

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Control biològic de la cochinilla algodonosa de la vid
Planococcus ficus (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae)
en uva de mesa en el Valle del Vinalopó. Influencia y
manejo de las hormigas.

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER EN PRODUCCIÓN VEGETAL Y
ECOSISTEMAS AGROFORESTALES

AUTOR:

Lluís Estopà Consuegra

DIRIGIDO POR:

Tutora: Antonia Isabel Soto Sánchez

Cotutor Externo: Aleixandre Beltrà Ivars

Valencia, España

Septiembre, 2015

Control biológico de la cochinilla algodonosa de la vid *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) en uva de mesa en el Valle del Vinalopó. Influencia y manejo de las hormigas.

RESUMEN

La cochinilla algodonosa de la vid, *Planococcus ficus* Signoret (Hemiptera: Pseudococcidae) es una plaga clave del cultivo de uva de mesa en la Cuenca Mediterránea. El pseudocócido se localiza en diferentes órganos de la planta y sus hábitos alimenticios causan el debilitamiento de ésta. Además, la presencia de pseudocócidos, ceras o melazas disminuye la calidad estética de los frutos y dificulta su comercialización. Debido a las dificultades asociadas al control químico de *P. ficus* se necesitan medidas alternativas para el manejo de esta plaga. Entre ellas, el control biológico se presenta como un método sostenible que podría tener un papel relevante en la gestión de *P. ficus* en uva de mesa. En otras áreas vitícolas se ha observado un efecto importante de las hormigas sobre las poblaciones de los pseudocócidos debido a su interferencia en el control biológico. A pesar de ello, en la Cuenca Mediterránea, existe muy poca información de las especies de hormigas presentes en los viñedos y de su impacto sobre los pseudocócidos. Como primer paso para el establecimiento de un programa de control biológico para *P. ficus* en uva de mesa, se llevó a cabo un estudio en cuatro viñedos del valle del Vinalopó para identificar las especies de hormigas forrajeras y evaluar su impacto sobre las poblaciones de pseudocócidos y los daños en frutos. Además, se probó el efecto del suministro de azúcares artificiales para el manejo de las hormigas forrajeras. Finalmente, se evaluó la eficacia de la suelta masiva de *Chrysoperla carnea* (Stephens) y *Anagyrus pseudococci* (Girault) en el control de *P. ficus*.

Se registraron tres especies de hormigas, todas ellas originarias del Mediterráneo, *Lasius grandis* (Forel), *Pheidole pallidula* (Nylander) y *Plagiolepis schmitzii* (Forel). Se observó una relación positiva pero débil entre la actividad de estas hormigas con la abundancia de la cochinilla y los daños en los frutos. Por otra parte, el suministro de azúcares artificiales redujo el número de hormigas que forrajearan en las vides un 23,4 % y la abundancia de *P. ficus* un 72%, aunque solamente fue significativa la reducción de los pseudocócidos. Los daños en los frutos disminuyeron ligeramente durante los dos años de estudio en las cepas donde se liberaron los enemigos naturales. Los resultados de este trabajo sugieren que las especies de hormigas nativas en los viñedos del Valle del Vinalopó tienen una influencia débil sobre las poblaciones y los daños de *P. ficus*. Aun así, el suministro de azúcares artificiales puede ser una valiosa herramienta para la gestión de las hormigas en aquellas parcelas donde su actividad sea elevada. Las sueltas de *C. carnea* y *A. pseudococci* redujeron los daños en los frutos aunque esta reducción fue insuficiente en aquellas parcelas donde el porcentaje de daños fue muy elevado.

Palabras clave: *Planococcus ficus*, uva de mesa, actividad de hormigas, control biológico inundativo, manejo integrado de plagas.

Biological control of the vine mealybug *Planococcus ficus* (Signoret)
(Hemiptera: Pseudococcidae) in table grapes in Valle del Vinalopó.
Influence and management of ants.

ABSTRACT

The vine mealybug *Planococcus ficus* Signoret (Hemiptera: Pseudococcidae) is a key pest of table grapes in the Mediterranean Basin. The mealybug settles on different parts of the plant where it feeds on sap reducing plant growth. Moreover, the presence of mealybugs, wax or honeydew in the fruits reduces their quality and marketability. Due to the difficulties presented by the chemical control of *P. ficus*, alternative management strategies have to be developed. Among them, biological control appears as a sustainable methodology for the management of the mealybug. In other grape growing regions, tending ants are highly associated with *P. ficus* and hamper biological control. However, in the Mediterranean Basin, there is not enough information about the ant species present in the vineyards and their impact on mealybug populations. Therefore, as a first step towards the establishment of a biological control program for *P. ficus* in table grapes, we conducted a study in four vineyards located in Valle del Vinalopó to identify the species of ants and their impact on the vine mealybug populations. Furthermore, we tested the effect of providing artificial sugars for ant management. Finally, we evaluated the effect of massive releases of *Chrysoperla carnea* (Stephens) and *Anagyrus pseudococci* (Girault) on the control of *P. ficus*.

Three species of ants of Mediterranean origin were recorded: *Lasius grandis* (Forel), *Pheidole pallidula* (Nylander) and *Plagiolepis schmitzii* (Forel). It was found a positive but weak relationship among ant activity, mealybug populations and fruit damage. Provisioning artificial sugars reduced the number of foraging ants on the vines by 23.4% and the abundance of *P. ficus* by 72%. Fruit damage was lower in the vines where natural enemies were released in all the vineyards in 2013 and 2014. The results of this work suggest that native ants have a weak influence on *P. ficus* populations and damage in Vinalopó vineyards. Even so, provisioning artificial sugars can be a valuable tool for managing ants in vineyards with high ant activity. The mass release of *C. carnea* and *A. pseudococci* reduced fruit damage, although this reduction was insufficient when very high mealybug infestations were present in the vineyards.

Keywords: *Planococcus ficus*, table grapes, ant activity, inundative biologic control, Integrated pest management.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecerle a Antonia Soto la oportunidad de trabajar junto a ella desde el momento en el que me propuso la idea durante un desayuno inesperado. Poder haber trabajado junto a su equipo y aprender de él durante todo el ensayo ha sido una experiencia importante para mí. Gracias Alex, Altea, Cristina y Nacho por hacer de esos días de verano agotadores más refrescantes.

Gràcies Aleixandre, sense tu aquest treball no seria el que és i no hauria après ni la meitat, gràcies per la comprensió, la amabilitat, la paciència i el bon riure que tens.

A mi familia por ser una fuente inagotable de apoyo incondicional y haberme empujado siempre a obrar bien y con sentido.

A mis amigos de infancia, mis compañeros de carrera y mi pareja, por los buenos momentos y los que quedan por pasar en esta nueva etapa de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	
1.1.	La cochinilla algodonosa de la vid, <i>Planococcus ficus</i>	1
1.1.1.	Morfología y taxonomía	1
1.1.2.	Biología	1
1.1.3.	Daños e importancia de la plaga	3
1.1.4.	Muestreo y control.....	4
1.2.	Control biológico	6
1.2.1.	Enemigos naturales de pseudocóccidos en viñedos	6
1.2.2.	Mutualismo con hormigas.....	6
1.2.3.	Control biológico de pseudocóccidos en viñedos	8
II.	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	
III.	MATERIAL Y MÉTODOS	
3.1.	Parcelas de muestreo	13
3.2.	Impacto de las hormigas en las poblaciones de pseudocóccidos	13
3.2.1.	Especies y actividad de hormigas	13
3.2.2.	Influencia de las hormigas en la abundancia de <i>Planococcus ficus</i> y daños en los frutos: 14	
3.2.3.	Impacto de la aplicación de azúcares sobre la actividad de las hormigas	14
3.3.	Control biológico aumentativo de <i>Planococcus ficus</i>	15
3.3.1.	Sueltas de enemigos naturales.....	15
3.3.2.	Abundancia e impacto de los enemigos naturales en las poblaciones de <i>P. ficus</i> y daños en los frutos.....	15
3.4.	Análisis estadístico	16
IV.	RESULTADOS	
4.1.	Impacto de las hormigas en las poblaciones de pseudocóccidos	17
4.1.1.	Abundancia y actividad de hormigas	17
4.1.2.	Relación entre la actividad de hormigas, la abundancia de <i>Planococcus ficus</i> y los daños en los frutos.....	19

4.2. Influencia de los azúcares artificiales en las poblaciones de hormigas y pseudocóccidos	21
4.2.1. Influencia de los azúcares artificiales en las poblaciones de hormigas	21
4.2.2. Influencia de los azúcares artificiales en la abundancia de <i>Planococcus ficus</i>	22
4.3. Control biológico aumentativo de <i>Planococcus ficus</i>	23
4.3.1. Abundancia de crisópidos	23
4.3.2. Parasitismo en los frutos	25
4.3.3. Impacto del control biológico en los daños en los frutos	27
V. DISCUSION	
VI. CONCLUSIONES	
VII. BIBLIOGRAFÍA	

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Plantas hospedantes de <i>P. ficus</i>	4
Tabla 2. Detalles de las diferentes plantaciones del estudio.	13

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico de <i>P. ficus</i>	2
Figura 2: Diagrama esquemático de las posibles interacciones en la asociación pseudocócido-hormiga-planta.....	7
Figura 3: Cepa muestreada con trampa de cartón corrugado y dispensador de azúcar.	15
Figura 4: Composición de especies y actividad media por cepa (\pm error estándar) de las hormigas que forrajearon en la copa de las viñas (número de hormigas por minuto)	17
Figura 5: Actividad estacional de las hormigas que suben a la copa de las viñas (número de hormigas por minuto) de <i>Lasius grandis</i> , <i>Pheidole pallidula</i> y <i>Plagiolepis schmitzii</i>	18
Figura 6: Relación entre la actividad de hormigas (número de hormigas durante 1 minuto) y abundancia media de <i>P. ficus</i> en trampas de cartón por cepa	19
Figura 7: Relación entre la actividad de las hormigas (número de hormigas durante 1 minuto) y el porcentaje de frutos dañados por cepa.	20
Figura 8: Relación entre la abundancia media de <i>Planococcus ficus</i> muestreados en el tronco de las cepas y el porcentaje de daños en los frutos.....	20
Figura 9: Actividad de hormigas (número de hormigas durante 1 minuto) forrajearo en cepas con o sin dispensadores de azúcar.....	21
Figura 10: Influencia del suministro de azúcar en la abundancia de <i>Planococcus ficus</i> en trampas de cartón.....	22
Figura 11: Influencia de la suelta masiva de <i>C. carnea</i> en la media de huevos de crisopa por hoja (20 hojas por cepa) a lo largo del año (promedio \pm SE)	24
Figura 12: Influencia de la suelta masiva de <i>C. carnea</i> en la abundancia de huevos de crisopa en muestreos de la copa de las viñas durante tres minutos (promedio \pm SE).....	25
Figura 13: Porcentaje de parasitismo de <i>Planococcus ficus</i> en frutos de cepas de las áreas de suelta y control una semana antes de la cosecha.....	26
Figura 14: Porcentaje de parasitismo de <i>Planococcus ficus</i> en frutos de cepas de las áreas de suelta y control una semana antes de la cosecha.....	26
Figura 15: Porcentaje de frutos dañados (no comerciables) en las áreas de suelta de enemigos naturales y control	27
Figura 16: Porcentaje de frutos dañados (no comercializables) tras la suelta inundativa de enemigos naturales.....	28

I. INTRODUCCIÓN

1.1. La cochinilla algodonosa de la vid, *Planococcus ficus*

1.1.1. Morfología y taxonomía

Los pseudocócidos (Hemiptera: Pseudococcidae) son pequeños insectos fitófagos de cuerpo blando y ovalado cubierto por una capa harinosa y secreciones cerosas en los laterales. Su identificación se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante la comparación de los caracteres morfológicos de hembras, aunque debido a su pequeño tamaño y semejanza morfológica, algunas especies de pseudocócidos pueden ser identificadas incorrectamente (Cox, 1983; Williams y Granara de Willink, 1992). Esta problemática es común en algunas especies de pseudocócidos presentes en los viñedos cuya correcta identificación es necesaria para la aplicación de técnicas de manejo específicas como la confusión sexual o el control biológico (Daane *et al.*, 2012). Por ello, en los últimos años se ha generalizado el uso de técnicas moleculares para la identificación de los principales complejos de especies de pseudocócidos presentes en diversas regiones vitícolas del mundo (Daane *et al.*, 2011b; Correa *et al.*, 2012; Demontis *et al.*, 2007; Pacheco da Silva *et al.*, 2014).

La identificación del melazo de la viña, *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) puede llevarse a cabo mediante técnicas morfológicas y moleculares. Algunos caracteres permiten su diferenciación bajo binocular de otras especies de pseudocócidos presentes en viñedos. Entre estos podemos destacar la presencia de una única línea dorsal sin recubrimiento céreo, la localización del ovisaco bajo el abdomen, la presencia de filamentos laterales a lo largo del cuerpo y el tamaño de los filamentos anales que se aproxima a una octava parte de la longitud del cuerpo (Beltrà y Soto, 2012). Sin embargo, estas características también están presentes en su especie simpátrica *Planococcus citri* Risso (Cox y Ben-Dov, 1986; Kol-Maimon *et al.*, 2014). Por tanto para su correcta identificación es necesario comparar diferentes caracteres morfológicos bajo microscopio o llevar a cabo la secuenciación de ADN (Daane *et al.*, 2011; Demontis *et al.*, 2007; Saccaggi *et al.*, 2008).

1.1.2. Biología

La reproducción de *P. ficus* es sexual y ovípara (Waterworth *et al.*, 2011). La puesta de huevos se localiza en un ovisaco algodonoso donde sitúan alrededor de 350 huevos (Krigler, 1954). Las hembras de *P. ficus* tienen un desarrollo heterometábolo y tras la eclosión de los huevos, pasan por tres estadios ninfales hasta alcanzar el estado adulto (Figura 1). En cambio, los machos se caracterizan por un desarrollo holometábolo con cuatro estadios inmaduros. La metamorfosis se lleva a cabo en un pequeño pupario donde se desarrollan los dos últimos estadios ninfales dando lugar a un adulto alado con el aparato bucal atrofiado que puede vivir de 1 a 3 días (Krigler, 1954).

El tiempo de desarrollo de *P. ficus* depende en gran medida de la temperatura ambiental y en condiciones controladas se ha observado que el insecto puede llevar a cabo una generación entre 40 y 112 días con temperaturas entre 30 a 17,5 °C (Varikou *et al.*, 2010). El número de

generaciones anuales observadas en el campo es también variable y, según las condiciones ambientales, se pueden completar entre 3 y 9 generaciones anuales. En la Cuenca Mediterránea se observan de 5 a 7 generaciones anuales, aunque en zonas más frías como el norte de Italia se ha registrado solamente tres (Duso, 1989; Tremblay, 1988). En Sudáfrica, Walton (2003) registró entre cinco y seis generaciones anuales.

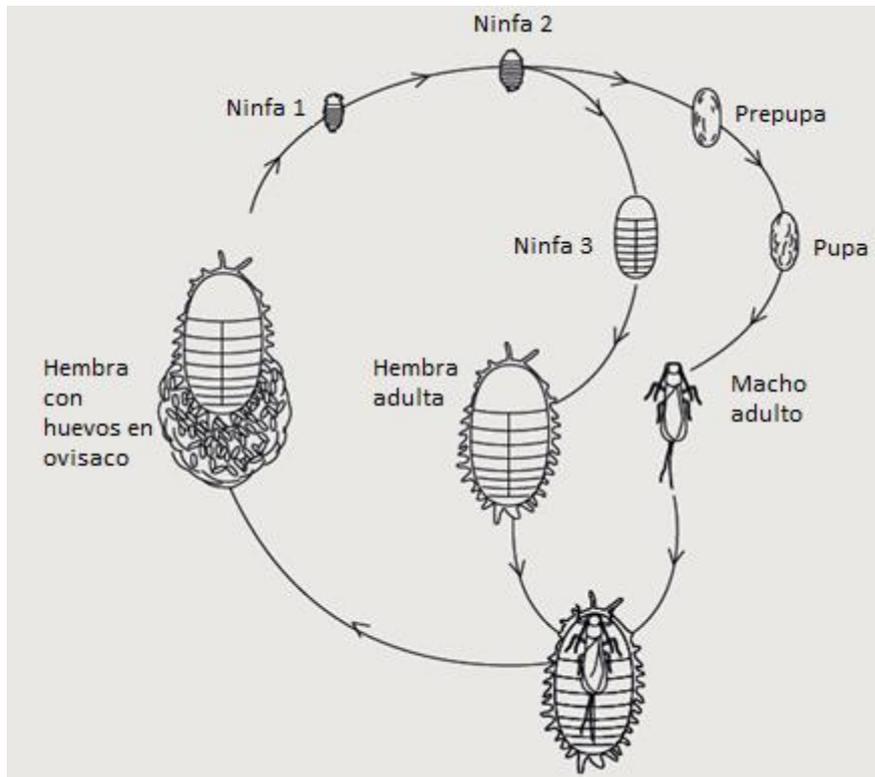


Figura 1: Ciclo biológico de *P. ficus* (Beltrà y Soto, 2012)

Con el objeto de hibernar, alimentarse, mudar o realizar la puesta, los pseudocóccidos se adaptan a la fenología de la planta migrando hacia diferentes órganos vegetales (Franco *et al.*, 2009; Martínez Ferrer *et al.*, 2003). La localización de *P. ficus* varía principalmente por la distribución de los carbohidratos en los diferentes órganos de la planta y la temperatura ambiental (Becerra *et al.*, 2006; Ripa y Luppichini, 2010). Las poblaciones de *P. ficus* pasan el período invernal en forma de huevo y hembra adulta bajo la corteza del tronco y en las raíces gruesas que se hallan a nivel del suelo (Fu Castillo *et al.*, 2005, Walton, 2003). A principios de primavera parte de la población se desplaza a los órganos verdes de la planta (brotes y hojas) y tras la maduración de los frutos, los pseudocóccidos migran hacia los racimos donde se acumulan los carbohidratos (Ripa y Luppichini, 2010).

Las densidades poblacionales aumentan rápidamente durante la primavera, alcanzándose las mayores poblaciones en los meses estivales (Duso *et al.*, 1985). A pesar de ello, un exceso de temperatura puede retrasar el crecimiento poblacional e inducir la mortalidad de los

pseudocóccidos (Daane *et al.*, 2011a). En otoño se produce un declive poblacional como resultado del descenso de las temperaturas y la senescencia de la vid (Duso, 1989).

1.1.3. Daños e importancia de la plaga

Planococcus ficus es un insecto polífago que ha sido observado en 35 especies vegetales distintas, entre las que se encuentran algunas plantas de uso agrícola y ornamental (Walton, 2003; Ben-Dov, 2014) (Tabla 1). A pesar de ello, su importancia económica se reduce a los viñedos y en especial al cultivo de uva de mesa, donde se considera una plaga relevante en más de 35 países, situados principalmente en las regiones subtropicales. *Planococcus ficus* ha sido identificado en la mayor parte de las zonas de producción de uva de mesa del mundo, incluyendo la Cuenca Mediterránea, Sudamérica, Oriente Medio, India y California (Ben-Dov, 2014).

En España fue identificado por primera vez por Gómez-Menor Ortega en el año 1937 y actualmente se considera una plaga clave en el cultivo de la uva de mesa (Martin-Mateo, 1985). En la uva de vinificación, debido a que los daños del insecto son principalmente estéticos, no causa problemas. Por ello los principales problemas asociados a *P. ficus* se han observado en el Valle del Vinalopó en la Comunidad Valenciana y Murcia, áreas donde se localiza la mayor producción de uva de mesa de España (Beltrà y Soto, 2012).

Planococcus ficus puede causar importantes daños en las viñas. La succión floemática produce una reducción de la fotosíntesis y del crecimiento de la planta. Además, densidades poblacionales muy elevadas pueden provocar la seca y caída de las hojas, así como la disminución de la cosecha (Charles, 1982; Walton, 2003). Sin embargo, los principales daños que causa el insecto son estéticos, ya que la presencia de pseudocóccidos, melazas o residuos cerosos en los frutos deprecia considerablemente su comercialización (Daane *et al.*, 2011a). Por otra parte, el pseudocóccido puede ser vector del complejo de virus del enrollado de la vid (GLRaVs) que causa importantes daños a las cepas y a la producción (Engelbrecht y Kasdorf, 1990).

Tabla 1: Plantas hospedantes de *P. ficus* (Fuente: Ben-Dov *et al.*, 2014).

Familia	Género/especie
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> Blume
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i> Linn .
Arecaceae	<i>Phoenix dactylifera</i> Linn .
Asteraceae	<i>Dahlia</i> spp.
Fabaceae	<i>Dichrostachys glomerata</i> Linn. <i>Prosopis farcata</i> Linn . <i>Tephrosia purpurea</i> Pers .
Juglandaceae	<i>Juglans</i> spp.
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill .
Lythraceae	<i>Punica granatum</i> Linn.
Malvaceae	<i>Theobroma cacao</i> Linn .
Moraceae	<i>Ficus benjamina</i> Linn . <i>Ficus carica</i> Linn. <i>Ficus</i> spp.
Platanaceae	<i>Platanus orientalis</i> Linn.
Poaceae	<i>Bambusa</i> spp.
Rhamnaceae	<i>Zizyphus spina-christi</i> Georgi
Rosaceae	<i>Cydonia oblonga</i> Mill. <i>Malus domestica</i> Baumg. <i>Malus pumila</i> Mill.
Salicaceae	<i>Salix</i> spp.
Styracaceae	<i>Styrax officinalis</i> Walt.
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> Linn.

1.1.4. Muestreo y control

El muestreo de los pseudocóccidos en los viñedos presenta importantes dificultades por su distribución agregada y las migraciones estacionales entre diferentes órganos de la planta (Geiger y Daane, 2001). Por ello, no existen métodos simples y eficaces para evaluar el riesgo de infestación en los viñedos y además el tamaño de muestra necesario para llevar a cabo los conteos suele ser elevado (Geiger y Daane, 2001).

Los métodos de monitoreo que se utilizan pueden ser directos basados en la observación de un número determinado de órganos vegetales como el tronco, las hojas o los frutos. Entre ellos, destaca por su mayor precisión la observación de diferentes órganos de la planta según el periodo estacional durante un periodo limitado de 3 o 5 minutos por planta (Daane *et al.*, 2012; Duso, 1989). Por otra parte también se han desarrollado muestreos indirectos como el uso de cintas pegajosas o feromonas sexuales (Cid *et al.*, 2010; Walton y Pringle, 2004b). El muestreo con feromonas sexuales se ha extendido en los últimos años tras la identificación y síntesis de las feromonas de un buen número de especies de pseudocóccidos, entre los cuales se encuentra *P. ficus* (Hinkens *et al.*, 2001, Millar *et al.*, 2002). A pesar del desarrollo de las técnicas de muestreo, muy pocos trabajos han conseguido determinar umbrales de

tratamiento que permitan optimizar el manejo de los pseudocóccidos en viñedos. Aun así, las normativas de gestión integrada de plagas suelen llevar a cabo recomendaciones para el control de *P. ficus*. Por ejemplo, la normativa Gestión Integrada de Plagas de la Comunidad Valenciana recomienda efectuar un tratamiento invernal si se supera el 3% de cepas atacadas y durante el período vegetativo si se superan el 2% de brotes o el 1% de pulgares atacados (DOGV, 2014).

El uso de plaguicidas es el sistema de manejo más utilizado para el control de *P. ficus*. Durante la segunda mitad del siglo XX la mayor parte de los materiales usados (a menudo de amplio espectro) se volvieron menos eficaces o en última instancia, fueron prohibidos por el riesgo de contaminación medioambiental (Flaherty *et al.*, 1982). En los últimos años las materias activas más utilizadas pertenecen a los grupos de los organofosforados y neonicotinoides, aunque recientemente se ha extendido también el uso de nuevas materias activas como el Spirotetramat (Daane *et al.*, 2006; Sazo *et al.*, 2008).

Actualmente las materias activas permitidas según la normativa de Gestión Integrada de Plagas de la Comunidad Valenciana son Clorpirifos, Imidacloprid, Metil-clorpirifos y Spirotetramat (DOGV, 2014). La normativa de producción ecológica es más restrictiva y solo permite el uso de aceites minerales, cal, azufre, y jabones potásicos (DOUE, 2007).

Las técnicas culturales que se practican en el cultivo de los viñedos también pueden mostrar un efecto positivo en el manejo de *P. ficus* (Lucas y Martín, 2014). La selección de racimos en contacto directo con el tronco o los pulgares durante el aclareo puede disminuir los daños en los frutos ya que en estos se encuentran mayores poblaciones del pseudocóccido (Geiger y Daane, 2001). El descortezado del tronco y los brazos puede favorecer el control biológico y la acción de los plaguicidas, aunque se trata de un método bastante costoso (Daane *et al.*, 2012). Además, la fecha de cosecha también influye en los niveles de infestación de los frutos que pueden ser mayores en las cosechas tardías (Daane *et al.*, 2011a). Finalmente, es conveniente evitar el exceso de vigor en las cepas ya que favorecen el desarrollo de las poblaciones de los pseudocóccidos (Daane *et al.*, 2012).

Recientemente también se ha extendido el uso de las feromonas sexuales para el manejo de *P. ficus* mediante la confusión sexual. Esta técnica ha sido probada con éxito en diferentes áreas como California o Italia y su uso se ha generalizado en España durante los últimos años (Cocco *et al.*, 2014; Walton, 2006).

1.2. Control biológico

1.2.1. Enemigos naturales de pseudocóccidos en viñedos

Un gran número de enemigos naturales contribuyen al control de los pseudocóccidos en los viñedos. Los depredadores pertenecen a familias de fitófagos generalistas que se alimentan de diferentes especies de insectos. En cambio, la mayoría de parasitoides pertenecen a la familia de los encértidos y mantienen relaciones específicas con sus hospedantes (Noyes y Hayat, 1994).

Los principales depredadores de pseudocóccidos en viñedos forman parte de los órdenes de los coleópteros, dípteros y neurópteros (Daane *et al.*, 2012; Ripa y Luppichini, 2010). El depredador de pseudocóccidos más conocido es el coccinélido *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), ya que por su carácter específico ha sido ampliamente utilizado en los programas de control biológico (Smith y Armitage, 1920). Otros coccinélidos pertenecientes a la subfamilia Scymninae son relativamente notables, incluyendo especies de los géneros *Hyperaspis*, *Nephus* (= *Scymnobius*) y *Scymnus*. También, es muy común la presencia de dípteros depredadores de las familias Cecydomidae, Syrphidae y Chamaemyiidae, destacando de esta última familia las especies del género *Leucopis* Meigen. Sin embargo, la información sobre el efecto de este grupo de insectos sobre las poblaciones de pseudocóccidos es poco conocida (Abbas, 1999). Los neurópteros son también importantes depredadores de pseudocóccidos, especialmente la familia Chrysopidae, aunque existen otras especies importantes como *Symphorobius maculipennis* Kimm (Neuroptera: Hemerobiidae). El neuróptero más destacado es *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), el cual se ha observado depredando distintas especies de pseudocóccidos en cultivos de campo abierto (Krishnamoorthi y Mani, 1989; Graora *et al.*, 2014). Las larvas de crisopa son depredadores eficaces de pseudocóccidos de menor tamaño, aunque su actividad se ve dificultada por las secreciones cerosas de los ovisacos que les protegen de la acción del depredador (Rzaeva, 1985). Existen también otros insectos depredadores como los heterópteros *Orius* ssp. o *Geocoris pallens* (Stål), la tijereta común *Forficula auricularia* L. o los arácnidos generalistas *Theridion* spp. (Costello y Daane, 1999).

Los parasitoides de la familia de los encértidos tienen una gran influencia en las poblaciones de pseudocóccidos de los viñedos de todo el mundo (Daane *et al.*, 2012). Algunas de las especies más destacables asociadas a *P. ficus* en la Cuenca Mediterránea son los parasitoides nativos *Anagyrus pseudococci* (Girault) y *Leptomastoidea abnormis* (Girault), y el parasitoide de origen sudamericano *Leptomastix dactylopii* (Howard) (Trjapitzyn y Trjapitzyn, 1999; Urban, 1985).

1.2.2. Mutualismo con hormigas

Las hormigas mantienen relaciones mutualistas con los hemípteros productores de melaza (Bartlett, 1961; González-Hernández *et al.*, 1999; Helms y Vinson, 2002; Zhou *et al.*, 2012). En estas asociaciones las hormigas se alimentan de las melazas excretadas y ofrecen

refugio, transporte y defensa a los pseudocóccidos (Gullan, 1997). En algunos casos las hormigas también pueden alimentarse de los productores de melaza obteniendo una fuente de alimentación de lípidos y proteínas (Figura 2). Esta interacción interfiere en el control biológico ya que la presencia de hormigas puede interrumpir los procesos de depredación y en la puesta de huevos de los parasitoides (Barzman y Daane, 2001; Beltrà *et al.*, 2015).

En los viñedos la presencia de hormigas atendiendo a diferentes especies de pseudocóccidos ha sido ampliamente documentada observándose generalmente mayores poblaciones de pseudocóccidos asociados a la presencia de hormigas (Bartlett 1961; González-Hernández *et al.*, 1999; Zhou *et al.*, 2012). Esta asociación es variable según la agresividad de las especies de hormigas presentes en el cultivo (Mgochecki y Addison, 2009). Concretamente la hormiga argentina *Linepithema humile* (Mayr), ha sido asociada a aumentos de las densidades poblacionales de los pseudocóccidos tanto en California como en Sudáfrica, provocando un aumento de los daños en los frutos (Daane *et al.*, 2007; Mgochecki y Addison, 2010; Sime y Daane, 2014).

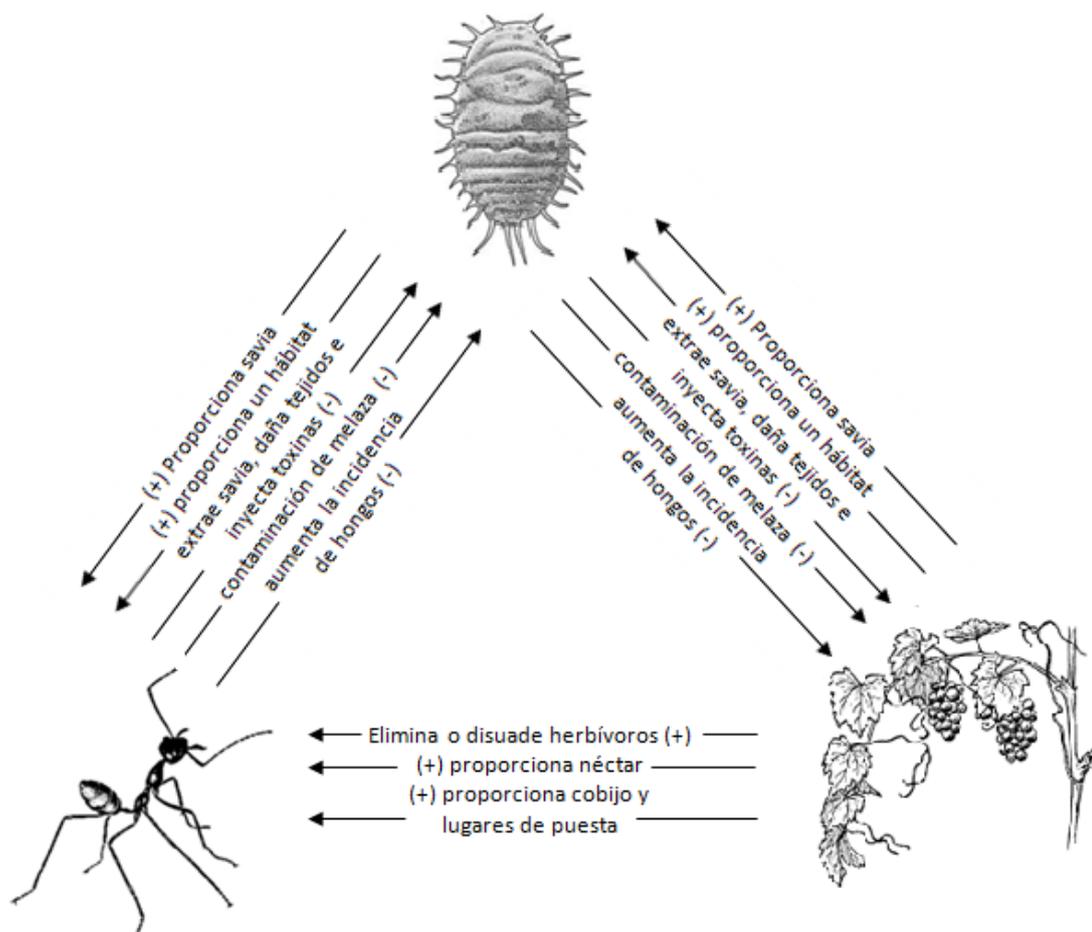


Figura 2: Diagrama esquemático de las posibles interacciones en la asociación pseudocócido-hormiga-planta (adaptación de la Fig. 1.3.5.3, Gullan, 1997)

Por todo ello, el manejo de las poblaciones de hormigas puede ser clave para favorecer la acción de los enemigos naturales y controlar los pseudocóccidos en los viñedos. Actualmente los principales métodos de manejo de hormigas se basan en el uso de cebos químicos (Cooper *et al.*, 2008; Nyamukondiwa y Addison, 2011). Sin embargo, la aplicación de nuevas estrategias para la exclusión de las hormigas como la introducción de cubiertas vegetales o la provisión de azúcares artificiales ha tenido buenos resultados en otros cultivos y podría tener interés para el manejo de los pseudocóccidos en los viñedos (Douglas *et al.*, 2000; Daane *et al.*, 2006; Mahumuda *et al.*, 2006; Carabalí-Banguero *et al.*, 2013; Nagy *et al.* 2013; Nagy *et al.*, 2015).

1.2.3. Control biológico de pseudocóccidos en viñedos

La conservación de los enemigos naturales presentes en los viñedos es clave para el manejo de los pseudocóccidos en el cultivo de uva de mesa. Entre las principales actividades para el incremento de los enemigos naturales en este cultivo podemos destacar el uso racional de los plaguicidas, el manejo de la flora arvense y el control de las hormigas (Lucas y Martín, 2014). Debido al elevado valor comercial de la uva de mesa y a la baja tolerancia a los daños estéticos de los mercados, el número de aplicaciones de plaguicidas es muy elevado (Ripa y Luppichini, 2010). Por ello, la selección de materias activas respetuosas con los enemigos naturales es clave para su conservación. También es de gran importancia el manejo de la flora arvense y las cubiertas vegetales ya que pueden proporcionar refugio y fuentes de alimentación a los enemigos naturales (Bugg y Waddington, 1994; Whitehead, 1957; Urban, 1985). Se ha constatado cierta eficacia en el uso de cubiertas vegetales en diversos cultivos, atrayendo insectos beneficiosos de los grupos Coccinellidae o Neuroptera (Bugg y Waddington, 1994). Estos autores también señalan que la veza común (*Vicia sativa* L.) al tener estipulas con nectarios extra-florales, atraen a los parasitoides. A pesar de ello, Costello y Daane (2003) no encontraron un efecto significativo de las cubiertas vegetales en las poblaciones de enemigos naturales de *P. ficus* en viñedos.

Por otra parte, la presencia de sustancias alimenticias en forma de polen, néctar, sacarosa o levaduras sacarosa puede conducir a un aumento de las poblaciones locales de coccinélidos depredadores, crisópidos y hemeróbidos (Neuenschwander y Hagen 1980). Estas fuentes de alimentos aumentaron la longevidad no sólo de los depredadores sino también de los encártidos en el control biológico sobre *P. ficus* (Urban, 1985). Otras técnicas culturales como el descortezado o la poda estival, que reduce el exceso de follaje, facilitan la búsqueda de *P. ficus* a los depredadores y parasitoides, aumentando así su eficacia (Kriegler, 1954; Flaherty *et al.*, 1982).

Se han realizado diversos estudios de control biológico de inundación en viñedos. Aunque existe una gran diversidad de enemigos naturales, una gran parte de dichos estudios está basada en la suelta masiva de parasitoides encártidos (Noyes y Hayat, 1994). Daane *et al.* (2006) observaron la reducción de las poblaciones de *P. ficus* y de los daños asociados a este pseudocóccido tras la suelta masiva del parasitoide *A. pseudococci*. También ha sido probada

la introducción masiva de *Coccidoxenoides perminutus* (Girault) en Sudáfrica sin encontrar efectos significativos en el control (Walton y Pringle, 2001).

En cuanto a los depredadores, se ha estudiado el impacto de la suelta masiva de ciertas especies de neurópteros sobre las poblaciones de pseudocócidos con resultados satisfactorios, como es el caso del neuróptero *C. carnea* (Daane et al., 1996). También se ha comprobado la relevancia del coccinélido *C. montuzieri* en las poblaciones de pseudocócidos (Mani y Thontadarya, 1988). Por otra parte, se ha probado la eficacia de la suelta inundativa de otras especies como el díptero cecidómido *Diadiplosis koebelei* (Koebele), que redujo hasta un 30% las poblaciones de *Pseudococcus longispinus* en viñedos de Nueva Zelanda (Charles, 1985).

En estudios previos llevados a cabo en España, Lucas (2009) probó la suelta masiva del parasitoide nativo *A. pseudococci*, solo o en combinación con el depredador *C. montrouzieri* para el control de *P. citri* y *P. ficus* en uva de mesa con resultados positivos aunque insuficientes. A pesar de no haber más estudios específicos sobre el control biológico inundativo de *P. ficus*, en cítricos se estudió el efecto de la liberación de *L. dactylopii* y *C. montrouzieri* para el control biológico de *P. citri* observándose únicamente un mayor efecto de control en aquellas parcelas donde se eliminó la presencia de hormigas (Villalba et al., 2006). La guía de gestión integrada de plagas de uva de mesa recomienda una dosis de suelta del orden de 3.000-4.000 pupas/ha del parásito mencionado, así como 500-1000 adultos/ha para el coccinélido depredador (Lucas y Martín, 2014).

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Planococcus ficus está ampliamente distribuido en los viñedos españoles de uva de mesa. Cuando sus poblaciones son elevadas el pseudocóccido produce daños estéticos en los frutos debido a la presencia de ceras y melazas, lo que revierte en importantes pérdidas económicas. Las dificultades asociadas al control químico de esta plaga como la baja efectividad de algunas materias activas, la aparición de resistencias o el creciente rechazo social a la aplicación de fitosanitarios, exigen el desarrollo de medidas de control alternativas. Entre ellas, la Unión Europea ha propuesto el control biológico como una medida sostenible a tener en cuenta en el manejo integrado de plagas.

El conocimiento de las interacciones entre las hormigas y *P. ficus* es un punto clave para la mejora del control biológico de esta plaga. A pesar de ello, existe muy poca información sobre las especies de hormigas presentes en los viñedos de la Cuenca Mediterránea y su efecto sobre las poblaciones del pseudocóccido. Por otra parte, a pesar de la generalización de la práctica de la suelta masiva de enemigos naturales de *P. ficus* en los viñedos de uva de mesa en esta área geográfica, muy pocos trabajos han estudiado su eficacia en el control de la plaga.

Por ello, como primeros pasos para establecer un programa de control biológico de *P. ficus* en los viñedos de uva de mesa, en este trabajo se pretende:

- a. Evaluar las especies de hormigas presentes en cuatro viñedos del valle del Vinalopó y el efecto de su actividad sobre las poblaciones de los pseudocóccidos y los daños en los frutos.
- b. Estudiar el efecto del suministro de azúcares artificiales en la actividad de las hormigas y la abundancia de pseudocóccidos.
- c. Estudiar la eficacia de las sueltas combinadas del parasitoide *A. pseudococci* y el depredador *C. carnea* en los daños ocasionados por *P. ficus*.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Parcelas de muestreo

El estudio se llevó a cabo en cuatro viñedos de uva de mesa. Todas las plantaciones se localizaron en la comarca del Medio Vinalopó, en la provincia de Alicante, y tenían en común un historial de infestaciones de *P. ficus* y pérdidas económicas significantes. La superficie de las plantaciones varió de 0,35 a 0,80 ha y los cultivares de uva de mesa y sistemas de riego fueron distintos en los viñedos (Tabla 2). Las parcelas se mantuvieron libres de malezas mediante el arado y/o la aplicación local de herbicidas. También se utilizaron fungicidas cuando fue necesario, pero no se aplicaron insecticidas en las zonas de muestreo durante el periodo de estudio.

Tabla 2: Detalles de las diferentes plantaciones del estudio.

Parcela	Municipio	GPS	Superficie (ha)	Variedad	Manejo	Cosecha	Irrigación
1	La Romana	38º 21' 32" N, 0º 53' 29" W	0,71	Dominga	Ecológico	Noviembre	Goteo subterráneo
2	Novelda	38º 22' 46" N, 0º 49' 20" W	0,63	Red globe	Convencional	Septiembre	Goteo superficial
3	Novelda	38º 22' 48" N, 0º 47' 4" W	0,51	Aledo	Convencional	Octubre	Goteo superficial
4	La Romana	38º 21' 32" N, 0º 54' 4" W	0,35	Aledo	Convencional	Octubre	Goteo superficial

3.2. Impacto de las hormigas en las poblaciones de pseudocóccidos

3.2.1. Especies y actividad de hormigas

Las observaciones de las especies y actividad de las hormigas se realizaron durante los años 2013 y 2014. En el primer año se muestrearon las cuatro parcelas y en el segundo año se excluyeron del estudio las parcelas 3 y 4 ya que se registraron niveles poblacionales de hormigas muy bajos en el primer año. Los muestreos se llevaron a cabo mensualmente desde Abril a Octubre en 30 cepas por viñedo (3 réplicas de 10 cepas contiguas) en el año 2013 y cada dos semanas de Mayo a Septiembre en 24 cepas por viñedo (4 réplicas de 6 cepas contiguas) en el año 2014. Las observaciones se llevaron a cabo desde las 10 de la mañana a las 4 de la tarde. En cada muestreo se inspeccionó el tronco de cada cepa contabilizándose el número de hormigas que atravesaban en sentido ascendente o descendente una línea imaginaria del tronco a una altura de 0,5 m del suelo durante un minuto. Por otra parte, se recogieron distintas muestras de hormigas que fueron introducidas en tubos con etanol y

llevadas al laboratorio para su posterior identificación. Las especies de hormigas recogidas fueron posteriormente identificadas acorde a Seifert (1992) y Bolton *et al.* (2007).

3.2.2. Influencia de las hormigas en la abundancia de *Planococcus ficus* y daños en los frutos:

La influencia de las hormigas sobre las poblaciones de *P. ficus* y los daños finales en frutos se estudió en las cuatro parcelas previamente descritas durante el año 2013. Se utilizaron trampas de cartón corrugado para contabilizar el número de pseudocóccidos presentes en el tronco de la vid (DeBach, 1949). Para ello se quitó una pieza cilíndrica de 20 cm de la corteza superficial del tronco a una altura aproximada de 70 cm del suelo y se reemplazó por una pieza de cartón corrugado (Figura 3). Quincenalmente se contó el número de pseudocóccidos presentes desde el segundo estadio ninfal hasta el estado adulto. Por otra parte, se estimaron los daños finales en todos los frutos presentes en las cepas muestreadas una semana antes de la recolección. Para ello, se contabilizó el porcentaje de frutos no comerciales, considerando como tales aquellos con más de diez individuos de *P. ficus*, presencia de negrilla o abundancia de melaza.

3.2.3. Impacto de la aplicación de azúcares sobre la actividad de las hormigas

El estudio se realizó en el año 2013 mediante la colocación de unos dispensadores de azúcar en la base del tronco. Los dispensadores consistían en botellas de plástico de 250 ml con el tapón perforado y un filtro de papel para reducir la velocidad de goteo (Figura 3). Se colocaron un total de diez dispensadores por viñedo (dos repeticiones de cinco cepas contiguas). Las botellas se llenaron con Biogluc® (Biobest N.V., Westerlo, Bélgica), una solución de azúcar (71.5% w/w) que contenía fructosa (37.5%), glucosa (34.5%), sacarosa (25%), maltosa (2%) y oligosacáridos (1%), que a su vez se diluyó en agua a igual contenido. Las botellas se cubrieron con mallas de plástico perforadas a 15x15 mm para evitar la interferencia de abejas, avispa o abejorros. Como control, se utilizaron los datos obtenidos de las 30 cepas de muestreo utilizadas para el estudio de la actividad de hormigas (sección 3.2.1).



Figura 3: Cepa muestreada con trampa de cartón corrugado y dispensador de azúcar.

3.3. Control biológico aumentativo de *Planococcus ficus*

3.3.1. Seltas de enemigos naturales

El ensayo de control biológico mediante la liberación masiva de enemigos naturales se llevó a cabo en los años 2013 y 2014. Para ello se realizaron un total de tres sueltas anuales desde abril hasta agosto, en las fechas de 12-4, 13-6 y 6-8 durante el año 2013 y en las fechas 15-5, 16-6 y 15-7 en el año 2014. Para cada fecha se liberaron los enemigos naturales con una dosis de 12.500 adultos de *A. pseudococci* y 60.000 larvas de *C. carnea* por hectárea. Todos los insectos procedían del insectario de la empresa Biobest N.V. (Westerlo, Bélgica). En el año 2013 la suelta se aplicó en 2 bloques por parcela conformados por 30 cepas cada uno (3 filas de 10 cepas contiguas), mientras que en el año 2014 se llevó a cabo en 2 bloques formados cada uno por 24 cepas (4 filas de 6 cepas adyacentes). En cada parcela se delimitaron dos bloques más del mismo tamaño, en los que no se liberaron enemigos naturales. Los bloques en los que se llevó a cabo la suelta y los bloques control tuvieron una separación mínima de 50 metros.

3.3.2. Abundancia e impacto de los enemigos naturales en las poblaciones de *P. ficus* y daños en los frutos

Se realizaron muestreos quincenales para evaluar la actividad de los enemigos naturales,

desde Mayo hasta mediados de Octubre en 2013 y desde Mayo hasta Septiembre en 2014. El muestreo se basó en la observación directa en el campo durante los dos años, pero la unidad de muestra para el estudio de los enemigos naturales varió de un año a otro. El primer año se muestrearon 20 hojas por cepa (las 10 cepas centrales de cada bloque), mientras que en el segundo año para aumentar el área muestreada se procedió a muestrear durante 3 minutos las hojas y ramas verdes de cada cepa (las 6 cepas centrales de cada bloque). En ambos años se anotaron el número de huevos, larvas y adultos de *C. carnea*, así como el número de pseudocóccidos presentes en la muestra, desde el segundo estadio ninfal hasta hembras adultas y si estos estaban parasitados. Los individuos parasitados se diferenciaron por su morfología ovalada e hinchada, así como por su coloración oscura.

Por otra parte, los individuos de *P. ficus* presentes en los frutos también se observaron en el laboratorio. Este muestreo solamente se pudo llevar a cabo en aquellas parcelas con más de un 5% de frutos dañados. Para ello, una semana antes de la cosecha, se recolectaron un mínimo de 10 frutos infestados por bloque y se trasladaron al laboratorio. Con ayuda de una lupa binocular se contabilizó el número de individuos de *P. ficus* desde el tercer estadio ninfal a las hembras grávidas diferenciando los que estaban parasitados de los que no lo estaban. Debido al bajo número de pseudocóccidos presentes en los frutos, el porcentaje de parasitismo se calculó para cada uno de los bloques, dividiendo el número de pseudocóccidos parasitados por el total de pseudocóccidos parasitables.

3.4. Análisis estadístico

Para estudiar la relación entre la actividad de las hormigas y la densidad de población de *P. ficus* se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA), incluyendo la parcela como covariable. Por otra parte, para analizar el impacto de las poblaciones de hormigas y las de pseudocóccidos en el porcentaje de frutos dañados, se construyeron modelos lineales generalizados (MLG) asumiendo una estructura de error binomial. El efecto de los azúcares artificiales sobre la actividad de las hormigas y las poblaciones de *P. ficus* entre parcelas se analizó aplicando un ANOVA de dos vías. En todos estos análisis se utilizó el promedio anual de la abundancia de *P. ficus* y de hormigas por cepa muestreada. Cuando fue necesario se aplicaron transformaciones logarítmicas para estabilizar la varianza.

El efecto de la suelta de los depredadores en la abundancia de los huevos de crisopa en las cepas se analizó para cada parcela mediante un ANOVA de medidas repetidas. Por otra parte, se aplicaron modelos lineales generalizados (MLG) asumiendo una estructura de error binomial para comparar los porcentajes de parasitismo en los frutos del área de suelta y del área de control en cada parcela. Estos modelos se utilizaron también para estudiar las diferencias en el número de frutos comerciables entre las zonas de suelta y el control.

IV. RESULTADOS

4.1. Impacto de las hormigas en las poblaciones de pseudocóccidos

4.1.1. Abundancia y actividad de hormigas

Se encontraron tres especies diferentes de hormigas en las parcelas estudiadas: *Lasius grandis* Forel, *Pheidole pallidula* (Nylander) y *Plagiolepis schmitzii* Forel. En la parcela 1 la actividad media de las hormigas fue de $1,28 \pm 0,29$ y $1,12 \pm 0,22$ (\pm SE) hormigas por minuto en 2013 y 2014, respectivamente (Figura 4). Las especie más abundante en esta parcela fue *L. grandis* representando el 98% y el 83% de los individuos contados en 2013 y 2014 respectivamente. En la parcela 2 se detectó un promedio de hormigas por minuto de $1,00 \pm 0,21$ en 2013 y $1,66 \pm 0,30$ en 2014. *Plagiolepis schmitzii* fue la especie más abundante, representando el 53% y el 49% de las hormigas forrajeras, en 2013 y 2014. En la misma parcela, *P. pallidula* fue la segunda especie más abundante, con el 29% y el 51%. La actividad de las hormigas fue muy inferior en las parcelas 3 y 4 con un promedio de $0,20 \pm 0,06$ y $0,32 \pm 0,08$ hormigas por minuto

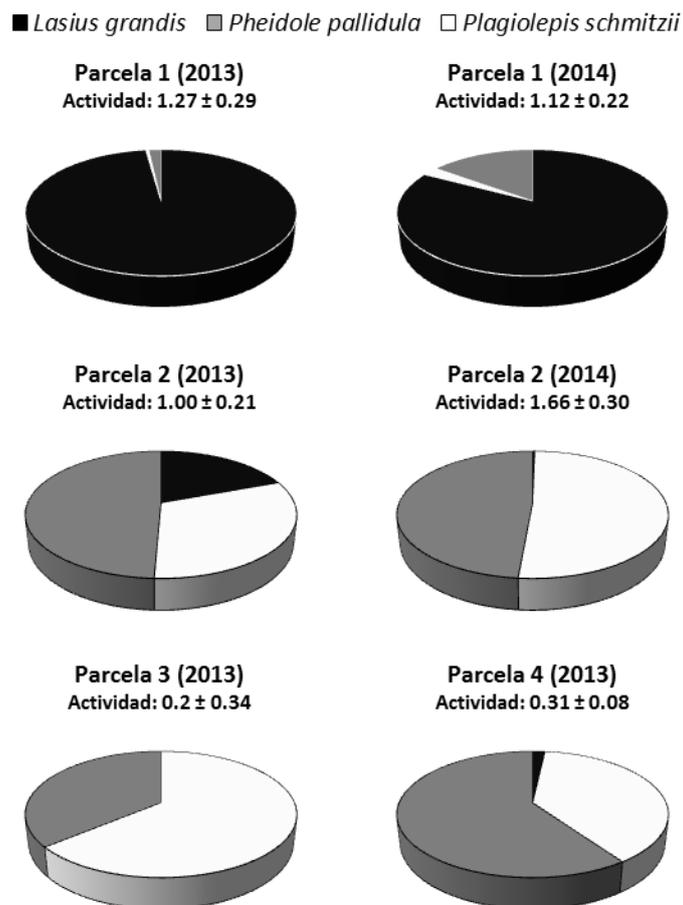


Figura 4: Composición de especies y actividad media por cepa (\pm error estándar) de las hormigas que forrajearon en la copa de las viñas (número de hormigas por minuto). Muestras obtenidas a partir de 168 cepas de cuatro viñedos.

El patrón de actividad durante el ensayo fue similar para *L. grandis* y *P. schmitzii*; la actividad comenzó a aumentar a finales de mayo y alcanzó su punto máximo en junio. Un segundo aumento de menor importancia se registró a finales de verano. En 2013, la actividad de *P. pallidula* aumentó en julio y se mantuvo alta durante los meses de verano, mientras que en 2014 se observó el pico más alto de actividad en septiembre (Figura 5).

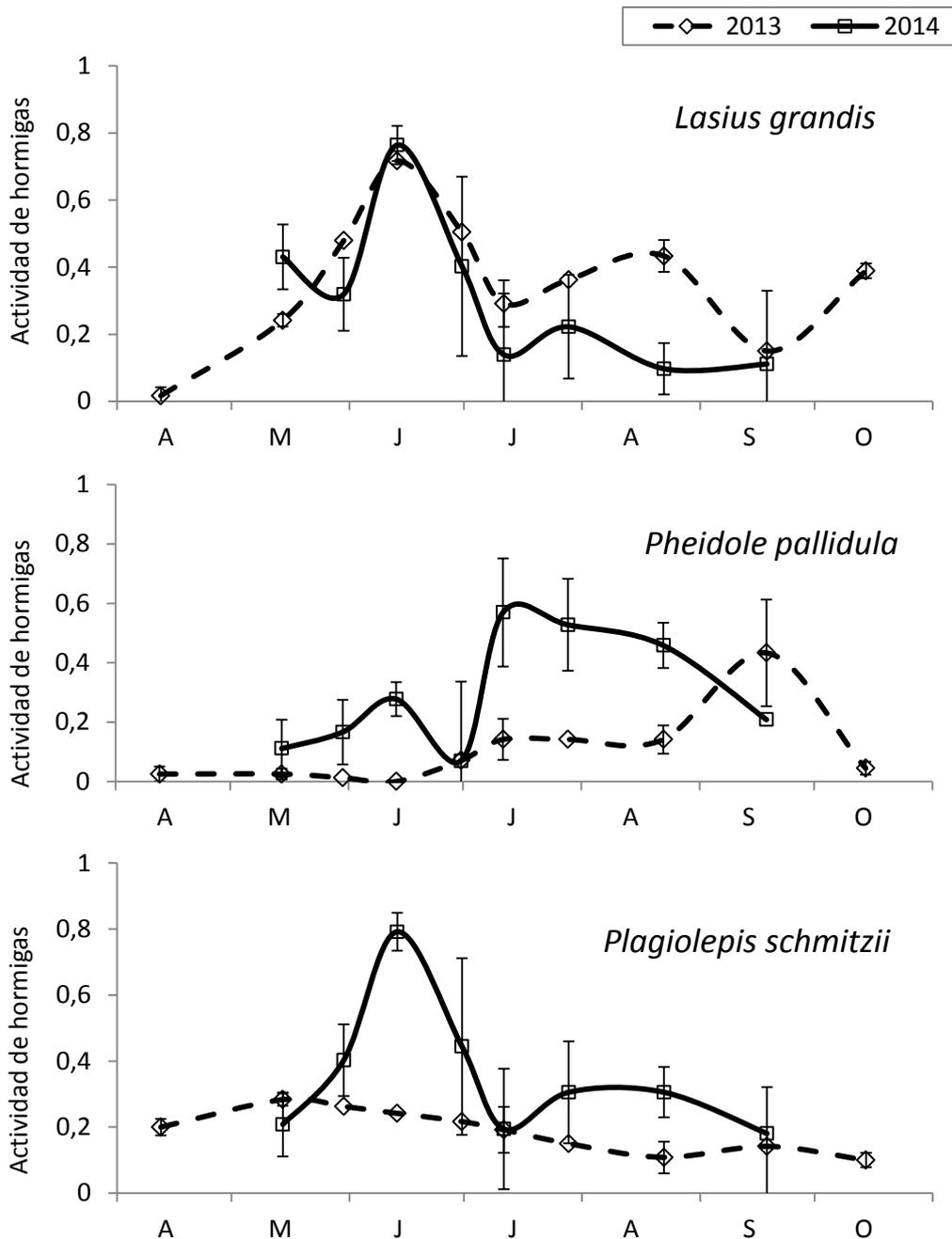


Figura 5: Actividad estacional de las hormigas que suben a la copa de las viñas (número de hormigas por minuto) de *Lasius grandis*, *Pheidole pallidula* y *Plagiolepis schmitzii*. Las muestras corresponden a 168 cepas de cuatro viñedos. Los datos fueron tomados de abril a octubre en 2013 y de mayo a septiembre en 2014. Las barras representan el error estándar para cada una de las especies

4.1.2. Relación entre la actividad de hormigas, la abundancia de *Planococcus ficus* y los daños en los frutos

La abundancia de los pseudocóccidos encontrados en las trampas colocadas en el tronco se correlacionó positivamente con la abundancia de hormigas ($F = 36,88$; $gl = 1, 118$; $P < 0,0001$; $R^2 = 23,81$) (Figura 6). El efecto de la parcela ($F = 1,95$; $df = 3, 115$; $P = 0,12$) y la interacción entre la abundancia de *P. ficus* y la parcela no fueron significativos ($F = 0,28$; $df = 3, 112$; $P = 0,83$).

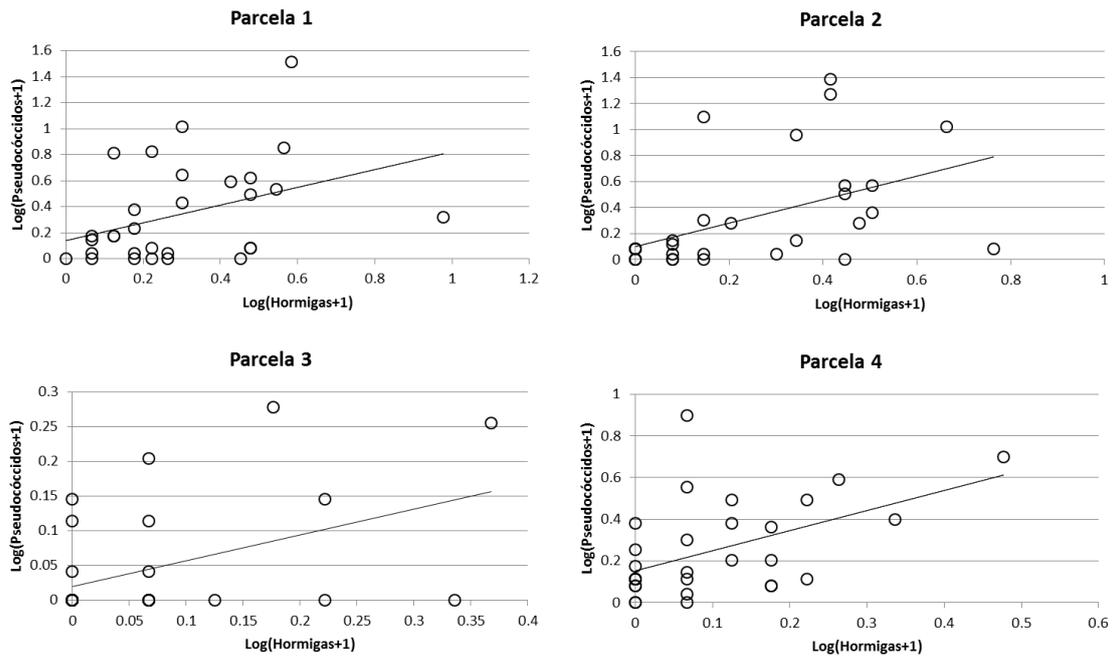


Figura 6: Relación entre la actividad de hormigas (número de hormigas durante 1 minuto) y abundancia media de *P. ficus* en trampas de cartón por cepa. Las muestras corresponden a 120 cepas de cuatro viñedos muestreados en 2013.

Los daños en los frutos también aumentaron a medida que lo hizo la actividad de las hormigas ($F = 28,87$; $gl = 1, 116$; $P < 0,0001$; $D^2 = 10,25$) (Figura 7). Además, se encontraron diferencias significativas en los daños en los frutos entre parcelas ($F = 44,10$; $gl = 3, 113$, $P < 0,0001$; $D^2 = 47,09$). Por otro lado, la interacción entre la actividad de las hormigas y las parcelas no fue significativa ($F = 0,73$; $gl = 3, 110$; $P = 0,53$).

La media del porcentaje de frutos dañados, no comerciables, por cepa aumentó significativamente con el número de pseudocóccidos capturados en las trampas del tronco ($F = 36,02$; $gl = 1, 116$; $P < 0,0001$; $D^2 = 14,25$) (Figura 8). Los daños en frutos difirieron significativamente entre parcelas ($F = 35,09$; $gl = 3, 113$, $P < 0,0001$; $D^2 = 41,63$), pero no hubo un efecto significativo de la interacción entre ambos factores ($F = 1,07$; $gl = 3, 110$; $P = 0,36$).

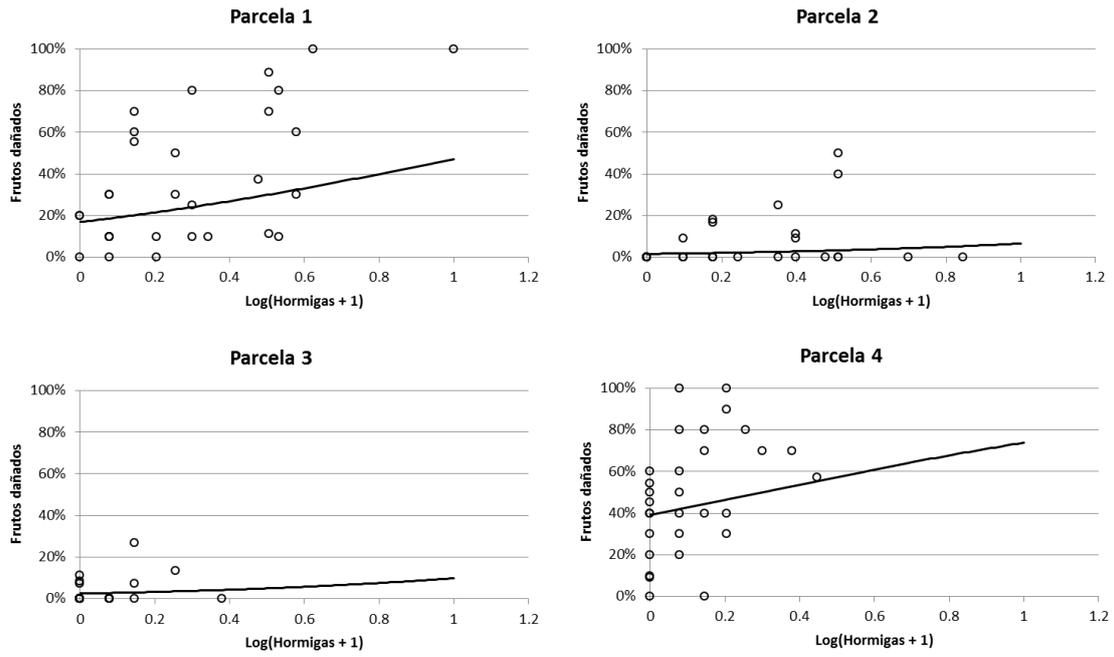


Figura 7: Relación entre la actividad de las hormigas (número de hormigas durante 1 minuto) y el porcentaje de frutos dañados por cepa. Las muestras corresponden a 120 cepas de cuatro viñedos monitoreados en 2013.

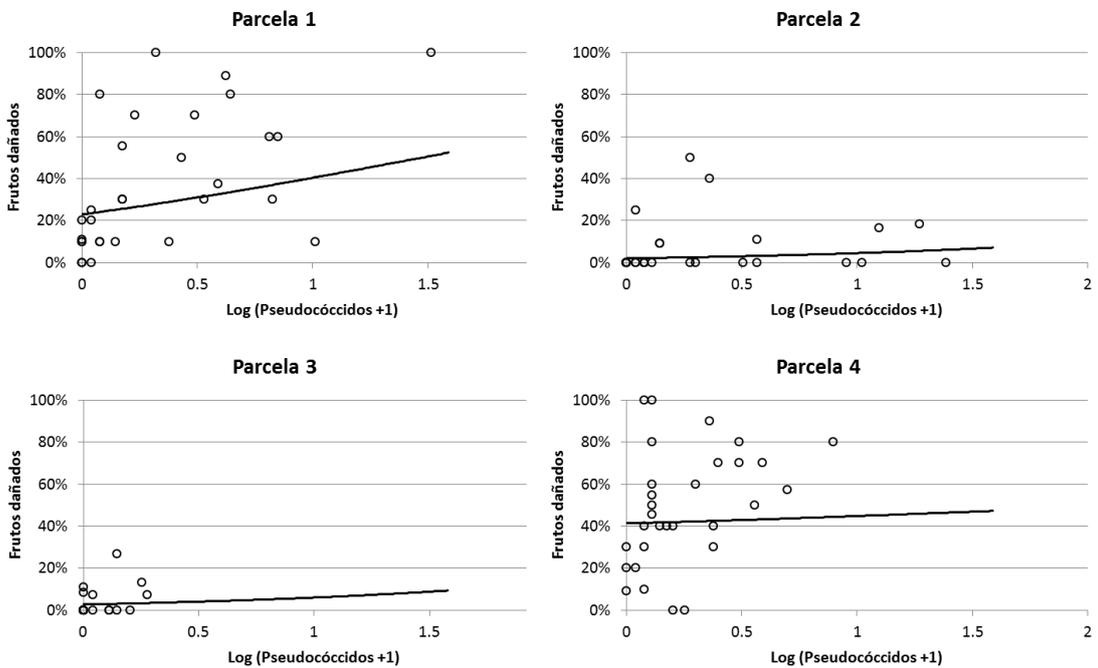


Figura 8: Relación entre la abundancia media de *Planococcus ficus* muestreados en el tronco de las cepas y el porcentaje de daños en los frutos. Las muestras corresponden a 120 cepas de cuatro viñedos muestreados en 2013.

4.2. Influencia de los azúcares artificiales en las poblaciones de hormigas y pseudocóccidos

4.2.1. Influencia de los azúcares artificiales en las poblaciones de hormigas

Al agrupar los datos de todas las parcelas, la aplicación de azúcares artificiales redujo la actividad de hormigas por cepa de $0,64 \pm 0,07$ hormigas por minuto en el tratamiento control a $0,49 \pm 0,12$ hormigas por minuto en las cepas con dispensadores de azúcar (23,4%) (Figura 9). Aun así, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($F = 0,54$; $gl = 1, 155$; $P = 0,46$). La actividad de las hormigas fue distinta entre parcelas ($F = 13,54$; $gl = 3, 155$; $P < 0,0001$), pero la interacción entre tratamientos y las parcelas no fue significativa ($F = 0,36$; $gl = 3, 152$; $P = 0,78$).

En cuanto a las especies de hormigas, la mayor reducción de la actividad fue registrada en *L. grandis* que disminuyó de $0,32 \pm 0,08$ a $0,16 \pm 0,06$ (50%) en el tratamiento con azúcar ($F = 1,67$; $gl = 1, 155$; $P = 0,20$). La actividad de *P. schmitzii* no sufrió ninguna variación en presencia de los dispensadores de azúcar artificial y se redujo ligeramente de $0,19 \pm 0,03$ a $0,18 \pm 0,05$ ($F = 0,01$; $gl = 1, 155$; $P = 0,97$). De igual manera, la actividad de *P. pallidula* fue similar entre el control ($0,15 \pm 0,06$) y el tratamiento de azúcar ($0,12 \pm 0,36$) ($F = 0,18$; $df = 1, 155$; $P = 0,67$).

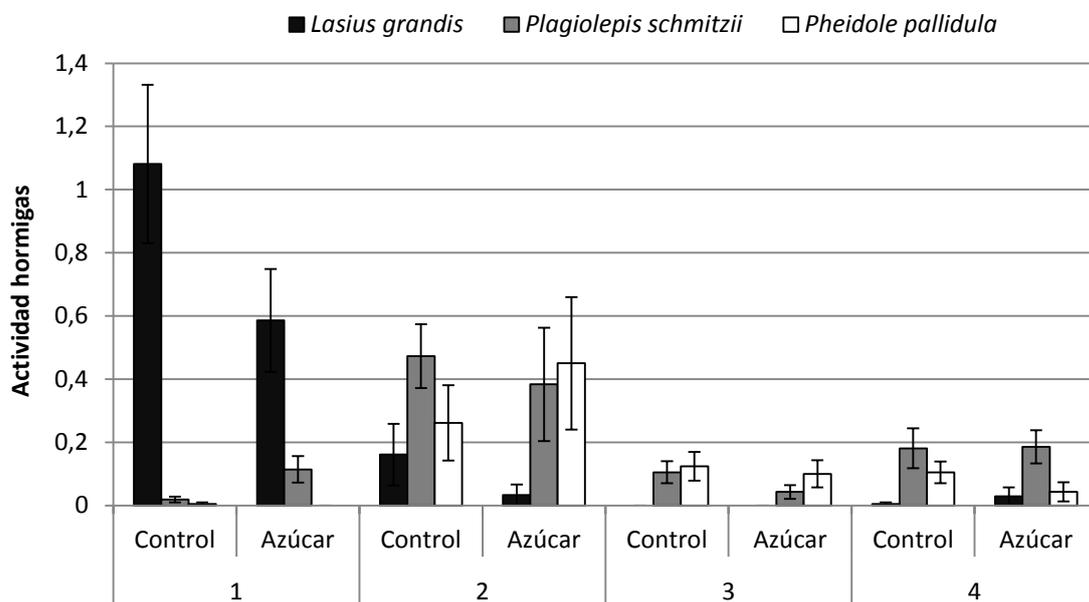


Figura 9: Actividad de hormigas (número de hormigas durante 1 minuto) forrajeando en cepas con o sin dispensadores de azúcar. Las muestras fueron tomadas de 160 cepas de uva de mesa de cuatro viñedos diferentes muestreados en 2013. Las barras representan el error estándar.

Al examinar las parcelas con mayor actividad de hormigas por separado, en la parcela 1, la actividad de *L. grandis* por cepa disminuyó de $1,08 \pm 0,25$ hasta $0,59 \pm 0,16$ (reducción del

45%) en presencia de dispensadores de azúcar ($F = 1,46$; $gl = 1, 38$; $P = 0,23$). Por otro lado, la actividad de *P. schmitzii* por cepa aumentó significativamente de $0,02 \pm 0,01$ a $0,11 \pm 0,04$ (aumento del 450%) ($F = 9,18$; $df = 1, 38$; $P = 0,005$). En la parcela 2, la actividad de *P. schmitzii* en presencia de dispensadores de azúcar se redujo ligeramente de $0,47 \pm 0,10$ a $0,38 \pm 0,18$ (19%) ($F = 0,28$; $df = 1, 38$; $P = 0,59$), pero la actividad de *P. pallidula* aumentó de $0,26 \pm 0,12$ hasta $0,45 \pm 0,21$ (42%) ($F = 1,02$; $df = 1, 38$; $P = 0,32$).

4.2.2. Influencia de los azúcares artificiales en la abundancia de *Planococcus ficus*

Al poner en común los datos de todas las parcelas, tanto el suministro de azúcar ($F = 14,94$; $gl = 1,155$; $P = 0,0002$) como la parcela ($F = 10,02$; $gl = 3, 155$; $P < 0,0001$) tuvieron un efecto significativo sobre la abundancia de *P. ficus*, aunque su interacción no fue significativa ($F = 1,44$; $gl = 3, 152$; $P = 0,23$) (Figura 10). El promedio de pseudocóccidos capturados en las trampas de cartón fue significativamente menor en las cepas con dispensadores de azúcar ($1,67 \pm 0,39$ cochinillas por trampa) que en el tratamiento control ($0,47 \pm 0,29$ cochinillas por trampa) (reducción del 72%). Al examinar las parcelas por separado, el efecto de los azúcares para reducir las poblaciones de *P. ficus* fue significativa en las parcelas 1 ($F = 4,75$; $gl = 1, 39$, $P = 0,03$) y 2 ($F = 7,17$; $gl = 1, 39$, $P = 0,01$) pero no en la 3 ($F = 1,29$; $gl = 1, 39$, $P = 0,26$) ni en la 4 ($F = 2,09$; $gl = 1, 39$, $P = 0,16$) (Figura 10).

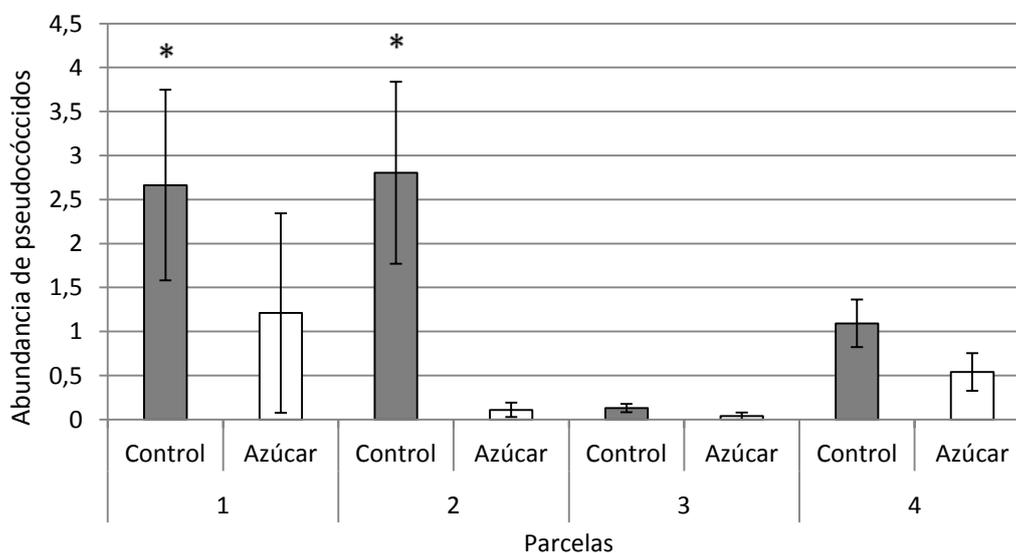


Figura 10: Influencia del suministro de azúcar en la abundancia de *Planococcus ficus* en trampas de cartón. . Las muestras corresponden a 160 cepas de uva de mesa de 4 viñedos muestreados en 2013. Las barras representan el error estándar de la abundancia de *P. ficus* por tratamiento y parcela. Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos.

4.3. Control biológico aumentativo de *Planococcus ficus*

4.3.1. Abundancia de crisópidos

Al estudiar la abundancia de los huevos de crisopa en el año 2013 se observó una evolución similar entre las parcelas iniciando la presencia de huevos en abril y pudiendo observar dos picos diferenciados, el primero a principios de julio y el segundo a inicios de septiembre (Figura 11). En ninguna de las parcelas estudiadas, se encontraron diferencias significativas en la abundancia de huevos de crisopa entre la zona de suelta y la zona control. En la parcela 1 el promedio de huevos de crisopa por hoja fue ligeramente inferior en el control ($0,24 \pm 0,08$) respecto el tratamiento de suelta de ($0,26 \pm 0,11$) ($F = 0,97$; $gl = 1, 18$; $P = 0,34$), de igual manera ocurrió en la parcela 2 con $0,24 \pm 0,13$ huevos en el control y $0,30 \pm 0,13$ en el área de suelta ($F = 1,00$; $gl = 1, 18$; $P = 0,33$) y en la parcela 4 de $0,95 \pm 0,25$ a $1,03 \pm 0,24$ ($F = 0,82$; $gl = 1, 18$; $P = 0,38$). En cambio, en la parcela 3 se registró una abundancia de huevos de crisópidos mayor en las cepas del control que en el área de suelta, con $0,26 \pm 0,11$ y $0,22 \pm 0,09$ huevos por hoja respectivamente ($F = 1,27$; $gl = 1, 18$; $P = 0,27$).

El patrón de abundancia de los huevos de crisopa en 2014 fue distinto al de 2013, los primeros huevos se observaron en el mes de mayo y se apreció un aumento de la abundancia de huevos progresiva hasta llegar al punto máximo a mediados de septiembre (Figura 12). Al estudiar el efecto del tratamiento de suelta por parcela, en la parcela 1 se observó un número menor de huevos de crisopa por muestreo en la zona de suelta $0,13 \pm 0,09$ respecto el control $0,33 \pm 0,13$ ($F = 1,68$; $gl = 1, 10$; $P = 0,026$). En la parcela 2 la abundancia de huevos de crisopa del estudio fue mayor en la zona de suelta $2,16 \pm 0,53$ que en la zona control $1,96 \pm 0,43$ ($F = 0,24$; $gl = 1, 10$; $P = 0,63$), aunque esta diferencia no fue significativa.

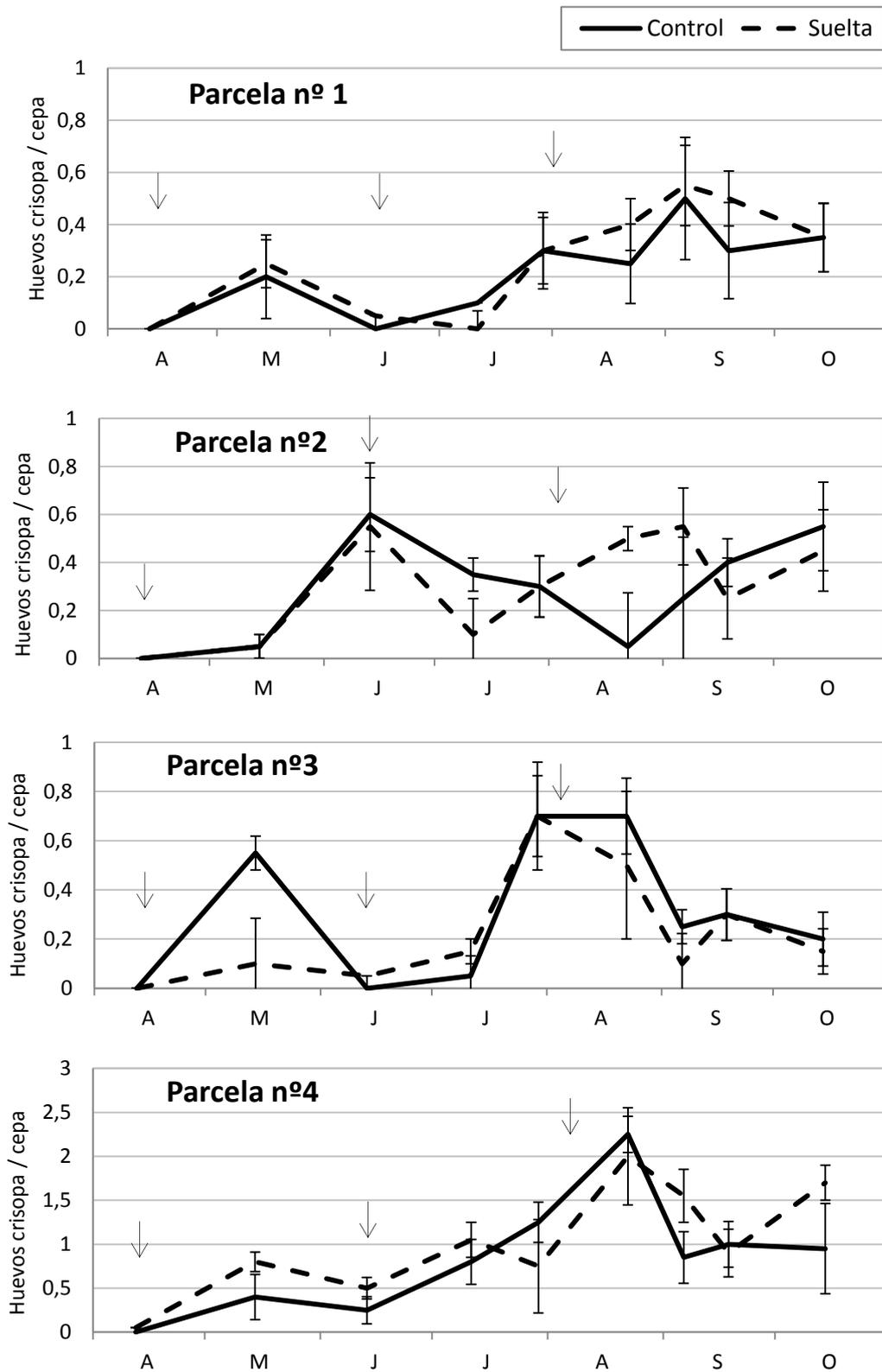


Figura 11: Influencia de la suelta masiva de *C. carnea* en la media de huevos de crisopa por hoja (20 hojas por cepa) desde abril hasta octubre (promedio \pm SE). Las muestras fueron tomadas de 160 cepas uva de mesa de cuatro viñedos diferentes muestreados en 2013. Las flechas representan los días en los que se realizaron las sueltas. Las barras representan el error estándar de la abundancia de huevos de crisopa por cepa.

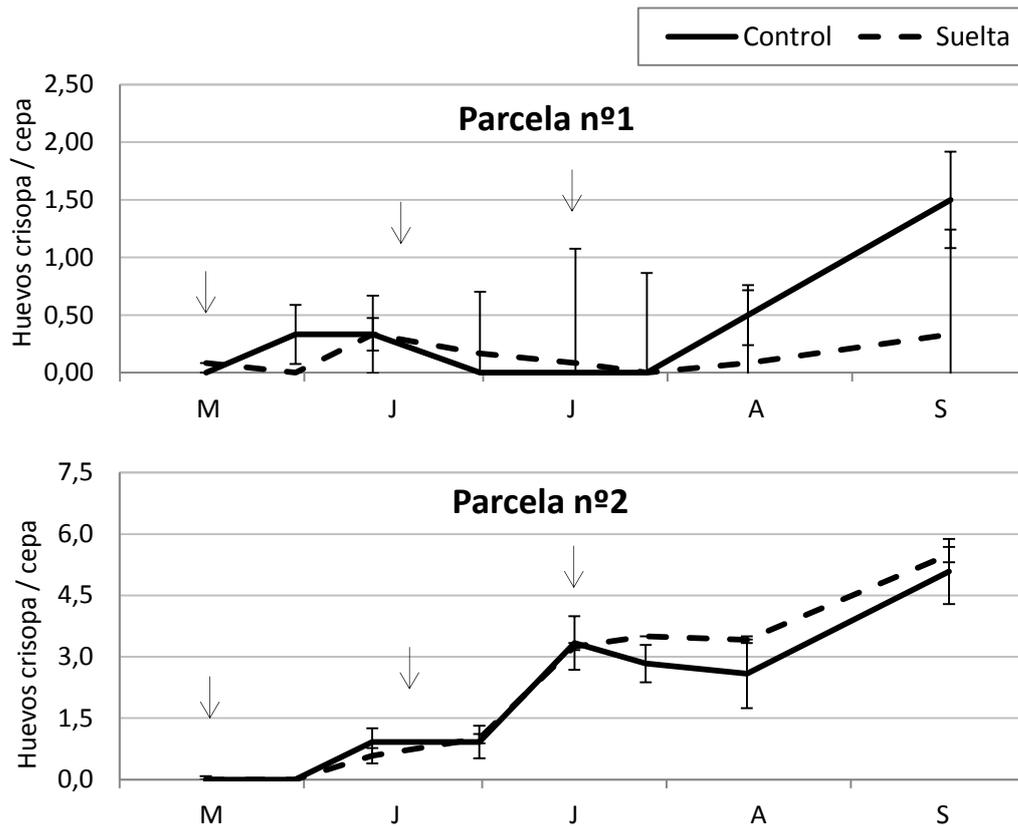


Figura 12: Influencia de la suelta masiva de *C. carnea* en la abundancia de huevos de crisopa en muestreos de la copa de las viñas durante tres minutos (promedio \pm SE) de mayo a septiembre. Las muestras fueron tomadas de a partir de 48 cepas de uva de mesa de dos viñedos diferentes muestreados en 2014. Las flechas representan los días en los que se realizaron las sueltas. Las barras representan el error estándar de la abundancia de huevos de crisopa por cepa.

4.3.2. Parasitismo en los frutos

En el año 2013, una semana antes de la recolección, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de parasitismo de *P. ficus* entre los frutos de la zona de suelta y de la zona control de la parcela 1 ($\chi^2 = 2.17$; gl = 1, 335; P= 0.14). Tampoco se observaron diferencias en el porcentaje de parasitismo en la parcela 4 ($\chi^2 = 0.37$; gl = 1, 180; P= 0.54) (Figura 13).

En el año 2014 el porcentaje de parasitismo en la parcela 1 aumentó significativamente de $40,58 \pm 3,77$ en las cepas del área control a $69,15 \pm 4,79$ ($\chi^2 = 0,79$; gl = 1, 262; P < 0.0001).

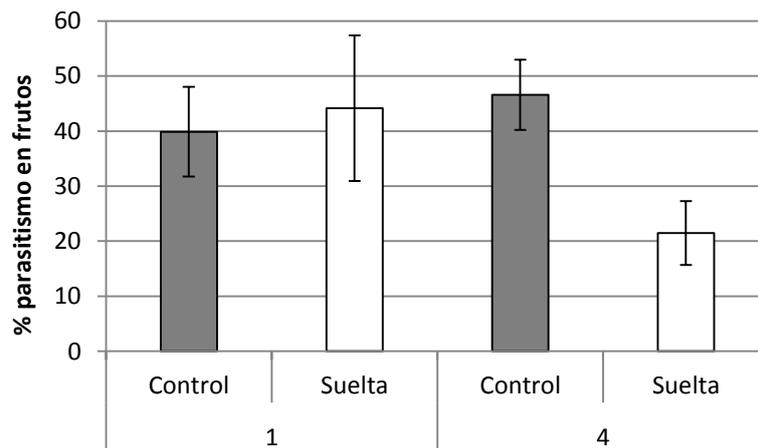


Figura 13: Porcentaje de parasitismo de *Planococcus ficus* en frutos de cepas de las áreas de suelta y control una semana antes de la cosecha. Las muestras corresponden a 218 frutos de uva de mesa de dos viñedos muestreados en 2013. Las barras representan el error estándar.

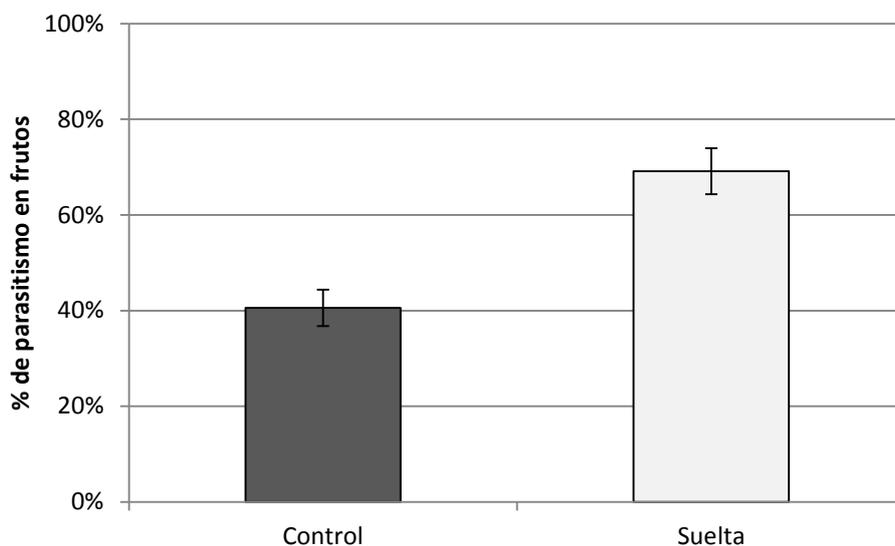


Figura 14: Porcentaje de parasitismo de *Planococcus ficus* en frutos de cepas de las áreas de suelta y control una semana antes de la cosecha. Las muestras corresponden a 30 frutos de uva de mesa de dos viñedos muestreados en 2014. Las barras representan el error estándar.

4.3.3. Impacto del control biológico en los daños en los frutos

En el año 2013 se apreció una reducción significativa del porcentaje de frutos no comercializables en el área de suelta de enemigos naturales respecto al área control ($\chi^2 = 5,59$; $gl = 1$, 1588; $P = 0,018$; $D^2 = 0.3\%$). El porcentaje de frutos no comercializables fue también significativamente diferente según parcelas ($\chi^2 = 30,72$; $gl = 3$, 1585; $P = 0,0001$; $D^2 = 18\%$). La interacción entre tratamiento y parcela fue marginalmente significativa ($\chi^2 = 6.73$; $gl = 3$, 1582; $P = 0,08$). Estudiando las parcelas por separado, los daños fueron mayores en las parcelas 1 y 2 superando el 30% de frutos en ambos tratamientos. En cambio, en las parcelas 3 y 4 los daños no alcanzaron el 10% de los frutos. En la parcela 1 hubo una disminución del porcentaje de frutos dañados del control $42,66 \pm 3,30$ a la suelta $34,82 \pm 3,04$ ($\chi^2 = 2,42$; $gl = 1$, 408; $P = 0.12$) sin diferencias significativas. De igual manera ocurrió en la parcela 2 disminuyendo los daños en frutos a razón de $40,49 \pm 3,44$ a $33,17 \pm 3,30$ ($\chi^2 = 0.95$; $gl = 1$, 258; $P = 0,33$). En cambio, sí se observó una reducción de los daños en la parcela 3 del control $5,24 \pm 1,42$ a la suelta $0,5 \pm 0,5$ ($\chi^2 = 6,63$; $gl = 1$, 446; $P = 0,001$). En la parcela 4, la reducción del control $6,90 \pm 2,36$ a la suelta $4,16 \pm 1,67$ fue marginalmente significativa ($\chi^2 = 3,06$; $gl = 1$, 470; $P = 0,08$).

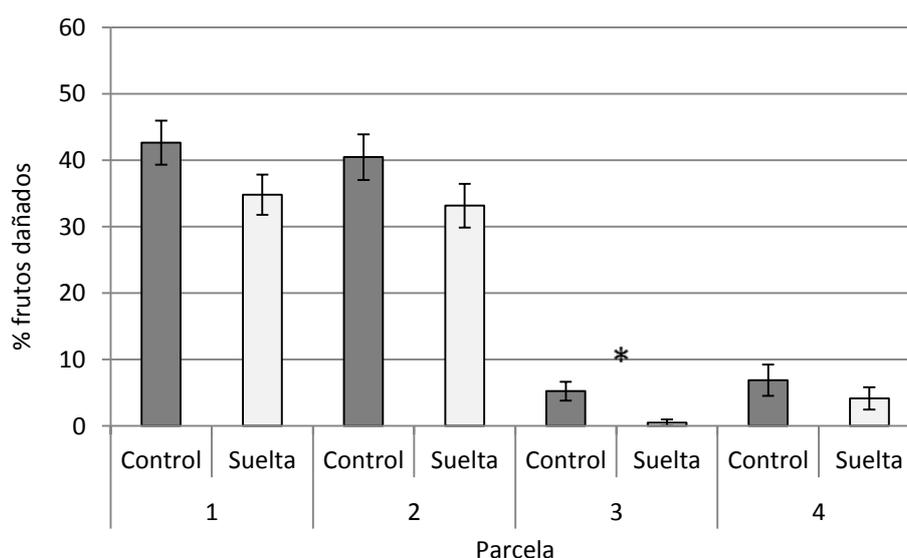


Figura 15: Porcentaje de frutos dañados (no comerciables) en las áreas de suelta de enemigos naturales y control. Las muestras corresponden a 219 frutos de uva de mesa de 4 viñedos muestreados en 2013. Las barras representan el error estándar del % de frutos dañados. Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos.

En el año 2014 la suelta masiva de enemigos naturales no resulto en una disminución significativa en los daños en los frutos ($\chi^2 = 2,09$; $gl = 1$, 385; $P = 0,15$) (Figura 16). Aun así, el porcentaje de frutos dañados en la parcela 1 fue menor en las cepas del área de suelta (6,63 %) que en las cepas del área control (11,05 %) ($\chi^2 = 2,12$; $gl = 1$, 345; $P = 0,15$). En la parcela 2 no se encontraron daños en los frutos.

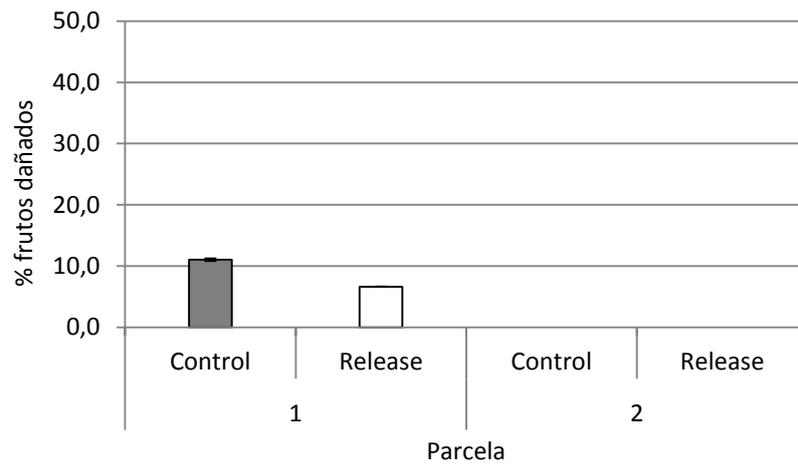


Figura 16: Porcentaje de frutos dañados (no comercializables) tras la suelta inundativa de enemigos naturales. Las muestras corresponden a 386 frutos de uva de mesa de 4 viñedos muestreados en 2014. Las barras representan el error estándar.

V. DISCUSIÓN

En este estudio se han identificado las especies de hormigas presentes en varios viñedos en el este de España. Se encontró un complejo de especies de hormigas pobre, compuesto solamente por tres especies, similar al que reportan diversos estudios realizados en otros agroecosistemas en el este de España, en los cuales *L. grandis* y *P. pallidula* son las especies más abundantes (Vanaclocha *et al.*, 2005; Cerdá *et al.*, 2009; Pekas *et al.*, 2011; Sánchez y Ortín-Angulo, 2012). El bajo número de especies encontradas es común en los agroecosistemas con monocultivos y se puede relacionar con la reducida biodiversidad que suelen presentar estos (Cerdá *et al.* 2009). Cabe destacar que la hormiga argentina *L. humile*, especie invasora en la Cuenca Mediterránea (Espadaler y Gómez, 2003), no se ha encontrado en este estudio. De hecho, la presencia de esta hormiga en ecosistemas agrícolas es reducida y se ha registrado en un número bajo de parcelas (Vanaclocha *et al.* 2005; Cerdá *et al.* 2009). Asimismo no se ha observado la presencia de *Tapinoma nigerrimum* (Nylander), principal hormiga asociada a *P. ficus* en viñedos de Túnez, que también está presente en otros agroecosistemas españoles (Cerdá *et al.*, 2009; Campos *et al.*, 2011; Mansour *et al.*, 2012).

Sorprendentemente, los niveles de la actividad de las hormigas en nuestro estudio fueron muy bajos en comparación con los descritos para otras especies de hormigas en otras regiones productoras de uva (Daane *et al.* 2007; Chong *et al.* 2010). Las diferencias en la biología entre las especies de hormigas y el escaso número de hemípteros productores de melaza registrados en nuestro estudio podrían explicar estos resultados. Los patrones de alimentación estacionales de *L. grandis* y *P. schmitzii* fueron similares debido a su dependencia de la melaza producida por hemípteros (Pekas *et al.*, 2011). La actividad de estas dos especies aumentó de forma acusada en mayo, cuando la presencia de áfidos era elevada, hasta alcanzar su punto máximo en junio. Por otro lado, la actividad de *P. pallidula* alcanzó su pico máximo en julio como se ha encontrado en otros estudios (Cerdá *et al.* 1998; Pekas *et al.* 2011). Esta diferencia se puede explicar por la biología de *P. pallidula*, ya que esta especie es menos dependiente de la melaza producida por hemípteros y tiene una mayor tolerancia al calor (Cerdá *et al.*, 1998; Pekas *et al.*, 2011).

La relación entre la abundancia de los pseudocóccidos en el tronco y los daños en los frutos fue baja aunque estadísticamente significativa. Este resultado puede deberse a la metodología aplicada. El uso de trampas de cartón puede ser útil para estimar las poblaciones de pseudocóccidos en el tronco, pero podría no ser apropiado para predecir los daños en los frutos. En nuestros muestreos también se contó el número de pseudocóccidos presentes en las hojas de las viñas, aunque los resultados se tuvieron que excluir debido al bajo número de pseudocóccidos encontrado. Otros métodos de muestreo destructivos o basados en el uso de feromonas han mostrado una mayor correlación con las poblaciones de pseudocóccidos y los daños en los frutos, pero no han podido ser utilizados debido al tamaño reducido de los bloques y la posible modificación del comportamiento de las hormigas.

La actividad de las hormigas solamente explicó un 10,25% de los daños en los frutos. Estos resultados sugieren que el impacto de las hormigas en los daños es indirecto a través de su asociación con los pseudocóccidos. De hecho, la actividad de las hormigas estuvo relacionada significativamente con la abundancia de pseudocóccidos en las trampas de cartón. La relación entre las hormigas forrajeras y los pseudocóccidos observada en este estudio es menor a la encontrada en otros áreas de producción de uva de mesa como California y Sudáfrica (Daane

et al., 2007; Mgocheki y Addison, 2010). De hecho, en muestreos no incluidos en este trabajo se encontró que solamente el 16% de colonias de pseudocóccidos estuvieron atendidas por hormigas en el año 2014. Este resultado es sorprendente, teniendo en cuenta que en campos de cítricos del País Valenciano, *Planococcus citri* Risso, especie simpátrica de *P. ficus*, está fuertemente atendida por el mismo complejo de hormigas (Pekas *et al.* 2011). La baja asociación entre la actividad de las hormigas y *P. ficus* registrada en este trabajo puede tener implicaciones prácticas en el control biológico de esta plaga. Según estos resultados podemos esperar que la interferencia de las hormigas en el control biológico sea menor a la encontrada en viñedos de California y Sudáfrica o en cítricos en España (Daane *et al.*, 2007; Cooper *et al.*, 2008; Mgocheki y Addison, 2010). Por ello, en los programas de Producción Integrada de uva de mesa en el este de España, solamente sería recomendable el manejo de las hormigas en aquellos viñedos con altos niveles de actividad de las hormigas y/o en presencia de especies más agresivas, como la hormiga argentina.

En general, el aprovisionamiento de azúcares artificiales redujo la actividad de las hormigas, pero esta reducción no fue estadísticamente significativa. Este resultado podría explicarse por los bajos niveles de actividad de hormigas registrados y por la distribución agrupada de hormigas observada en algunas parcelas. La respuesta de la actividad de las hormigas a los azúcares artificiales varió según la especie de hormiga. En la parcela 1, la actividad de *L. grandis* disminuyó con la presencia de azúcares artificiales, mientras que la de *P. schmitzii* aumentó. *Plagiolepis schmitzii* es una especie subordinada y su actividad depende de los recursos locales de alimentos, siendo así una especie limitada por la presencia de especies dominantes (Cerdá *et al.*, 2013). Por lo tanto, *P. schmitzii* puede aumentar su actividad para recolectar melaza cuando las poblaciones de *L. grandis* no están alimentándose sobre la misma planta. Por otro lado, la actividad registrada de *P. pallidula* en la parcela 2 aumentó en presencia de azúcares artificiales. El comportamiento omnívoro de esta especie podría explicar su menor atracción a los dispensadores de azúcar en la parcela 2 (Cerdá *et al.*, 1998).

La abundancia de pseudocóccidos en el tronco fue menor en las cepas con presencia de azúcares artificiales. Este cambio podría atribuirse al efecto de los azúcares sobre la actividad de las hormigas. La baja atención de las hormigas sobre los pseudocóccidos puede mejorar la acción de ciertas especies de enemigos naturales (Mgocheki y Addison, 2009; Sime y Daane, 2014; Beltrà *et al.* 2015). Por otra parte, el incremento de la depredación por parte de las hormigas una vez satisfechas sus necesidades de azúcar podría explicar también la disminución de los pseudocóccidos en las cepas con azúcares artificiales. En otros trabajos, la aplicación de sacarosa se mostró efectiva para disminuir de la atención de la hormiga *Solenopsis geminata* (Fabricius) sobre el pseudocóccido *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (Carabalí-Banguero *et al.*, 2013). Del mismo modo, otros estudios han demostrado que la depredación de hormigas sobre pulgones puede aumentar cuando altas cantidades de azúcares están disponibles (Engel *et al.*, 2001; Offenberg, 2001).

La suelta masiva de enemigos naturales no supuso un incremento de la abundancia de huevos de neurópteros ni del porcentaje de parasitismo en frutos antes de la recolección. A pesar de ello, estos resultados no permiten concluir que los enemigos naturales que fueron liberados no

se establecieran en el ecosistema. La alta movilidad de los adultos de algunas especies de neurópteros con carácter migratorio antes de realizar la puesta podría explicar la ausencia de diferencias en la abundancia de huevos de *C. carnea* (Henry *et al.*, 1999, Henry *et al.*, 2002; Keulder y Van der Berg, 2013). Por otra parte, el bajo número de larvas y adultos de *C. carnea* encontrados en las hojas tras las sueltas podría deberse a su preferencia por localizarse en otras partes de la planta. Aun así, el establecimiento de *C. carnea* podría haber sido dificultado por el efecto de depredadores como las hormigas que fueron observadas en muestreos nocturnos depredando las larvas tras las primera suelta del año 2014. En cuanto a los niveles de parasitismo, es difícil valorar el efecto de la suelta sobre las poblaciones de los pseudocóccidos debido a que solamente se pudo llevar a cabo un muestreo puntual en el momento de la cosecha. El bajo número de pseudocóccidos encontrados en las hojas y la imposibilidad de utilizar un sistema de muestreo destructivo para recolectar frutos impidió evaluar el parasitismo en los meses de verano, momento en el que los pseudocóccidos invaden los frutos.

Las sueltas de enemigos naturales mostraron un efecto positivo en la reducción de los daños en los frutos en todas las parcelas durante los dos años de estudio. A pesar de ello, esta disminución puede considerarse insuficiente en las parcelas con elevados niveles de daños, superiores al 40%, ya que no se alcanzaron reducciones mayores del 10% de frutos dañados. Otros estudios han encontrado también resultados positivos tras la suelta del parasitoide *A. pseudococci* reduciendo significativamente las poblaciones de pseudocóccidos (Daane *et al.* 2006). La experiencia obtenida en este estudio puede servir para mejorar la aplicación del control biológico aumentativo de *P. ficus* en uva de mesa en España. Futuros trabajos deberían llevarse a cabo para optimizar la época y las dosis de suelta, así como comprender los factores bióticos y abióticos que pueden dificultar el establecimiento de los enemigos naturales.

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se pueden extraer de las experiencias realizadas en este trabajo son :

- Se registraron tres especies principales de hormigas: *Lasius grandis*, *Pheidole pallidula* y *Plagiolepis schmitzii*.
- La actividad de las hormigas fue baja, promediando entre x y x hormigas por minuto según la parcela.
- La actividad estacional de las hormigas *L. grandis* y *P. schmitzii* aumentó a finales de mayo y alcanzó su punto máximo en junio, mientras que la de *P. pallidula* aumentó en julio y se mantuvo elevada en verano.

- Se encontró una correlación débil pero significativa entre la actividad de las hormigas forrajeras, la abundancia de los pseudocóccidos en el tronco y los daños en los frutos.
- La introducción de azúcares artificiales disminuyó un 23,4 % la actividad de las hormigas, aunque este cambio no fue significativo.
- La aplicación de azúcares artificiales produjo una disminución de las poblaciones de pseudocóccidos capturados en trampas de cartón localizadas sobre el tronco de la viña (72 %).

- Se registró un número muy bajo de larvas y adultos de crisópidos, mientras que la abundancia de huevos en las hojas no se vio incrementada en las zonas de suelta de este insecto.
- Tras la suelta del parasitoide *Anagyrus pseudococci* no se registraron diferencias significativas en el porcentaje de parasitismo entre los frutos del área de suelta con respecto a los testigos una semana antes de la cosecha.
- Se observó una disminución significativa del porcentaje de frutos dañados en las zonas donde se aplicó el control biológico inundativo en todas las parcelas en los dos años de estudio.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, M. S. T. (1999). Studies on *Dicrodiplosis manihoti* Harris (Diptera, Cecidomyiidae), a common predator of mealybugs. *Anzeiger für Schädlingkunde= Journal of pest science*. 72(5), 133-134.
- Addison, P. (2002). Chemical stem barriers for the control of ants (Hymenoptera: Formicidae) in vineyards. *S. Afr. J. Enol. Vitic*, 23(1), 1-8.
- Bartlett, B. R. (1961). The influence of ants upon parasites, predators, and scale insects. *Annals of the Entomological Society of America*, 54(4), 543-551.
- Barzman, S. y Daane, M. (2001). Host-handling behaviours in parasitoids of the black scale: a case for ant-mediated evolution. *Journal of Animal Ecology*, 70(2), 237-247.
- Beltrà, A., Addison, P., Ávalos, J. A., Crochard, D., Garcia-Marí, F., Guerrieri, E., Giliomee, J. H., Malausa, T., Navarro-Campos, C., Palero, F. y Soto, A. (2015). Guiding Classical Biological Control of an Invasive Mealybug Using Integrative Taxonomy. *PLoS one*, 10(6), e0128685.
- Beltrà, A. y Soto, A. (2012). *Pseudocóccidos de importancia agrícola y ornamental en España*. Editorial Universitat Politècnica de València. 100 pp.
- Beltrà, A., Soto, A. y Tena, A. (2015). How a slow-ovipositing parasitoid can succeed as a biological control agent of the invasive mealybug *Phenacoccus peruvianus*: implications for future classical and conservation biological control programs. *BioControl*, 60, 473-484.
- Becerra, V., González, M., Herrera, M. E. y Miano, J. L. (2006). Population dynamics of vine mealybug *Planococcus ficus* Sign.(Hemiptera: Pseudococcidae) in vineyards. *Rev. Fac. Cienc. Agrar. Univ. Nac. Cuyo*, 38, 1-6.
- Ben-Dov, Y., Miller, DR., Gibson, GAP.(2014) ScaleNet, Life Histories. Consultado: 30 Noviembre, 2014. <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/lifehist.htm>
- Bolton, B., Alpert, G., Ward, PS., Naskrecki, P. (2007) Bolton's catalogue of ants of the world. Harvard University Press, Cambridge
- Bugg, R. L. y Waddington, C. (1994) Using cover crops to manage arthropod pests of orchards: a review. *Agriculture, ecosystems & environment*, 50(1), 11-28.
- Campos, M., Fernández, L., Ruano, F., Cotes, B., Cárdenas, M., & Castro, J. (2011) Short term response of ants to the removal of ground cover in organic olive orchards. *Europe Journal Entomology*. 108(3), 417-423.

- Carabalí-Banguero, D. J., Wyckhuys, K. A., Montoya-Lerma, J., Kondo, T., & Lundgren, J. G. (2013). Do additional sugar sources affect the degree of attendance of *Dysmicoccus brevipis* by the fire ant *Solenopsis geminata*? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 148(1), 65-73.
- Fu Castillo, A. A., González Hernandez, H. y Daane, K. M. (2005). *Los piojos harinosos de la vid*. Libro técnico 9. Campo Experimental Costa de Hermosillo.
- Cerdá, X., Retana, J. y Cros, S. (1998). Critical thermal limits in Mediterranean ant species: trade-off between mortality risk and foraging performance. *Functional Ecology*, 12(1), 45-55.
- Cerdá, X., Palacios, R. y Retana, J. (2009). Ant community structure in citrus orchards in the Mediterranean Basin: impoverishment as a consequence of habitat homogeneity. *Environmental entomology*, 38(2), 317-324.
- Cerdá, X., Arnan, X. y Retana, J. (2013). Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera: Formicidae) ecology. *Myrmecol. News*, 18, 131-147.
- Charles, J. G. (1982). Economic damage and preliminary economic thresholds for mealybugs (*Pseudococcus longispinus* TT.) in Auckland vineyards. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 25(3), 415-420.
- Charles, J. G. (1985). *Diadiplosis koebelei* Koebele (Diptera: Cecidomyiidae), a predator of *Pseudococcus longispinus* T.-T. (Homoptera: Pseudococcidae), newly recorded from New Zealand. *New Zealand journal of zoology*, 12(3), 331-333.
- Chong, C. S., D'Alberto, C. F., Thomson, L. J. y Hoffmann, A. A. (2010). Influence of native ants on arthropod communities in a vineyard. *Agricultural and Forest Entomology*, 12(3), 223-232.
- Cocco, A., Lentini, A. y Serra, G. (2014). Mating Disruption of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Vineyards Using Reservoir Pheromone Dispensers. *Journal of Insect Science*, 14(1), 144.
- Cooper, M., Daane, K., Nelson, E., Varela, L., Battany, M., Tsutsui, N. y Rust, M. (2008). Liquid baits control Argentine ants sustainably in coastal vineyards. *California agriculture*, 62(4), 177-183.
- Correa, M. C. G., Germain, J. F., Malausa, T. y Zaviezo, T. (2012). Molecular and morphological characterization of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) from Chilean vineyards. *Bulletin of entomological research*, 102(5), 524-530.
- Costello, M. J. y Daane, K. M. (1999). Abundance of spiders and insect predators on grapes in central California. *Journal of Arachnology* 27, 531-538.

- Costello MJ, Daane K.M.(2003) Influence of ground covers on vineyard predators and leafhoppers. University of California sustainable agriculture and research and education programme. Consultado: 15 Abril, 2015. <http://www.sarep.ucdavis.edu/ccrop/ccres/1996/23.HTM>
- Cox, J. M. (1983). An experimental study of morphological variation in mealybugs (Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae). *Systematic entomology*, 8(4), 361-382.
- Cox, J. M. y Ben-Dov, Y. (1986). Planococcine mealybugs of economic importance from the Mediterranean Basin and their distinction from a new African genus (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bulletin of Entomological Research*, 76(3), 481-489.
- Daane, K., Almeida, R. P., Bell, V. A., Walker, J. T. *et al.* (2012). Biology and management of mealybugs in vineyards. In *Arthropod Management in Vineyards*: (pp. 271-307). Springer Netherlands.
- Daane K., Bentley W., Smith R., Haviland D. R., Weber E., Gispert C. (2011a) Vine mealybug. In: Bettiga L, Bentley W (eds) University of California grape pest management manual., 2nd editio. University of California Press, Oakland, 125–135.
- Daane, K., Bentley, W., Walton, V., Malakar-Kuenen, R., Millar, J., Ingels, C. y Gispert, C. (2006). New controls investigated for vine mealybug. *California Agriculture*, 60(1), 31-38.
- Daane, K., Yokota, G., Rasmussen, Y., Zheng, Y. y Hagen, K. (1993). Effectiveness of leafhopper control varies with lacewing release methods. *California Agriculture*, 47(6), 19-23.
- Daane, K. M., Malakar-Kuenen, R. D. y Walton, V. M. (2004). Temperature-dependent development of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) as a parasitoid of the vine mealybug, *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae). *Biological Control*, 31(2), 123-132.
- Daane, K. M., Middleton, M. C., Sforza, R., Cooper, M. L., Walton, V. M., Walsh, D. B. y Almeida, R. P. (2011b). Development of a multiplex PCR for identification of vineyard mealybugs. *Environmental entomology*, 40(6), 1595-1603.
- Daane, K. M. y Yokota, G. Y. (1997). Release strategies affect survival and distribution of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in augmentation programs. *Environmental Entomology*, 26(2), 455-464.
- De Villiers, M. y Pringle, K. L. (2007). Seasonal occurrence of vine pests in commercially treated vineyards in the Hex River Valley in the Western Cape Province, South Africa. *African Entomology*, 15(2), 241-260.

- DOGV (Diari Oficial de la Generalitat Valenciana) (2014) normes per a la producció integrada en vinya en l'àmbit de la Comunitat Valenciana [2014/6024] Conselleria de Presidència i Agricultura, Pesca, Alimentació i Aigua, nº 7306, 15688
- DOUE (Diario Oficial de la Unión Europea) (2007) Reglamento (CE) Nº 834/2007 del consejo de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos. Reglamento (CEE) nº 2092/91, L 189/1.
- Duso, C. (1989). Bioecological study on *Planococcus ficus* (Sign.) in Veneto. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri'*, 46, 3-20.
- Duso, C., Trentin, R., Borgo, M., & Egger, E. (1985). Influenza della termoregolazione estiva mediante acqua sulle popolazioni di *Planococcus ficus* Sign. su vite. *Rivista di Viticoltura e di Enologia*.
- Engel, V., Fischer, M. K., Wäckers, F. L. y Völkl, W. (2001). Interactions between extrafloral nectaries, aphids and ants: are there competition effects between plant and homopteran sugar sources?. *Oecologia*, 129(4), 577-584.
- Engelbrecht, D. J. y Kasdorf, G. G. F. (1990). Transmission of grapevine leafroll disease and associated closteroviruses by the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Phytophylactica*, 22(3), 341-346.
- Espadaler, X. y Gómez, C. (2003). The Argentine ant, *Linepithema humile*, in the Iberian peninsula. *Sociobiology*, 42(1), 187-192.
- Fallahzadeh, M., Japoshvili, G., Saghaei, N. y Daane, K. M. (2011). Natural enemies of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Fars province vineyards, Iran. *Biocontrol Science and Technology*, 21(4), 427-433.
- Flaherty, D. L., Christensen, L. P., Lanini, W. T., Marois, J. J., Phillips, P. A. y Wilson, L. T. (1992). *Grape pest management* (No. Ed. 2). University of California.
- Flaherty, D. L., Peacock, W., Bettiga, L. y Leavitt, G. (1982). Chemicals losing effect against grape mealybug. *California Agriculture*, 36(5), 15-16.
- Franco, J. C., Zada, A. y Mendel, Z. (2009). Novel approaches for the management of mealybug pests. In *Biorational Control of Arthropod Pests* (pp. 233-278). Springer Netherlands.
- Geiger, C. A. y Daane, K. M. (2001). Seasonal movement and distribution of the grape mealybug (Homoptera: Pseudococcidae): developing a sampling program for San Joaquin Valley vineyards. *Journal of economic entomology*, 94(1), 291-301.

- González, D. (1998). Biological control of the vine mealybug in the Coachella Valley. Calif. Table Grape Comm. *Ann. Rep. Vol, 26*, 4.
- González-Hernández, H., Johnson, M. W. y Reimer, N. J. (1999). Impact of *Pheidole megacephala* (F.)(Hymenoptera: Formicidae) on the biological control of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell)(Homoptera: Pseudococcidae). *Biological Control, 15*(2), 145-152.
- Gullan, P. J. (1997). 1.3. 5 Relationships with ants. *World Crop Pests, 7*, 351-373.
- Helms, K. R., & Vinson, S. B. (2002). Widespread association of the invasive ant *Solenopsis invicta* with an invasive mealybug. *Ecology, 83*(9), 2425-2438.
- Henry, C. S., Brooks, S. J., Johnson, J. B. y Duelli, P. (1999). Revised concept of *Chrysoperla mediterranea* (Hölzel), a green lacewing associated with conifers: courtship songs across 2800 kilometres of Europe (Neuroptera: Chrysopidae). *Systematic Entomology, 24*(4), 335-350.
- Henry, C. S., Brooks, S. J., Duelli, P. y Johnson, J. B. (2002). Discovering the true *Chrysoperla carnea* (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae) using song analysis, morphology, and ecology. *Annals of the Entomological Society of America, 95*(2), 172-191.
- Hinkens, D. M., McElfresh, J. S. y Millar, J. G. (2001). Identification and synthesis of the sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Tetrahedron Letters, 42*(9), 1619-1621.
- Keulder, R. y Van den Berg, J. (2013). Patterns of lacewing (Neuroptera: Chrysopidae) flight activity, flight height and spatial distribution of eggs on maize plants. *African Entomology, 21*(1), 95-102.
- Kol-Maimon, H., Ghanim, M., Franco, J. C. y Mendel, Z. (2014). Evidence for gene flow between two sympatric mealybug species (Insecta, Coccoidea, Pseudococcidae). *PLoS one, 9*, 1-10.
- Kriegler, P. J. (1954). n Bydrae tot die kennis van *Planococcus citri* (Risso)(Homoptera: Pseudococcidae). Doctoral dissertation. Stellenbosch University. Stellenbosch, South Africa.
- Lucas, A. (2009). Situación fitosanitaria del cultivo de la vid en la Región de Murcia. *Vida rural, 285*, 32-35.
- Lucas, A. y Martín A. (2014). *Guía de gestión integrada de plagas, uva de mesa*. MAGRAMA, 153 pp.

- Mani, M. y Thontadarya, T. S. (1988). Field Evaluation of *Cryptolaemus montrouzieri* Muts. in the Suppression of *Maconellicoccus hirsutus* (Green) on Grapevine. *Journal of Biological Control*, 2(1), 14-16.
- Mansour, R., Suma, P., Mazzeo, G., Lebdi, K. G. y Russo, A. (2011a). Evaluating side effects of newer insecticides on the vine mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. near pseudococci, with implications for integrated pest management in vineyards. *Phytoparasitica*, 39(4), 369-376.
- Mansour, R., Mazzeo, G., Pergola, A., Lebdi, K. y Russo, A. (2011b). A survey of scale insects (Hemiptera: Coccoidea) and tending ants in Tunisian vineyards. *Journal of Plant Protection Research*, 51(3), 197-203.
- Mansour, R., Suma, P., Mazzeo, G., La Pergola, A., Pappalardo, V., Grissa Lebdi, K. y Russo, A. (2012). Interactions between the ant *Tapinoma nigerrimum* (Hymenoptera: Formicidae) and the main natural enemies of the vine and citrus mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). *Biocontrol Science and Technology*, 22(5), 527-537.
- Martín Mateo, M. P. (1985). Inventario preliminar de los cóccidos de España. III. Pseudococcidae, ortheziidae y margarodidae. *Graellsia*, 41, 89-104.
- Martínez Ferrer M.T. (2003) Biología y control del cotonet *Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae) en huertos de cítricos. Tesis Doctoral. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Universitat Politècnica de València. Valencia, España. 208 pp.
- McEwen, P. K., New, T. R., & Whittington, A. E. (2007). *Lacewings in the crop environment*. Cambridge University Press.
- Mgocheki, N. y Addison, P. (2009). Interference of ants (Hymenoptera: Formicidae) with biological control of the vine mealybug *Planococcus ficus* (Signoret)(Hemiptera: Pseudococcidae). *Biological Control*, 49(2), 180-185.
- Mgocheki, N. y Addison, P. (2010). Spatial distribution of ants (Hymenoptera: Formicidae), vine mealybugs and mealybug parasitoids in vineyards. *Journal of Applied Entomology*, 134(4), 285-295.
- Millar, J. G., Daane, K. M., Mcelfresh, J. S., Moreira, J. A., Malakar-Kuenen, R., Guillén, M. y Bentley, W. J. (2002). Development and optimization of methods for using sex pheromone for monitoring the mealybug *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae) in California vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 95(4), 706-714.
- Neuenschwander, P. y Hagen, K. S. (1980). Role of the predator *Hemerobius pacificus* in a non-insecticide treated artichoke field. *Environmental Entomology*, 9(5), 492-495.

- Nagy, C., Cross, J. V., y Markó, V. (2013). Sugar feeding of the common black ant, *Lasius niger* (L.), as a possible indirect method for reducing aphid populations on apple by disturbing ant-aphid mutualism. *Biological Control*, 65(1), 24-36.
- Nagy, C., Cross, J. V., y Markó, V. (2015). Can artificial nectaries outcompete aphids in ant-aphid mutualism? Applying artificial sugar sources for ants to support better biological control of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini in apple orchards. *Crop Protection*, 77, 127-138.
- Noyes, J. S., y Hayat, M. (1994). *Oriental mealybug parasitoids of the Anagyrini (Hymenoptera: Encyrtidae)*. Cab International.
- Nyamukondiwa, C. y Addison, P. (2011). Preference of foraging ants (Hymenoptera: Formicidae) for bait toxicants in South African vineyards. *Crop Protection*, 30(8), 1034-1038.
- Offenberg, J. (2001). Balancing between mutualism and exploitation: the symbiotic interaction between *Lasius* ants and aphids. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 49(4), 304-310.
- Pacheco da Silva, V. C. P., Bertin, A., Blin, A., Germain, J. F., Bernardi, D., Rignol, G., & Malausa, T. (2014). Molecular and Morphological Identification of Mealybug Species (Hemiptera: Pseudococcidae) in Brazilian Vineyards.
- Pekas, A., Tena, A., Aguilar, A. y Garcia-Marí, F. (2011). Spatio-temporal patterns and interactions with honeydew-producing Hemiptera of ants in a Mediterranean citrus orchard. *Agricultural and Forest Entomology*, 13(1), 89-97.
- Ripa S.R. y Luppichini P. (2010) *Vineyard pest management*. Colección Libros INIA N°26. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile.
- Saccaggi, D. L., Krüger, K. y Pietersen, G. (2008). A multiplex PCR assay for the simultaneous identification of three mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bulletin of entomological research*, 98(01), 27-33.
- Sánchez, J. A. y Ortín-Angulo, M. C. (2012). Abundance and population dynamics of *Cacopsylla pyri* (Hemiptera: Psyllidae) and its potential natural enemies in pear orchards in southern Spain. *Crop Protection*, 32, 24-29.
- Sazo, L., Araya, J. E. y de la Cerda, J. (2008). Effect of a siliconate coadjuvant and insecticides in the control of mealybug of grapevines, *Pseudococcus viburni* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(2), 177-184.

- Seifert, B. (1992). A taxonomic revision of the Palaearctic members of the ant subgenus *Lasius* s. str. (Hymenoptera, Formicidae). *Abhandlungen und Berichte des naturkundemuseums Görlitz*, 66, 1-67.
- Sentenac, G. (2008). *Chrysoperla lucasina* (Lacroix) agent de lutte biologique contre les cochenilles farineuses sur vigne *Heliococcus bohemicus* Sulc et *Phenacoccus aceris* (Signoret). In *AFPP–In 8ème Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture*. Montpellier (Vol. 22).
- Sime, K. R. y Daane, K. M. (2014). A Comparison of Two Parasitoids (Hymenoptera: Encyrtidae) of the Vine Mealybug: Rapid, Non-Discriminatory Oviposition Is Favored When Ants Tend the Host. *Environmental entomology*, 43(4), 995-1002.
- Smith, H. S. y Armitage, H. M. (1920). Biological control of mealybugs in California. *Monthly Bulletin. California Department of Agriculture*, 9(4), 104-158.
- Tollerup, K., Rust, M., Dorschner, K., Phillips, P. y Klotz, J. (2004). Low-toxicity baits control ants in citrus orchards and grape vineyards. *California agriculture*, 58(4), 213-217.
- Tremblay, E. (1988). *Entomologia applicata*, vol. II, pars I. Napoli, Liguori Editore.
- Trjapitzin, S. V. y Trjapitzin, V. A. (2002). Parasitoids of the mealybugs on cultivated grapes in Argentina, with description of a new species of the genus *Aenasius* Walker (Hymenoptera: Encyrtidae). *Entomologicheskoe Obozrenye*, 76, 174-179.
- Urban, A. J. (1985). The integrated control of vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret), on vines. *Plant Protection Research Institute, Polkadrive, Stellenbosch*, 7559.
- Vanaclocha, P., Monzó, C., Domínguez, P. C., Aval, K. G., Tortosa, D., Arocas, P. V., Pina, T. y García, A. U. (2005). Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) presentes en el suelo de los cítricos de la provincia de Valencia. *Phytoma España*. (171), 14-25.
- Varikou, K., Birouraki, A., Bagis, N. y Kontodimas, D. C. (2010). Effect of temperature on the development and longevity of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 103(6), 943-948.
- Villalba, M., Villa, N., García-Marí, F. y Marzal, C. (2006). Influencia en el control biológico del cotonet *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) de la liberación inoculativa de enemigos naturales y la eliminación de hormigas, en parcelas de cítricos. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 32(2), 203-214.
- Walton, V. M. (2003). Development of an integrated pest management system for vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret), in vineyards in the Western Cape Province, South Africa. Stellenbosch University. Stellenbosch, South Africa.

- Walton, V. M., Daane, K. M., Bentley, W. J., Millar, J. G., Larsen, T. E. y Malakar-Kuenen, R. (2006). Pheromone-based mating disruption of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in California vineyards. *Journal of economic entomology*, 99(4), 1280-1290.
- Walton, V. M. y Pringle, K. L. (2001). Effects of pesticides and fungicides used on grapevines on the mealybug predatory beetle *Nephusboschianus* (Coccinellidae, Scymnini). *South african journal for enology and viticulture*, 22(2), 107-110.
- Walton, V. M. y Pringle, K. L. (2004a). A survey of mealybugs and associated natural enemies in vineyards in the Western Cape Province, South Africa. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 25, 23-25.
- Walton, V. M. y Pringle, K. L. (2004b). Vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), a key pest in South African vineyards. A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic*, 25(2), 54-62.
- Waterworth, R. A., Wright, I. M. y Millar, J. G. (2011). Reproductive biology of three cosmopolitan mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) species, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus viburni*, and *Planococcus ficus*. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(2), 249-260.
- Whitehead, V. B. (1957). A study of the predators and parasites of *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) on vines in the Western Cape Province, South Africa. MSc Thesis. Rhodes University. Grahamstown, South Africa.
- Williams, D. J. y de Willink, M. C. G. (1992). *Mealybugs of central and South America*. CAB International. London, England. 635 pp.
- Zada, A., Dunkelblum, E., Assael, F., Harel, M., Cojocar, M., & Mendel, Z. (2003). Sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus* in Israel: occurrence of a second component in a mass-reared population. *Journal of chemical ecology*, 29(4), 977-988.
- Zhou, A., Zeng, L., Lu, Y., Xu, Y. y Liang, G. (2012). Fire ants protect mealybugs against their natural enemies by utilizing the leaf shelters constructed by the leaf roller *Sylepta derogata*. *PloS one*, 7(11), e49982.