

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA  
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



## **Desarrollo biológico e instalación del mírido depredador *Nesidiocoris tenuis* en el cultivo de tomate con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. como alimento alternativo**

TRABAJO FINAL DE GRADO

EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

Alumno: Miquel Alonso Valiente

Tutor académico: Dr. Ferran García Marí

Cotutor externo: D. José Catalán Estellés

CURSO 2014-2015

Valencia, diciembre de 2014

## Resumen

### Desarrollo biológico e instalación del mírido depredador *Nesidiocoris tenuis* en el cultivo de tomate con quistes desencapsulados de *Artemia sp.* como alimento alternativo.

Valencia, diciembre de 2014

**Alumno:** D. Miquel Alonso Valiente

**Tutor académico:** Dr. Ferran García Marí

**Cotutor experimental:** D. José Catalán Estellés

La polilla *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) provocó grandes daños en el cultivo del tomate tras su detección en 2006. Tras varios años de control químico, se mejoró su gestión integrada gracias a la utilización del depredador *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Hemiptera: Miridae). Actualmente *N. tenuis* se está utilizando en la mayoría de invernaderos del sudeste español, por lo que varias empresas lo crían de forma masiva utilizando huevos de la polilla de la harina *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) como alimento. Para un control eficaz de la *T. absoluta*, *N. tenuis* debe estar instalado en el cultivo de tomate antes de la llegada de la plaga. Para instalarse el depredador debe tener a su disposición alimento alternativo para lo que se esparcen huevos de *E. kuehniella* sobre las hojas del tomate. Esta adición de alimento alternativo resulta eficaz pero aumenta los costes de instalación ya que el valor de estos huevos es elevado.

Este trabajo plantea el uso de un alimento alternativo, los quistes desencapsulados de *Artemia sp.*, tanto para la cría de *N. tenuis* como para su posterior instalación en campo. Los quistes desencapsulados de *Artemia sp.* son un producto comúnmente utilizado para la alimentación de peces en acuarios domésticos y su coste es mucho menor que los huevos de *E. kuehniella*. Para ello se llevaron a cabo: a) un estudio de laboratorio donde se compararon varios parámetros biológicos de *N. tenuis* cuando se alimentó de quistes desencapsulados de *Artemia sp.* y de huevos de *E. kuehniella*; y b) un estudio de campo donde se comparó la instalación de *N. tenuis* cuando se aplicaron estos dos alimentos alternativos por separado.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los quistes desencapsulados de *Artemia sp.* pueden ser un alimento alternativo tanto para la cría de *N. tenuis*, que puede completar su desarrollo biológico alimentándose exclusivamente de los quistes, como para su posterior instalación en campo en condiciones de escasez de plaga.

Palabras clave: gestión integrada de plagas, control biológico, *Tuta absoluta*, enemigos naturales, sueltas masivas.

## Abstract

### **Biological development and field establishment of the predatory mirid *Nesidiocoris tenuis* in tomato crop with decapsulated cysts of *Artemia sp.* as alternative food**

Valencia, December 2014

**Student:** Mr. Miquel Alonso Valiente

**Academic tutor:** Dr. Ferran García Marí

**External cotutor:** Mr. José Catalán Estellés

*Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) caused great damage in tomato crops during the first years after its introduction in 2006. After several years using insecticides, its integrated management was improved via the use of the predatory mirid *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Hemiptera: Miridae). *N. tenuis* is currently used in southeastern Spanish greenhouses. This predator is reared by several companies using the eggs of the mill moth, *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) as food source. For the effective control of *T. absoluta*, *N. tenuis* must be established on the tomato crop before the arrival of the pest. For this purpose, the predator needs an alternative food source. Generally, the eggs of *E. kuehniella* are also spread on the leaves of the tomato plant. This treatment is effective but it increases the cost of the control because of the high price of the eggs.

Herein, I studied the use of an alternative food source, decapsulated *Artemia sp.* cysts, for rearing *N. tenuis* and for subsequent field establishment. Decapsulated *Artemia sp.* cysts are commonly used to feed fish in domestic aquariums and they are more economic than *E. kuehniella* eggs. For this purpose, two assays were carried out: a) laboratory study where various biological parameters of *N. tenuis* were compared when fed on decapsulated *Artemia sp.* cysts and *E. kuehniella* eggs; and b) field study where the establishment of *N. tenuis* was compared when both food sources were spread (separately).

The results obtained in this work demonstrate that the decapsulated *Artemia sp.* cysts can be used as an alternative food source for rearing *N. tenuis*, as it can complete its biological development feeding exclusively on the cysts, and for improving its establishment in greenhouses.

**Key words:** integrated pest management, biological control, *Tuta absoluta*, natural enemies, mass releases.

## Índice

1. Introducción .....	1
1.1. El cultivo del tomate .....	1
1.1.1. Importancia económica.....	1
1.2 La polilla del tomate <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) .....	3
1.2.1 Descripción y ciclo biológico .....	3
1.2.2. Sintomatología y daños.....	5
1.2.3. Control de <i>Tuta absoluta</i> .....	6
1.3. El mírido depredador <i>Nesidiocoris tenuis</i> .....	7
1.3.1 Descripción y ciclo biológico de <i>Nesidiocoris tenuis</i> .....	7
1.3.2. Régimen alimenticio.....	10
1.3.4. Estrategias de manejo de <i>Nesidiocoris tenuis</i> en el cultivo del tomate.....	11
2. Justificación y objetivos.....	13
3. Material y métodos .....	14
3.1. Material vegetal .....	14
3.2. <i>Nesidiocoris tenuis</i> .....	14
3.3. Dietas.....	14
3.4. Efecto de los quistes de <i>Artemia</i> sp. en el tiempo de desarrollo , supervivencia de las ninfas y descendencia de <i>N. tenuis</i> .....	16
3.5. Efecto de la adición de quistes de <i>Artemia</i> sp. en la instalación de <i>N. tenuis</i> en invernadero de tomate .....	17
3.6. Análisis estadístico .....	19
4. Resultados y discusión .....	21
4.1. Efecto de los quistes de <i>Artemia</i> sp. en el tiempo de desarrollo , supervivencia de las ninfas y descendencia de <i>N. tenuis</i> .....	21
4.2. Efecto de la adición de quistes de <i>Artemia</i> sp. en la instalación de <i>N. tenuis</i> .....	23
5. Conclusiones.....	28
6. Bibliografía .....	29

## Índice de figuras

Figura 1. Huevos de <i>Tuta absoluta</i> .....	4
Figura 2. Larva de <i>Tuta absoluta</i> .....	4
Figura 3. Pupa de <i>Tuta absoluta</i> .....	4
Figura 4. Dimorfismo sexual de <i>Tuta absoluta</i> . El macho a la izquierda, la hembra a la derecha.5	
Figura 5. Daño producido por <i>Tuta absoluta</i> . Galerías translúcidas producidas alimentarse del mesófilo.....	5
Figura 6. Daño producido por <i>Tuta absoluta</i> en plantas de tomate.....	6
Figura 7. Daño producido por <i>Tuta absoluta</i> sobre fruto de tomate .....	6
Figura 8. Ciclo biológico de <i>Nesidiocoris tenuis</i> (Fuente: G. Tapia. IFAPA, Almería).....	8
Figura 9. A) Huevo de <i>Nesidicoris tenuis</i> en un tallo de planta de tomate, B) eclosión de un huevo de <i>Nesidiocoris tenuis</i> .....	8
Figura 10. Ninfa de <i>Nesidicoris tenuis</i> de primer estadio (N <sub>1</sub> ) .....	9
Figura 11. Ninfa de tercer estadio (N <sub>3</sub> ) de <i>Nesidiocoris tenuis</i> . .....	9
Figura 12. Adulto de <i>Nesidicoris tenuis</i> . .....	10
Figura 13. Daños provocados por <i>Nesidicoris tenuis</i> en tallos apicales tomate: .....	11
Figura 14. Bote comercial de <i>Nesidicoris tenuis</i> .....	14
Figura 15. Bote comercial de <i>Ephestia kuehniella</i> . .....	14
Figura 16. Bote comercial de quistes de <i>Artemia</i> sp.....	15
Figura 17. Solución de quistes de <i>Artemia</i> sp. hidratándose.....	15
Figura 18. Solución de quistes de <i>Artemia</i> sp. desencapsulados.....	16
Figura 19. Placa Petri con disco de hoja de tomate. ....	16
Figura 20. Brote apical de tomate.....	17
Figura 21. Jaula tipo tienda de campaña donde se introdujeron las plantas junto con el alimento y <i>Nesidicoris tenuis</i> durante el pretrasplante.....	18
Figura 22. Jaulas de malla dentro del invernadero. ....	18
Figura 23. Plantas de tomate en las jaulas de malla dentro del invernadero.....	19
Figura 24. Planta de tomate con <i>Artemia</i> sp. como alimento para <i>Nesidiocoris tenuis</i> . .....	19
Figura 25. Supervivencia (% ± ES) de los diferentes estadios ninfales de <i>Nesidiocoris tenuis</i> alimentados exclusivamente con quistes desencapsulados de <i>Artemia</i> sp. o huevos de <i>Ephestia kuehniella</i> . .....	219
Figura 26. Tiempo de desarrollo de las ninfas de <i>N. tenuis</i> (media ± SE) desde que emergieron (<24 horas de edad), hasta que alcanzaron el estado adulto cuando fueron alimentadas exclusivamente con quistes desencapsulados de <i>Artemia</i> sp. o huevos de <i>Ephestia kuehniella</i> . .....	22
Figura 27. Descendencia cada 5 días (número de ninfas por hembra) de <i>Nesidicoris tenuis</i> cuando fue alimentado con quistes desencapsulados de <i>Artemia</i> sp o huevos de <i>Ephestia kuehniella</i> ... ..	22

Figura 28. Número de ninfas de *Nesidicoris tenuis* (media  $\pm$  ES) en el tercio apical de las plantas cuando se liberó *Nesidiocoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).. ..... 24

Figura 29. Número de adultos de *N. tenuis* (media  $\pm$  ES) en el tercio apical de las plantas cuando se liberó *Nesidicoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).. ..... 24

Figura 30. Número de anillos necróticos (media  $\pm$  ES) por planta cuando se liberó *Nesidicoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).. ..... 25

Figura 31. Número de frutos (media  $\pm$  ES) por planta cuando se liberó *Nesidicoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).. ..... 25

Figura 32. Peso (media  $\pm$  ES) por planta cuando se liberó *Nesidicoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control). Las mismas letras sobre las barras, indican que no hubo diferencias significativas ( $P > 0,05$ )..... 26

## Índice de tablas

Tabla 1. Principales plagas del tomate y sus enemigos naturales (Velden et al., 2012).....	2
Tabla 2. Valores de la probabilidad para los contrastes del número de ninfas, adultos y anillos necróticos por planta para los tratamientos (E: huevos de <i>Ephestia kuehniella</i> ; A: quistes desencapsulados de <i>Artemia</i> sp. y C: Control). Cuando aparecieron diferencias estadísticas se realizó un DMS post hoc test ( $P < 0,05$ ). .....	27
Tabla 3. Valores de la probabilidad para los contrastes del número de frutos y peso de frutos por planta, para los tratamientos (E: huevos de <i>Ephestia kuehniella</i> ; A: quistes desencapsulados de <i>Artemia</i> sp. y C: Control). Cuando aparecieron diferencias estadísticas se realizó un DMS post hoc test ( $P < 0,05$ ). .....	27

## **1. Introducción**

### **1.1. El cultivo del tomate**

#### **1.1.1. Importancia económica**

El cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) es el producto hortícola con mayor importancia económica a nivel mundial. En el año 2012 se obtuvo una producción de 161.793.834 toneladas (FAOSTAT,2012).

España produce 4.000.700 toneladas (FAOSTAT,2012) dedicando una superficie de 72.712 ha (MAGRAMA, 2012) siendo tras Italia, el mayor productor de la Unión Europea y el séptimo a nivel mundial (FAOSTAT, 2012).

#### **1.1.2. Principales fitófagos del cultivo del tomate y su control**

Son muchos los fitófagos que pueden alcanzar la categoría de plaga en el cultivo del tomate: los lepidópteros *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Chrysodeixes chalcites* (Esper), *Spodoptera exigua* (L.) y *Lacanobia oleracea* L. (Lepidoptera: Noctuidae); el trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) que transmite el virus del bronceado del tomate (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV); los minadores de hoja del género *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae); los ácaros *Tetranychus evansi* Baker y Pritchard (Acari: Tetranychidae) y *Aculops lycopersici* (Masse) (Acari: Eriophyidae); la cochinilla *Pseudococcus viburni* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), diversas especies de pulgones (Hemiptera: Aphididae) y las moscas blancas *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). **(Tabla 1).**

Tradicionalmente, la mosca blanca *B. tabaci* ha sido considerada la plaga clave del cultivo del tomate en España por su capacidad para transmitir el “virus de la cuchara” (Tomato Yellow Leaf Curl Virus, TYLCV y Tomato Yellow Leaf Curl Sardinia Virus, TYLCSV) que provoca grandes pérdidas económicas. El control biológico mediante sueltas de depredadores y parasitoides juega un papel muy importante en la gestión integrada de plagas de tomate tanto en cultivos al aire libre como en invernadero (Gabarra et al., 2008). En la tabla 1 se detallan los enemigos naturales que se utilizan o han utilizado en el control biológico de plagas de tomate.

A finales del 2006 se detectó en la provincia de Castellón la presencia de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Urbaneja et al., 2007), convirtiéndose junto a *B. tabaci* en otra plaga clave para este cultivo.



**Tabla 1.** Principales plagas del tomate y sus enemigos naturales (Velden et al., 2012).

Fitófago	Enemigo natural
<p><u>Mosca blanca</u> <i>Bemisia abaco</i> (Gennadius) (Hemiptera: Aleurodidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Eretmocerus mundus</i> Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae)</li> <li>- <i>Eretmocerus eremicus</i> Rose &amp; Zolnerovich (Hymenoptera: Aphelinidae)</li> <li>- <i>Encarsia Formosa</i> (Gaham) (Hymenoptera: Aphelinidae)</li> <li>- <i>Verticillium lecanii</i></li> </ul>
<p><u>Mosca blanca</u> <i>Trialeurodes vaporariorum</i> Westwood (Hemiptera: Aleurodidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Eretmocerus mundus</i> Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae)</li> <li>- <i>Eretmocerus eremicus</i> Rose &amp; Zolnerovich (Hymenoptera: Aphelinidae)</li> <li>- <i>Encarsia Formosa</i> (Gaham) (Hymenoptera: Aphelinidae)</li> <li>- <i>Verticillium lecanii</i></li> </ul>
<p><u>Trips</u> <i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande) (Thysanoptera : Thripinae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Amblyseius cucumeris</i> (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae)</li> <li>- <i>Hypoaspis miles</i> (Berlese) (Acari: Laelapidae)</li> <li>- <i>Hypoaspis aculeifer</i> (Canestrini) (Acari : Laelapidae)</li> </ul>
<p><u>Minador</u> <i>Liriomyza trifolii</i> (Burgess) (Diptera : Agromycidae) <i>L. strigata</i> (Meigen) (Diptera : Agromycidae) <i>L. bryoniae</i> (Spencer) (Diptera : Agromycidae) <i>L. huidobrensis</i> (Blandchar)(Diptera: Agromycidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Diglyphus isaea</i> (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae)</li> <li>- <i>Dacnusa sibirica</i> Telenga (Hymenoptera: Braconidae)</li> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> </ul>
<p><u>Minador</u> <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Trichogramma achaeae</i> Nagaraja and Nagarkatti</li> <li>- <i>Necremnus artynes</i> (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae)</li> <li>- <i>Bacillus thuringiensis</i></li> </ul>
<p><u>Orugas</u> <i>Helicoverpa armigera</i> Hübner (Lepidoptera : Noctuidae) <i>Chrysodeixes chalcites</i> (Esper) <i>Autographa gamma</i> (Lepidoptera : Noctuidae) <i>Lacanobia oleracea</i> Linnaeus (Lepidoptera : Noctuidae) <i>Spodoptera littoralis</i> (Boisduval) (Lepidoptera : Noctuidae) <i>Spodoptera exigua</i> (Lepidoptera : Noctuidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Bacillus thuringiensis</i></li> </ul>
<p><u>Pulgón</u> <i>Aphis gossypii</i> Glover (Hemiptera: Aphididae) <i>Aphis fabae</i> Scopoli (Hemiptera: Aphididae) <i>Aphis craccivora</i> Koch (Hemiptera: Aphididae) <i>Myzus persicae</i> Sulzer (Hemiptera: Aphididae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Aphidius colemani</i> (Haliday) (Hymenoptera: Aphidiidae)</li> <li>- <i>Aphidoletes aphidimyza</i> (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae)</li> <li>- <i>Episyrphus balteatus</i> DeGeer (Diptera: Syrphidae)</li> <li>- <i>Adalia bipunctata</i> Linneo (Coleoptera : Coccinellidae)</li> </ul>
<p><u>Pulgón</u> <i>Macrosiphum euphorbiae</i> Thomas(Hemiptera : Aphididae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Aphelinus abdominalis</i> (Dalman)</li> <li>- <i>Aphidius ervi</i> (Haliday) (Hymenoptera: Aphidiidae)</li> <li>- <i>Aphidoletes aphidimyza</i> (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae)</li> <li>- <i>Episyrphus balteatus</i> DeGeer (Diptera: Syrphidae)</li> <li>- <i>Adalia bipunctata</i> Linneo (Coleoptera : Coccinellidae)</li> </ul>
<p><u>Acaro</u> <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari: Tetranychidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Feltiella acarisuga</i> (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae)</li> <li>- <i>Phytoseiulus persimilis</i> (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae)</li> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> </ul>
<p><u>Acaro</u> <i>Tetranychus evansi</i> Baker &amp; Pritchard (Acari: Tetranychidae)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Feltiella acarisuga</i> (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae)</li> <li>- <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter (Hemiptera: Miridae)</li> <li>- <i>Macrolophus pygmaeus</i> (Rambur) (Hemiptera: Miridae)</li> </ul>

## **1.2 La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**

*Tuta absoluta* es un microlepidóptero originario de Centroamérica que está presente en Sudamérica desde principios de 1980, siendo una de las plagas más devastadoras del cultivo del tomate y otras solanáceas en diversos países sudamericanos (Barrientos et al., 1998; Estay, 2000; EPPO, 2008).

Detectada en España en 2006 (Urbaneja et al., 2007), se expandió rápidamente hacia otros países del centro de Europa y de la Costa Mediterránea incluyendo el Norte y Medio-Este de África (Desneux et al., 2011). Su elevado potencial reproductivo y la ausencia inicial de enemigos naturales que pudiesen regular sus poblaciones, la convirtió en una plaga clave del cultivo del tomate en todas las regiones que ha colonizado (Desneux et al., 2011).

La aparición de *T. absoluta* en España desestabilizó las estrategias de manejo integrado de plagas en el cultivo del tomate (van der Blom et al., 2009) porque inicialmente su control se basó en el uso de insecticidas (Bielza, 2010). La posterior aparición de enemigos naturales autóctonos ha permitido redirigir el control de *T. absoluta* hacia estrategias de gestión integrada de plagas basada en el control biológico (Urbaneja et al., 2008; Arnó et al., 2009; Monserrat, 2009a; Urbaneja et al., 2009; Calvo et al 2010; Mollá et al., 2010; Gonzalez-Cabrera et al., 2011).

### **1.2.1 Descripción y ciclo biológico**

Su ciclo biológico presenta cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto.

El huevo mide 0,4 mm de largo y 0,2 mm de diámetro y es de forma ovalada. Recién puesto presenta una coloración blanco cremoso tornándose amarillo- anaranjado en pleno desarrollo y de color oscuro conforme se aproxima el momento de la eclosión (Estay, 2000) (**Figura 1**).

La larva comprende cuatro estadios bien definidos y diferenciados en tamaño y color (Vargas, 1970) (**Figura 2**). Tras la eclosión, la larva de primer estadio mide 1,6 mm y es de color crema con la cabeza de color oscuro. Conforme va alimentándose y aumentando de tamaño, su color va virando a verde, más ligero en el segundo estadio de unos 2,8 mm. A medida que va aumentando en tamaño, adquiere una tonalidad verdosa según se acerca al tercer estadio el cual ya alcanza los 4,7 mm. En el cuarto estadio aparece una mancha de color rojizo a nivel dorsal que se extiende longitudinalmente desde los ocelos hasta el margen posterior del cuerpo. En este último estadio la larva se prepara para pupar (precrisálida), deja de comer, y generalmente se deja caer al suelo por medio de un hilo de seda para completar allí el estado de pupa.

La pupa tiene forma cilíndrica y coloración verdosa cuando está recién formada, tornándose color café oscura tal y como avanza el desarrollo (Estay, 2000). Mide unos 4,3 mm de largo y 1,1 mm de diámetro (Vargas, 1970). La mayoría de las veces aparece cubierta por un capullo blanco y sedoso (Apablaza, 1992). (**Figura 3**).

Los adultos, de unos 7 mm de longitud y una envergadura alar de 10 mm en los machos y 11 mm en las hembras, presentan antenas largas y filiformes (Larraín, 1987). Las alas anteriores adquieren un color gris oscuro jaspeado con manchas pardas, mientras las alas posteriores presentan un color gris brillante (Vargas, 1970). Suelen permanecer escondidos durante el día,

presentando mayor actividad matinal-crepuscular. Las hembras presentan el abdomen de color café cremoso, y más ancho y voluminoso que los machos (Estay, 2000) (**Figura 4**). La dispersión se realiza en estado adulto llegando a los cultivos por el vuelo.



**Figura 1.** Huevos de *Tuta absoluta*



**Figura 2.** Larva de *Tuta absoluta*



**Figura 3.** Pupa de *Tuta absoluta*



**Figura 4.** Dimorfismo sexual de *Tuta absoluta*. El macho a la izquierda, la hembra a la derecha.

### **1.2.2. Sintomatología y daños**

*Tuta absoluta* está presente durante todo el ciclo de cultivo y las larvas de este lepidóptero son capaces de alimentarse tanto de hojas, como de flores, frutos y tallos. Puede producir pérdidas de hasta el 100% en tomate destinado para el consumo en fresco en ausencia de estrategias de control que puedan regular sus poblaciones (Mollá et al., 2013).

Tras la eclosión del huevo, el primer estadio larvario busca un punto de entrada en las hojas y tras penetrar entre las dos epidermis, en su avance, consume el mesófilo dejando áreas translúcidas denominadas galerías donde se alimenta y desarrolla (**Figura 5**) (Uchoa-Fernandez et al., 1995). En ocasiones, la larva sale de la galería en que se encuentra para atacar otras hojas aumentando así el daño en la planta (Estay, 2000; Urbaneja et al., 2008). La larva puede atacar también brotes, flores y frutos (**Figuras 6 y 7**), pero prefiere las hojas en formación y los racimos florales (López, 1991). Este fitófago ataca a los frutos en estado inmaduro preferentemente por su extremo peduncular. Sobre el fruto realiza galerías que provocan deformaciones y facilitan el ataque de agentes patógenos, potenciando su pudrición, además de dejarlos inservibles comercialmente (Apablaza, 1992). En ocasiones, la larva puede salir de un fruto para alimentarse de otro dentro de un mismo racimo (López, 1991). La presencia de tallos perforados y brotes dañados es menor que la presencia de minas en la hoja. Las perforaciones en el tallo se producen en la inserción de las hojas o pedúnculos de los tomates. La larva prefiere los brotes de la parte apical de la planta. Las plantas de tomate pueden ser atacadas en cualquier estado de desarrollo, desde plantas de semillero hasta plantas maduras (Mollá et al., 2010).



**Figura 5.** Daño producido por *Tuta absoluta*. Galerías translúcidas producidas alimentarse del mesófilo



Figura 6. Daño producido por *Tuta absoluta* en plantas de tomate

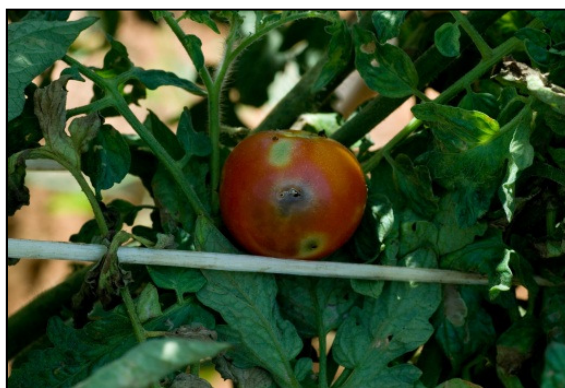


Figura 7. Daño producido por *Tuta absoluta* sobre fruto de tomate.

### **1.2.3. Control de *Tuta absoluta***

Tras la detección de *T. absoluta* en España su control químico se basó principalmente en el uso de dos insecticidas, spinosad e indoxacarb. Posteriormente se utilizaron otros insecticidas como flubendiamid, emamectin, rynoxapir, abamectina (Araujo-Gonçalves, 2010; Astor, 2010; Espinosa, 2010; Gutiérrez-Giulianotti, 2010; López et al., 2010; Robles, 2010; Torné et al., 2010). Sin embargo la aparición de residuos en frutos de tomate y la posibilidad de crear resistencias por parte de la plaga, junto con la aparición de enemigos naturales que se estaban adaptando a *T. absoluta*, fueron las principales causas que hicieron que dicho control químico se redirigiera a un manejo integrado de plagas en que el control biológico tomase un papel importante (Ortega et al., 2008; Bielza, 2010).

Dentro de estos enemigos naturales, encontramos tanto entomopatógenos, como parasitoides y depredadores.

#### **Entomopatógenos**

A pesar de la eficacia mostrada por las formulaciones basadas en *B. thuringiensis* sobre los lepidópteros (González-Cabrera y Ferré, 2008), el uso de esta bacteria entomopatógena para el control de *T. absoluta* inicialmente se recomendó únicamente cuando los niveles poblacionales de *T. absoluta* eran relativamente bajos (Monserrat, 2009; 2010). Estudios posteriores demostraron que con una aplicación semanal de 90,4 MIU/l se puede controlar *T. absoluta*

durante todo su ciclo y que el uso de *B. thuringiensis* no afecta a la instalación de los míridos depredadores (González-Cabrera et al., 2009 ; Mollá et al., 2011).

### **Parasitoides**

En la región mediterránea se han detectado varios parasitoides de huevos, como es el caso de *Trichogramma achaeae* (Narajana y Nagarkatti) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Además se han encontrado varios parasitoides de larvas como *Necremnus artynes* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) que se ha encontrado parasitando espontáneamente larvas de *T. absoluta* en diferentes áreas de la cuenca mediterránea (Mollá et al., 2008) y también *Stenomesus cf. japonicus* (Ashmead) (Hymenoptera: Eulophidae). Estos dos últimos son ectoparasitoides e idiobiontes que parasitan el segundo y tercer estadio de *T. absoluta*. Además, *Neochrysocharis formosa* (Weestwood) (Hymenoptera: Eulophidae) ha sido identificado como un parasitoide potencial de larvas de *T. absoluta* en la misma área (Lara et al., 2010) y *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) se ha observado parasitando larvas en muestras provenientes de campo (Urbaneja et al., 2012).

### **Depredadores**

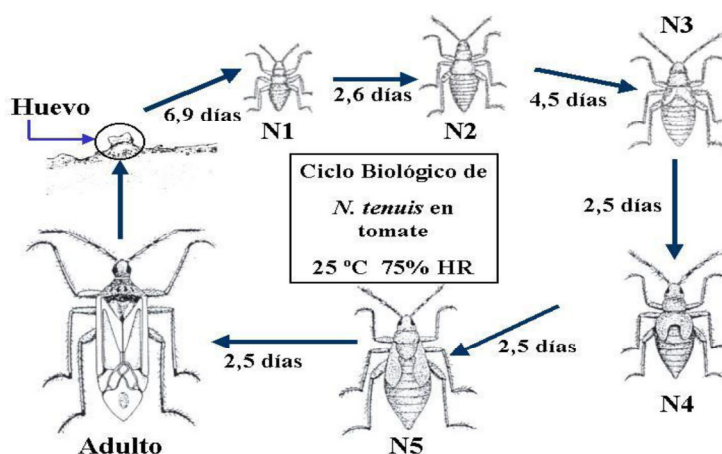
Se han identificado varios depredadores sobre *T. absoluta*: *Nesidiocoris tenuis* Reuter, *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) y *Dicyphus maroccanus* (Wagner) (Hemiptera: Miridae), *Orius majusculus* (Reuter) y *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthracoridae), *Nabis pseudoferus* (Remane) (Hemiptera: Nabidae). De entre todos estos depredadores, *N. tenuis* y *M. pygmaeus* están presentes de forma natural en el cultivo del tomate y han sido observados depredando efectivamente a *T. absoluta* en el cultivo de berenjena. Estos míridos son criados en masa y se utilizan en el control de moscas blancas en el cultivo del tomate mediante estrategias de conservación, sueltas inoculativas o aumento de sus poblaciones (Mollá et al 2013). Ambos depredadores son polítrófagos oportunistas y fueron observados depredando tanto huevos como larvas de *T. absoluta* inmediatamente tras la detección de la plaga (Urbaneja et al., 2009) siendo capaces de depredar más de 100 huevos del lepidóptero en 24 horas. Se ha visto también que cuando *N. tenuis* y *M. pygmaeus* se encuentran bien instalados, son capaces de reducir el daño en foliolo hasta un 97% y un 76% y el daño en fruto hasta un 100% y un 56%, respectivamente (Mollá et al., 2009). Esto evidencia una mayor eficacia de *N. tenuis* en el control poblacional de *T. absoluta* (Mollá et al., 2013).

## **1.3. El mírido depredador *Nesidiocoris tenuis***

### **1.3.1 Descripción y ciclo biológico de *Nesidiocoris tenuis***

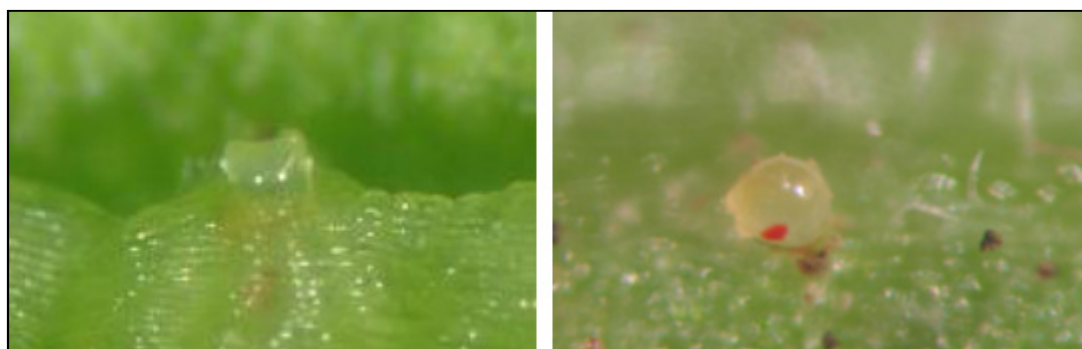
El ciclo de vida de *N. tenuis* comprende tres estados, que son: huevo, ninfa y adulto (El-Dessouki et al., 1976) (**Figura 8**).





**Figura 8.** Ciclo biológico de *Nesidiocoris tenuis* (Fuente: G. Tapia. IFAPA, Almería).

Las hembras insertan los huevos dentro de la epidermis de los tallos y nervios foliares, dejando a la vista solamente la lígula (**Figura 9A**). El huevo según va madurando se aprecia cómo sale fuera del tejido vegetal hasta su eclosión, cuando emerge la ninfa. (**Figura 9B**).



**Figura 9.** A) Huevo de *Nesidiocoris tenuis* en un tallo de planta de tomate, B) eclosión de un huevo de *Nesidiocoris tenuis*.

Este periodo ninfal consta de cinco estadios, al final de cada estadio la ninfa muda desprendiéndose de la exuvia con la ayuda de las patas posteriores. Las ninfas se encuentran principalmente en el ápice y en las hojas de nuevo crecimiento de la planta. En cuanto al desarrollo ninfal, los esbozos alares que se desarrollan paulatinamente son claramente visibles en los dos últimos estadios. Ya desde los primeros estadios las ninfas son muy activas, y únicamente en el momento de la muda son quiescentes.

Los cinco estadios ninfales son:

**Primer estadio (N<sub>1</sub>):** Tiene una longitud media de 1 mm. Es delgado, semitransparente y de un color amarillento, más claro aún en algunas zonas de la cabeza y el tórax. La cabeza es relativamente grande en proporción con el cuerpo, los ojos de color rojo oscuro y situados lateralmente (**Figura 10**). El abdomen es más largo que ancho, con una fila de sedas en cada segmento. Las antenas son de color amarillo pálido y más cortas que el cuerpo. Las patas son largas y de color verde, con las puntas de color castaño oscuro.



**Figura 10.** Ninfa de *Nesidiocoris tenuis* de primer estadio ( $N_1$ ).

**Segundo estadio ( $N_2$ ):** Es de una longitud media de 1,4 mm, de color verde muy claro. La superficie ventral es de un verde algo más oscuro y en algunos individuos tiene un tinte rojizo en las uniones de los segmentos abdominales. Los segmentos torácicos son más largos que en  $N_1$  y el abdomen se segmenta indistintamente. El cuarto artejo antenal es más largo que los demás. Las patas son largas y de un color amarillo pálido.

**Tercer estadio ( $N_3$ ):** Su tamaño oscila alrededor de 1,75 mm. Es de color verde amarillento. Los esbozos alares empiezan a ser visibles (**Figura 11**). Las antenas son del mismo color que el cuerpo, con los segmentos iguales y con la parte basal de un color castaño claro. La segmentación del abdomen es aún más clara. Las patas cambian a un color verde claro, con el tarso de un color castaño oscuro.



**Figura 11.** Ninfa de tercer estadio ( $N_3$ ) de *Nesidiocoris tenuis*.

**Cuarto estadio ( $N_4$ ):** Su longitud media es de 2 mm. Los esbozos alares se extienden hasta el segundo o tercer segmento abdominal. La superficie dorsal de tórax es de un color verde amarillento y los artejos de las antenas tienen la base de un color castaño brillante y el resto de color grisáceo. El abdomen es verde amarillento y las patas son de un color verde brillante y con el tarso de un color castaño oscuro.

**Quinto estadio ( $N_5$ ):** Su tamaño es aproximadamente de 2,6 mm y el color varía del verde al verde brillante. Los esbozos alares se extienden hasta el cuarto segmento abdominal y la genitalia empieza a ser visible externamente.

## Adulto



El adulto (**Figura 12**), es alargado, delgado y de color verdoso excepto en las alas donde presenta unas zonas de color castaño oscuro. Los machos se distinguen de las hembras por la genitalia, la hembra presenta forma de T invertida y el macho como un punto negro. El abdomen de la hembra es más grueso, y de forma curva y el del macho es estrecho y liso .



**Figura 12** Adulto de *Nesidiocoris tenuis*.

### **1.3.2. Régimen alimenticio**

La mayor parte de los míridos tienen un régimen alimenticio mixto, zoófago y fitófago. Kullenberg (1946), Dolling (1991) y Gillespie y McGregor (2000) propusieron tres modelos de alimentación simple para explicar el comportamiento zoofitófago de las especies de esta familia:

- ✚ Según el modelo 1, al disminuir la disponibilidad de presa aumenta la fitofagia, que tan sólo se daría cuando la presa escasee y el depredador se vea forzado a cambiar sus hábitos alimenticios. *Nesidiocoris tenuis* se comporta como el modelo 1, ya que se ha observado que su fitofagia es inversamente proporcional a la disponibilidad de presa (Sánchez et al., 2008; Calvo et al., 2009; Arnó et al., 2010).
- ✚ El modelo 2 hace referencia a un aumento de la fitofagia cuando aumenta la disponibilidad de presa. Esta se debería a que la planta aportaría algún recurso, como el agua necesaria para realizar la digestión. El consumo de la presa estaría entonces limitado por el recurso hídrico derivado de la planta. *Dicyphus hesperus* Knight se comportaría como el modelo 2, ya que aumenta el daño en tomate en respuesta a un aumento de la disponibilidad de presa debido a que necesita obtener agua de las plantas para realizarla digestión extra-oral de la presa (Gillespie y McGregor, 2000).
- ✚ Por último en el modelo 3 la fitofagia es independiente a la disponibilidad de presa, ya que el depredador se alimenta de la planta en un ratio constante independiente al consumo de presa. Como ejemplo podemos observar el comportamiento de *Dicyphus tamaninii* Wagner, ya que parece que daña los frutos del tomate independientemente de la presa disponible (Lucas y Alomar, 2002).

Los hábitos alimenticios de las ninfas son semejantes al de los adultos (Goula et al., 1994). Tanto los adultos como las ninfas son muy móviles y buscan a su presa activamente y cuando la encuentran clavan su estilete en el cuerpo de la presa, succionando sus jugos internos. *N. tenuis* es altamente polífago. Entre sus presas se ha citado a moscas blancas, trips, pulgones, minadores, huevos y larvas jóvenes de lepidópteros y arañas rojas entre otros (Jacas et al., 2008, Urbaneja et al., 2003). El tipo de presa tiene un efecto directo sobre la duración del ciclo biológico de *N. tenuis*, observándose que cuando se alimenta de presas no móviles (huevos de la polilla de la harina, *E. kuehniella* y ninfas de *B. tabaci*) la duración es inferior que al

alimentarse de presas móviles [la araña roja, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) y del trips *F. occidentalis*] (Urbaneja et al., 2003).

La disponibilidad de presa es determinante para el desarrollo de *N. tenuis* en el cultivo del tomate. En ausencia de presa, *N. tenuis* no es capaz de completar su ciclo biológico (Urbaneja et al., 2005). Los adultos de *N. tenuis* tienen una menor dependencia por la disponibilidad de presa para sobrevivir en el cultivo que las ninfas, sin embargo, la longevidad de los adultos, así como su fecundidad, se ve muy reducida en ausencia de presa (Urbaneja et al., 2005).

La fitofagia no necesariamente implica un daño económico para el cultivo. Aun así, la relación entre la abundancia de este tipo de depredadores con los niveles de daño no es simple, habiéndose observado que la fitofagia de *N. tenuis* está relacionada con la falta de presa alternativa. Por ello, la determinación del papel de estos insectos zoofitófagos dentro del cultivo no es fácil, y cada especie debe evaluarse por separado en relación a las presas presentes y para un cultivo dado (Puchkov, 1961; Wheeler, 2001).

En el cultivo del tomate, *N. tenuis* al alimentarse de la planta puede producir anillos necróticos en los tallos (**Figura 13**), y hojas, abortos florales y punteaduras en el fruto, con la posibilidad de que estos daños en el cultivo reduzcan la producción (Calvo y Urbaneja, 2003).

La intensidad con la que *N. tenuis* se alimenta de la planta de tomate ha sido abordada por varios autores (Sánchez, 2008; Sánchez y Lacasa, 2008; Calvo et al., 2009; Arnó et al., 2010), quienes básicamente concluyen que el daño producido por estos míridos en tomate está directamente relacionado con la abundancia de *N. tenuis*, e inversamente relacionado con la interacción entre el número de *N. tenuis* y el número de presas disponible. Además, los daños también van a estar condicionados por otros factores como pueden ser la variedad de tomate, el estado fisiológico del cultivo y de la época del año.



**Figura 13.** Daños provocados por *Nesidiocoris tenuis* en tallos apicales en planta de tomate

#### **1.3.4. Estrategias de manejo de *Nesidiocoris tenuis* en el cultivo del tomate**

En los programas de gestión integrada de plagas de tomate existen dos tipos de introducción de *N. tenuis* en el cultivo descritos por diversos autores (Avilla et al., 2004; Calvo et al., 2009; Mollá et al 2013).

##### **a) Introducciones post-trasplante**

Ha sido la estrategia más común en el cultivo de tomate en invernadero, se liberan los míridos en el cultivo la 4<sup>a</sup>-5<sup>a</sup> semana después del trasplante. La dosis de *N. tenuis* es de 1-2

individuos/m<sup>2</sup>, preferentemente repartidos en dos semanas consecutivas. Para la correcta instalación del depredador en el cultivo se suelen aportar huevos de *E. kuehniella*.

#### **b) Introducción en los semilleros**

Consiste en introducir los míridos en el semillero 5-7 días antes de realizar el trasplante que se mantendrá en un recinto adecuado para evitar la fuga del depredador, de manera que las hembras tengan suficiente tiempo para realizar la puesta en las plantas.

La dosis a utilizar de *N. tenuis* será de 0,25-0,5 individuos/ planta. Como alimento también se ofrece huevos de *E. kuehniella*. De este modo, se consigue que al trasplantar en el cultivo una semana después, las plantas lleven consigo puestas de *N. tenuis*, lo que garantiza una aparición homogénea de ninfas del insecto. Este sistema está implantándose cada vez más en las zonas productoras de tomate, en Almería en la campaña 2011-2012 más de 8000 ha de cultivo emplearon este sistema de introducción de *N. tenuis* (Calvo et al., 2012).

Para el buen funcionamiento de estas estrategias es necesario la ausencia de plaguicidas tanto en semillero como en el cultivo que puedan afectar a la instalación de *N. tenuis*.

## **2. Justificación y objetivos**

*Nesidiocoris tenuis* es un depredador muy efectivo en el control de moscas blancas y de *T. absoluta* en el cultivo de tomate, y necesita estar instalado en el cultivo antes que se produzca la explosión de la plaga. Para ello requiere de una fuente de alimento que le ayude a aumentar sus poblaciones.

Comúnmente se utilizan como alimento los huevos de la polilla de la harina *E. kuehniella* para la cría de *N. tenuis* y para su posterior instalación en campo/invernadero. Para ello se esparcen los huevos sobre las hojas de las plantas. De esta forma, el depredador dispone de alimento y puede ir aumentando sus poblaciones hasta alcanzar el nivel necesario para controlar a la plaga. El problema que presenta el uso de los huevos de *E. kuehniella* tanto en cría como en campo es su elevado coste.

Los quistes desencapsulados de *Artemia sp.* son utilizados en la alimentación de peces de acuarios domésticos, su coste es mucho menor a los huevos de *E. kuehniella* y su aplicación sobre el cultivo es más sencilla. Los quistes desencapsulados de *Artemia sp.* han dado buenos resultados en cuanto al desarrollo biológico y la reproducción de otros depredadores como *Orius laevigatus* y *M. pygmaeus* (Arijs et al., 2001; De Clerq et al., 2005; Castañe et al., 2006; Vandekerkhove et al. 2009).

Por todo ello los objetivos de este trabajo fueron:

- Evaluar y comparar el desarrollo biológico y la descendencia de *N. tenuis* cuando se alimenta de quistes desencapsulados de *Artemia sp.* y huevos de *E. kuehniella*.
- Evaluar y comparar la instalación de *N. tenuis* cuando se utilizan quistes desencapsulados de *Artemia sp.* y huevos de *E. kuehniella* como fuente de alimento alternativo en invernaderos de tomate.

### **3. Material y métodos**

#### **3.1. Material vegetal**

El material vegetal usado en los experimentos fueron plantas de tomate de seis semanas de edad y sin tratamientos fitosanitarios de la variedad Óptima (Seminis Vegetable Seeds, Inc, Almería, España).

#### **3.2. *Nesidiocoris tenuis***

Los individuos de *N. tenuis* utilizados procedían de las crías masivas en cautividad de Koppert Biological Systems S. L. (Nesibug®, Koppert BS, Águilas, Murcia). Estos individuos se recibían en botes de 500 individuos adultos (**Figura 14**) con una edad inferior a 3 días.



**Figura 14.** Bote comercial de *Nesidiocoris tenuis*.

#### **3.3. Dietas**

Los huevos de *E. kuehniella* utilizados provenían de Koppert Biological Systems S. L. (Entofood®, Koppert BS, Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) (**Figura 15**).

El precio de venta al público aproximado de *E. kuehniella* es de 2.500 euros /kg.



**Figura 15.** Bote comercial de *Ephestia kuehniella*.

*Artemia* sp. es un pequeño crustáceo filtrador, propio de hábitats acuáticos de elevada salinidad, que se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo. Se alimenta principalmente de plancton, detritus y materia orgánica en suspensión.

Los quistes de *Artemia* sp. (Ocean Nutrition™) (**Figura 16**) se comercializan deshidratados y encapsulados y se utilizan comúnmente para alimentar peces de acuarios domésticos. El precio de venta al público aproximado de *Artemia* sp es de 200 euros/kg.

Para su utilización se deben hidratar y desencapsular. Para su hidratación se colocaron 100 gramos de estos quistes en 2 litros de agua destilada durante un periodo de 20 minutos (**Figura 17**). Una vez hidratados se procedió a su desencapsulado. Para ello, se añadió 0,5 litros de hipoclorito sódico (lejía comercial apta para purificar agua de bebida) a los quistes hidratados, sin eliminar el agua destilada. La variación de color, virando de marrón a naranja, indica el desencapsulado (**Figura 18**). Posteriormente se limpiaron con tiosulfato de sodio (Panreac®) para eliminar cualquier resto de hipoclorito sódico que pueda quedar en los quistes (40 gramos de tiosulfato de sodio por litro de agua) durante 30 minutos. Tanto la hidratación, como el desencapsulado y la limpieza con tiosulfato de sodio se llevaron a cabo en un agitador (sin aplicar calor).



**Figura 16.** Bote comercial de quistes de *Artemia* sp.



**Figura 17.** Solución de quistes de *Artemia* sp. hidratándose



Figura 18. Solución de quistes de *Artemia* sp. desencapsulados.

### **3.4. Efecto de los quistes de *Artemia* sp. en el tiempo de desarrollo , supervivencia de las ninfas y descendencia de *N. tenuis***

Ninfas recién emergidas (edad < 24 horas) de *N. tenuis* se individualizaron en una placa Petri de 60 cm de diámetro con un disco de hoja de tomate de 40 cm de diámetro (Figura 19) sobre el cual se ofrecieron *ab libitum* y siempre en exceso los dos alimentos: quistes desencapsulados de *Artemia* sp., y huevos de *E. kuehniella*. Además en los dos tratamientos se ofreció agua en un algodón mojado. Las placas se mantuvieron a temperatura constante (25°C) y fotoperiodo 16:8 (luz:oscuridad).



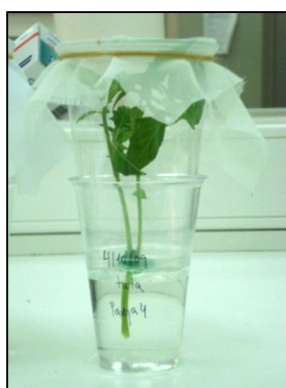
Figura 19. Placa Petri con disco de hoja de tomate

Diariamente, las ninfas se cambiaban a una nueva placa Petri que alcanzaban el estado adulto. Antes de realizar el cambio, se comprobaba el estadio ninfal en que se encontraba el individuo. La presencia de la exuvia se usó como indicador de cambio de estadio ninfal.

Este ensayo se utilizó para evaluar la supervivencia ninfal y el tiempo total de desarrollo desde el nacimiento hasta alcanzar el estado adulto cuando se alimentaron de huevos de *E. kuehniella* y quistes de *Artemia* sp.

Los adultos recién emergidos provenientes del ensayo anterior se juntaron por parejas. Cada pareja se liberó dentro de un vaso de plástico (370 cm<sup>3</sup>) donde había un brote apical tierno de planta de tomate (14 cm aprox.) (**Figura 20**) con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o huevos de *E. kuehniella ab libitum*.

Este vaso de plástico se introducía en otro más pequeño (230 cm<sup>3</sup>) que contenía agua hasta la mitad del vaso (**Figura 20**). En la base del vaso superior se realizó un agujero por donde se introdujo el brote de tomate, para que entrara en contacto con el agua del vaso inferior (Sánchez et al. 2009). El brote se sujetó con plastilina. El vaso superior se cerró con un trozo de muselina (10 x 10 cm) y se sujetaba con una goma elástica para evitar que los adultos se escaparan.



**Figura 20.** Brote apical de tomate

Cada cinco días las parejas se cambiaban a un vaso con un brote nuevo y se ofrecían de nuevo los diferentes alimentos *ab libitum*. Este proceso se realizó durante los primeros 15 días de vida de las hembras. Los machos muertos eran repuestos. Los vasos cambiados se dejaban evolucionar en las mismas condiciones climáticas que las descritas en el ensayo de supervivencia y desarrollo. Pasados diez días tras el cambio se contó el número de ninfas emergidas por repetición (vaso). Esta metodología se utilizó para calcular la descendencia por hembra cada cinco días durante los primeros quince días de vida de la hembra cuando se alimentaron de huevos de *E. kuehniella* y quistes de *Artemia* sp.

### **3.5. Efecto de la adición de quistes de *Artemia* sp. en la instalación de *N. tenuis* en invernadero de tomate**

Tras los resultados del primer ensayo, se decidió llevar a cabo el siguiente ensayo para determinar si los quistes de *Artemia* sp. se podían utilizar como alimento alternativo para mejorar la instalación de *N. tenuis*.

Para liberar *N. tenuis* en semillero, las bandejas de plantas de tomate libres de tratamientos fitosanitarios se introdujeron en jaulas de malla tipo tienda de campaña (BugDorma-2; MegaView Science Co., Ltd.; Taichung, Taiwan) (**Figura 21**) y se mantuvieron durante 7 días a 25°C y 70% HR. Se liberaron 0,5 parejas de *N. tenuis* por planta proporcionándoles la alimentación alternativa correspondiente (tratamiento): *E. kuehniella* (0,1 gramos por planta),



*Artemia* sp. (1 gramo por planta) y control (sin alimentación). Posteriormente las plantas se llevaron a los invernaderos para su trasplante.



**Figura 21.** Jaula tipo tienda de campaña donde se introdujeron las plantas junto con el alimento y adultos de *Nesidiocoris tenuis* durante el pretrasplante.

El invernadero está localizado en el IVIA en Moncada (Valencia, España) y tiene las siguientes características: invernadero de malla equipado con sistema de riego por goteo y fertirrigación. El acceso al invernadero es a través de una puerta doble de malla y está dividido en 24 jaulas de malla antitrips de poliestireno (**Figura 22**) de 220 x 331  $\mu\text{m}$  de intersticios, y el suelo de hormigón. Cada jaula experimental mide 4 x 3 x 3 m y se accede por una puerta cerrada con cremallera. El hecho de que las jaulas experimentales estuviesen totalmente aisladas del exterior evitaron la aparición espontánea de *T. absoluta* u otras plagas, de forma que la instalación de *N. tenuis* estuvo solamente influenciada por el alimento ofrecido.

Una vez en el invernadero, las plantas se individualizaron en macetas de polietileno de una capacidad de 25 l. rellenas con una proporción del 50% de turba, 25% de fibra de coco y un 25% de arena de río y se colocaron en el interior de las jaulas experimentales del invernadero en tres filas de cuatro plantas cada una con un total de 12 plantas por jaula (**Figura 23**).



**Figura 22.** Jaulas de malla dentro del invernadero.



**Figura 23.** Plantas de tomate en las jaulas de malla dentro del invernadero.



**Figura 24.** Planta de tomate con *Artemia* sp. como alimento para *Nesidiocoris tenuis*.

Para realizar este estudio, se seleccionaron 9 jaulas con 12 plantas. Tres jaulas recibieron el mismo tratamiento, quedando así tres repeticiones por tratamiento (12 plantas \* 3 jaulas = 36 plantas por tratamiento). Los tratamientos se distribuyeron al azar dentro del invernadero.

Para determinar la instalación de *N. tenuis* se evaluó el número de *N. tenuis* (adultos y ninfas) y el número de anillos necróticos (en hojas, flores y brotes) en el tercio apical de la planta. Este muestreo se realizó semanalmente (durante 15 semanas) en cuatro plantas elegidas al azar en cada una de las jaulas.

En cosecha, se pesó la cosecha de tomates recolectados en cada uno de los tratamientos.

### **3.6. Análisis estadístico**

Para comparar el tiempo de desarrollo entre ambos alimentos se usó un test t-Student, mientras que la supervivencia de las ninfas se analizó visualmente mediante una curva de supervivencia de Kaplan-Meier y estadísticamente mediante el test de Gehan-Breslow-Wilcoxon. La descendencia (número de ninfas / hembra) se analizó usando un análisis de la varianza (ANOVA). En caso de encontrarse diferencias significativas se usó un test de Bonferroni para comparar las medias.

La evolución del número de ninfas y de adultos de *N. tenuis*, el número de anillos, el número de folíolos atacados, se analizaron mediante un Modelo Lineal Mixto Generalizado. El tratamiento se consideró como efecto fijo y las fechas como efecto aleatorio. Cuando se encontraron diferencias, se realizaron contrastes a pares de los niveles de factor fijo mediante

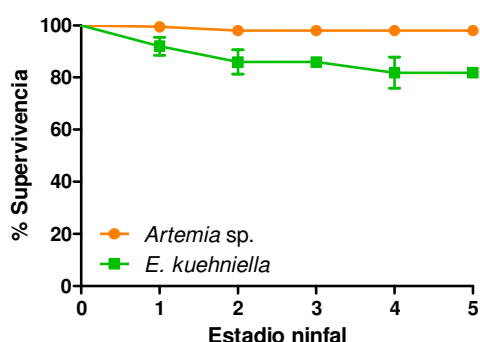
el test de mínimas diferencias significativas (DMS) ( $P < 0,05$ ). El peso de tomates cosechado por planta y el porcentaje de fruto atacado por tratamiento se analizaron mediante una ANOVA. Cuando se encontraron diferencias, se realizó un test de Bonferroni.

Los análisis se realizaron con el software estadístico IBM® SPSS® 163 statistics, version 19.0.0 (SPSS Inc IBM Company 2010).

## 4. Resultados y discusión

### 4.1. Efecto de los quistes de *Artemia* sp. en el tiempo de desarrollo, supervivencia de las ninfas y descendencia de *N. tenuis*

La supervivencia de las ninfas fue significativamente mayor cuando las ninfas se alimentaron con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. como indican los valores del test de Gehan-Breslow-Wilcoxon ( $\chi^2 = 15,55$ ; gl = 1;  $P < 0,05$ ). Un 98% de las ninfas alimentadas con los quistes consiguió alcanzar el estado adulto, frente al 89% que lo consiguió cuando se alimentaron con huevos de *E. kuehniella* (Figura 25).

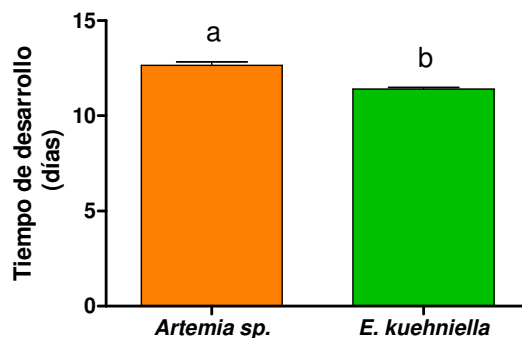


**Figura 25.** Supervivencia (%  $\pm$  ES) de los diferentes estadios ninfales de *Nesidiocoris tenuis* alimentadas exclusivamente con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o huevos de *Ephestia kuehniella*.

En trabajos sobre el mÍrido *M. pygmaeus* alimentado con quistes de *Artemia* sp. Vanderkerkhove *et al.* (2009) obtuvieron menor supervivencia de ninfas (75%) comparado también con huevos de *E. kuehniella*.

En cambio, el tiempo en el que las ninfas completaron su desarrollo fue significativamente más corto con los huevos de *E. kuehniella* como indicaron los resultados del test t-Student ( $t = 6,313$ ; gl = 80;  $P < 0,05$ ). Siendo éste de  $11,4 \pm 0,0$  días cuando el alimento fueron los huevos de *E. kuehniella* y de  $12,7 \pm 0,2$  días cuando se alimentaron con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. (Figura 26).

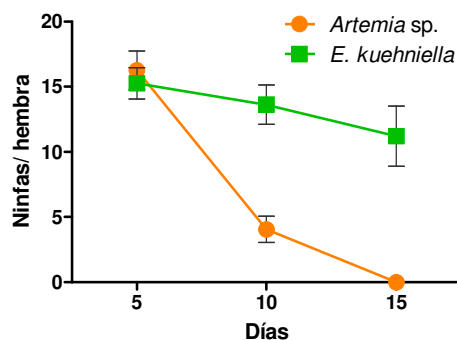
Los resultados obtenidos con huevos de *E. kuehniella* son similares a los obtenidos por Urbaneja-Bernat *et al.* (2013) y Mollá *et al.* (2014), dando validez a nuestros resultados. En concreto estos autores obtuvieron 13,2 y 12,82 días para completar el ciclo biológico de *N. tenuis* alimentado con huevos de *E. kuehniella*.



**Figura 26.** Tiempo de desarrollo de las ninfas de *Nesidiocoris tenuis* (media  $\pm$  SE) desde que emergieron (<24 horas de edad), hasta que alcanzaron el estado adulto cuando fueron alimentadas exclusivamente con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o huevos de *Ephestia kuehniella*. Las diferentes letras sobre las barras, indican que hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Con todo, cabe destacar que *N. tenuis* fue capaz de completar su desarrollo biológico con ambas presas, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. y huevos de *E. kuehniella*, si bien el tiempo de desarrollo fue menor para las ninfas alimentadas con huevos de *E. kuehniella*.

La descendencia (número de ninfas por hembra) obtenida durante los primeros 15 días de vida de la hembra, fue más del doble para las hembras que fueron alimentadas con huevos de *E. kuehniella* ( $20,3 \pm 0,2$ ) que para las hembras alimentadas con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. ( $F = 28,93$ ;  $gl = 2, 99$ ;  $P < 0,05$ ). Estas diferencias aparecieron a partir del décimo día de ensayo (**Figura 27**).



**Figura 27.** Descendencia cada 5 días (número de ninfas por hembra, media  $\pm$  SE) de *Nesidiocoris tenuis* cuando fue alimentado con quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o huevos de *Ephestia kuehniella*.

La menor calidad nutritiva de los quistes desencapsulados de *Artemia* sp. frente a los huevos de *E. kuehniella* puede explicar los resultados obtenidos en este ensayo de laboratorio donde las fuentes de alimentación fueron exclusivamente dichas presas. Vanderkerkhove et al. (2009) detectaron menor concentración de ácidos oleico, linoleico y palmítico en la descendencia de *M. pygmaeus* alimentado con quistes de *artemia* salina frente a huevos de *E. kuehniella*.

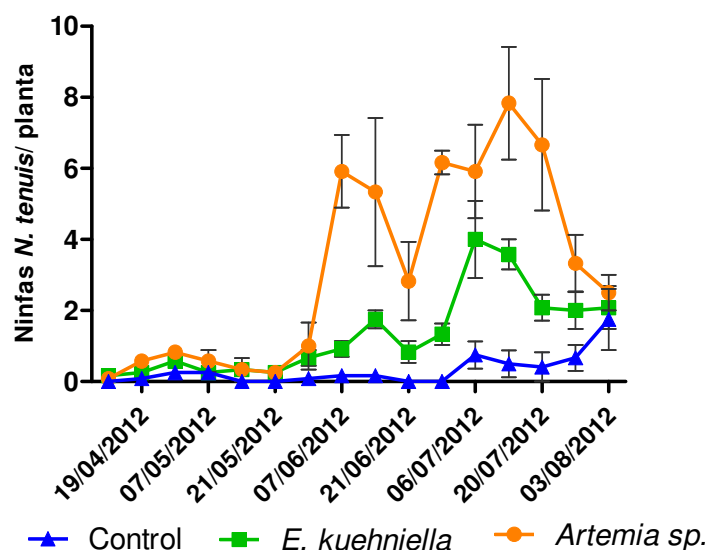
## **4.2. Efecto de la adición de quistes de *Artemia* sp. en la instalación de *N. tenuis*.**

Durante la primera generación de *N. tenuis* en las plantas de tomate (19 de abril al 20 de mayo), no se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos ( $F = 1,858$ ;  $gl = 2, 36$ ;  $P = 0,171$ ) (Figura 31). A partir de esta primera generación, el número de ninfas fue creciendo regularmente desde su liberación hasta el final del experimento mostrando diferencias significativas según entre tratamientos ( $F = 18,819$ ;  $gl = 2, 262$ ;  $P < 0,05$ ) (**Figura 28**). El número de ninfas fue significativamente mayor en el tratamiento en el que se ofrecieron quistes desencapsulados de *Artemia* sp. como alimento en comparación con el tratamiento donde se ofreció huevos de *E. kuehniella* y éste a su vez lo fue respecto al control (**Tabla 2**).

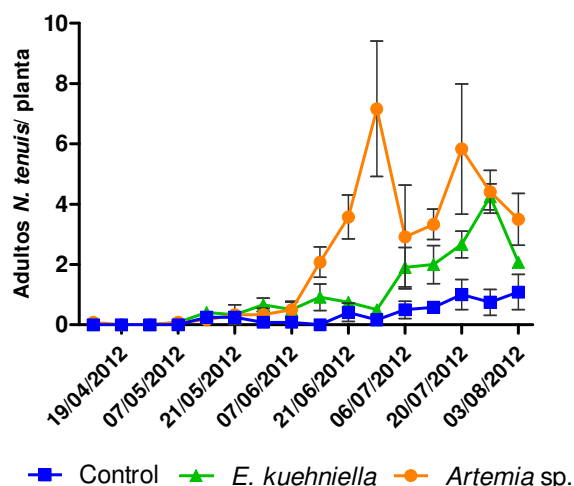
Las poblaciones de adultos evolucionaron de manera similar a las ninfas, no presentando diferencias en la primera generación (**Figura 29**). En cambio, una vez instalados en el cultivo sí que hubieron diferencia significativas ( $F = 14,959$ ;  $gl = 2, 236$ ;  $P < 0,05$ ) siendo mayores las poblaciones de adultos en el tratamiento donde se ofreció quistes desencapsulados de *Artemia* sp. en comparación con el tratamiento donde se ofreció huevos de *E. kuehniella* y éste a su vez lo fue respecto al control (**Tabla 2**).

La incapacidad de este depredador para completar su desarrollo en ausencia de presa hace que no sea capaz de mantener sus poblaciones en el cultivo, alimentándose exclusivamente de la planta (Urbaneja et al., 2005). El hecho que *N. tenuis* se instalara mejor con la adición de quistes de *Artemia* sp. que con los huevos de *E. kuehniella* en ausencia de plaga se podría explicar por el hecho de que los primeros tienen una estructura de resistencia al estrés y a la anoxia para mantener vivo el embrión dentro del huevo durante largos periodos de tiempo (Liang y MacRae, 1999). Esto haría que los quistes se mantuviesen viables como alimento para *N. tenuis* durante más tiempo en el cultivo que los huevos de *E. kuehniella*, los cuales, al estar protegidos sólo por el corion, perderían su viabilidad mucho antes. La efectividad de los quistes de *Artemia* sp. ya se había estudiado sobre *N. tenuis* en pepino (Fernández-Oveja et al., 2012).

En el control donde no se ofreció ningún alimento se observó una población del depredador muy baja que podría haber subsistido alimentándose de otras ninfas de *N. tenuis*. En otros míridos, como es el caso de *Dicyphus tamaninii*, se ha observado el fenómeno del canibalismo cuando hay ausencia de presa (Castañe et al., 2002). Estos autores observaron que las ninfas de cuarto estadio y los adultos depredaban sobre ninfas de primer estadio. Este hecho, junto a la fitofagia de *N. tenuis* (Kullenberg, 1946; Dolling, 1991; Gillespie y McGregor, 2000; Maselou et al., 2012) pueden explicar en parte, las poblaciones de *N. tenuis* en el control (en ausencia de presa).



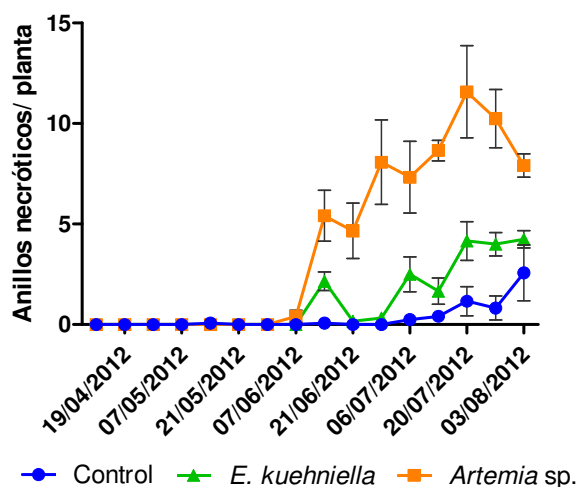
**Figura 28.** Número de ninfas de *N. tenuis* (media  $\pm$  ES) en el tercio apical de las plantas cuando se liberó *Nesidiocoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de o huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).



**Figura 29.** Número de adultos de *Nesidiocoris tenuis* (media  $\pm$  ES) en el tercio apical de las plantas cuando se liberó *Nesidiocoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).

La presencia de *N. tenuis* en los tres tratamientos conllevó a la aparición de anillos necróticos dada la fitofagia que presenta este depredador. El número de anillos necróticos fue significativamente diferente entre los diferentes tratamientos ( $F = 14,910$ ;  $gl = 2, 260$ ;  $P < 0,05$ ) siendo mayor en el tratamiento donde se ofrecieron los quistes desencapsulados de *Artemia* sp. como alimento, respecto al tratamiento con *E. kuehniella*, y éste a su vez respecto al control (**Figura 30**) (**Tabla 2**). Los primeros anillos necróticos se detectaron 8 semanas después de la liberación de *N. tenuis* en el cultivo en los tratamientos donde mayor número de *N. tenuis* se dio (*Artemia* sp. y *E. kuehniella*).

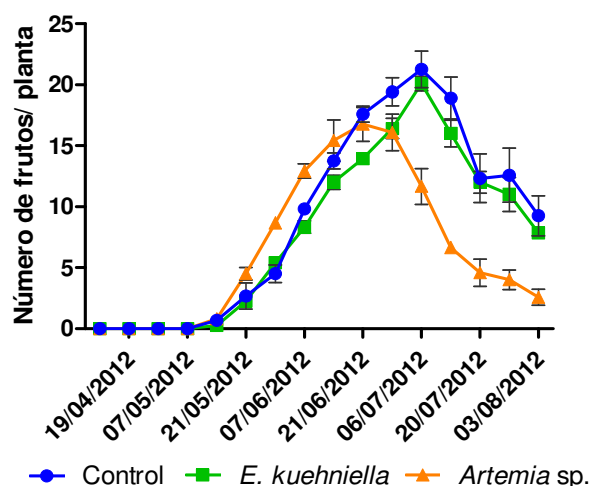
Este resultado coincide con estudios anteriores en los que ya se observó que el número de anillos necróticos por planta es directamente proporcional al número de *N. tenuis* presentes (Sánchez et al., 2008; Calvo et al., 2009; Arnó et al., 2010).



**Figura 30.** Número de anillos necróticos (media  $\pm$  ES) por planta cuando se liberó *Nesidiocoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).

El número de frutos recolectados a lo largo del experimento fue diferente entre tratamientos (**Figura 31**) ( $F = 2,979$ ;  $gl = 2, 349$ ;  $P = 0,049$ ), siendo menor en el tratamiento donde se ofreció quistes desencapsulados de *Artemia* sp., mientras que no hubo diferencias significativas entre el tratamiento donde se ofreció huevos de *E. kuenhiella* y el control (**Tabla 3**).

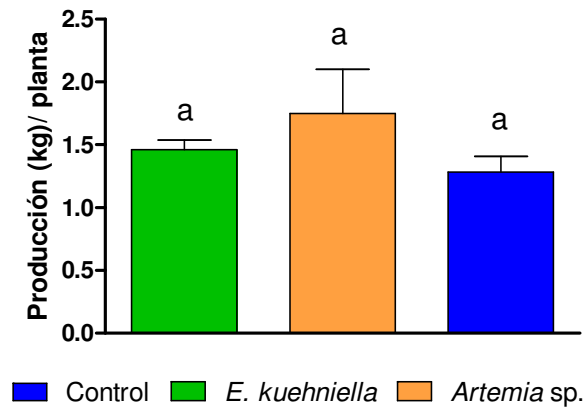
Este menor número de frutos recolectados coincidió con el mayor número de anillos necróticos encontrados por planta coincidiendo con lo ya observado por otros autores que ya demostraron que la fitofagia de *N. tenuis* puede disminuir el número de frutos producidos por planta (Sánchez et al., 2008; Sánchez y Lacasa, 2008; Arnó et al., 2010).



**Figura 31.** Número de frutos (media  $\pm$  ES) por planta cuando se liberó *Nesidiocoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control).



Aunque el número de frutos recolectados fue menor en el tratamiento donde se ofrecieron quistes desencapsulados de *Artemia* sp., no hubo diferencias estadísticas en la producción obtenida por planta entre los diferentes tratamientos ( $F = 1,138$ ;  $gl = 2, 8$ ;  $P = 0,381$ ) (**Figura 32**) (**Tabla 3**), confirmando lo observado por Sánchez y Lacasa, (2008), quienes basándose en sus resultados, formularon la teoría de que la planta compensa la reducción en el número de fruto con el aumento del peso de los frutos producidos, lo que explicaría que un menor número de frutos no supusiese una menor producción.



**Figura 32.** Peso (media  $\pm$  ES) por planta cuando se liberó *Nesidiocoris tenuis* en semillero usando como alimento huevos de *Ephestia kuehniella*, quistes desencapsulados de *Artemia* sp. o sin alimento (control). Las mismas letras sobre las barras, indican que no hubo diferencias significativas ( $P > 0,05$ ).

**Tabla 2.** Valores de la probabilidad para los contrastes del número de ninfas, adultos y anillos necróticos por planta para los tratamientos (E: huevos de *Ephestia kuehniella*; A: quistes desencapsulados de *Artemia* sp. y C: Control). Cuando aparecieron diferencias estadísticas se realizó un DMS post hoc test ( $P < 0,05$ ).

Factor	Contraste entre factores	Ninfas <i>N. tenuis</i>		Adultos <i>N. tenuis</i>		Anillos/ planta	
		$t_{262}$	<i>P</i>	$t_{260}$	<i>P</i>	$t_{198}$	<i>P</i>
Tratamiento	E vs A	5,561	< 0,001	4,103	< 0,001	5,426	< 0,001
	E vs C	2,477	0,014	3,363	0,001	3,641	< 0,001
	A vs C	6,082	< 0,001	5,463	< 0,001	5,655	< 0,001

**Tabla 3.** Valores de la probabilidad para los contrastes del número de frutos y peso de frutos por planta, para los tratamientos (E: huevos de *Ephestia kuehniella*; A: quistes desencapsulados de *Artemia* sp. y C: Control). Cuando aparecieron diferencias estadísticas se realizó un DMS post hoc test ( $P < 0,05$ ).

Factor	Contraste entre factores	Número frutos/ planta		Peso fruta/ planta	
		$t_{349}$	<i>P</i>	$t_{78}$	<i>P</i>
Tratamiento	E vs A	2,353	0,019	1,590	0,116
	E vs C	0,696	0,487	0,320	0,750
	A vs C	2,002	0,046	1,859	0,067

## **5. Conclusiones**

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

1. Los quistes desencapsulados de *Artemia* sp. permiten completar el ciclo biológico de *N. tenuis* y obtener descendencia por lo que podrían utilizarse en la cría de *N. tenuis*. Para ello se debería completar este estudio con otro en el que se estudiara el efecto de una dieta basada en quistes de *Artemia* sp. durante varias generaciones. Otra posibilidad que no debería descartarse en la cría de *N. tenuis*, sería la de utilizar los quistes de *Artemia* sp. junto con los huevos de *E. kuehniella* de forma que se redujera la cantidad de estos últimos, que son un mejor alimento pero mucho más caro.

2. Los quistes desencapsulados de *Artemia* sp. han demostrado ser un alimento alternativo para la instalación de *N. tenuis* en el cultivo de tomate y podrían ser usados como alternativa a los huevos de *E. kuehniella*. Por lo tanto, recomendaríamos que en ausencia de plaga (como el caso de nuestro estudio) se utilizaran los quistes desencapsulados de *Artemia* sp. en lugar de los huevos de *E. kuehniella* porque resultan más económico y, probablemente debido a su mayor protección contra la desecación, son un mejor alimento en condiciones de campo.

## **6. Bibliografía**

- Apablaza, J.** (1992). La polilla del tomate y su manejo. *Tattersal*, (79), 12-13.
- Araujo-Gonçalves, A. (2010).** Alverde: la solución BASF para el control de *Tuta absoluta*. *Phytoma España : La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 21-22.
- Arijs, Y., y De Clercq, P.** (2001). Rearing *Orius laevigatus* on Cysts of the Brine Shrimp *Artemia franciscana*. *Biological Control*, 21(1), 79-83.
- Arnó, J., Mussoll, A., Gabarra, R., Sorribas, R., Prat, M., Garreta, A., Gómez, A., Matas, M., Pozo, C. y Rodríguez, D.** (2009). *Tuta absoluta* una nueva plaga en los cultivos de tomate. Estrategias de manejo. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (211), 16–22.
- Arnó, J., C. Castañé, J. Riudavets, y R. Gabarra.** (2010). Risk of damage to tomato crops by the generalist zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae). *Bull. Entomol. Res.* (100), 5-115.
- Astor, E. (2010).** Estrategias DuPont en el control de *Tuta absoluta*. *Phytoma España : La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 107-111.
- Avilla, J., Albajes, R., Alomar, O., Castañé, C. y Gabarra, R.** (2004). Biological control of whiteflies in protected vegetable crops. *Biological Control of Arthropod Pests in Protected Culture*, 171-184.
- Barrientos, Z. R., Apablaza, H. J., Norero, S. A. y Estay, P. P.** (1998). Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ciencia e Investigación Agraria*, (25), 133–137.
- Bielza, P. (2010).** La resistencia a insecticidas en *Tuta absoluta*. *Phytoma España : La revista profesional de sanidad vegetal*, 103-106.
- Calvo, F. J. y Urbaneja, A.** (2003). *Nesidiocoris tenuis* Reu. (Het.: Miridae) en tomate: ¿Amigo o Enemigo? *Almería verde*, (4), 21-23.
- Calvo, J., K. Bolckmans, P. A. Stansly, y A. Urbaneja.** (2009). Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. *BioControl*, (54), 237-246.
- Calvo, J., Soriano, J., Bolckmans, K., Belda, J.E.** (2012). A successful method for whitefly and *Tuta absoluta* control in tomato. Evaluation after two years of application in practice. *IOBC WPRS Bulletin*, 80:237-244.
- Castañé, C., Iriarte, J., Lucas, E.** (2002). Comparison of prey consumption by *Dicyphus tamaninii* reared conventionally, and on a meat-based diet. *BioControl*, 47(6), 657-666.
- Castañé, C., Quero, R., y Riudavets, J.** (2006). The brine shrimp *Artemia* sp. as alternative prey for rearing the predatory bug *Macrolophus caliginosus*. *Biological control*, 38(3), 405-412.
- De Clercq, P., Arijs, Y., Van Meir, T., Van Stappen, G., Sorgeloos, P., Dewettinck, K., Marjolaine R., Simon G., y Febvay, G.** (2005). Nutritional value of brine shrimp cysts as a factitious food for *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Biocontrol Science and Technology*, 15(5), 467-479.

- Desneux, N., Luna, M. G., Guillemaud, T. y Urbaneja, A.** (2011). The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *Journal of Pest Science*, (84), 403-408.
- Dolling, W. R.** (1991). *The Hemiptera*, Oxford University Press, New York.
- El-Dessouki, S. A., A. H. El Kifl, y A. Helal.** (1976). Life cycle, host plants and symptoms of damage of the tomato bug, *Nesidiocoris tenuis* Reut. (Hemiptera: Miridae), in Egypt. *Journal of Plant Diseases and Protection*, (84), 204-220.
- EPPO.** (2008). European and Mediterranean Plant Protection Organization. Data sheets on quarantine pests. *Tuta absoluta* [http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta\\_absoluta/DSGNORAB.pdf](http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta_absoluta/DSGNORAB.pdf) (in press). (Acceso 22/10/2014).
- Espinosa, P. J. (2010).** CAL-EX AVANCE EW: nueva alternativa en la estrategia de lucha control *Tuta absoluta*. *Phytoma España : La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 76-80.
- Estay, P. P.** (2000). Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). *Informativo La Platina*, (9).
- FAOSTAT.** (2010). Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (Acceso 22/10/2014).
- Fernández, S. y Montagne, A.** (1990). Biología del minador del tomate *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Boletín de Entomología Venezolana*, 5(12), 89-99.
- Fernández-Oveja, M., Arnó, J. y Rosa Gabarra, R.** (2012). Effect of supplemental food on the fitness of four omnivorous predator species. *IOBC/ WPRS Bulletin*, (80), 97-101.
- Gabarra, R., Arnó, J. y Ruidavets, J. (2008).** Tomate, In J.A. Jacas and Urbaneja [eds], Control biológico de plagas agrícolas. *Phytoma España*, Valencia, Spain, (27), 410-422.
- Gillespie, D. R. y R. R. McGregor.** (2000). The functions of plant feeding in the omnivorous predator *Dicyphus hesperus*: water places limits on predation. *Ecol. Entomol.* (25), 380-386.
- González-Cabrera, J. y Ferré, J.** (2008) Bacterias Entomopatógenas. In: Jacas, J. y Urbaneja, A. (eds.) *Control biológico de plagas agrícolas. Phytoma/España*, 1. Valencia, 85-97.
- González-Cabrera, J., Mollá, O., Montón, H., y Urbaneja, A.** (2011). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *BioControl*, 56(1), 71-80.
- Goula, M. y O. Alomar.** (1994). Míridos (Heteroptera Miridae) de interés en el control integrado de plagas en el tomate. Guía para su identificación. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, (20), 131-143.
- Gutiérrez-Giulianotti, L. (2010).** Programa de IPM Certis para el control de *Tuta absoluta*. *Phytoma España : La revista profesional en sanidad vegetal*, (217), 60-65.
- Jacas, J. A., A. Urbaneja, y F. García-Marí.** (2008). Artrópodos depredadores, pp. 39-56. In J. A. Jacas and A. Urbaneja [eds.], *Control biológico de plagas agrícolas. Phytoma España*, Valencia, España.

- Kullenberg, B.** (1946). Studien über die Biologie der Capsiden. *Zool. Bidr. Uppsala* 23 (suppl.):552pp.
- Lara, L., Salvador, E. y Téllez, M. M.** (2010). Estudios de control biológico de la polilla del tomate *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera; Gelechiidae) en cultivos hortícolas de invernadero del Sureste Español. *Phytoma España : La revista profesional de sanidad vegetal*, 221- 39.
- Larraín, P.** (1987). Plagas del tomate, primera parte: Descripción, fluctuación poblacional, daño, plantas hospederas, enemigos naturales de las plagas principales. *IPA La Platina*, (39), 30-35.
- Liang, P., y MacRae, T. H.** (1999). The Synthesis of a Small Heat Shock/ $\alpha$ -Crystallin Protein in *Artemia* and Its Relationship to Stress Tolerance during Development. *Developmental biology*, 207(2), 445-456.
- López, E.** (1991). Polilla del tomate: Problema crítico para la rentabilidad del cultivo de verano. *Empresa y Avance Agrícola*, (1), 6-7.
- López, J. M., Martín, L., López, A., Correia, R., González, F., Sanz, E., Gallardo, M. y Cantus, J. M.** (2010). AFFIRM (Emamectina), una nueva arma contra la *Tuta absoluta* y otras orugas de lepidópteros. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 90-94.
- Lucas, E. y Alomar, O.** (2002). Impact of *Macrolophus caliginosus* presence on damage production by *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae) on tomato fruits. *Journal of Economic Entomology*, 95(6), 1123-1129.
- MAGRAMA. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.** (2012). Anuario de estadística. <http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/> (Acceso 22/10/2014).
- Maselou, D., Perdikis, D. y Fantinou, A.** (2012). Influence of phytophagous behaviour on prey consumption by *Macrolophus pygmaeus*. *IOBC/ WPRS Bulletin*, (80), 91-95.
- Mollá, O., Montón, H., Beitia, F. y Urbaneja, A.** (2008). La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una nueva plaga invasora. *Terralia*, (69), 3-42.
- Mollá, O., Montón, H., Vanaclocha, P., Beitia, F. y Urbaneja, A.** (2009). Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. *IOBC/ WPRS Bulletin*, (49), 209-214.
- Mollá, O., Alonso-Valiente, M., Montón, H., Beitia Crespo, F. J., Verdú, M. J., González-Cabrera, J. y Urbaneja García, A.** (2010). Control Biológico de *Tuta absoluta*: catalogación de enemigos naturales y potencial de los míridos depredadores como agentes de control. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 42-47.
- Mollá, O., González-Cabrera, J. y Urbaneja, A.** (2011). The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. *BioControl*, (56), 883-891.
- Mollá, O., Alonso-Valiente, M., Suay, R., Beitia Crespo, F. J., y Urbaneja García, A.** (2013). Estrategias de control de *Tuta absoluta*: en el cultivo de tomate mediante la liberación

- y conservación de *Nesidiocoris tenuis* en la Comunidad Valenciana *Agricola Vergel. Fruticultura, horticultura, floricultura*, (365), 161-165
- Mollá, O., Biondi, A., Alonso-Valiente, M. y Urbaneja García, A.** (2014). A comparative life history study of two mirid bugs preying on *Tuta absoluta* and *Ephestia kuehniella* eggs on tomato crops: implications for biological control. *BioControl*, (59): 175-183.
- Montserrat, A.** (2009a). La polilla del tomate *Tuta absoluta* en la Región de Murcia: bases para su control. *Consejería de Agricultura y Agua, Murcia*.
- Montserrat, A.** (2009b). Medidas básicas para el manejo de la polilla del tomate *Tuta absoluta*. *Agricola Vergel. Fruticultura, horticultura, floricultura*, (333), 481-491.
- Montserrat, A.** (2010). Estrategias globales en el manejo de *Tuta absoluta* en Murcia. *Phytoma España: La revista profesional en sanidad vegetal*, 81-86.
- Ortega, F., Astor, E. y De Scals, D.** (2008). El control de la polilla, *Tuta absoluta*. *Horticultura Internacional*, (64), 30-31.
- Puchkov, V. G.** (1961). Hemípteros depredadores útiles para la agricultura y forestales. *Akad. Nauk Ukrain. RsR Inst. Zool.*, Trudy 17:7-18.
- Robles, J. L. (2010).** FENOS: nuevo insecticida de Bayer Cropscience para el control de *Tuta absoluta*. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 87-89.
- Sánchez, J. A.** (2008). Zoophytophagy in the plantbug *Nesidiocoris tenuis*. *Agricultural and Forest Entomology*, (10), 75-80.
- Sánchez, J. A. (2009).** Density thresholds for *Nesidiocoris tenuis* (Heteroptera: Miridae) in tomato crops. *Biological Control*, 51(3), 493-498.
- Sanchez, J. A. y A. Lacasa.** (2008). Impact of the zoophytophagous plant bug *Nesidiocoris tenuis* (Heteroptera: Miridae) on tomato yield. *Journal of Economic Entomology* (101) 1864-1870.
- Torné, M., Martín, A. y Fernández, J.** (2010). Spintor 480SC: eficacia natural. *Phytoma España : La revista profesional de sanidad vegetal*, (217), 27-31.
- Uchoa-Fernandez, M., Della Lucia, T. y Vilela, E.** (1995). Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, (24), 159-164.
- Urbaneja, A., G. Tapia, E. Fernández, E. Sánchez, J. Contreras, y P. Bielza.** (2003). Influence of the prey on the biology of *Nesidiocoris tenuis* (Hem.: Miridae). *IOBC WPRS Bulletin* 26:-159.
- Urbaneja, A., G. Tapia, y P. Stansly.** (2005). Influence of host plant and prey availability on developmental time and survivorship of *Nesidiocoris tenuis* (Het.: Miridae). *Biocontrol Sci. Technol.* (15) 513-518.
- Urbaneja, A., Vercher, R., Navarro Llopis, V., y García Marí, F.** (2007). La polilla del tomate, "*Tuta absoluta*". *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (194), 16-23.

- Urbaneja, A., Montón, H., Vanaclocha, P., Mollá, O., y Beitia, F. J. (2008).** La polilla del tomate, "*Tuta absoluta*", una nueva presa para los míridos "*Nesidiocoris tenuis*" y "*Macrolophus pygmaeus*". *Agrícola vergel: Fruticultura, horticultura, floricultura*, 27(320), 361-367.
- Urbaneja, A., Montón, H. y Mollá, O. (2009).** Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *Journal of Applied Entomology*, 133(4), 292-296.
- Urbaneja, A., Gonzalez-Cabrera, J., Arnó, J. y Gabarra, R. (2012).** Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Management Science*, (68), 1215-1222.
- Urbaneja-Bernat, P, Alonso, M., Tena, A., Bolckmans, K., Urbaneja, A. (2013)** Sugar as nutritional supplement for the zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis*. *BioControl* (2013) 58:57–64
- Van der Blom, J., Robledo, A., Torres, S. y Sánchez, J. A. (2009).** Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almeria, Spain. *IOBC/ WPRS Bulletin*, (49), 9-13.
- Vandekerkhove, B. Parmentier, L., Van Stappen, G., Grenier, S., Febvay G., Rey M., y De Clercq, P. (2019).** Artemia cysts as an alternative food for the predatory bug *Macrolophus pygmaeus*. *Journal of Applied Entomology*, 133(4), 133-142.
- Vargas, H. (1970).** Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate. *IDESIA*, Universidad del Norte (Chile), (1), 75-110.
- Velden, N, van der, Suay, R., Urbaneja, A., Giorgini, M., Ruocco, M., Poncet, C. y Lefèvre, A. (2011).** Recent developments and market opportunities for IPM in greenhouse tomatoes in southern Europe; Consequences for advanced IPM toolboxes and greenhouse engineering. *LEI Memorandum*
- Wheeler, A. G. (2001).** Biology of the plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunists. *Cornell University Press*, Ithaca, NY.