>E. varians</i> + <i>T. tritoxae</i> treatments	42

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Mortalidad (porcentaje $\pm$ EE) de larvas de segundo estadio de <i>S. exigua</i> expuestas a folíolos de tomate tratados con una concentración de 8.18×10^7 CI/ml del SeMNPV y expuestas a adultos de <i>E. varians</i> durante 24 y 48 h.	59
--	----

Cuadro 2. Mortalidad (porcentaje $\pm$ EE) de larvas de segundo estadio de *S. exigua* expuestas a folíolos de tomate durante 24 h y que fueron tratados con dos concentraciones del SeMNPV..... 60

Figura 1. Fluctuación de mortalidad de larvas de segundo estadio de *S. exigua* a través del tiempo: A) larvas expuestas a folíolos contaminados con virus a una concentración de 8.18×10^7 CI /ml SeMNPV sin depredador; B) larvas provenientes de folíolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante 24 h a una concentración de 8.18×10^4 CI /ml del virus; C) larvas provenientes de folíolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante 24 h a una concentración de 8.18×10^7 CI /ml del SeMNPV; D) larvas provenientes de folíolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante 48 h a la dosis 8.18×10^7 CI/ml..... 61

RESUMEN GENERAL

En el presente trabajo se evaluó el potencial de control del depredador *Engytatus varians* (Distant; Hemiptera: Miridae) y el parasitoide *Tamarixia triozae* (Burks; Hymenoptera: Eulophidae) sobre el psílido, *Bactericera cockerelli* (Sulc.; Hemiptera: Triozidae), sobre plantas de chile serrano (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de invernadero. Los enemigos naturales se liberaron solos, o en combinación, y cambiando el orden de liberación del depredador (antes o después del establecimiento de la plaga). *Engytatus varians* y *T. triozae* redujeron las densidades de adultos y ninfas de *B. cockerelli* hasta 93 y 90%, respectivamente, cuando el depredador se usó solo o en combinación con el parasitoide. En la segunda parte de este estudio, se determinó el impacto de *E. varians* como agente de dispersión del nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera exigua* (Hübner; Lepidoptera: Noctuidae) sobre plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a través de dos ensayos: 1) Hembras y machos de *E. varians* (≤ 3 d de edad) expuestos durante dos tiempos (24 y 48 h) sobre folíolos de tomate tratados con una concentración del virus de 8.18×10^7 cuerpos de inclusión (CI)/ml, y 2) Hembras y machos de este depredador expuestos durante 24 h a folíolos de tomate tratados con dos concentraciones del virus (8.18×10^7 y 8.18×10^4 CI/ml). En ambos ensayos, las larvas de segundo instar de *S. exigua* se alimentaron durante 4, 12, 24 y 48 h sobre los folíolos de tomate previamente expuestos al depredador. El sexo del depredador no influyó en la mortalidad de las larvas de *S. exigua* causada por el SeMNPV en ninguno de los ensayos. Sin embargo, la dispersión del virus por parte de *E. varians* provocó entre 51 y 100% de mortalidad larvaria, la cual dependió del tiempo de exposición y concentración del patógeno. Estos resultados demuestran que el uso de los enemigos naturales puede ser una valiosa estrategia dentro de un esquema de manejo integrado de plagas de *B. cockerelli* y *S. exigua*. Sin embargo, se necesitan más estudios para validar su impacto a mayor escala mediante el uso de distintas estrategias de liberación y concentraciones del virus.

Palabras clave: *Bactericera cockerelli*, *Engytatus varians*, *Tamarixia triozae*, baculoviridae, control biológico

GENERAL ABSTRACT

In this study, the biological control potential of the predator *Engytatus varians* (Distant; Hemiptera: Miridae) and the parasitoid *Tamarixia triozae* (Burks; Hymenoptera: Eulophidae) against the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc; Hemiptera: Triozidae) was evaluated on pepper plants (*Capsicum annuum* L.) under greenhouse conditions. Both natural enemies were released alone or in combination, and varying the timing of predator release (before or after pest establishment). *Engytatus varians* and *T. triozae* reduced the densities of adults and nymphs of *B. cockerelli* up to 93 and 90%, respectively, when the predator was used alone or in combination with the parasitoid. In the second part of this study, the impact of *E. varians* as a dispersion agent of the *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) on tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) was determined through two bioassays: 1) Females and males of *E. varians* (≤ 3 d old) exposed during two times (24 and 48 h) on tomato leaflets treated with a concentration of 8.18×10^7 occlusion bodies (OBs)/ml and 2) Females and males exposed during 24 h on tomato leaflets treated with two concentrations of the viruses (8.18×10^7 and 8.18×10^4 OBs/ml). In both bioassays, second instar of *Spodoptera exigua* (Hübner; Lepidoptera: Noctuidae) were fed during 4, 12, 24, and 48 h on the tomato leaflets exposed previously to predator. The predator sex had no influence on larval mortality of *S. exigua* caused by the SeMNPV in any bioassay. However, the dispersion of the viruses by *E. varians* caused between 51 and 100% of larval mortality, which depended of the exposition time and pathogen concentration. Our results have demonstrated that the use of natural enemies can be an alternative in a scheme of integrated pest management of *B. cockerelli* and *S. exigua*. However, more studies are necessary to validate their impact in a bigger scale using different release strategies and concentrations of the viruses.

Keywords: *Bactericera cockerelli*, *Engytatus varians*, *Tamarixia triozae*, baculoviridae, biological control

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los cultivos de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) y chile (*Capsicum annum* L.) son las principales solanáceas producidas bajo sistemas protegidos o en campo abierto a nivel mundial (Navarro-Urbina, 2011; FAO, 2017; SIAP, 2017; SIACON, 2019). Sin embargo, estos sistemas protegidos de producción, además de favorecer las condiciones óptimas para la producción de estos cultivos también favorecen la presencia de organismos plaga (Pérez-Aguilar et al. 2019). Tal es el caso del psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc.; Hemiptera: Triozidae), una de las principales plagas de estos cultivos, entre otros, con una amplia distribución (Munyanza et al. 2007; Teulon et al. 2009; Butler y Trumble, 2012, 2014; Wan et al 2020). Las ninfas y adultos ocasionan daños directos en las plantas al alimentarse de la savia (Hansen et al. 2008), pero el principal daño lo ocasionan al ser vectores de diferentes patógenos causantes de enfermedades tales como mancha amarilla del tomate y punta morada (Rubio et al. 2006; Garzón et al 2009; Munyanza et al. 2009).

Por otro lado, el gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner; Lepidoptera: Noctuidae), es considerado una de las principales plagas de los cultivos de solanáceas a nivel mundial, además de otras especies pertenecientes a 29 familias (Merkx-Jacques et al. 2008, Saeed et al. 2010; Zheng et al. 2011). Este insecto ocasiona daños que demeritan la actividad comercial de los cultivos, debido a que se alimenta de follaje y frutos (Beutelspacher y Balcázar, 1999; Gastélum, 2004; Cabello 2008).

El principal método de control de *B. cockerelli* y *S. exigua* se ha basado en el uso de insecticidas químicos. Sin embargo, el uso intensivo de insecticidas químicos de amplio espectro causa varios problemas ambientales, reduce las poblaciones de enemigos naturales y afecta la salud humana, además estas especies han desarrollado resistencia a diferentes insecticidas, lo que dificulta su manejo y control (Pimentel, 2005; Goulson, 2013; Wyckhuys et al. 2013; Che et al. 2015). Debido a ello, se ha incrementado la necesidad de estudiar alternativas de control ecológicamente aceptables como parte de programas de manejo integrado de plagas.

Engytatus varians (Distant) (Hemiptera: Miridae) es un depredador zoofitófago que se alimenta de diversas especies de insectos, así como de las plantas hospederas para completar su

ciclo biológico. Entre los insectos plaga de los cuales se alimenta *E. varians* se encuentran *B. cockerelli* y *S. exigua*. Recientemente, Pineda et al. (2019) reportaron que, en condiciones de laboratorio, este depredador consumió 75 y 80% de huevos y ninfas de tercer instar de *B. cockerelli*, respectivamente, y 19-41% y 4-22% de larvas de primer y segundo instar de *S. exigua*, respectivamente. Además, en condiciones de invernadero, este mírido suprimió entre 80 y 90% las poblaciones tanto de ninfas como de adultos de *B. cockerelli* (Pérez-Aguilar et al. 2019).

Tamarixia triozae (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) es el ectoparasitoide sinovigénico más importante de *B. cockerelli*. Las hembras de este parasitoide se alimentan de hemolinfa de su hospedero, lo que contribuye a la mortalidad general ocasionada (capacidad de parasitar y alimentarse del hospedero) (Morales et al. 2013; Martínez et al. 2015). En condiciones de laboratorio, *T. triozae* causó entre 30 y 100% de parasitismo en diferentes instares ninfales de *B. cockerelli* en cultivos de tomate y pimiento (Morales et al. 2013, Yang et al. 2015), mientras que en condiciones de campo el parasitismo estuvo comprendido entre 5 y 85% en cultivos de papa, pimiento y tomate y dependió si los cultivos fueron, o no, tratados con insecticidas químicos (Bravo y López, 2007; Liu et al. 2012),

Los baculovirus (Baculoviridae) son una familia de virus patógenos que afectan a los artrópodos y su nombre está basado en la forma de varilla o bastón (baculum = bastón) de sus viriones, son virus de doble cadena de ADN y están inmersos en una matriz de naturaleza proteica (Murphy et al. 1995; Szewczyk et al. 2006; Daimon et al. 2007). Se ha mencionado la capacidad altamente infectiva y específica como es el caso de los nucleopoliedrovirus específicos de lepidópteros (utilizados para el control de gusano soldado) en diversos cultivos hortícolas y ornamentales (Cherry et al. 1997; Murillo et al. 2006; Lasa et al. 2008; Zamora-Avilés et al. 2017). Además estudios recientes han demostrado el potencial de ser un agente dispersor del nucleopoliedrovirus de múltiple de *Spodoptera exigua* (SeMNPV) (Baculoviridae) (S. Zamudio, datos no publicados).

Con base a lo anterior, en este estudio se evaluó, bajo condiciones de invernadero, la capacidad de control de *B. cockerelli* sobre plantas de chile serrano mediante la liberación de *E. varians* y *T. triozae*. Tambien se determinó el impacto del depredador como agente de dispersión del SeMNPV.

2. ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Cultivo de chile a nivel mundial

El cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es una de las principales solanáceas producidas a nivel mundial, donde China es el principal productor con 16, 120, 406 t, en poco más de 711 mil ha⁻¹, seguido por México con 2, 732, 635 t con una la producción mundial total del cultivo de 7.4% (FAO, 2017; SIAP, 2017). En el año 2016, participaron 136 países en la exportación de algún tipo de chile, conjuntando un volumen de 3.3 millones de t para este año, de las cuales, 28.7% fueron aportadas por la producción de México. Estados Unidos y Canadá sus los principales importadores de esta hortaliza con 992 mil y 3 mil t importadas, respectivamente (SIAP, 2017).

2.2 Cultivos de chile en México

La producción de chile en 2016 tuvo una participación nacional del 21.3% de la producción total de hortalizas (SIAP, 2017; SIACON, 2019). En 2018, el cultivo de chile ocupó una extensión de 157,931.37 ha⁻¹ con una producción total de 3, 379,289.15 t/ha⁻¹, con un rendimiento promedio de 21.55 t/ha⁻¹ (SIAP, 2019). Dentro de los principales estados productores de chile en 2018, el estado de Sinaloa encabeza la lista con 25.4% de la producción nacional (858,543.89 t). El estado de Michoacán ocupó el séptimo lugar con una producción de 136,639.54 t (Cuadro 1) (SIACON, 2019).

Cuadro 1. Principales estados productores de chile durante el año 2018 (SIACON, 2019).

Rank	Entidad federativa	Volumen (toneladas)
1	Sinaloa	858,543.89
2	Chihuahua	676,462.51
3	Zacatecas	423,757.02
4	San Luis Potosí	327,422.72
5	Sonora	245,774.91
6	Jalisco	158,665.21
7	Michoacán	136,639.54
8	Guanajuato	108,672.62
9	Durango	54,066.63
10	Baja California Sur	53,317.60

2.3 Cultivo de tomate a nivel internacional

El cultivo de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) es una de las principales solanáceas producidas a nivel mundial, con una de las mayores extensiones territoriales para su producción (Navarro-Urbina, 2011). China es el principal productor de este cultivo a nivel mundial con una producción de 52, 586,860 t, seguido por la India 18, 399, 000, en conjunto generan poco más de 36% del total de la producción mundial (FAO, 2017). México es el décimo productor a nivel mundial con 4, 047,171 t, el 2.1% del total mundial (FAO, 2017). El crecimiento de 12% en las exportaciones de tomate en el año 2017 generó un superávit comercial de 1,549 millones de dólares, donde el principal origen-destino comercial es Estados Unidos, puesto que adquiere 99.7% del volumen exportado (SIAP, 2017).

2.4 Cultivo de tomate en México

La producción de tomate tiene una participación nacional del 21.8% de la producción total de hortalizas, por lo que dicha producción tuvo un crecimiento del 8.1% para el año 2016 debido a un incremento de 3 kg en el rendimiento por unidad de superficie, comparado con lo registrado en 2015, que fue de 3, 098,329.41 t en 50,595.56 ha⁻¹ (SIAP, 2017; SIACON, 2019). En 2017, el tomate ocupó una extensión sembrada de 50,373.33 ha⁻¹ con una producción total de 3, 469,707.28 ton/ha⁻¹, con un rendimiento promedio de 69.08 ton/ha⁻¹ (SIACON, 2019). Dentro de los principales estados productores de tomate en 2017, el estado de Sinaloa encabeza la lista con 27.6% de la producción nacional (937, 795.61 t), seguido de San Luis Potosí con 340, 836.12 y el estado de Michoacán en tercer lugar con 253,575.87 t de tomate producidas (Cuadro 2) (SIACON, 2019); así mismo, de la producción total de esta hortaliza, una alta proporción se cultiva bajo el concepto de agricultura protegida.

En México, la producción bajo sistemas protegidos para el año 2016, comprendió una superficie de 40 mil 862 ha; 22.2% y más de 9 mil ha de éstas se encuentran en Sinaloa, donde el 81% se practica en malla sombra y el resto en invernadero (SIAP, 2017).

Cuadro 2. Principales estados productores de tomate durante el año 2018.

Rank	Entidad federativa	Volumen (toneladas)
1	Sinaloa	937,795.61
2	San Luis Potosí	340,836.12
3	Michoacán	253,575.87
4	Jalisco	219,134.47
5	Zacatecas	193,362.52
6	Baja California	179,573.92
7	Puebla	129,400.34
8	Sonora	118,526.03
9	Morelos	115,960.11
10	Baja California sur	99,378.90

2.5 Problemas fitosanitarios del cultivo de chile y tomate

Dentro de los problemas fitosanitarios existe un complejo de insectos vectores de virus afectando severamente la productividad de los cultivos de chile y tomate (Figura 1); entre los más importantes se pueden mencionar a los pulgones *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) y *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae); mosquitas blancas, *Bemisia tabaci* (Gennadius), *B. argentifolii* (Bellows y Perring) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae); picudo del chile *Antohonomus eugenni* (Cano) (Coleoptera: Curculionidae); la pulga saltona *Epitrix cucumerix* (Harris) (Coleoptera: Chrysomelidae); paratrioza, *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae); los trips, *Frankliniella fusca* (Hinds) y *F. occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) y los ácaros *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) y *Aculops lycopersici* (Massee) (Acari: Eriophyidae). Además de los insectos vectores, existe un complejo de lepidópteros que afectan al cultivo, entre los cuales destacan, por su rango amplio de hospedantes e importancia económica, el gusano alfiler, *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera: Gelechiidae), gusano del fruto, *Heliothis zea* (Boddie), gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner) y *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) (Mena 2006; Nava et al. 2010; FAO, 2013;). Adicionalmente, se presenta un complejo de fitopatógenos afectando negativamente la productividad del chile, entre los cuales se pueden mencionar al virus del enrollamiento de la hoja amarilla del tomate (TYLCV) transmitido por la mosquita blanca, virus del jaspeado de tabaco (TEV) y virus del mosaico del pepino (CMV) transmitido por pulgones. Las principales enfermedades producidas por hongos son *Rhizoctonia* spp.

(Agonomycetales: Agonomycetaceae), *Fusarium* spp. (Hypocreales: Nectriaceae); *Verticillium* spp. (Ascomycota: Plectosphaerellaceae), *Phytophthora* spp. (Peronosporales: Peronosporaceae), *Pythium* spp. (Pythiales: Pythiaceae) y *Sclerotium* spp. (Helotiales: Sclerotiniaceae), *Oidiopsis* spp. (Erysiphales: Erysiphaceae) (FAO, 2013; Mena 2006; Nava et al. 2010). Las enfermedades bacterianas más relevantes son la mancha bacteriana *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae) y *Clavibacter michiganensis* (Davis) Actinomicetos: Microbacterias) (FAO, 2013; Mena 2006; Nava et al. 2010; Velásquez y Medina 2006) (Figura 1).



Figura 1. Problemas fitosanitarios de los cultivos de chile y tomate. A) *Myzus persicae*; B) *Bemisia tabaci*; C) *Bactericera cockerelli*; D) *Frankliniella occidentalis*; E) *Antohonomus eugenni*; F) *Heliothis zea*; G) *Spodoptera exigua*; H) virus del enrollamiento de la hoja amarilla del tomate (TYLCV); I) *Xanthomonas campestris*; J) *Fusarium* spp.; K) *Clavibacter michiganensis* var. *Michiganensis* y L) *Candidatus liberibacter solanasearum*.

2.6 El psílido del tomate *Bactericera cockerelli*: Importancia económica, hospederos y distribución

Bactericera cockerelli se alimenta principalmente de plantas pertenecientes a la familia de las solanáceas (Puketapu, 2011; Arp et al. 2014;), aunque según se informa puede vivir de especies pertenecientes a más de 20 familias de plantas, esto incluye especies de cultivos comerciales como papa, tomate, pimientos, tabaco y berenjena (Butler y Trumble, 2012). Este insecto causa daños a las plantas cuando se alimenta de la savia de éstas; además, es

transmisor de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, una alfa-proteobacteria no cultivable asociada con la enfermedad zebra chip en papa (Hansen et al. 2008). *Bactericera cockerelli* fue descrita por primera vez en 1909 por Cockerell, a partir de especímenes colectados en el estado de Colorado, Estados Unidos de América (Wu et al. 2016), con el nombre de *Trioza cockerelli* y en ese mismo año se reclasificó como *Paratrioza cockerelli* (Rubio et al. 2006; Ramírez et al. 2008,). Taxonómicamente, este insecto está ubicado de la siguiente manera. Orden: Hemiptera, Suborden: Sternorrhyncha, Superfamilia: Psylloidea, Familia: Triozidae.

El psílido cambia estacionalmente bajo temperaturas de reproducción óptimas y su distribución se extiende desde Canadá, el pacífico de Estados Unidos de Norteamérica (California), México, Nicaragua, Guatemala, Honduras (Teulon et al. 2009; Arp et al. 2014) y más recientemente en Nueva Zelanda (Butler y Trumble, 2014).

2.7 Morfología y ciclo de vida

Bactericera cockerelli se reproduce sexualmente, aunque en algunas poblaciones se ha observado la partenogénesis, estos pasan por una metamorfosis hemimetábola; huevo, ninfa y adulto (Marín et al. 1995; Hodkinson, 2009; Bujanos y Ramos, 2015). La duración del ciclo de vida varía de acuerdo a la temperatura (16 – 27 ° C) y completa su ciclo en 25 días (Cuadro 3) (Hodkinson, 2009); las hembras ovipositan durante 21 días hasta 500 huevecillos con una duración promedio de 5.5 días (Abdullah, 2008; Cerna-Chávez et al. 2018). Los estados ninfales presentan formas ovales aplanadas dorso-ventralmente y son de color anaranjado-amarillento. Su duración varía desde 4.1 a 6.1 días para las ninfas del primer y quinto instar, respectivamente (Cuadro 2).

Las hembras presentan el abdomen con cinco segmentos visibles más el segmento genital, este es de forma cónica en vista lateral y en la parte media dorsal se presenta una mancha en forma de “Y” con los brazos hacia la parte terminal del abdomen. Los machos presentan seis segmentos visibles más el genital, este último segmento se encuentra plegado sobre la parte media dorsal del abdomen; al ver al insecto dorsalmente se distinguen los genitales con estructuras en forma de pinza que caracteriza a este sexo (Fig. 2).

Cuadro 3. Duración promedio de los diferentes estados de vida de *B. cockerelli*. Tomado de Marín et al. (1995) en Bujanos y Ramos (2015).

Estado de desarrollo	Duración (días)
Huevo	5.5
Primer instar	4.1
Segundo instar	3.6
Tercer instar	4.1
Cuarto instar	3.6
Quinto instar	6.1



Figura 2. Ciclo biológico de *Bactericera cockerelli*. A) Huevecillos; B) Ninfa de primer instar; C) Ninfa de segundo instar; D) Ninfa de tercer instar; E) Ninfa de cuarto instar; F) Ninfa de quinto instar; G) Adulto; H) Hembra adulta; I) segmento genital hembra; J) adulto macho; K) segmento genital macho; fotos tomadas de Marín et al. (1995) en Bujanos y Ramos (2015).

2.8 Daños directos e indirectos

2.8.1 Directos

El aparato bucal de *B. cockerelli* es picador–chupador que está conformado por un estilete de dos conductos; uno de entrada y uno de salida. En la planta, las ninfas y/o adultos introducen el estilete hasta el floema; por uno de los conductos el insecto succiona la savia de la planta y por otro inyecta su saliva, la cual produce daños directos a las plantas, tales como amarillamiento de hojas, entrenudos acortados y retraso en el crecimiento (Munyanza et al. 2007).

En el cultivo de papa, las ninfas ocasionan daños por la inyección de toxinas, que inducen en las hojas de las plantas, mismas que presentan un amarillamiento, y que llega a provocar el manchado del tubérculo. En tomate, papa y chile se ha demostrado que las ninfas pueden destruir a las plantas si se establecen sobre las hojas antes de la floración. En las hojas colonizadas por las ninfas se ha encontrado una actividad anormal de reguladores del crecimiento del tipo de las auxinas y la acumulación de grandes cantidades de almidón en las células del parénquima. Las plantas tienen una coloración amarillenta, se vuelven raquíticas y disminuyen su rendimiento (Garzón et al. 2002). Además, las ninfas producen secreciones cerosas blanquecinas con apariencia de sal (salerillo), que es una forma sencilla de identificar su presencia en una planta (Garzón et al. 2002).

2.8.2 Indirectos

Bactericera cockerelli es el responsable de transmitir a la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* en cultivos de papa y tomate. En el cultivo de papa está asociado a la enfermedad punta morada de la papa, que se caracteriza por una coloración púrpura en los brotes apicales y un oscurecimiento del tubérculo, denominado comúnmente, manchado del tubérculo de la papa (Garzón 2002).

2.8.3 Zebra chip

Se ha documentado que zebra chip (ZCh), una enfermedad económicamente importante en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), se presenta en los campos comerciales de papa en los Estados Unidos, México, América Central y Nueva Zelanda (Walker et al. 2015; Melgoza et al. 2018). Esta enfermedad ha causado pérdidas de millones de dólares en la industria de la papa. Cultivos de papa infectados con ZCh se han abandonado (Liu et al. 2006). Esta enfermedad afecta severamente el crecimiento y el rendimiento de la planta. Además, las hojuelas o papas fritas procesadas de tubérculos infectados con ZCh exhiben líneas oscuras que se vuelven marcadamente más visibles con el proceso de freído, y por lo tanto son inaceptables comercialmente (Munyanza, 2012). La infección por el patógeno hace que las plantas de papa disminuyan rápidamente al rizarse y purgar las hojas y la formación de tubérculos aéreos dos o tres semanas después de la infección, seguida de la senescencia de la planta. También causa una

reducción en la calidad del tubérculo caracterizada por necrosis interna o el oscurecimiento de los rayos medulares presentes en los tubérculos crudos (Hansen et al. 2008; Swisher et al. 2018).

2.9. El gusano soldado *Spodoptera exigua*: Importancia económica, hospederos y distribución

El gusano soldado, es originario del sudoeste de Asia, sin embargo actualmente tiene una amplia distribución, la cual comprende los continentes de África, Australia y Europa; en el continente americano se encuentra ampliamente distribuido principalmente en los países de México, Estados Unidos de norte América y Canadá (Zheng et al. 2011)

Este insecto además de tener una amplia distribución es considerado polífago, al alimentarse de hojas y frutos causando daños por defoliación y orificios de entrada y salida que demeritan la actividad comercial de los frutos, lo cual lo cataloga como una de las principales plagas a nivel mundial al estar presente en diferentes cultivos producidos bajo cubierta plástica o campo abierto dentro de 23 diferentes familias taxonómicas, mencionando entre los cultivos más importantes al tomate, *Lycopersicum esculentum* Mill., chile pimiento, *Capsicum annum* L., papa, *Solanum tuberosum* L., lechuga, *Cichorium endivia* L., calabaza, *Cucurbita pepo* L., cebolla, *Allium cepa* L., maíz, *Zea mays* L., trigo, *Triticum aestivum* L., sorgo, *Sorghum vulgare* L., chícharo, *Pisum sativum*, frijol, *Phaseolus vulgaris* L (Beutelspacher y Balcázar, 1999; Gastélum, 2004; Cabello 2008).

2.10 Morfología y ciclo de vida

Spodoptera exigua tiene metamorfosis completa u holometábola; es decir, sus estado de vida son huevo, larva, pupa y adulto. Los huevos, son colocados por las hembras en masas de 10 a 250 huevo, en una superficie vegetal, estos están cubiertos por escamas colocadas por las hembras siendo de un tamaño de entre 0.35 a 0.37 mm con de forma esférica con base plana con un color blanco a marrón amarillento (Cabello 2008). Las larvas pasan habitualmente por cinco estadios en un periodo de 10 a 16 días, el color de estas varía según el estado de desarrollo presentado colores claros a oscuros en tonalidades verdes, marrón o amarillo, poseen una banda dorso lateral y una banda lateral más oscura. Su cuerpo prácticamente desprovisto de pelos y espinas (Azidah y Sofian-Azimar 2006; Cabello 2008). Las etapa de pupa tiene una duración de 8 a 11 días según las condiciones a las que estén expuestas y son de una coloración clara verdosa al momento de formarse y marrón tabaco cuando llegan a su

maduración y tienen una longitud entre los 11 y los 13 mm y una anchura de 3 a 3.5mm (Azidah y Sofian-Azimar 2006; Cabello 2008). Los adultos son palomillas con ojos negros, antenas filiformes y su cuerpo (cabeza y tórax) están provistos de escamas largas de color marrón, sus alas posteriores son de color blanquecino, semitransparentes con venas oscuras con los bordes color marrón negruzco, las alas anteriores son marrones terroso pasando por colores grisáceos claros, con manchas reniformes y orbiculares color amarillo ocre (Capinera 1999; Cabello 2008).

2.11 Tipos de control

Para el manejo de los insectos u otros artrópodos plaga, existen diversos tipos de control: biológico, genético, físico, cultural y legal, entre otros. Sin embargo, el tipo de control más utilizado es el químico debido a la accesibilidad de los productos y precio de los mismos. El uso intensivo de los insecticidas químicos causan diversos problemas tales como contaminación de mantos acuíferos, afectaciones a la salud humana (Torres y Capote, 2004), así como resistencia a los insectos plaga y disminución de la fauna benéfica (IRAC, 2017). Por ello, es necesario utilizar un sistema amigable de control como lo es el manejo integrado de plagas (MIP), cuya premisa básica es que ninguna técnica de control de plagas usada en forma individual será exitosa (Martínez, 2010). Las principales metas a alcanzar en un programa de MIP son las siguientes: 1) reducir las pérdidas causadas por los organismos dañinos y minimizar el costo de su control, 2) reducir al máximo los requerimientos energéticos (insumos, mano de obra y combustibles fósiles) y 3) mejorar la calidad del ambiente; así como las condiciones de vida y salud pública, mediante la reducción de los peligros de las plagas y del uso ineficaz de las técnicas con el objetivo de reducir el uso de plaguicidas, y desarrollar programas de manejo de plagas económica, ecológica y socialmente aceptables (Nava et al. 2010).

2.11.1 Control biológico

El control biológico de insectos plaga puede realizarse mediante el uso de plaguicidas microbianos (a base de bacterias, hongos o virus) (Martínez, 2010) y de artrópodos depredadores y parasitoides (Smith y Capinera, 2015). Los depredadores se caracterizan por ser generalistas, no específicos y de mayor tamaño que la presa (Nicholls-Estrada, 2008).

Los parasitoides son específicos, únicamente la hembra busca al hospedero, los huevos o larvas de los parasitoides son puestos cerca, dentro o sobre el hospedero y los adultos pueden alimentarse también del hospedero (Nicholls-Estrada, 2008). Por lo que es importante la búsqueda de nuevas alternativas para el control de *B. cockerelli*, y por ello en la presente investigación se propone una combinación de dos enemigos naturales; un parasitoide (*Tamarixia triozae* [Burks]; Himenóptera: Eulophidae) y un depredador (*Engytatus varians* [Distant]; Hemiptera: Miridae), los cuales pueden ser ecológicamente viables, rentables y no perjudican a la salud humana.

2.11.1.1 *Los baculovirus*

Los baculovirus (Baculoviridae) son una familia de virus patógenos que afectan a los artrópodos y su nombre está basado en la forma de varilla o bastón (baculum = bastón) de sus viriones, son virus de doble cadena de ADN y contiene de 100 a 200 genes, tienen un tamaño de 90 a 180 Kb y están inmersos en una matriz de naturaleza proteica (Murphy et al. 1995; Szewczyk et al. 2006; Daimon et al. 2007). La familia Baculoviridae consta de cuatro géneros (*Alphabaculovirus*, *Betabaculovirus*, *Gammabaculovirus* y *Deltabaculovirus*), los dos primeros son nucleopoliedrovirus o granulovirus específicos para lepidópteros y los dos últimos son nucleopoliedrovirus específicos para himenópteros fitófagos y dípteros (Jehle et al., 2006). Mencionando la capacidad altamente infectiva y específica como es el caso de los nucleopoliedrovirus específicos de lepidópteros (utilizados para el control de gusano soldado) en diversos cultivos hortícolas y ornamentales (Cherry et al. 1997; Murillo et al. 2006; Lasa et al. 2008; Zamora-Avilés et al. 2017).

2.11.1.2 *Tamarixia triozae*

Tamarixia triozae es un ectoparasitoide sinovigénico de *B. cockerelli* que está presente en EUA y México (Lasalle, 1994). Las hembras de este parasitoide pueden alimentarse sobre su huésped, lo que le confiere ventaja como agente de control biológico, ya que elimina ninfas del psílido por oviposición y depredación (Cerón-González et al. 2014). El desarrollo de su etapa inmadura (estados de huevo, larva y pupa) de este insecto, en promedio, consta de 12 días a 26°C (1.5, 3.5 y 5.7 días, respectivamente); mientras que los adultos viven en promedio 20 días y su periodo de preoviposición es de 2 días aproximadamente (Rojas et al. 2014; Vega-Chávez et al. 2016).

Tamarixia triozae tiene un alto potencial como posible agente en el MIP de *B. cockerelli*, el cual se ha reportado parasitando a diferentes instares ninfales de esta plaga, causando desde 30 a 100% parasitismo en condiciones de laboratorio (Morales et al. 2013). En ensayos hechos por Martínez et al. (2015) este parasitoide consumió en promedio una ninfa de *B. cockerelli* después de 6 horas a su liberación, lo que lo hace un agente de control sobre la plaga.

2.11.1.2 *Engytatus varians*

El mírido *E. varians* es una especie de hábito mixto o zoofitófago que se alimenta tanto de la planta, así como de los insectos que se encuentran sobre ésta para completar su ciclo biológico (Martínez et al. 2014). El ciclo biológico consta de huevo (9 días de duración en promedio), cinco estadios ninfales con una duración promedio de 18 días y la etapa adulta con una duración de 17 días para macho y 22 días para hembra (Pineda et al. 2016). Además de tener presencia en diferentes países, se tiene registro del depredador en México en 2013 alimentándose de ninfas de *B. cockerelli* (Martínez et al. 2014)

Engytatus varians es un candidato prometedor para ser utilizado dentro de un MIP de *B. cockerelli* ya que las hembras y los machos han mostrado capacidad de consumo de todos los estados ninfales de esta plaga, con preferencia de los estados más jóvenes (Mena-Mociño et al. 2015), además de que se han realizado ensayos sobre otros artrópodos como lo es el gusano soldado, *S. exigua*, revelando la capacidad de consumo del sobre larvas de primer y segundo instar (Hernández et al. 2017).

2.12 Taxonomía de míridos

Los míridos se diferencian de otras familias de Hemiptera por el cúneo, el cual, está claramente separado del resto del hemiélitro, y porque no tienen ocelos. Estos insectos son de tamaño pequeño (2-12 mm), la membrana de las alas presenta una o dos celdas en la base sin venas longitudinales; las antenas tienen cuatro artejos al igual que el pico y su inserción es siempre visible dorsalmente y en reposo se une sobre la cara ventral del cuerpo (Goula y Alomar 1994; Wheeler, 2001).

Con base a la morfología y hábitos, la familia Miridae se divide en seis subfamilias y ocho tribus: Isometopinae, Psallopinae, Phylinae (Orthotylini, Pilophorini y Phylini), Cylapinae, Mirinae (Mirini y Deraeocorini), Bryocorinae (Eccritotarsini, Dicyphini y Bryocorini) (Schuh 1995; Jung y Lee, 2011). En la tribu Dicyphini se encuentran diversas especies con potencial agrícola para disminuir las poblaciones de distintas plagas (Wheeler y Krimmel 2015). Las especies de esta tribu se asocian a plantas que poseen tricomas glandulares y/o tricomas no glandulares, por lo que se pueden encontrar en plantas de las familias Solanaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae y Geraniaceae (Logarzo et al. 2005; Wheeler y Krimmel 2015).

2.13 Biología de miridos zoofitófagos

Las hembras de los miridos insertan sus huevos dentro del tejido vegetal, lo que dificulta visualizarlos (Silva et al. 2016), únicamente se reconocen por una estructura sobresaliente (opérculo) (Franco, 2010). El desarrollo postembrionario es conformado por cuatro o cinco estadios ninfales (Calvo y Urbaneja 2004; Mohd et al. 2009; Pineda et al. 2016). Durante los instares tempranos las ninfas son similares a hormigas (Wheeler, 2001; Schuh, 2008), los instares sólo son distinguibles por su tamaño y la presencia de esbozos alares en los últimos instares (Goula y Alomar, 1994; Goula y Mata, 2011). Diversos estudios, demuestran que los parámetros biológicos (duración de los instares, fecundidad, longevidad, entre otros) dependen de las condiciones ambientales, alimento y planta hospedera (Mena-Mociño, 2016; Palma-Castillo et al. 2019).

El establecimiento de estos insectos en los cultivos está influenciado por la planta hospedera. Wheeler (2001) encontró que la especie *Lygus hesperus* (Knight) presenta un mayor grado de oviposición en hojas pilosas que en hojas glabras, mismo que considera que se debe a que los tricomas protegen sus huevos; *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) posee baja fecundidad en chile dulce (*C. annuum*) y una alta fecundidad en tomate (*L. esculentum*) y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Orozco et al. 2012).

En Europa, en la cuenca del Mediterráneo, el manejo satisfactorio de depredadores zoofitófagos se ha enfocado específicamente en cuatro especies: *Nesidiocorus tenuis* (Reuter), *Macrolophus pygmaeus* Rambur, *Dicyphus tamaninii* Wagner y *Dicyphus hesperus* (Knight)

(Hemiptera: Miridae), todos pertenecientes a la tribu Dicyphini. Estos depredadores generalistas regulan las poblaciones de insectos plaga tales como mosca blanca, áfidos, araña roja, minadores de hojas y trips (Shipp y Wang 2006; Urbaneja et al. 2001).

2.14 Daños por míridos zoofitófagos

Los daños en las plantas causados por míridos zoofitófagos aunque pueden estar presentes, son raros (Albajes y Alomar, 2008). Sin embargo, cuando estos insectos se alimentan de la savia de las plantas, su aparato bucal puede ocasionar daños (Arnó et al. 2010; Castañé et al. 2011), además de provocar abortos florales, que, bajo determinadas condiciones conducen a la disminución de rendimiento (Sánchez, 2009). Sánchez y Lacasa (2008) mencionaron, que a pesar de la posible reducción en la producción de tomate por incidencia de míridos, se demostró a través de modelos matemáticos predictivos, que aún con la pérdida de flores por alimentación de *N. tenuis*, los frutos finales compensan, incluso en exceso, el rendimiento esperado. Otro ejemplo es *M. pygmaeus* en tomate, ya que este mírido activa, a través de inhibidores de proteínasas (IP), mecanismos de defensa que disminuyen la colonización de *T. urticae*, pero no de *T. vaporariorum*; además, su presencia no provoca pérdidas en el rendimiento (Pappas et al. 2015).

Los posibles efectos de míridos zoofitófagos son consecuencia de interacciones entre, morfología, fisiología, características del comportamiento del depredador, variedad de planta, tipo de cultivo, factores ambientales y disponibilidad de presa (Sánchez y Lacasa 2008; Calvo et al. 2009; Castañé et al. 2011).

2.15 Relaciones tróficas

La implementación de un MIP, implica un incremento en la abundancia y diversidad de herramientas para el control de un organismo plaga (Badii et al. 2007). El éxito o fracaso del control biológico puede depender, en gran parte, a la disponibilidad de alimento, nicho y a la relación existente entre la interacción de enemigos naturales (Marcos y Pineda 2008). Tradicionalmente, la interacción entre enemigos naturales se ha considerado como favorable; sin embargo, también se ha presentado evidencia que esta relación puede tener un efecto negativo en base a la relación existente de nicho y depredación intragremial (Straub et al. 2008).

A los organismos que comparten un recurso alimenticio en común se les denominan *gremio* (Polis et al. 1989). Por lo tanto, el estudio de las interacciones intragremiales de los enemigos naturales, ha sido fundamental para el control de plagas, siendo la depredación la interacción más estudiada. De estos estudios se puede delimitar la relación entre depredador y parasitoide con sus respectivas combinaciones como se describe a continuación (Marcos y Pineda 2008; Moreno 2011)

2.15.1 Depredador-depredador. La depredación intragremial entre depredadores puede ser bidireccional o unidireccional, ocurriendo entre los adultos o últimos estadios contra los estadios más jóvenes.

2.15.2 Parasitoide-parasitoide. En parasitoides la interacción generalmente es bidireccional y la depredación intragremial se da entre huevos y larvas, que son destruidos tempranamente en su desarrollo gracias a combate físico y supresión química y fisiológica.

2.15.3 Depredador-parasitoide. Las relaciones son principalmente unidireccionales ya que el depredador puede comer un parasitoide indirectamente al alimentarse de su hospedero o directamente depredando al adulto, caso contrario el parasitoide al ser específico no puede parasitar al depredador. Sin embargo estos últimos pueden cambiar la fisiología y comportamiento de sus hospederos y entonces interactúan con los depredadores.

3. Literatura Citada

- Abdullah, N. M. M. (2008). Life history of the Potato Psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera : Psyllidae) in Controlled Environment agriculture in Arizona, 3, 60–67.
- Albajes, R., Alomar, O. 2008. Facultative predators. En: Capinera, J.L. (Ed.), Encyclopedia of Entomology. Springer, The Netherlands. 1400–1405 pp.
- Arnó, J., C. Castañé, J. Riudavets, R., Gabarra. 2010. Risk of damage to tomato crops by the generalist zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae). Bulletin of Entomological Research, 100: 105- 115.

- Arp, A., Munyaneza, J. E., Crosslin J. M., Trumble J., Bextine B. (2014). A global comparison of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) microbial communities. *Environmental Entomology*, 43(2): 344–352.
- Azidah, A. A., Sofian-Azirun, M. (2006). Life history of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. *Bulletin of Entomological Research*, 96: 613-618.
- Badii, D. M. H., Landeros, J., Cerna, E. (2007). Manejo Sustentable de Plagas o Manejo Integral de Plagas. Un apoyo al desarrollo sustentable. CULCyT (4) 23 consultado en <http://erevistas.uacj.mx/ojs/index.php/culecyt/article/viewFile/423/403>
- Beutelspacher, C. R., Balcázar, M. A. (1999). Lepidoptera. En: Deloya, A. C. L. y G. J. E. Valenzuela (Eds.). Catálogo de insectos y ácaros plaga de los cultivos agrícolas en México. Sociedad Mexicana de Entomología. Publicaciones Especiales (1): 174.
- Bravo, M. E., López, L. P. (2007). Principales plagas del chile de agua en los valles centrales de Oaxaca. Agroproduce. Consultado en línea: https://www.researchgate.net/publication/311509157_Principales_plagas_del_chile_de_agua_en_los_Valles_Centrales_de_Oaxaca
- Bujanos, M. R., Ramos, R. (2015). El psílido de la papa y tomate *Bactericera* (=Paratrioza) *cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia del manejo integrado de plagas en la región del OIRSA. 25-36.
- Butler, C. D., Trumble, J. T. (2014). Potato psyllid. CIRS. UC Riverside. Consultado en línea: http://cirs.ucr.edu/potato_psyllid.html
- Butler, C. D. y Trumble, J. T. (2012). Spatial dispersion and binomial sequential sampling for the potato psyllid (Hemiptera: Triozidae) on potato. *Pest Management Science*, 68(6): 865–869.
- Cabello, T. (2008). Control biológico de Noctuidos y otros Lepidópteros, pp. 279-306. En Jacas, J., Urbaneja, A. (Editores) De: Control biológico de plagas agrícolas. Phytoma España.
- Calvo, J., Bolckmans, K., Stansly, P. A., Urbaneja, A. (2009). Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato, *BioControl*, 54 (2): 237-246

- Calvo, J., Urbaneja, A. (2004). *Nesidiocoris tenuis* un aliado para el control biológico de mosca blanca. *Horticultura Internacional*, 44: 20-25
- Capinera, J. (1999). Beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). University Of Florida IFAS Extension. 105: 1-5.
- Castañé, C., J. Arnó, R. Gabarra, O. Alomar. (2011). Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biological Control*, 59 (1): 22-29.
- Cerna-Chávez, E., Hernández-Bautista, O., Ochoa-Fuentes, Y. M., Landeros-Flores, J., Aguirre-Uribe, L. A., Hernández-Juárez, A. (2018). Morfometría de inmaduros y tablas de vida de *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) de poblaciones del noreste de México. *Revista Colombiana de Entomología*, 44 (1): 53-60
- Cerón-González, C., Lomeli-Flore, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Torres-Ruíz A. (2014). Fecundidad y alimentación de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre el psílido de la papa *Bactericera cockerelli*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5: 893-899
- Che, W., Huang, J., Guan, F., Wu, Y., Yang, Y. (2015). Cross-resistance and inheritance of resistance to emamectin benzoate in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(4): 2015–2020.
- Cherry, A. J., Parnell, M. A., Grzywacz D., Jones, K. A. (1997). The optimization of in vivo nuclear polyhedrosis virus production in *Spodoptera exempta* (Walker) and *Spodoptera exigua* (Hübner). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70 (1): 50-58.
- Daimon T., Katsuma, S., Kang, W. K., Shimada, T. (2007). Functional characterization of chitinase from *Cydia pomonella* granulovirus. *Archives Virology*, 152: 1655–1664.
- Franco, V. K. (2010). Biología de la reproducción de los míridos depredadores *Macrolophus pygmaeus* y *Nesidiocoris tenuis*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. Barcelona, España 132 pp.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2017). base de datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Consultado en línea <http://www.fao.org/faostat/es/#home>

- Food and Agriculture Organization (FAO). (2013). El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana (3), 20-58. Consultado en línea: <http://www.fao.org/3/a-i3359s.pdf>
- Garzón, T. J. A. (2002). Asociación de *Paratrioza cockerelli* Sulc. con enfermedades en papa (*Solanum tuberosum*) y tomate (*Lycopersicum lycopersicum* Mil. Ex. Fawnl) en México”. In: Memoria del Taller sobre *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) como plaga y vector de fitoplasmas en hortalizas. Culiacán, Sinaloa, México. 79–87
- Garzón, T. J. A., Cárdenas-Valenzuela, O.G., Bujanos, M. R., Marín-Jarillo, A., Becerra-Flora, A., Velarde-Felix, S., Reyes-Moreno, C., González-Chavira, M., Martínez-Carrillo, J. L. (2009). Asociación de Hemiptera: Triozidae con la enfermedad “permanente del tomate” en México. Agricultura Técnica en México. 35(1): 61-72.
- Gastélum, R. (2004). Gusano soldado en tomate y chile. En: Memoria Manejo de Plagas en Cultivo de Tomate, Chile y Pepino. Fundación PRODUCE Sinaloa y Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, México. 175-179 pp.
- Goula, M., Alomar, O. (1994). Míridos (Heteroptera Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 20: 131-143.
- Goula, M. Mata. (2011). *Orthotylus (Parapachylops) caprai* Wagner, 1955, new record for Iberian Peninsula (Heteroptera Miridae). Bulletin Société Entomologique de France, 116(2): 177-179.
- Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. Journal of Applied Ecology, 50(4): 977-987.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R., Paine, T. D. (2008). A new Huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllaurens*” found to infect tomato and potato, is vectored by psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). Applied and Environmental Microbiology, 74 (18): 5862-5865.
- Hernández, Q. O., Pineda, G. S., Chavarrieta, Y. J. M., Morales-Alonso, S. I., Figueroa, J. I., Martínez, C, A. M. (2017). Capacidad de consumo de *Engytatus varians* (distant)

- (Hemiptera: Miridae) sobre larvas de *Spodoptera exigua* (hübner) (lepidoptera: noctuidae). *Entomología mexicana*, 4: 120–124
- Hodkinson, I. D. (2009). Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insect: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. *Journal of Natural History*, 43: 65-179
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). (2017). Mode of Action Classification Scheme version 8.3. Consultado en línea. www.irac-online.org
- Jehle, J. A., Blissard, G. W., Bonning, B. C., Cory, J. S., Herniou, E. A., Rohrmann, G. F., Theilmann, D. A., Thiem, S. M., Vlak, J. M. (2006). On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. *Archives of Virology*, (151): 1257-1266.
- Jung, S., Lee, S. (2011). Molecular phylogeny of the plant bugs (Heteroptera: Miridae) and the evolution of feeding habits. *Cladistics*, 28 (2012): 50–79.
- Marcos, G. M. A., Pineda G. A. (2008). Relaciones interespecíficas en la Biología de la Conservación. Simposio internacional Relaciones intragremiales y control biológico. Alicante, España. Consultado en <https://www.fundacionareces.es/recursos/doc/portal/2018/06/04/las-interacciones-interespecificas-y-los-programas-de-conservacion.pdf>
- Marín, J. A., Garzón, T. J. A., Becerra, F. A., Mejía, A. C., Bujanos, M. R., Byerly, M. K. F. (1995). Ciclo biológico y morfología del salerillo *Paratrioza cockerelli* (Sulc.) (Homóptera: Psyllidae) vector de la enfermedad permanente del jitomate en el Bajío. *Catie, Manejo Integrado de Plagas, Revista Técnica* No. 38, 25-32 p.
- Martínez, A. M., Baena, M., Figueroa, J. I., Del Estal, P., Medina, M., Guzman, L. E., Pineda, S. (2014). Primer registro de *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Heteroptera: Miridae) en México y su depredación sobre *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae): una revisión de su distribución y hábitos. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 30 (3): 617-624.
- Martínez, A. M., Chavarrieta, J. M., Morales, S. I., Caudillo, K. B., Figueroa, J. I., Díaz, O., Pineda, S. (2015). Behavior of *Tamarixia triozae* females (Hymenoptera: Eulophidae)

- attacking *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and effects of three pesticides on this parasitoid. *Environmental Entomology*, 44(1): 3–11.
- Martínez, N. (2010). Manejo integrado de plagas: una solución a la contaminación ambiental. *Comunidad y Salud, Epidemiología en Acción* 8(1), 73-82 Universidad de Carabobo Maracay, Venezuela.
- Mena, C. J (2006). Tecnología de producción de chile seco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias centro de investigación regional norte centro. Campo experimental Zacatecas Libro Técnico N° 5 Cap 6 97–119
- Mena-Mociño, V. L., Martínez, C. A. M., Pineda, G. S., Escalante-Jimenez, L A., Gómez, R. B., Figueroa, J. I., Hidalgo, D. (2015). Preferencia de depredación de *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae dist.) sobre el psílido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Sulc.). *Bol. Soc. Mex. Ento. Número Especial*, 1, 42–46.
- Mena-Mociño, L. V. (2016). Características biológicas y reproductivas de *Engytatus varians* (Distant) y *Dicyphus maroccanus* Wagner (Hemiptera: Miridae), depredadores zoofitófagos de plagas de solanáceas. Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 74.
- Melgoza, V. C. M., León, S. C. R., López, V. J. A., Hernández, E. L. A., Velarde, F. S., Garzón, T. J. A. (2018). Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Bactericera cockerelli* Sulc asociada con enfermedades en tomate, chile y papa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9 (3): 499–509
- Merkx-Jacques, M., Despland, E., Bede, J. C. (2008). Nutrient utilization by caterpillars of the generalist beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Physiological Entomology*, 33(1): 51-61.
- Mohd, Z., I. Fauziah, W. Wan Mohamad, S. S. Abdul, M. Ch. Salma y J. Kamaruzaman. (2009). Biology of *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) predator of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *International Journal of Biology*, 2(1): 63-70.

- Moreno, R. R. (2011). Control biológico de moscas blancas en el cultivo de tomate: interacciones entre sus enemigos naturales. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Barcelona España. Consultado en <https://www.tesisenred.net/handle/10803/52080>
- Morales, A.S.I., Martínez, C. A. M., Figueroa, J. I., Espino, A. M. H., Chavarrieta, J. M., Ortiz, R., Rodríguez, E., Pineda, S. (2013). Parámetros de vida del parasitoide sinovigénico *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae). Revista Colombiana de Entomología, 39: 243–249.
- Munyanza, J. E. (2012). Zebra chip disease of potato: Biology, epidemiology, and management. American Journal of Potato Research, 89: 329–350.
- Munyanza, J. E., Crosslin, J. M., Upton, J. E. (2007). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “zebra chip”, a new potato disease in Southwestern United State and México. Journal Economic Entomology, 100 (3): 656-663
- Munyanza, J. E., Sengoda, V. G., Crosslin, J. M., Garzón-Tiznado, J. A., Cardenas-Valenzuela, O. G. (2009). First report of “Candidatus *Liberibacter solanacearum*” in pepper plants in Mexico. Plant Disease, 93: 1076.
- Murillo, R., Elvira, S., Muñoz, D., Williams, T., Caballero, P. (2006). Genetic and phenotypic variability in *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus isolates from greenhouse soils in southern Spain. Biological Control, 38(2): 157-165.
- Murphy, F. A., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., Ghabrial, S. A., Jarvis, A. W., Martelli, G. P., Mayo, M. A., Summers, D. M. (1995). En: Sixth Report of International Committee on Taxonomy of viruses. Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Springer-Verlag, Viena, Austria, 194-113 pp.
- Nava, C.U., Sánchez, G. H., Ávila, R. V. (2010). Manejo integrado de plagas y enfermedades del tomate. En: Memorias 6° Simposio Nacional de Horticultura. Del 8 al 10 de septiembre 2010. Saltillo, Coahuila. Consultado en línea: https://www.researchgate.net/profile/Adalberto_BenavidesMendoza/publication/304416322_Produccion_de_Tomate_en_el_Norte_de_Mexico/links/576ec55008ae10de639a4852/Produccion-de-Tomate-en-el-Norte-de-Mexico.pdf

- Navarro-Urbina, E. 2011. Producción de tomate Saladette (*Lycopersicum esculentum* mill.) bajo condiciones de invernadero en una unidad de producción Chaparrosa, de Cos, Zacatecas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Economía Agrícola y Agronegocios. Universidad Autónoma agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 78 pp
- Nicholls-Estrada, C. I. (2008). Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Editorial Ciencia y Tecnología, Universidad de Antioquia. 28-71
- Lasa, R., Williams, T., Caballero, P. (2008). Insecticidal properties and microbial contaminants in a *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV, Baculoviridae) formulation stored at different temperatures. Journal of Economic Entomology, 101(1): 42-49.
- Lasalle J. (1994). North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae), Journal of Natural History, 28: 109-236 Consultado en línea. <http://dx.doi.org/10.1080/00222939400770091>
- Liu, D., Trumble, J.T., Stouthamer, R., (2006). Genetic differentiation between eastern populations and recent introductions of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) into western North America. Entomologia Experimentalis et Applicata, 118: 177–183.
- Liu, T. X., Zhang, Y. M., Peng, L. N., Rojas, P. y Trumble, J. T. (2012). Risk assessment of selected insecticides on *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). Journal of Economic Entomology, 105: 490-496.
- Logarzo, G., L. Williams y D. Carpinter. (2005). Plant bugs (Heteroptera: Miridae) associated with roadside habitats in Argentina and Paraguay: Host plant, temporal, and geographic range effects. Annals of the Entomological Society of America, 98 (5): 694-702.
- Orozco, M. A., V. V. Villalba, S. N. López. (2012). Desarrollo de *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae) sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en diversas hortalizas. Revista de Fitosanidad, 16(3): 147- 153.
- Pappas, M. L., A. Steppuhn, D. Geuss, N. Topalidou, A. Zografou, M. Sabelis y G. D. Broufas. 2015. Beyond predation: the zoophytophagous predator *Macrolophus pygmaeus* induces tomato resistance against spidermites. PlosOne, 10(5): 1-18.

- Palma-Castillo, L. J., Martínez-Castillo, A. M., Pineda, S., Gómez-Ramos, B., Chavarrieta-Yañez, J. M., Figueroa, J.I. (2019). Parámetros biológicos del depredador *Engytatus varians* (distant 1884) (Hemiptera: Miridae), alimentado con una dieta artificial. *Entomologia Mexicana*. 6: 200-205.
- Pérez-Aguilar, D. A., Martínez, A. M., Viñuela, E., Figueroa, J. I., Gómez, B., Morales, S. I., Pineda, S. (2019). Impact of the zoophytophagous predator *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae) on *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) control. *Biological Control*, 132: 29-35.
- Pimentel, D. (2005) Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7: 229-252.
- Pineda S., Hernández-Quintero, O., Velázquez-Rodríguez, Y. B., Viñuela, E; Figueroa, J. I., Morales, S. I., Martínez-Castillo, A.M. (2019). Predation by *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Miridae) on *Bactericera cockerelli* (Sulcer) (Hemiptera: Triozidae) and two *Spodoptera* species. *Bulletin of Entomological Research*, 1–8.
- Pineda, S., Medina, M., Figueroa, J. I., Henry, T. J., Mena, L. V., Chavarrieta, J. M., Martínez, A. M. (2016). Life history, diagnosis, and biological aspects of *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae), a predator of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Biocontrol Science and Technology*, 26 (8): 1073–1086.
- Polis, G. A., Myers, C. A., Holt, R. D. (1989). The ecology and evolution of intra guild predation: potential competitors that eat each other. *Revisión anual de ecología y sistemática*, 20 (1), 297–330.
- Puketapu, A. (2011). The lifecycle and epidemiology of the Tomato/Potato Psyllid (*Bactericera cockerelli*) on three traditional Māori food sources. Thesis on master of science in plant Protection. New Zealand.
- Ramírez, G. M., C. E. Santamaría, R. J. S. Méndez, F. J. L. Ríos, S. J. R. Hernández, M. J. G. Pedro. (2008). Evaluación de insecticidas alternativos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* B. y L.) (Homoptera: Triozidae) en el cultivo de chile jalapeño. *Revista Chapingo Zonas Áridas*, 76: 47-56.

- Rubio, O. Á. C., Almeyda, L. I. H., Moreno, J. I. J. A., Sánchez, S. J. I. R., Fernández, S. J. I., Borbón, S. J. T., Díaz, H. C., Garzón, T. J. A., Rocha, R. R., Cadena, H. M. A. (2006). Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* (Sulc) en las principales zonas productoras de papa en México. *Agricultura Técnica en México*, 32: 201-211.
- Rojas, P., Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R., Liu, T. X. (2014). Biology and life history of *Tamarixia triozae*, a parasitoid of the potato psyllid *Bactericera cockerelli*. *BioControl*, 60 (1): 27-35.
- Saeed, S., Sayyed, A. H., Ahmad, I. (2010). Effect of host plants on life-history traits of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pest Science*, 83(1): 165–172.
- Sánchez, J. A. (2009). Density thresholds for *Nesidiocoris tenuis* (Heteroptera: Miridae) in tomato crops. *Biological Control*, 51(3):493–498.
- Sánchez, J. A. y A. Lacasa. (2008). Impact of the zoophytophagous plant bug *Nesidiocoris tenuis* (Heteroptera: Miridae) on tomato yield. *Journal of Economic Entomology*, 101 (6): 1864-1870.
- Schuh, R.T. (2008). On-line Systematic catalog of plant bugs (Insecta: Heteroptera: Miridae). Disponible en: <http://research.amnh.org/pbi/catalog>
- Schuh, R. T. (1995). Plant bugs of the world (Insecta: Heteroptera: Miridae). Systematic catalog, distributions, host list, and bibliography. New York Entomological Society, New York. pp. 1329.
- Shipp, J. L., Wang, K. (2006). Evaluation of *Dicyphus hesperus* (Heteroptera: Miridae) for biological control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on greenhouse tomato. *Journal of Economic Entomology*, 99: 414-420
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) (2019). consulta sobre producción de tomate nacional en sistema SIACON_NG. Consulta en línea <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Servicio de Información Agroalimentaria Pesquera (SIAP). (2017). Atlas agroalimentario 2017. SIAP primera edición, 94-97.

- Servicio de Información Agroalimentaria Pesquera (SIAP). (2019). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Cierre agrícola. Consultado en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola>
- Silva, D. B, V. H. P. Bueno, F. J. Calvo y J.C. van Lenteren. (2016). Do nymphs and adults of three Neotropical zoophytophagous mirids damage leaves and fruits of tomato? Bulletin of Entomological Research. 1-8 pp.
- Smith, H. A., Capinera, J. L. (2015) Enemigos naturales y control biológico. Entomology and Nematology. Consultado en <http://edis.ifas.ufl.edu>
- Straub, C. S; Finke, D.L; Snyder, W. E. (2008). Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? Biological control, 45, 2, pp 225–237.
- Swisher, G. K. D; Mustafa, T; Rodney, C. W; Munyaneza, J. E. (2018). Role of *Candidatus Liberibacter solanacearum* and *Bactericera cockerelli* Haplotypes in Zebra Chip Incidence and Symptom Severity. American Journal of Potato Research, 95(6), 709–719.
- Szewczyk, B., Hoyos-Carvajal, L., Paluszek, M., Skrzecz, W., De Souza, M. L. (2006). Baculoviruses re-emerging biopesticides. Biotechnology Advances, 24: 143-160.
- Teulon, D. A. J., Workman, P. J., Thomas, K. L., Nielsen, M. C. (2009). *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in New Zealand. New Zealand Plant Protection Society, 62: 136-144.
- Torres, D., Capote, T. (2004). Agroquímicos un Problema Ambiental Global: Uso del Análisis Químico como Herramienta para el Monitoreo ambiental. Ecosistemas, 13(3): 2–6.
- Urbaneja, A., Arán, E., Squires, P., Lara, L., Blom, J. (2001). Aparición del chinche "*Creontiades pallidus*" Ramb. (Hemiptera: Miridae) como depredador de mosca blanca y posible causante de daños en los cultivos de pimiento en invernadero. Agrícola vergel, 20: 396- 401
- Vega-Chávez, J. L., Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R., Sánchez-Valdez, V. M., Cerna-Chávez, E., Aguirre, U. L. A. (2016). Umbrales de Desarrollo de *Tamarixia triozae* Parasitoide del Psílido de la Papa. Southwestern Entomologist, 41(4): 1077–1084.

- Velásquez V. R., Medina A. M. M. (2006) Tecnología de producción de chile seco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias centro de investigación regional norte centro. Campo experimental Zacatecas Libro Técnico N° 5 Cap 7 pp 121-158
- Wan, J., Wang, R., Ren, Y., McKirdy, S. (2020). Potential distribution and the risks of *Bactericera cockerelli* and its associated plant pathogen *Candidatus Liberibacter solanacearum* for global potato production. *Insects*. 11(5): 298 (1-14).
- Walker, P.W., Allen, G.R., Tegg, R.S., White, L.R., Wilson, C.R. (2015). The tomato potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc, 1909) (Hemiptera: Triozidae): a review of the threat of the psyllid to Australian solanaceous crop industries and surveillance for incursions in potato crops. *Austral. Entomology*, 54: 339-349.
- Wheeler, A. G. (2001). Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae). Pests, predators, opportunists. Cornell University Press, Comstock Publishing Associates. Ithaca New York, Estados Unidos.
- Wheeler, A. G., Krimmel, B. A. (2015). Mirid (Hemiptera: Heteroptera) specialists of sticky plants: adaptations, interactions, and ecological implications. *Annual Review of Entomology*, 60: 393-414.
- Wu, F., Cen, Y., Wallis, C. M., Trumble, J. T., Prager, S., Yokomi, R., Liang, G. (2016). The complete mitochondrial genome sequence of *Bactericera cockerelli* and comparison with three other Psylloidea species, *Plos One*, 11(5): 1–17.
- Wyckhuys, G. A. K., Lu, K., Morales, H., Vazquez, L. L., Legaspi, C. J., Eliopoulos, A. P., Hernandez, M. L. (2013). Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. *Biological Control*, 65(1): 152-167
- Yang, X. B., Campos-Figueroa, M., Silva, A., Henne, D. C. (2015). Functional response, prey preference, and mutual interference of the *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) on tomato and bell pepper. *Journal of Economic Entomology*, 108: 414–424.
- Zamora-Avilés, N., Murillo, R., Lasa, R., Pineda, S., Figueroa, J. I., Bravo-Patiño, A., Martínez, A. M. (2017). Genetic and biological characterization of four

nucleopolyhedrovirus isolates collected in Mexico for the Control of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology, 110(4): 1465–1475.

Zheng, L., Cong, X., Wang, X., Lei, L. (2011). A Review of Geographic Distribution, Overwintering and Migration in *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of the Entomological Research Society, 13: 39-48

CAPÍTULO II

Control effectiveness of two natural enemies on *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) in pepper plants

Abstract

The psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulcer) (Hemiptera: Triozidae) is a detrimental pest of several solanaceous crops in different parts of the world. We assessed the biological control potential of the zoophytophagous bug *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Miridae), in combination with the ectoparasitoid *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) against this pest, at a unique release rate (1 adult of each natural enemy/pepper [*Capsicum annuum* L.] plant) under greenhouse conditions. We varied the timing of predator releases (before or after pest establishment). Our results are the first in report the ability to reduce the population densities of *B. cockerelli* when the predator is used alone or in combination with the parasitoid on pepper plants. These natural enemies reduced the population density up to 93 and 90% of adults and nymphs of the pest when they were released separately or in combination, or even when the predator was released before the establishment of this pest on the crop. These results can be taken into account to design an integrated pest management of *B. cockerelli* but more studies are needed to validate the impact of both natural enemies on the control of this pest in a larger experimental area and study repetitive releases as has happened with others mirid-parasitoid complexes.

Keywords: Tomato psyllid, *Engytatus varians*, *Tamarixia triozae*, zoophytophagous mirid, biological control

1. Introduction

The pepper (*Capsicum annuum* L.), one of the native Mexican plants, is one of the most important vegetable crops in Mexico based on its production value (3,279,910 t; ~173,000 ha) and its contribution to employment (FAO, 2017; SIAP 2017). From the total of vegetables crop production in Mexico, pepper crop has 21.3% and; in addition, it has had a growth in its annual production and cultivated area (SIACON, 2018). Greenhouses increase crop yields by providing optimal conditions for the plants, but they also favour the presence of some pest species, such as the tomato psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioizidae) (Pérez-Aguilar et al. 2019).

Bactericera cockerelli is one of the most important pests of pepper, potato (*Solanum tuberosum* L.), tomato (*Solanum lycopersicum* L.), and other solanaceous crops in Canada, United States of America, Mexico, Central America, and New Zealand (Munyanza et al. 2007; Teulon et al. 2009; Butler y Trumble, 2012, 2014; Wan et al 2020). Nymphs and adults of *B. cockerelli* sucking the sap of the host plants (Hansen et al. 2008), but they are most important due the transmission of plant diseases. *Bactericera cockerelli* is the vector agent of permanent yellowing disease in tomato and the purple tip in potato (Garzón et al 2009; Munyanza et al. 2009; Rubio et al. 2006). Also, this psyllid has been associated with two haplotypes (LsoA and LsoB) of the bacterium *Candidatus Liberibacter solanacearum*, the causal agent of the zebra chip (ZC) disease in potato, tomato, and pepper (Hansen et al. 2008; Liefting et al. 2008; Camacho-Tapia et al. 2011).

The method most utilized to control the *B. cockerelli* populations is chemical control. However, the intensive use of broad-spectrum chemical insecticides cause several problems such as environmental pollution, reduction of natural enemies, and human's health, among other (Pimentel, 2005; Goulson, 2013). In some Mexican regions, up to 30 applications of several insecticides have been made in potato crops for control of *B. cockerelli* in a season crop (Rubio et al. 2006), which increases the production costs and has resulted in high resistance levels in the pest to many of the main active ingredients available on the market (Vega et al. 2008; Dávila-Medina et al. 2012; Cerna et al 2013a, 2013b). To avoid this problem, alternative control methods have been proposed, including the use of predators and parasitoids.

Zoophytophagus mirid bugs are omnivorous predators that have high potential as biological control agents of several insect pests in various crops, including tomato (Chailleux et al. 2013; Calvo et al., 2016, 2018; Mirhosseini et al. 2019; Pérez-Aguilar et al. 2019). *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Miridae) was described for the first time by Distant (1884) as *Neoproba varians*, and it was detected for the first time in Mexico in 2014 feeding on nymphs of *B. cockerelli* on tomato plants in a greenhouse located at Tarímbaro, Michoacán (Martínez et al. 2014). This mirid is a zoophytophagus predator that complete its life cycle on 20 days (Pineda et al. 2016), but it may vary depending on environmental conditions, food, and host plant, among other (Mena-Mociño et al. 2015; Mena-Mociño, 2016; Palma-Castillo et al. 2019). Under laboratory conditions, *E. varians* preyed 75 y 80% of eggs and third instars of *B. cockerelli*, respectively, and 19-41% and 4-22% of first and second instar of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), respectively (Pineda et al., 2019). Also, under greenhouse conditions, this mirid suppressed between 80 and 90% the populations of both nymphs and adults of *B. cockerelli* (Pérez-Aguilar et al. 2019). In Brazil, *E. varians* shown potential effectiveness against the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae; Silva et al., 2016) because it preyed up to 92% of larvae of this pest on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants (Bueno et al. 2013).

There is another zoophytophagus mirid potentially promising for the *B. cockerelli* control. Calvo et al. (20018) have demonstrated that inundative release of *Dicyphus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) suppressed populations of this pest under greenhouse conditions. However, at present, it is not commercially available because viability information is lacking in terms of costs and the possible generation of undesirable interactions in the suppression of the pest.

Tamarixia triozae (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) is the most important ectoparasitoid of *B. cockerelli* that is present in United States of America and Mexico (Lasalle, 1994). It is a synovigenic parasitoid and as such its females practice the hos feeding (feed on the host's haemolymph), which also contributes to overall mortality (Morales et al. 2013; Martínez et al. 2015). Under laboratory conditions, *T. triozae* caused between 30 and 100% of parasitism on different instars *B. cockerelli* in tomato and pepper crops (Morales et al. 2013, Yang et al. 2015), whereas in field conditions the parasitism was between 5 and 85% in potato, pepper, and tomato crops and it depended whether the crops were, or not, treated

with chemical insecticides (Bravo y López, 2007; Liu et al. 2012). On the other hand, *T. triozae* females can consume up to 181 nymphs of *B. cockerelli* (Cerón-González et al. 2014). Therefore, this feeding behavior appears to enhance the potential of this parasitoid as a biological control agent.

We suppose that the simultaneous augmentation of a nymph parasitoid and an omnivorous predator could lead improved the biological control of *B. cockerelli*. To our knowledge, the Calvo et al. (2018) study is the only one in which has been tested the combination of *T. triozae* with *D. hesperus* under greenhouse conditions and reported an increase in effectiveness against *B. cockerelli* over the use of the predator alone. Therefore, more studies are necessary to understand the interactions between *T. triozae* and *E. varians* on other solanaceous crops. In this study, we compared two different predator release timings (before or after *B. cockerelli* establishment on greenhouse pepper) when combined with a release rate of *T. triozae* to determine the most effective approach for augmentation biological control of the pest.

2. Materials and Methods

2.1 Plant material

Pepper plants (serrano type, variety Platino) were allowed to germinate in a peat moss mixture 3 (Sunshine®; Sun Gro Horticulture Distribution Inc., Agawam, MA) in individual 2.5 cm pots. One month after sowing, the plants were transplanted individually to polyethylene black plastic bags (20 cm diameter × 25 cm high) containing a mixture of volcanic gravel known locally as “tezontle” (size of 2-5 mm) and humus-rich soil (1:1).

2.2 Insects and rearing

Bactericera cockerelli and *E. varians* adults were obtained from rearing colonies maintained on tomato plants in the Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), El Trébol, Michoacán, Mexico (Pérez-Aguilar et al. 2019). Both colonies have not history of insecticide exposure. Eggs of *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae) (Bio Bichs de Mexico, S.A.

de C.V., Uruapan, Michoacán, Mexico) were used as food for *E. varians* and a 5% (w/v) solution of sugar was also supplied to the predator. *Tamarixia triozae* adults were obtained from commercial product TETRAPAR (Koppert Biological Systems, El Marqués, Querétaro, Mexico).

2.3 Experimental greenhouse

The experiment was carried out in a greenhouse (25 m long $\times$ 8 m wide) covered with polyethylene plastic and anti-aphid polyethylene screening located at Campus of the IIAF, UMSNH. In this greenhouse, 18 experimental cages (2 m long $\times$ 1.6 wide $\times$ 2.5 m high), made of polyvinyl chloride (2 inches diameter) and covered by a mesh screen to prevent the insects from escaping or entering, were used. Each cage could be accessed through an independent door secured through two polyamide strips (Velcro®; Grupo Parisina S. A. de C. V., Ciudad de México, Mexico) and contained five or six pepper plants arranged in one row, each separated by 30 cm from each other. Temperature and relative humidity were registered using a datalogger (Hobo®, model U10, Bourne, MA), which was hung to at a height of 1.5 m using a galvanized wire in the centre of the greenhouse.

During the experiment, each pepper plant was fertilized every three or four days with 500 ml of a 50% nutritive solution of macronutrients ($\text{Ca}[\text{NO}_3]_2$, MgSO_4 , KH_2PO_4 , KNO_3 , and K_2SO_4) and micronutrients (iron, manganese, boron, zinc, copper, and molybdenum) (Kelatex-Multi®, San Nicolás de Los Garza, Nuevo León, Mexico). Crop cultivation techniques traditional for greenhouse pepper cultivation were followed whereby plants were trained by the main stem and secondary shoots and old leaves were removed. No pesticides were used during the experiments to avoid negative impacts on development of both pest and natural enemy populations.

2.4 Experimental design and procedure

To determine the impact of *E. varians* and *T. triozae* in reducing *B. cockerelli* densities in pepper plants, we varied the timing of predator releases (before or after pest establishment) and the following five treatments were compared: i) control, receiving *B. cockerelli* only, ii)

B. cockerelli first + *E. varians*, iii) *B. cockerelli* + *T. triozae*, iv) *E. varians* first + *B. cockerelli*, and v) *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*. Five or six pepper plants were allocated in each experimental cage, and they were arranged in one row, each separated by 30 cm from each other. Each treatment was replicated three times in a randomized block design. Each cage could be accessed through an independent door secured through two polyamide strips (Velcro®; Grupo Parisina S. A. de C. V., Ciudad de México, Mexico).

The test initiated on May 15, 2019. Each experimental cage, with exception those of the control and *E. varians* first + *B. cockerelli* treatment, was infested with 8 *B. cockerelli* adults (≤ 5 days old) per plant. Also, 1 *E. varians*/plant was released in the cages of the treatment *E. varians* first + *B. cockerelli*. Two weeks after beginning the experiment, on May 29, 2019, 1 adult of *E. varians*/plant or 1 adult of *T. triozae*/plant were released in the experimental cages of the treatments *B. cockerelli* first + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*. Also, 8 *B. cockerelli* adults were released in the cages of *E. varians* first + *B. cockerelli* treatment. In every experimental cages where *E. varians* or *T. triozae* adults were released, two plastic cups (50 ml) with a cotton wick and 40 ml of an 85 g/L sugar solution were placed one day after, at a height of 20 cm, between the first two- and the last two-plants of the pepper plants row, as food supplement for both natural enemies. The sugar solution was replaced every four days and was maintained during all period of the experiment. A unique release of *E. varians* and *T. triozae* adults at the sex ratio of 1:1 (male: female) was done. The release of the predator was done according to previous studies of Pérez-Aguilar et al. (2019) who reported a good pest suppression of *B. cockerelli*, while that *T. triozae* adults were released in according to recommendations for biological control of this pest (<https://www.koppert.mx/tetrapar/>). The release of the parasitoid was done two days after adaptation in the laboratory.

2.5 Sampling and evaluations

Evaluations began two weeks after start the experiment and continued weekly until the week number 10 of the experiment on all pepper plants of each treatment. In the second week of the experiment (first monitoring) only nymphs and adults of *B. cockerelli* were counted on one leaf of the middle area of all plants of each experimental cage in the treatments in which the

pest was released before the natural enemies: control, receiving *B. cockerelli* only, *B. cockerelli* first + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*). Also, nymphs and adults of *E. varians* of the treatment of *E. varians* first + *B. cockerelli* were counted. From third week to end of experiment, the number of nymphs, adults or pupae of *B. cockerelli*, *E. varians* or *T. triozae* were counted in three leaves; each one from the upper, middle, and bottom third from all plants of each treatment. One *T. triozae* pupa was considered as one *B. cockerelli* nymphs parasitized (i.e., when they appear to be turning a dark brown, coppery color, and mummy-like).

2.6 Data analysis

Data (number of nymphs and adults of *B. cockerelli* or *E. varians*, and pupae and adults of *T. triozae*) were subjected to analysis of variance (ANOVA) using a linear Mixed Model procedure (PROC GLIMMIX) with repeated measures. Data of number of nymphs and adults of *B. cockerelli* were adjusted to Poisson distribution and those data that had an over-dispersion were corrected using a negative binominal distribution model. The LSMEANS test ($P < 0.05$) was used to separate means (SAS/STAT version 9.3; SAS Institute, Cary, NC).

3. Results

3.1 *Bactericera cockerelli* population density

Throughout the 9 weeks of insect monitoring (from 2nd to 10th week of the experiment), the minimum and maximum numbers of *B. cockerelli* nymphs/leaf oscillated between 0.22 ± 1.05 and 4.13 ± 0.91 ; 0.64 ± 1.05 and 3.50 ± 0.91 ; 0.54 ± 0.91 and 2.71 ± 0.91 , and 0.29 ± 0.94 and 3.88 ± 0.91 in the treatments of *B. cockerelli* first + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, *E. varians* first + *B. cockerelli*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*, respectively (Fig. 1).

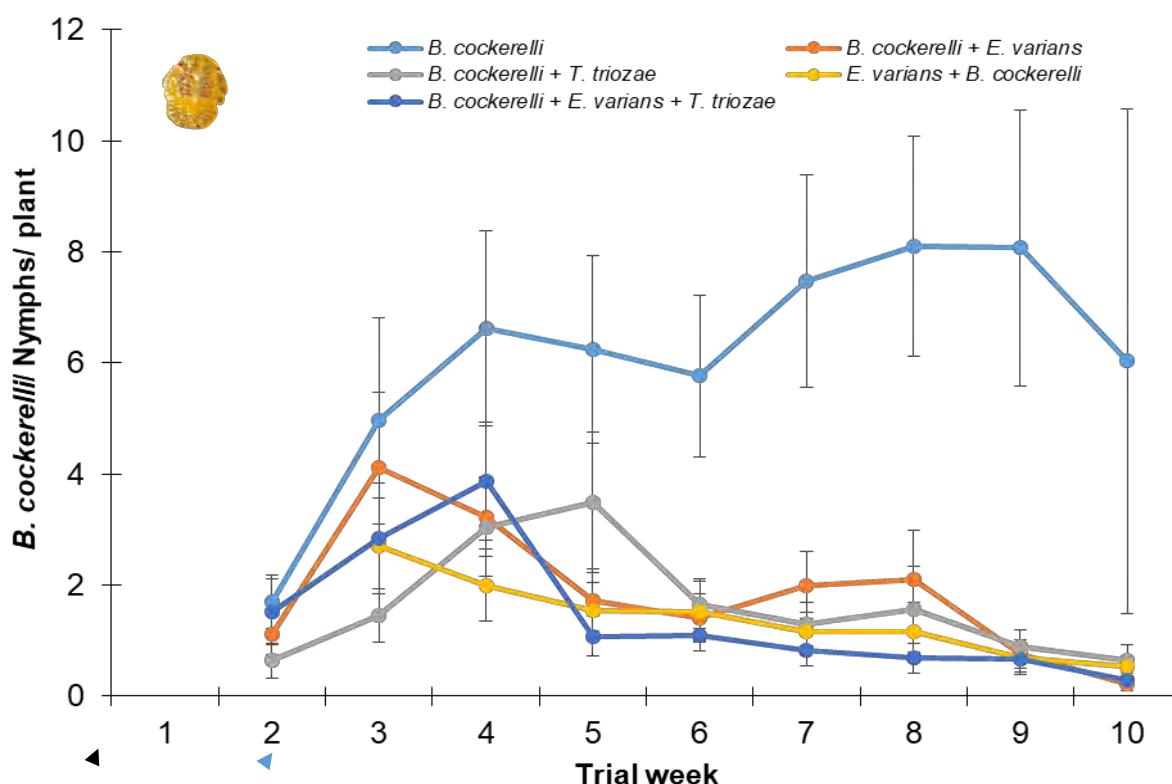


Figure 1. Population density of *B. cockerelli* nymphs (average number of individuals/plant $\pm$ SE) on pepper plants under greenhouse conditions. The black arrow ($\blacktriangleleft$) indicates the release of *B. cockerelli* adults in the control (*B. cockerelli* only), *B. cockerelli* + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. tritorae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. tritorae*, as well as *E. varians* adults in the *E. varians* + *B. cockerelli* treatment. The blue arrow ($\triangleleft$) indicates the release of both *E. varians* and *T. tritorae* adults, alone or in combination, in *B. cockerelli* + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. tritorae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. tritorae* treatments, as well as *B. cockerelli* in the *E. varians* + *B. cockerelli* treatment.

In the treatment of pest only, the number of *B. cockerelli* nymphs/plant, in general, exponentially increased from the 2th to 10th week (1.71 ± 0.91 and 8.10 ± 0.91 nymphs/plant, respectively) (Fig. 3). From 3rd week to 10th week of the experiment, the number of *B. cockerelli* nymphs/plant was significantly higher in the treatment of pest only compared with the remaining treatments ($F_{43,1729} = 4.68$; $P < 0.0001$), with exception to the treatment *B. cockerelli* + *T. tritorae* in the 3rd week (1.45 ± 0.91 nymphs/plant) (Fig. 2).

The number of *B. cockerelli* adults/leaf was much lower than that of the nymphs. From 2nd to 10th week of the experiment, the minimum and maximum numbers of *B. cockerelli* adults/leaf oscillated between 0.19 ± 0.19 and 1.10 ± 0.19 ; 0.00 ± 0.24 and 0.40 ± 0.19 ; 0.00 ± 0.19 and 0.23 ± 0.19 , and 0.10 ± 0.19 and 0.42 ± 0.19 in the treatments *B. cockerelli* first + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, *E. varians* first + *B. cockerelli*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*, respectively (Fig. 3).

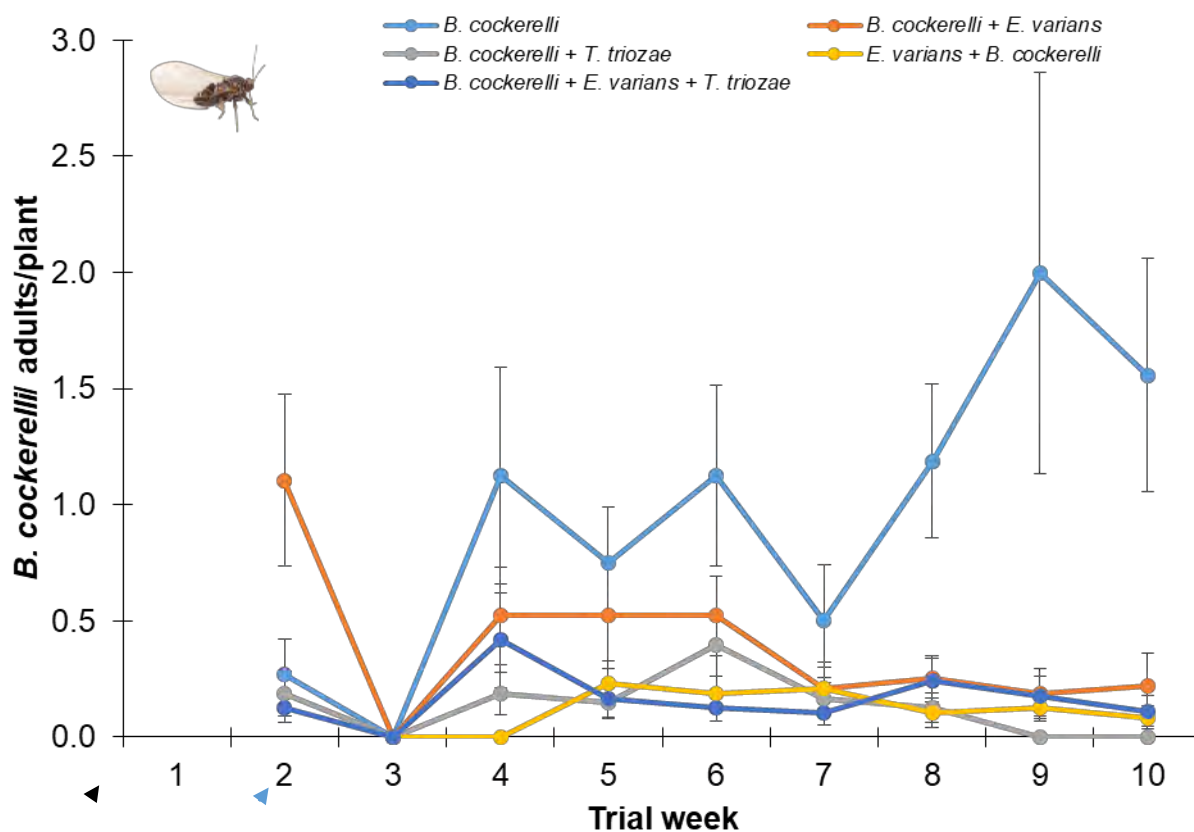


Figure 2. Population density of *B. cockerelli* adults (average number of individuals/plant $\pm$ SE) on pepper plants under greenhouse conditions. The black arrow ($\blacktriangleleft$) indicates the release of *B. cockerelli* adults in the control (*B. cockerelli* only), *B. cockerelli* + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*, as well as *E. varians* adults in the *E. varians* + *B. cockerelli* treatment. The blue arrow ($\blacktriangleleft$) indicates the release of *E. varians* and *T. triozae* adults, alone or in combination, in *B. cockerelli* + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae* treatments, as well as *B. cockerelli* in the *E. varians* + *B. cockerelli* treatment.

Between the 4th and 10th week of the experiment, the number of *B. cockerelli* adults/leaf in treatment of pest only (range between 1.13 ± 0.19 and 2.00 ± 0.24) was significantly higher than that recorded in the remaining treatments ($F_{38,1495} = 3.94$, $P <$

0.0001), with two exceptions: i) in the 5th week of the experiment, the treatment of pest only was not significantly different from that of *B. cockerelli* first+ *E. varians* and *E. varians* first + *B. cockerelli* treatments, and ii) in the 7th week there was not difference among any treatments.

Surprisingly, in the 2th week of the experiment in the treatment of *B. cockerelli* first + *E. varians*, the number of *B. cockerelli* adults/leaf (1.10 ± 0.19) was significantly different from the other three treatments (pest only, *B. cockerelli* + *T. triozae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*).

3.2 *Engytatus varians* and *T. triozae* populations density

From 3rd to 10th week of the experiment, the number of *E. varians* adults/leaf) ranged from 0.06 ± 0.07 to 0.15 ± 0.07 , 0.00 ± 0.07 to 0.40 ± 0.07 , and 0.00 ± 0.07 to 0.22 ± 0.07 in the treatments of *B. cockerelli* first+ *E. varians*, *E. varians* first + *B. cockerelli*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*, respectively (Fig. 3A). There were no significant differences among these three treatments ($F_{20, 823} = 1.54$, $P < 0.0612$), with exception to in the 7th week of the experiment, where the treatment *B. cockerelli* first + *E. varians* was significantly different to the treatments of *E. varians* first + *B. cockerelli*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*.

With respect to *E. varians* nymphs/leaf, on the 3rd, 8th, 9th, and 10th week of the experiment, the average number, oscillated between 0.00 ± 0.03 to 0.21 ± 0.03 , 0.00 ± 0.03 to 0.06 ± 0.03 , and 0.00 ± 0.03 to 0.09 ± 0.04 for the treatments of *B. cockerelli* first + *E. varians*, *E. varians* first + *B. cockerelli*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*, respectively (Fig. 3B). No significant differences were observed among these three treatments on these four weeks of the experiment, with exception to the 8th week, where the number of *E. varians* nymphs/plant was significantly higher (0.21 ± 0.03) in the treatment of *B. cockerelli* first + *E. varians* compared to the treatments *E. varians* first + *B. cockerelli* (0.04 ± 0.03) and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae* (0.09 ± 0.04) ($F_{11,502} = 3.08$; $P < 0.0005$).

The adults of the parasitoid *T. triozae* were observed from 4th and 5th week of the experiment in the treatments *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae* and *B. cockerelli* + *T. triozae*, respectively (Fig. 3C). However, the number of *T. triozae* adults/leaf was very low during all experiment and it oscillated between 0.00 ± 0.06 and 0.23 ± 0.07 and between 0.00

± 0.06 and 0.22 ± 0.06 without significant differences between both treatments ($F_{13, 535} = 1.58$; $P < 0.0884$). In the 5th, 6th, and 7th week of the experiment no adults of the parasitoid were recorded in the treatment *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*.

The pupae of *T. triozae* were observed from 4th to the end of the experiment in the treatments *B. cockerelli* + *T. triozae* and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae* (Fig. 5D). The minimum and maximum numbers of *B. cockerelli* nymphs parasitized with *T. triozae* pupa/leaf oscillated between 0.25 ± 0.40 and 1.96 ± 0.40 and 0.24 ± 0.41 and 0.81 ± 0.40 for these treatments, respectively. No significant differences between both treatments were observed ($F_{13, 535} = 1.51$; $P < 0.1073$), with exception to the 6th week of the experiment.

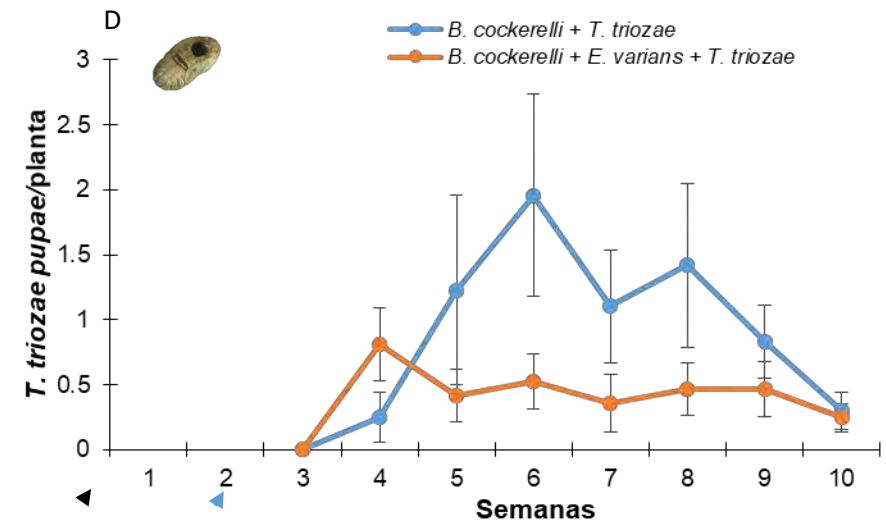
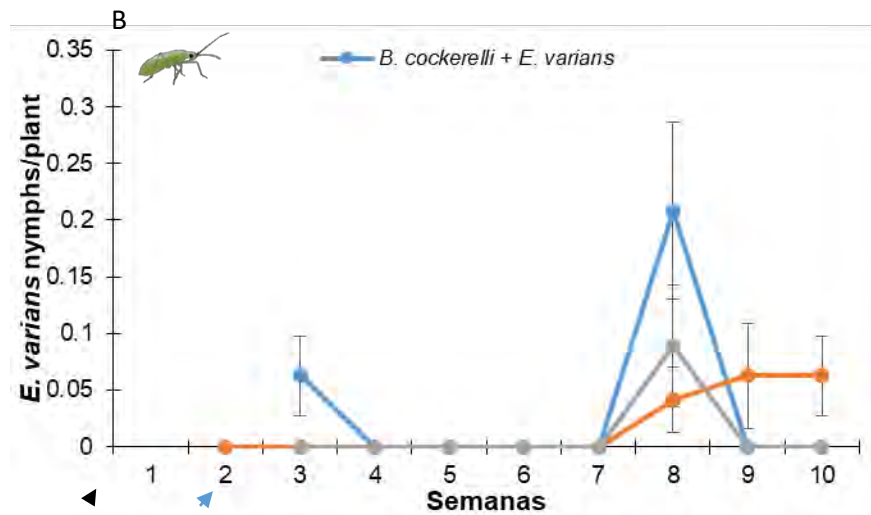
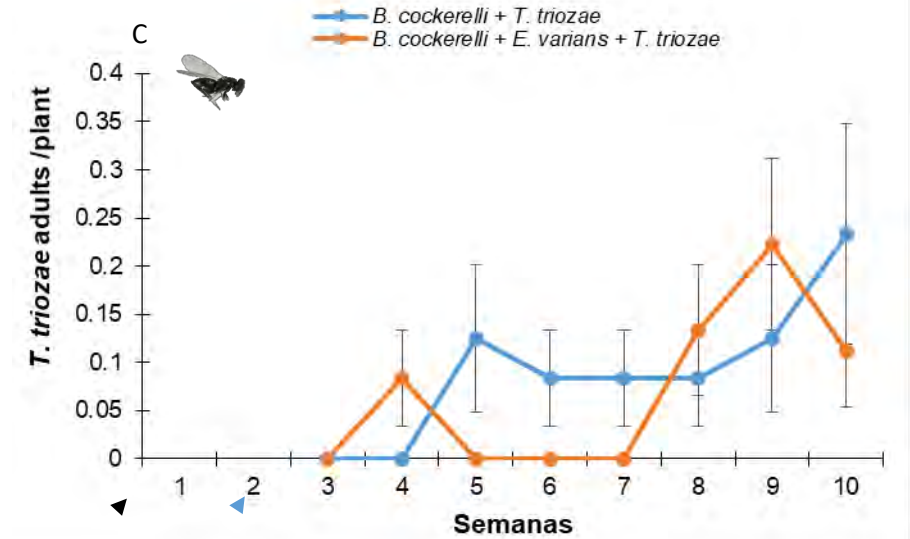
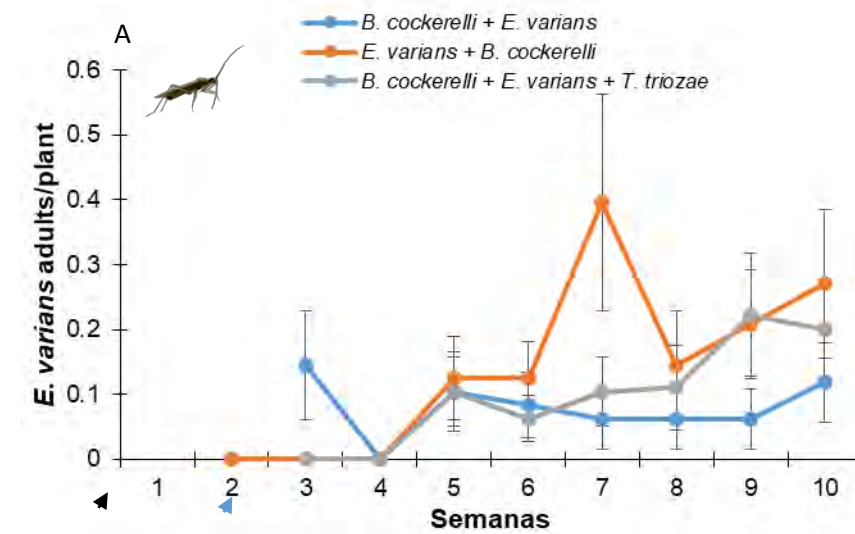


Figure 3. Population density (average number of individuals/plant $\pm$ SE) of A) *E. varians* adults; B) *E. varians* nymphs; C) *T. triozae* adults; D) *T. triozae* pupae. The black arrow ($\blacktriangleleft$) indicates the release of *E. varians* adults in the *E. varians* + *B. cockerelli* treatment. The blue arrow ($\blacktriangleleft$) indicates the release of *E. varians* and *T. triozae* adults, alone or in combination, in the *B. cockerelli* + *E. varians*, *B. cockerelli* + *T. triozae*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae* treatments.

4. Discussion

There is no information available about control of *B. cockerelli* using the zoophytophagous predator *E. varians* and the parasitoid *T. triozae* on the pepper crop under greenhouse conditions. In the present study, these natural enemies reduced up to 93 and 90% the populations of both nymphs and adults of this pest when they were released either separately or in combination, even when the predator was released before the pest establishment on this crop. The reduction rates are similar to those of this same predator species, which was able to suppress up to 80 and 90% of both nymphs and adults of *B. cockerelli* when released at rate of 1 and 4 *E. varians*/plant (Pérez-Aguilar et al. 2019) or when another mirid, *D. hesperus*, was released at rate of 1 individual/plant in two year seasons under greenhouse conditions in a tomato crop: in fall-winter (88 and 90%, respectively) and summer (94 and 81%, respectively) (Calvo et al., 2016). Also, when *N. tenuis* was released at a rate of 0.5 individuals/tomato plant before establishment of *Tu. Absoluta*, the population pest was reduced 85%, whereas when predator was released in combination of the parasitoid *T. brassicae* (*N. tenuis* + *Tu. absoluta* + *T. brassicae*), la reduction of the pest was 75% (Mirhosseini et al. 2019).

The parasitoid *T. triozae* reduced ~93% and up to 100% the population density of both nymphs and adults of *B. cockerelli*, respectively, when the parasitoid was released after establishment of the pest (treatment *B. cockerelli* + *T. triozae*). These results are similar those reached by this parasitoid on this pest in pepper (90%; Trujillo-García et al. 2018) and tomato (83%; Lozano et al. 2019) crops under greenhouse conditions.

Intragremial interactions have shown significant impacts on the reduction of insect pest populations and these interactions can be used in an integrated pest management context. The present study represents the first report of the interaction between the predator *E. varians* and the parasitoid *T. triozae* by the same food source under greenhouse conditions. At this regard, the combined release of these natural enemies reduced 96 and 95% the density of nymphs and adults of *B. cockerelli*, respectively. The release of 1 adult of *D. hesperus*/plant + 1 pupa of the parasitoid *T. triozae*/tomato plant also reduced ~85% and ~70% of adults and nymphs of *B. cockerelli*, respectively (Calvo et al. 2018). This high reduction in the pest population recorded by these authors and in the present study can be due each predator species did not interfere with the feeding habits of the parasitoid and vice versa. This can be supported by the studies of Ramírez-Ahuja et al. (2017) who reported that there was no intragremial competition between *D. hesperus* and the

parasitoid *T. triozae* on *B. cockerelli* nymphs under laboratory conditions. In this case, the predator preferred to feed on second and third instars of the pest, whereas the parasitoid preferred to parasitize fourth and fifth instars, which was also demonstrated for the complex *E. varians*-*T. triozae* in choice and non-choice trials (Morales-Alonso, S.; personal conversation). From a practical point of view, the combined effect of these two natural enemies could increase the biological control of *B. cockerelli*, as happened with the release of *D. hesperus* + *T. triozae* against this same pest (Calvo et al 2018).

The combined release of a species of myrid with a parasitoid is not always beneficial. For example, when *N. tenuis* was released in combination with the parasitoid *T. brassicae* for controlling *Tu. absoluta*, the adults population of the predator significantly decreased regardless of the number of parasitoid released (2.5 or 7.5 adults/tomato plant each week; Mirhosseini et al. 2019). In this case, the pest was better controlled when the predator was released alone than in combination with *T. brassicae*. The negative impact of the parasitoid on the predator may be due competition for the food source. *Nesidiocoris tenuis* can discern and avoid feeding on parasitized eggs of its host *Tu. absoluta* (Cabello et al. 2015).

Therefore, if the parasitized eggs of *Tu. absoluta* are not accepted by *N. tenuis*, the feeding behavior of this predator may change towards herbivory or cannibalism and this latter behavior would reduce the predator density and, therefore, the equilibrium level of the pest control obtained (Mirhosseini et al. 2019). On the other hand, Pérez-Aguilar et al. (2019) also reported that the decrease of the nymphs and adults populations of *E. varians* was the cannibalism, which in turn, could be associated with prey scarcity.

In the present study, the density of nymphs and adults of *E. varians*/leaf was very low (≤ 0.4 nymphs and adults/leaf) during all experiment in the three treatments where adults of this predator were released before or after the establishment of the pest: *E. varians* first + *B. cockerelli*, *B. cockerelli* + *E. varians*, and *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*. These results are approximately 3 and 2.5 times less the number of nymphs (1 or 1.4 nymphs/leaf) and adults (1 or 1.2 adults/leaf) of *E. varians*/leaf when the predator was released at a rate of 1 and 4 adults/tomato plant (Pérez-Aguilar et al. 2019). Similarly, the number of nymphs and adults of *D. hesperus* was 4.5 times higher (1.8 individuals/plant) in spring-summer compared to that found in the present study, but equal (0.4 individuals/plant) in autumn-winter when the predator was released after establishment

of *B. cockerelli* on tomato plants under greenhouse conditions (Calvo et al. 2016). In the interaction predator + parasitoid + pest, Calvo et al. (2018) mentioned that after 19 weeks the number of nymphs + adults of *D. hesperus* was similar when the predator was released alone (range of 0.2 to 0.8 individuals/leaf) or when the predator was released in combination with the parasitoid *T. triozae* (range of 0.1 to 0.6 individuals/leaf). Similarly, the density of *N. tenuis* adults was 2.5 adults/plant when 0.5 adults of this predator/plant were released before the pest's establishment or when *N. tenuis* + *Tu. absoluta* + *T. brassicae* were released (10 or 30 females (Mirhosseini et al. 2019). Differences among the present study and those of Pérez-Aguilar et al. (2019), Calvo et al. (2016, 2018), and Mirhosseini et al. (2019) in the number of nymphs and adults of the predator may be due the host plant and the tritrophic sistem pest-predator-parasitoid used, as well as number and frequency on releases of the insects (natural enemy or pest).

The maximum number of pupae and adults/leaf of *T. triozae* was ~2 and 0.24, respectively, in the treatment *B. cockerelli* + *T. triozae* and ~1 and 0.22, respectively, in the treatment *B. cockerelli* + *E. varians* + *T. triozae*. Also, the population density of this parasitoid was ≤ 1.5 pupae/tomato leaf when *B. cockerelli* + *D. hesperus* + *T. triozae* were released under greenhouse conditions (Calvo et al. 2018). On the other hand, under laboratory conditions, the population density of *T. triozae* was 0.8 and 0.7 adults and 30 and 25 pupae/leaflet of tomato and pepper plants infested with 60 nymphs of *B. cockerelli*, respectively (Xiang et al. 2015). Also, density of nymphs and adults of *E. varians* were low during all experiment (range of 0.0 to 0.21 nymphs/leaf and 0.0 to 0.40 adults/leaf). This could be due temperatures in the greenhouse were up to 47°C during the first four weeks of the experiment. On the other hand, the low population densities recorded for both nymphs and adults of *E. varians* compared those reported by Pérez-Aguilar et al. (2019) may be due the following two factors. i) lack of food availability. In this case, populations of nymphs were between 0.0 and 0.25 nymphs/leaf in all treatments bioassayed. ii) the host plant. We used pepper plants, which are glabrous plants, whereas Pérez-Aguilar et al. (2019) used tomato plants that are hairy and seem to offer better conditions for mirid development. It is widely known that hairy plants enhance the fitness (e.g., fecundity, fertility, and longevity) of the zoophytophagous mirids. For example, the cycle life of *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) was successfully completed on tomato and tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) but not in pepper plants (Orozco et al. 2012). Also, the fecundity of *D. hesperus*, *M. pygmaeus* or *T. cucurbitaceus* was higher in tomato, eggplant (*Solanum melongena* L.), chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium* L.) and mullein

(*Verbascum thapsus* L.) than in pepper (Perdikis y Lykouressis, 2002; Sánchez et al., 2004; Orozco et al., 2012). Fertility and longevity of *Macrolophus caliginosus* Wagner (Hemiptera: Miridae) females were also higher when developed on tomato or geranium (*Pelargonium peltatum* L.) than when developed on pepper (Hamdan, 2006).

In conclusion, this is the first study in which the predator *E. varians* and the parasitoid *T. triozae* were released separately or in combination for controlling *B. cockerelli* on the pepper crop under greenhouse conditions. It was demonstrated that the release alone or in combination of these natural enemies can reduce the population of this pest. These results can be taken into account to design an integrated pest management of *B. cockerelli*. However, more studies are needed to validate the impact of *E. varians* and *T. triozae* on the control of this pest in a larger experimental area and study repetitive releases of both natural enemies, as has happened with others mirid-parasitoid complexes (Cabello et al. 2015, Mirhosseini et al. 2019; Van Driesche et al. 2001).

5. Acknowledgements

Alejandro Oxalis Guzmán-Pedraza acknowledges a pre-master fellowship from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Mexico. This work was financially supported by the Coordinación de la Investigación Científica, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. We are also grateful with Koppert Biological Systems (El Marqués, Querétaro, Mexico) for facilitating the commercial product TETRAPAR.

6. References

- Bravo, M. E., López, L. P. (2007). Principales plagas del chile de agua en los valles centrales de Oaxaca. Agroproduce. Consultado en línea: https://www.researchgate.net/publication/311509157_Principales_plagas_del_chile_de_agua_e_n_los_Valles_Centrales_de_Oaxaca
- Bueno, V. H. P., Van Lenteren, J. C., Jr, Lins, J. C., Calixto, A. M., Montes, F. C., Silva, D. B., Santiago, L. D., Pérez, L. M. (2013). New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by Brazilian hemipteran predatory bugs. Journal of Applied Entomology, 137(1-2): 29-34.

- Butler, C. D., Trumble, J. T. (2014). Potato psyllid. CIRS. UC Riverside. Consultado en línea: http://cirs.ucr.edu/potato_psyllid.html
- Butler, C. D., Trumble, J. T. (2012). The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): life history, relationship to plant diseases, and management strategies. *Terrestrial Arthropod reviews*, 5: 87–111.
- Cabello, T., Bonfil, F., Gallego, J. R., Fernandez, F. J., Gamez, M., Garay, J. (2015) Can interactions between an omnivorous hemipteran and an egg parasitoid limit the level of biological control for the tomato pinworm? *Environmental Entomology*, 44: 12–26.
- Calvo, F. J., Torres, A., González, E. J., Velázquez, M. B. (2018). The potential of *Dicyphus hesperus* as a biological control agent of potato psyllid and sweetpotato whitefly in tomato. *Bulletin of Entomological Research*: 1-8.
- Calvo, F. J., Torres, A., Velázquez-González, J. C., Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R. (2016). Evaluation of *Dicyphus hesperus* for biological control of sweet potato whitefly and potato psyllid on greenhouse tomato. *BioControl*, 61(4): 415–424.
- Calvo, F. J., Torres-Ruiz, A., Velázquez-González, J., Rodríguez-Leyva, E., Lomeli-Flores, J. R. (2018). Improved sweetpotato whitefly and potato psyllid control in tomato by combining the mirid *Dicyphus hesperus* (Heteroptera: Miridae) with specialist parasitic wasps. *Journal of Economic Entomology*, 111(2): 549–555.
- Camacho-Tapia, M., Rojas-Martínez, R. I., Zavaleta-Mejía, E., Hernández-Deheza, M. G., Carrillo-Salazar, J. A., Rebollar-Alviter, A., Ochoa-Martínez, D. L (2011). Aetiology of chili pepper variegation from Yurécuaro, México. *Journal of Plant Pathology*, 93: 331-335.
- Cerna, E., Ochoa, Y., Aguirre, L. A., Flores, M., Landeros, J. (2013a). Determinación de la resistencia a insecticidas en cuatro poblaciones del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera : Triozidae). *Revista Internacional de Botánica Experimental*, (82): 63–68.
- Cerna, E., Hernández, O., Landeros, J., Ochoa, Y. (2013b). Cuantificación de enzimas asociadas a la resistencia de insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc) de la zona papera de Coahuila y Nuevo León, México. *Investigación y Ciencia*, 21(59): 5–12.

- Cerón-González, C. Lomelí-Flores, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Torres-Ruiz A. (2014). Fecundidad y alimentación de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre el psílido de la papa *Bactericera cockerelli*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5: 893-899.
- Chailleux, A., Bearez, P., Pizzol, J., Amiens-Desneux, E., Ramirez-Romero, R., Desneux, N. (2013). Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. *Journal of Pest Science*, 86: 533-541.
- Dávila-Medina, M. D., Chávez, E. C., Aguirre-Urbe, L. A., García-Martínez, O., Ochoa-Fuentes, Y. M., Gallegos-Morales, G., Landeros-Flores, J. (2012). Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Bactericera cockerelli* (Sulc.) en Coahuila, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6): 1145-1155.
- Distant, W.L. (1883–1893). Insect. Rhynchota. Hemiptera-Heteroptera. Vol. I. In: Godman and Salvin, eds. *Biologia Centrali- Americana*. London. 462 pp, 39 plates [1880, 1–88; 1881, 89–168; 1882, 169–224; 1883, 225–264; 1884, 265–304; 1889, 305–328; 1893, 329–462].
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2017). Base de datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Consultado en línea <http://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Garzón, T. J. A., Cárdenas-Valenzuela, O.G., Bujanos, M. R., Marín-Jarillo, A., Becerra-Flora, A., Velarde-Felix, S., Reyes-Moreno, C., González-Chavira, M., Martínez-Carrillo, J. L. (2009). Asociación de Hemiptera: Triozidae con la enfermedad “permanente del tomate” en México. *Agricultura Técnica en México*. 35(1): 61-72.
- Goulson, D., (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4): 977-987.
- Hamdan, A. J. (2006) Effect of host-plant species on the survival, adult longevity and fertility of predatory bug, *Macrolophus caliginosus* Wagner (Hemiptera: Miridae). *Hebron University Research Journal*, 2 (2): 1-15.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R., Paine, T. D. (2008). A new Huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllaurosus*” found to infect tomato and potato, is vectored by psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and Environmental Microbiology*, 74(18): 5862-5865.

- Lasalle, J. (1994). North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae), Journal of Natural History, 28(1): 109-236. Consultado en línea. <http://dx.doi.org/10.1080/00222939400770091>
- Liefting, L. W., Perez-Egusquiza, Z. C., Clover, G. R. G., Anderson, J. A. D. (2008). A new 'Candidatus Liberibacter' species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. Plant Disease, 92(10): 1474-1474.
- Liu, T. X., Zhang, Y. M., Peng, L. N., Rojas, P. y Trumble, J. T. (2012). Risk assessment of selected insecticides on *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). Journal of Economic Entomology, 105: 490-496.
- Lozano, G. J., España, L M. P., Lara, H. A., Balleza, C. J., Pinedo, E. J. M. (2019). Parasitismo de *Tamarixia triozae* Burks 1943 (Himenóptera: Eulophidae) sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* Sulc 1909 (Hemiptera: Triozidae) en condiciones de invernadero. Revista Entomología Agrícola, 6: 266- 270.
- Martínez, A. M., Baena, M., Figueroa, J. I., Del Estal, P., Medina, M., Guzman, L. E. Pineda, S. (2014). Primer registro de *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Heteroptera: Miridae) en México y su depredación sobre *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae): una revisión de su distribución y hábitos. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 30(3): 617-624.
- Martínez, A. M., Chavarrieta, J. M., Morales, S. I., Caudillo, K. B., Figueroa, J. I., Diaz, O., Bujanos, R., Gomez, B., Viñuela, E., Pineda, S. (2015) Behavior of *Tamarixia triozae* females (Hymenoptera: Eulophidae) attacking *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and effects of three pesticides on this parasitoid. Environmental Entomology, 44: 3-11.
- Mena-Mociño, V. L., Martínez, C. A. M., Pineda, G. S., Escalante-Jiménez, L A., Gómez, R. B., Figueroa, J. I, Hidalgo, D. (2015). Preferencia de depredación de *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae dist.) sobre el psílido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Sulc.). Boletín de la Sociedad Mexicana de Entomología, Número Especial, 1: 42-46.
- Mena-Mociño, L. V. (2016). Características biológicas y reproductivas de *Engytatus varians* (Distant) y *Dicyphus maroccanus* Wagner (Hemiptera: Miridae), depredadores zoofitófagos de plagas de solanáceas. Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y

Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 74 p.

- Morales, A. S. I., Martínez, C. A. M., Figueroa, J. I., Espino, A. M. H., Chavarrieta, J. M., Ortiz, R., Rodríguez, E. Ch. L. y Pineda, S. (2013). Parámetros de vida del parasitoide sinovigénico *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae). Revista Colombiana de Entomología, 39: 243–249.
- Mirhosseini, M. A., Fathipour, Y., Holst, N., Soufbaf, M., Michaud, J. P. (2019). An egg parasitoid interferes with biological control of tomato leafminer by augmentation of *Nesidiocorus tenuis* (Hemiptera: Miridae). Biological Control, 133: 34-40.
- Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., Upton, J. E. (2007). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “zebra chip”, a new potato disease in Southwestern United State and Mexico. Journal of Economic Entomology. 100(3): 656-663.
- Munyaneza, J. E., Sengoda, V. G., Crosslin, J. M., Garzón-Tiznado, J. A., Cardenas-Valenzuela, O. G. (2009). First report of “Candidatus *Liberibacter solanacearum*” in pepper plants in Mexico. Plant Disease, 93: 1076.
- Orozco, M. A., Villalba, V. V., López, S. N. (2012). Desarrollo de *Tupiocoris cucurbitaceus* (Hemiptera: Miridae) sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en diversas hortalizas. Fitosanidad, 16(3): 147-153.
- Palma-Castillo, L. J., Martínez-Castillo, A. M., Pineda, S., Gómez-Ramos, B., Chavarrieta-Yañez, J. M., Figueroa, J.I. (2019). Parámetros biológicos del depredador *Engytatus varians* (Distant 1884) (Hemiptera: Miridae), alimentado con una dieta artificial. Revista Entomologia Mexicana. 6: 200-205.
- Perdikis, D., Lykouressis, D. P. (2000). Effects of various items, host plants, and temperatures on the development and survival of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). Biological Control, 17: 55-60.
- Pérez-Aguilar. D. A., Martínez, A. M., Viñuela, E., Figueroa, J. I., Gómez, B., Morales, S. I., Pineda, S. (2019). Impact of the zoophytophagous predator *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae) on *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) control. Biological Control, 132: 29-35.

- Pimentel, D. (2005) Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7: 229-252.
- Pineda S., Hernández-Quintero, O., Velázquez-Rodríguez, Y. B., Viñuela, E; Figueroa, J. I., Morales, S. I., Martínez-Castillo, A.M. (2019). Predation by *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae) on *Bactericera cockerelli* (Sulcer) (Hemiptera: Triozidae) and two *Spodoptera* species. *Bulletin of Entomological Research*, 1–8.
- Pineda, S., M. Medina, J. I. Figueroa, T. J. Henry, L. V. Mena, J. M. Chavarrieta, A. M. Martínez. (2016). Life history, diagnosis, and biological aspects of *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae), a predator of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Biocontrol Science and Technology*, 26(8): 1073–1086.
- Ramírez-Ahuja, M. L., Rodríguez-Leyva, E., Lomelí-Flores, J. R., Torres-Ruiz, A., Guzmán-Franco, A. W. (2017). Evaluating combined use of a parasitoid and a zoophytophagous bug for biological control of the potato psyllid, *Bactericera cockerelli*. *Biological Control*, 106: 9-15.
- Rubio, O. Á. C., Almeyda, L. I. H., Moreno, J. I. J. A., Sánchez, S. J. I. R., Fernández, S. J. I., Borbón, S. J. T., Díaz, H. C., Garzón, T. J. A., Rocha, R. R. Cadena, H. M. A. (2006). Distribución de la punta morada y *Bactericera cockerelli* (Sulc) en las principales zonas productoras de papa en México. *Agricultura Técnica en México*, 32(2): 201-211.
- Sánchez, J. A., Gillespie, D. R., McGregor, R. R. (2004) Plant preference in relation to life history traits in the zoophytophagous predator *Dicyphus hesperus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112 (1), 7-19.
- Silva, D. B., Bueno, V. H. P., Montes, F. C., Van Lenteren, J. C. (2016). Population growth of three mirid predatory bugs feeding on eggs and larvae of *Tuta absoluta* on tomato. *BioControl*, 61: 545-553.
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) (2018). Consulta sobre producción de tomate nacional en sistema SIACON_NG. Consulta en línea <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Servicio de Información Agroalimentaria Pesquera (SIAP). (2017). Atlas Agroalimentario 2017. SIAP (I ed), 94-97.

- Teulon, D. A. J., Workman, P. J., Thomas, K. L y Nielsen, M. C. (2009). *Bactericera cockerelli*: incursion, dispersal and current distribution on vegetable crops in New Zealand. New Zealand Plant Protection Society, 62: 136-144.
- Trujillo-García, J., Lozano-Gutiérrez, J. F., España-Luna, M. P., Lara-Herrera, A., Balleza-Cadengo, J. J. (2018). Parasitismo de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Psyllidae) en dos cultivares de chile guajillo en invernadero, Control biológico, 160-163. México. LIII Congreso Nacional de Entomología, celebrado del 17 al 20 de junio del 2018 en Zapopan, Jalisco, México.
- Van Driesche, R. G., Hoddle, M. S., Lyon, S., Sanderson, J. P. (2001) Compatibility of insect growth regulators with *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera:Aphelinidae) for whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) control on poinsettias II. Trials in commercial poinsettia crops. Biological Control, 20: 132–146.
- Vega, G. M. T., Rodríguez, M. J. C., Díaz, G. O., Bujanos, M. R., Mota, S. D., Martínez, C. J. L., Lagunes, T. Á. Garzón, T. J. A. (2008). Susceptibilidad a insecticidas en dos poblaciones mexicanas del salerillo, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). Agrociencia, 42: 463-471.
- Wan, J., Wang, R., Ren, Y., McKirdy, S. (2020). Potential distribution and the risks of *Bactericera cockerelli* and its associated plant pathogen *Candidatus Liberibacter solanacearum* for global potato production. Insects. 11(5): 298 (1-14).
- Xiang, B. Y., Campos, M., Silva, A., Henne, D. (2015). Functional response, prey stage preference, and mutual interference of the *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) on tomato and bell pepper. Journal of Economic Entomology, 108(2): 414-424.
- Yang, X. B., Campos-Figueroa, M., Silva, A., Henne, D. C. (2015). Functional response, prey preference, and mutual interference of the *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) on tomato and bell pepper. Journal of Economic Entomology, 108: 414–424.

CAPÍTULO III

NOTA CIENTÍFICA

La dispersión del nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) por un mírido depredador en plantas de tomate

Resumen

El gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner; Lepidoptera: Noctuidae), es una de las principales plagas de diversos cultivos hortícolas en el mundo. Estudios recientes han demostrado que el mírido *Engytatus varians* (Distant; Hemiptera: Miridae) consume huevos y larvas de primer y segundo estadio de *S. exigua*. Este depredador también puede actuar como un agente dispersor del nucleopoliedrovirus múltiple de *S. exigua* (SeMNPV) cuando se alimenta de presas infectadas. En este estudio se evaluó la dispersión del SeMNPV por el contacto físico de *E. varians* con el patógeno en plantas de tomate (*L. Solanum lycopersicum* P. Mill.) a través de dos ensayos: 1) Adultos de *E. varians* (≤ 3 d de edad) expuestos durante dos tiempos (24 y 48 h) a folíolos de tomate tratados con una concentración del virus de 8.18×10^7 cuerpos de inclusión (CI)/ml, y 2) Adultos de *E. varians* expuestos durante 24 h a folíolos de tomate tratados con dos concentraciones del virus (8.18×10^7 y 8.18×10^4 CI/ml). En ambos ensayos, las larvas de segundo estadio de *S. exigua* se alimentaron durante 4, 12, 24 y 48 h con los folíolos de tomate previamente expuestos al depredador. La mortalidad se registró cada 24 h durante ocho días. El sexo del depredador no influyó en la mortalidad de las larvas de *S. exigua* causada por el SeMNPV cuando se utilizaron las dos concentraciones y los cuatro tiempos de exposición del depredador sobre los folíolos sin virus. La dispersión del virus por parte de *E. varians* provocó hasta 100% de mortalidad larvaria, pero esta dispersión y muerte dependió del tiempo de exposición y la concentración del patógeno. Estos resultados contribuyen a la expectativa de uso del mírido y del SeMNPV para el control de *S. exigua* en cultivos de tomate.

Palabras clave: *Engytatus varians*, Baculovirus, Plagas, Control biológico

1. Introducción

El gusano soldado, *Spodoptera exigua* (Hübner; Lepidoptera: Noctuidae), es una de las plagas más importantes de hortalizas en todo el mundo (Zheng et al. 2011). Este insecto se alimenta de hasta 130 cultivos hortícolas pertenecientes a más de 30 familias (Merkx-Jacques *et al.*, 2008, Saeed et al. 2010). El principal método de control contra *S. exigua* se ha basado en el uso de insecticidas químicos. Sin embargo, esta especie ha desarrollado resistencia a diferentes insecticidas, lo que dificulta su manejo y control (Wyckhuys et al. 2013; Che et al. 2015). Debido a ello, se ha incrementado la necesidad de estudiar alternativas de control ecológicamente aceptables como parte de programas de manejo integrado de plagas.

Engytatus varians (Distant; Hemiptera: Miridae) es un depredador zoofitófago que se alimenta de diversas especies de insectos, así como de las plantas hospederas para completar su ciclo biológico. Entre los insectos de los cuales se alimenta este depredador se encuentran los áfidos, moscas blancas, pseudocóccidos, psílidos y lepidópteros (Illingworth 1937; Bueno et al. 2013; Martínez et al. 2014; Silva et al. 2016; Pineda et al. 2019). Estudios recientes han demostrado que las hembras y machos de *E. varians* pueden consumir huevos (entre 82 y 46%) y larvas de primer (entre 41 y 35%) y segundo (entre 22 y 15%,) estadio de *S. exigua* (Pineda et al. 2019). Además, este mírido posee el potencial de ser un agente dispersor del nucleopoliedrovirus de múltiple de *Spodoptera exigua* (SeMNPV) (Baculoviridae) (S. Zamudio, datos no publicados). Este nucleopoliedrovirus es altamente infectivo y específico para el control del gusano soldado (Zamora-Avilés et al. 2017), tanto en cultivos hortícolas como plantas ornamentales (Cherry et al. 1997; Murillo et al. 2006; Lasa et al. 2008). En el presente estudio se evaluó la capacidad de *E. varians* para dispersar al SeMNPV en plantas de tomate.

2. Materiales y Métodos

2.1 Cría de insectos

Los insectos utilizados en estos experimentos se obtuvieron de las colonias de *S. exigua* y *E. varians* establecidas en el laboratorio de Entomología Agrícola del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) (Tarímbaro, Michoacán, México). Estas colonias no han sido expuestas a insecticidas químicos. Las larvas de *S. exigua* se alimentaron con dieta semi-sintética modificada de Mihm

(1983), mientras que los adultos fueron provistos de una solución de miel de abeja a 15%. Como sustrato de oviposición se utilizaron bolsas de papel de estraza del No. 12, las cuales se reemplazaron periódicamente. La cría de *S. exigua* se mantuvo bajo condiciones controladas de 25 ± 2 °C, $56 \pm 5\%$ HR y 16:8 h L: O).

Las ninfas y adultos de *E. varians* se mantuvieron sobre plantas de tomate (variedad Río Grande; ~30 cm de altura con cinco a siete hojas completamente desarrolladas) en jaulas de madera (50 × 50 × 50 cm) cubiertas completamente con tela de organza, bajo condiciones de laboratorio (~25 °C y 56% HR, 12:12 h L: O). Los individuos de este depredador fueron provistos de huevos de *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae) (Bio Bichs de México, S.A. de C.V., Uruapan, Michoacán, México) como fuente de alimento. Como alimento suplementario, se les suministró una solución de azúcar a 5% (Chedraui®, Xalapa, Veracruz, México) en tubos Eppendorf® (1.5 ml) que contenían un trozo de algodón.

2.2 Material vegetal y aislamiento del SeMNPV

Se utilizaron plantas de tomate (tipo saladette, variedad Río Grande) de ~30 cm de altura con 6 ó 7 hojas completamente desarrolladas. Estas plantas fueron plantadas individualmente en vasos de unícel (1 L) que contenían una mezcla de tezontle + tierra rica en humus (70 y 30%, respectivamente). Las plantas de tomate se mantuvieron en condiciones de invernadero y se fertilizaron cada tres o cuatro días con 500 mL de una solución nutritiva a 50% de macro (Ca [NO₃]₂, MgSO₄, KH₂PO₄, KNO₃ y K₂SO₄) (Steiner, 1984) y micronutrientes (Fe, Mn, Br, Zn, Cu y Mo) (Kelatex-Multi®, San Nicolás de Los Garza, Nuevo León, México).

Se utilizó el aislamiento Sin6 del SeMNPV, el cual fue caracterizado por Zamora-Avilés et al. (2017). Este aislamiento se obtuvo de larvas de *S. exigua* colectadas en 2006 en un cultivo de tomate en el estado de Sinaloa, México. Para la multiplicación del virus, se inocularon larvas de cuarto instar de *S. exigua* a través del método de ingestión de la gota (Hughes y Wood 1981), con los cuerpos de inclusión (CI) del aislamiento antes mencionado. Posteriormente, las larvas que ingirieron el virus se colocaron individualmente en celdas de cajas de cultivo de tejidos de 12 celdas que contenían dieta artificial. Las larvas muertas por el virus se trituraron con agua estéril y se filtraron dos veces a través de una malla de acero de tamaño de poro de 500 y 80 µm para eliminar los restos celulares. Los CI se contaron con una cámara de Neubauer® y se almacenaron a 4 °C antes de su uso.

2.3 Dispersión del virus

Para determinar la capacidad de los adultos *E. varians* para dispersar al SeMNPV sobre las plantas de tomate, se realizaron dos experimentos. El primero se realizó con el objetivo de conocer la dispersión del baculovirus por parte de los adultos de este depredador cuando se expusieron a los folíolos de tomate tratados con una concentración del aislamiento Sin6 (8.18×10^7 CI/ml) durante dos tiempos (24 y 48 h; tiempo de exposición del depredador a folíolos contaminados con el virus). Para ello, con el uso de un aspersor manual, se trataron con el virus, hasta punto de goteo, ocho plantas de tomate para cada uno de los tiempos (24 o 48 h de exposición; $n = 16$ plantas) que posteriormente se expusieron al depredador. Para incrementar la adhesión del virus sobre las hojas, se utilizó el surfactante dodecilsulfato sódico (SDS) a 0.01%. Después del secado de las plantas (30 min después de la aspersión), en una caja clip (5.5 cm de diámetro $\times$ 1 cm de altura) se introdujo una hembra o un macho de *E. varians* (≤ 3 d de edad). Esta caja clip se sujetó de un folíolo de una planta de tomate, lo cual se consideró una repetición (1 planta = 1 repetición) de un total de ocho repeticiones por cada tiempo de exposición (24 ó 48 h). Los adultos del depredador se alimentaron con huevos de *S. cerealella*, los cuales se colocaron sobre una cinta de doble pegamento (1 cm²) (Truper®, Jilotepec, Estado de México, Ciudad de México) dentro de la caja clip. Después de 24 ó 48 h, las hembras o machos de *E. varians* se recuperaron y se colocaron, de igual forma en otra caja clip, en folíolos de tomate sin tratar durante 4, 12, 24 ó 48 h, con la finalidad de evaluar la posible dispersión ocasionada por el mirido sobre folíolos sin virus. Posteriormente, los adultos de este mirido se retiraron de estas cajas clip y en su lugar se colocaron 10 larvas (= repetición) de segundo instar de *S. exigua* (8-12 h después de la ecdisis). Después de 24 h de exposición, estas larvas se recuperaron y colocaron individualmente en cajas para cultivos de tejidos de 24 celdas, como las descritas anteriormente, las cuales contenían dieta semisintética. La mortalidad de las larvas se registró cada 24 h hasta el término de su etapa larval (~11 días). Así mismo, se registró el tiempo de mortalidad larvaria. Además, se registró el peso de las larvas inmediatamente después de la muda al quinto instar y a los cinco días después de la formación de la pupa.

El segundo experimento se realizó con el objetivo de determinar la dispersión del baculovirus por parte de los adultos de *E. varians* cuando se expusieron a los folíolos de tomate tratados con dos concentraciones del aislamiento Sin6 (8.18×10^7 y 8.18×10^4 CI/ml). La aplicación del virus sobre los folíolos de tomate, la exposición de las hembras o machos del depredador a los folíolos tratados y posteriormente a los folíolos sin tratar, así como la exposición

de las larvas de *S. exigua* se realizó de la misma forma como en el ensayo anterior. La única diferencia fue que la exposición de los adultos de *E. varians* a los folíolos de tomate tratados con ambas concentraciones del virus fue solamente durante 24 h, este tiempo se seleccionó debido a que la exposición de los adultos durante 48 h, realizada en el experimento anterior, provocó una elevada mortalidad larvaria con la concentración de 8.18×10^7 CI/ml (Cuadro 1). El peso de las larvas y pupas sobrevivientes, así como el tiempo de mortalidad, se realizó como se describió anteriormente.

Para garantizar la viabilidad del virus sobre las hojas de tomate, se incluyó un testigo en el cual se aplicó una concentración de 8.18×10^7 CI/ml y con una exposición posterior a larvas de segundo instar de *S. exigua*. La mortalidad se registró cada 24 h. Las larvas sobrevivientes se pesaron recién mudadas al quinto instar y cuando llegaron a la etapa de pupa se evaluó su peso, además de evaluar la fluctuación poblacional (tiempo de mortalidad).

3. Análisis de datos

Para los dos experimentos se empleó un diseño multifactorial completamente al azar con los siguientes tres factores (2x2x4):

Experimento 1. i) sexo del depredador (hembra y macho); ii) exposición del depredador a folíolos de tomate contaminados por el virus, a una concentración de 8.18×10^4 CI/ml, en dos tiempos (24 y 28 h) y iii) tiempos de exposición del depredador sobre folíolos de tomate sin tratar con el virus (4, 12, 24 y 48 h).

Experimento 2. Se analizaron los mismo factores que el experimento 1, con excepción que en el factor ii se incluyeron dos concentraciones del virus (8.18×10^7 y 8.18×10^4 CI/ml) evaluadas a las 24 h de exposición.

Los datos de cada experimento se ajustaron a una distribución binomial y se analizaron a través del procedimiento de modelos lineales generalizados (GLM). Se utilizó la prueba de mínimos cuadrados para separar medias. Previamente, se realizó un análisis conjunto para el factor sexo para descartar su posible influencia sobre la mortalidad larvaria. Los análisis se realizaron a través del programa (SAS/STAT versión 9.3; SAS Instituto, Cary, NC).

4. Resultados

4.1 Mortalidad de larvas

El sexo del depredador no influyó en la mortalidad de las larvas de *S. exigua* causada por el aislamiento Sin6 del SeMNPV cuando se utilizaron las dos concentraciones (8.18×10^7 CI /ml y 8.18×10^4 CI /ml) y cuatro tiempos de exposición del depredador sobre los folíolos sin virus (4, 12, 24 y 48 h) (concentraciones*tiempo*sexo, $F_{15, 624} = 1.25$; $p = 0.25$). Debido a ello, el factor sexo no se consideró en los siguientes análisis.

Cuando los adultos de *E. varians* se expusieron durante 24 y 48 h a los folíolos de tomate tratados con la concentración de 8.18×10^7 CI /ml del SeMNPV, la mortalidad de las larvas de segundo estadio de *S. exigua* fue significativamente diferente entre los cuatro tiempos de exposición del depredador a los folíolos sin virus (4, 12, 24 y 48 h; $F_{7, 632} = 29.35$; $P > 0.0001$) (Cuadro 1). Después de la exposición de los adultos del depredador al virus durante 24 h, la mortalidad larvaria fue significativamente mayor cuando el depredador se expuso durante 48 h ($91.0 \pm 0.3\%$) a folíolos de tomate sin tratar, comparado con resto de los demás tiempos (rango de $51.0 \pm 0.6\%$ a $73.0 \pm 0.5\%$). No se observaron diferencias significativas entre las 12 y 24 h de exposición a los folíolos sin tratar, pero la mortalidad larvaria en ambos periodos fue estadísticamente distinta con respecto a las 4 h (Cuadro 1). Cuando el depredador se expuso durante 48 h al virus, la mortalidad larvaria fue 100% en todos los tiempos ensayados. Al realizar las comparaciones entre los dos tiempos de exposición de los adultos de *E. varians* al virus (24 y 48 h), la mortalidad larvaria fue significativamente menor a las 24 h en todos los tiempos de exposición del depredador a los folíolos sin virus, con excepción de las 48 h (Cuadro 1).

Cuadro 1. Mortalidad (porcentaje $\pm$ EE) de larvas de segundo estadio de *S. exigua* expuestas a foliolos de tomate tratados con una concentración de 8.18×10^7 CI /ml del SeMNPV y expuestos a adultos de *E. varians* durante 24 y 48 h.

Exposición (h) del depredador, previamente expuesto al virus, a foliolos de tomate sin tratar	Exposición (h) del depredador a foliolos de tomate con virus	
	24 h	48 h
4	51.0 $\pm$ 0.6 Aa	100.0 $\pm$ 0.0 Ab
12	81.0 $\pm$ 0.4 Ba	100.0 $\pm$ 0.0 Ab
24	73.0 $\pm$ 0.5 Ba	100.0 $\pm$ 0.0 Ab
48	91.0 $\pm$ 0.3 Ca	100.0 $\pm$ 0.0 Aa

Medias dentro de la misma columna (letras mayúsculas) y dentro de la misma fila (letras minúsculas), seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ($P > 0.01$).

El efecto entre las dos concentraciones del virus y los diferentes tiempos de exposición del depredador a los foliolos de tomate sin tratar fue estadísticamente significativo (concentración*tiempo, $F_{8, 632} = 11.16$; $P > 0.0001$) (Cuadro 2). La mortalidad causada por la concentración de 8.18×10^7 CI/ml sobre las larvas de *S. exigua* fue significativamente más alta (100%) en los dos últimos tiempos de exposición (24 y 48 h) comparado con la mortalidad observada a las 4 y 12 h de exposición. Similarmente, la mayor mortalidad larvaria se observó a las 48 h de exposición a los foliolos sin virus en la concentración 8.18×10^4 CI/ml ($91.0 \pm 0.3\%$); sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre este periodo y a las 12 h de exposición ($81.0\% \pm 0.4$). Así mismo, no se observaron diferencias significativas entre las 12 y 24 h de exposición a los foliolos sin tratar. La mortalidad larvaria observada a las 4 h de exposición a los foliolos sin virus fue significativamente menor comparada con el resto de los tiempos estudiados.

Solamente se observaron diferencias significativas entre las dos concentraciones ensayadas a las 4 y 24 h de exposición a los foliolos sin tratar, donde la mortalidad fue significativamente mayor en la concentración más alta (Cuadro 2).

Cuadro 2. Mortalidad (porcentaje $\pm$ EE) de larvas de segundo estadio de *S. exigua* expuestas a foliolos de tomate durante 24 h y que fueron tratados con dos concentraciones del SeMNPV.

Exposición del depredador (h) previamente contaminado por virus a foliolos de tomate sin tratar	Mortalidad/concentraciones del SeMNPV (CI/ml)	
	8.18×10^7	8.18×10^4
4	79.0 ± 0.04 Aa	53.0 ± 0.6 Ab
12	70.0 ± 0.05 Aa	81.0 ± 0.4 BCa
24	100.0 ± 0.0 Ba	73.0 ± 0.5 Bb
48	100.0 ± 0.0 Ba	91.0 ± 0.3 Ca

Medias dentro de la misma columna (letras mayúsculas) y dentro de la misma fila (letras minúsculas), seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes ($P > 0.01$).

En el testigo se registró $100.0 \pm 0.5\%$ de mortalidad de las larvas que se expusieron a la concentración de 8.18×10^7 CI/ml, lo cual se representará como ejemplo de la tendencia de mortalidad provocada dentro de la población ensayada (Figura 1A).

4.2 Tiempo de mortalidad

Cuando las larvas de *S. exigua* se expusieron a los foliolos contaminados con el virus (8.18×10^7 CI/ml) en ausencia del depredador (testigo), el pico mayor de mortalidad se observó a las 96 h post-tratamiento (hpt) en los cuatro tiempos de exposición de las larvas a los foliolos sin tratar (4, 12, 24 y 48 h) (Figura 1A). Similarmente, cuando las larvas de *S. exigua* se expusieron a foliolos de tomate, expuestos a su vez durante 24 h a adultos de *E. varians* a foliolos tratados con una concentración de 8.18×10^4 CI/ml, la mortalidad más alta se observó a las 96 hpt para los periodos de exposición a los foliolos sin tratar de 4, 12 y 24 h (Figura 1B). En el caso de las 48 h de exposición a los foliolos sin virus, el pico máximo de mortalidad se observó a las 168 hpt.

Cuando las larvas de *S. exigua* provinieron de foliolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante de 24 h a una concentración de 8.18×10^7 CI/ml, el mayor pico de mortalidad se observó a las 144 hpt cuando el depredador tuvo una exposición foliar de 4 y 12 h (Figura 1C), mientras que la mayor mortalidad a las 24 y 48 h de exposición del depredador se observó a las 120 y 168 hpt, respectivamente (Figura 1C). Finalmente, en el caso de los ensayos con esta misma dosis,

pero con 48 h de exposición del adulto de *E. varians* con el virus, los picos máximos de mortalidad se observaron a las 144 hpt para todos los periodos exposición del depredador a los folíolos sin virus (Figura 1D).

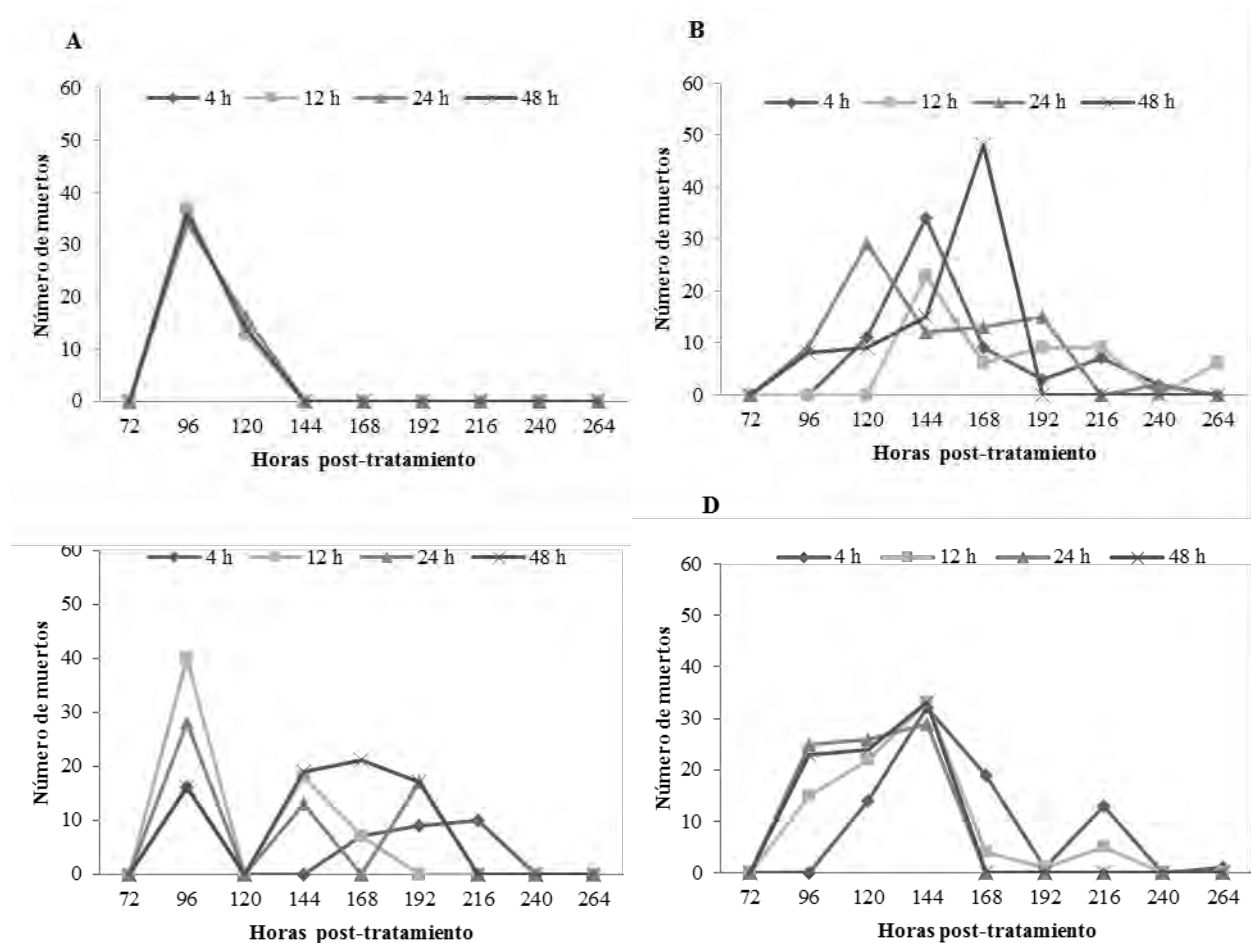


Figura 1. Fluctuación de mortalidad de larvas de segundo estadio de *S. exigua* a través del tiempo: A) larvas expuestas a folíolos contaminados con virus a una concentración de 8.18×10^7 CI /ml SeMNPV sin depredador; B) larvas provenientes de folíolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante 24 h a una concentración de 8.18×10^4 CI /ml del virus; C) larvas provenientes de folíolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante 24 h a una concentración de 8.18×10^7 CI /ml del SeMNPV; D) larvas provenientes de folíolos de tomate expuestos a adultos de *E. varians* durante 48 h a la dosis 8.18×10^7 CI/ml.

5. Discusión

La dispersión de los baculovirus mediante los insectos depredadores ha sido previamente documentada en distintos sistemas virus-huésped y en distintas condiciones experimentales (Vasconcelos et al. 2001). Específicamente, la contaminación superficial de los enemigos naturales (depredadores y parasitoides) también puede ser un mecanismo de dispersión importante de los baculovirus y patógenos en general (Young y Kring 1991; Sait et al. 1996), puesto que éstos pueden diseminar las partículas infectivas a distancias considerables, con la subsecuente transmisión hacia larvas susceptibles. Este mecanismo a su vez puede incrementar el éxito del patógeno en un programa de control del insecto huésped (Boucias et al. 1987; Smith et al. 2000; McWilliam 2020).

En el presente estudio, un periodo de 24 h de exposición de *E. varians* sobre folíolos tratados con el SeMNPV, fue suficiente para lograr la dispersión del patógeno y provocar una alta mortalidad en larvaria de *S. exigua* ($\geq 50\%$), especialmente cuando éstas se alimentaron con folíolos durante 48 h (91%). Este último porcentaje fue comparable al obtenido con los adultos de *E. varians* expuestos sobre los folíolos tratados en un periodo de 48 h (100%). Interesantemente, este nivel máximo de mortalidad se observó desde las 4 h de exposición de las larvas de *S. exigua* a folíolos previamente expuesto al depredador. Estos resultados no sólo demuestran la dispersión del SeMNPV por el contacto físico de *E. varians* con la superficie foliar tratada con el patógeno, sino también indican que el virus mantiene su viabilidad durante su transporte y dispersión sobre las hojas de tomate. Además, fue claro que el incremento de la concentración del virus tuvo una respuesta positiva con la dispersión y la muerte de *S. exigua*.

En estudios de campo, Boucias et al. (1987) observaron que después de la aplicación de un nucleopoliedrovirus múltiple (AgMNPV) sobre *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) sobre cultivos de soya, distintas especies de depredadores (e.g., hemípteros [Nabidae, Geocoridae], coleópteros [Coccinellidae, Carabidae] y arañas [Salticidae, Lycosidae]) lograron dispersar el virus hacia lotes no tratados. Además, los autores observaron que con la cantidad de CI recuperados del cuerpo de los insectos, se logró un porcentaje de muerte de las larvas de *A. gemmatilis* entre 7 y 24% tomando en cuenta todos los lotes experimentales, incluyendo el testigo. Así mismo, Smith et al. (2000) observaron que 12 de 23 depredadores (ejemplo, hemípteros [Reduviidae, *Orius* spp.], coccinélidos [*Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *Scymnus* spp.] y arañas [Thomisidae, Oxyopidae]) fueron capaces de dispersar virus silvestres y/o recombinantes de

los nucleopoliyedrovirus de *A. gemmatalis* (AcMNPV) y *Heliothis zea* (HzSNPV) sobre cultivos de algodón. Al respecto, Abbas (2020) menciona que la relación depredador–virus puede llegar a ser complicada, ya que la población en campo del virus puede disminuir ante la capacidad del depredador por alimentarse de presas contaminadas. Sin embargo, este efecto es poco frecuente. En cambio, dicha relación favorece a ambos debido a la capacidad que tienen los depredadores para dispersar el virus a través de sus heces, favoreciendo con ello la dispersión del patógeno en campo.

Recientemente, Zamudio-López (2020, datos no publicados) observó que los adultos de *E. varians* lograron la dispersión del SeMNPV después de alimentarse con larvas infectadas de *S. exigua*. Mediante el mismo mecanismo, la dispersión de los nucleopoliedrovirus se ha presentado en diferentes ocasiones (Abbas 2020), tal es el caso de *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV), *A. gemmatalis* (AgNPV), *S. littoralis*, *Trichoplusia ni* (VPN nativos y mutantes) y *M. brassicae* y ha sido documentada por los depredadores *C. undecimpunctata* (Mahmoud 1992), varias especies de carábidos (Vasconcelos et al. 1996), *Podisus maculiventris* (Say) (Abbas y Boucias 1984; Lee y Fuxa 2000) y *Doru taeniatum* (Dohrn) (Castillejos et al. 2001), *Podisus maculiventris* (Abbas y Boucias 1984). Este tipo de dispersión ha sido ampliamente estudiado y forma parte de las principales rutas de dispersión natural de los baculovirus (Williams 2018).

Por otro lado, la fluctuación de la mortalidad de las larvas de segundo estadio de *S. exigua* infectadas por el SeMNPV dependió del tipo de tratamiento. Por ejemplo, cuando las larvas se expusieron a los folíolos tratados con 8.18×10^7 CI/ml, el mayor pico de muerte se observó a las 96 hpt, mientras que las larvas alimentadas con folíolos de tomate, previamente expuestos a los adultos de *E. varians* durante 24 y 48 h a la misma concentración, los mayores picos de muerte se observaron a las 120 y 144 hpt. Estas diferencias pueden atribuirse a un efecto de dilución de la concentración del virus recibida por parte de las larvas, puesto que una menor concentración puede provocar una disminución en la velocidad de acción (García-Banderas et al. 2020; Zamora-Avilés 2017). En general, los picos de muerte observados en el presente estudio fueron posteriores a los reportados por Zamora-Avilés et al. (2017), quienes observaron los mayores picos de muerte entre las 80 y 88 hpt de larvas de segundo estadio de *S. exigua* con una concentración de 27 CI/larva ($\sim 8 \times 10^4$ CI/ml) de siete asilamientos del SeMNPV. La razón de estas diferencias pueden relacionarse al tipo de bioensayo realizado, en el presente estudio las larvas se expusieron al patógeno sobre la superficie foliar previamente contaminada por el depredador, mientras que en el estudio de Zamora-Avilés et al. (2017) las larvas se inoculaban por el método de ingestión de la gota, lo cual pudo

provocar una manifestación de la enfermedad en menor tiempo. En otros estudios, también se ha observado que los síntomas de la infección por baculovirus puede depender la especie, tipo de ensayo, concentración y susceptibilidad de insecto huésped, entre otros (Gothama et al. 1996; Murillo et al. 2006; 2011).

Como conclusión, *E. varians* tiene la capacidad de dispersar al SeMNPV cuando está en contacto físico con los folíolos de tomate tratados con este entomopatógeno. Estos resultados se suman a la capacidad de este depredador en dispersar el virus por sus heces después del consumo de las larvas de *S. exigua* infectadas (Zamudio, 2020, datos no publicados). Ambos escenarios, son claramente complementarios e importantes en un esquema de control biológico donde *E. varians* podría no sólo actuar como un agente de dispersión de baculovirus, sino como un potencial depredador del gusano soldado sobre plantas de tomate.

6. Literatura citada

- Abbas, M. S. T., Boucias, D. G. (1984). Interaction between nuclear polyhedrosis virus-infected *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and predator *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental entomology*, 13(2): 599–602.
- Abbas, M.S.T. (2020) Interactions between baculoviruses and entomophagous insects. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30 (1): 107
- Boucias, D. G., Abbas, M. S. T., Rathbone, L., Hostettler, N. (1987). Predators as potential dispersal agents of the nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatilis* [lep: noctuidae] in soybean. *Entomophaga*, 32 (1): 97-108.
- Bueno, V. H. P., Van Lenteren, J. C., Lins, J. C., Calixto, A. M., Montes, F. C., Silva, D. B., Santiago, L. D., Pérez, L. M. (2013). New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by Brazilian hemipteran predatory bugs. *Journal of Applied Entomology*, 137(1): 29-34.
- Castillejos, V., García, L., Cisneros, J., Goulson, D., Caballero, P., Cave, R. D., Williams, T. (2001). The potential of *Chrysoperla rufilabris* and *Doru taeniatum* as agents for dispersal

- of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus in maize. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98: 353-359.
- Che, W., Huang, J., Guan, F., Wu, Y., Yang, Y. (2015). Cross-resistance and inheritance of resistance to emamectin benzoate in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 108 (4): 2015–2020.
- Cherry, A. J., Parnell, M. A., Grzywacz D., Jones, K. A. (1997). The optimization of *in vivo* nuclear polyhedrosis virus production in *Spodoptera exempta* (Walker) and *Spodoptera exigua* (Hübner). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70 (1): 50-58.
- García-Banderas, D., Tamayo-Mejía, F., Pineda, S., Figueroa, J. I., Lasa, R., Chavarrieta-Yáñez, J. M., Martínez-Castillo, A. M. (2020). Biological characterization of two *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus isolates from Mexico and evaluation of one isolate in a small-scale field trial. *Biological Control*, 149: 104316.
- Gothama, A.A.A., Lawrence, G.W., Sikorowski, P. P. (1996) Activity and persistence of *Steinernema carpocapsae* and *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus against *S. exigua* larvae on soybean. *Journal of Nematology*, 1996: 28: 68–74.
- Hughes, P., Wood, H. A. (1981). A synchronous peroral technique for the bioassay of insect viruses. *Journal of Invertebrate Pathology*, 37: 154-159.
- Illingworth, J. F. (1937). Observations on the predaceous habits of *Cyrtopeltis varians* (Dist.) (Hemip.). *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 9 (1): 458-459.
- Lasa, R., Williams, T., Caballero, P. (2008). Insecticidal properties and microbial contaminants in a *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV, Baculoviridae) formulation stored at different temperatures. *Journal of Economic Entomology*, 101 (1): 42-49.
- Lee, Y., Fuxa, J. R. (2000). Ingestion and defecation of recombinant and wild-type nucleopolyhedroviruses by scavenging and predatory arthropods. *Environmental Entomology*, 29 (5): 950–957.
- Mahmoud, Basma A. 1992. The role of some *Spodoptera littoralis* parasitoids and predators as distributors of bacterial and viral insecticides. M.Sc. Thesis, Fac.Agric., Cairo University, 105 p.

- Martínez, A. M., Baena, M., Figueroa, J. I., Del Estal, P., Medina, M., Guzmán-Lara, E., Pineda, S. (2014). First record of *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Heteroptera: Miridae) in México and its predation on *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Hemiptera: Triozidae): a survey of its distribution and habits. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.), 30 (3): 617-624.
- McWilliam, A. (2020) Environmental impact of baculoviroses. Consultado en línea: (12/10/2020) http://www.fao.org/docs/eims/upload/agrotech/2003/r7299_ftr_anx3.pdf
- Merkx-Jacques, M., Despland, E., Bede, J. C. (2008). Nutrient utilization by caterpillars of the generalist beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Physiological Entomology*, 33 (1): 51-61.
- Murillo, R., Hussey, M. S., Possee, R. D. (2011). Evidence for covert baculovirus infections in a *Spodoptera exigua* laboratory culture. *Journal of General Virology*, 92: 1061–1070.
- Murillo, R., Elvira, S., Muñoz, D., Williams, T., Caballero, P. (2006). Genetic and phenotypic variability in *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus isolates from greenhouse soils in southern Spain. *Biological Control*, 38 (2): 157-165.
- Pineda, S., Hernández, Q. O., Velázquez, R. Y. B., Viñuela, E., Figueroa, J. I., Morales, S. I., Martínez, C. A. M. (2019). Predation by *Engytatus varians* (Distant) (Hemiptera: Miridae) on *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Hemiptera: Triozidae) and two *Spodoptera* species. *Bulletin of Entomological Research*, 1–8.
- Sait, S. M., Begon, M., Thompson, D. J., Harvey, J. A. (1996). Parasitism of baculovirus-infected *Plodia interpunctella* by *Venturia canescens* and subsequent virus transmission. *Functional Ecology*, 10: 586–591.
- Saeed, S., Sayyed, A. H., Ahmad, I. (2010). Effect of host plants on life-history traits of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pest Science*, 83 (1): 165–172.
- Silva, D. B., Bueno, V. H. P., Montes, F. C., Van Lenteren, J. C. (2016). Population grown of three mirid predatory bugs feeding on eggs and larvae of *Tuta absoluta* on tomato. *BioControl*, 61 (1): 545–553.

- Smith, C. R., Heinz, K. M., Sansone, C. G., Flexner, J. L. (2000). Impact of recombinant baculovirus applications on target heliothines and non-target arthropods in cotton. *Biological Control*, 19 (3): 201-214.
- Vasconcelos, S. D. (2001). Ecología de los baculovirus, p. 143-201. En: Caballero, P., López-Ferber, M., Williams T. (Eds.), *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Pamplona, Ed. Phytoma/Universidad Pública de Navarra, 518 p.
- Vasconcelos, S. D., Cory, J. S., Wilson, K. R., Sait, S. M., Hails, R. S. (1996). Modified behavior in virus-infected lepidopteran larvae and its impact on the spatial distribution of inoculum. *Biological Control*, 7: 299-306
- Wyckhuys, G. A. K., Lu, K., Morales, H., Vazquez, L. L., Legaspi, C. J., Eliopoulos, A. P., Hernandez, M. L. (2013). Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. *Biological Control*, 65 (1): 152-167.
- Williams (2018). Viruses. En: Hajek, A. E., y Shapiro-Ilan D. I. (I ed) *Ecology of Invertebrate Diseases*, Cornell University, Ithaca New York USA: Ann E. hakek. 213-285 pp.
- Young, S. Y., Kring, T. J. (1991). Selection of healthy and nuclear polyhedrosis virus infected *Anticarsia gemmatilis* [Lep.: Noctuidae] as prey by nymphal *Nabis roseipennis* [Hemiptera: Nabidae] in laboratory and on soybean. *Entomophaga*, 36 (2), 265-273.
- Zamora-Avilés, N., Murillo, R., Lasa, R., Pineda, S., Figueroa, J. I., Bravo-Patiño, A., Martínez, A. M. (2017) Genetic and biological characterization of four nucleopolyhedrovirus isolates collected in Mexico for the Control of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 110 (4): 1465–1475.
- Zheng, X. L., Cong, X. P., Wang, X. P., Lei, C. L. (2011). A review of geographic distribution, overwintering and migration in *Spodoptera exigua* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of the Entomological Research Society* 13 (3), 39-4.