

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRNÓMICA Y DEL MEDIO RURAL



“Manejo integrado de pulgones en cultivos hortícolas al aire libre”

TRABAJO FIN DE MASTER

EN SANIDAD Y PRODUCCIÓN VEGETAL

Autor: Daniel Felipe Lorenzo

Tutor: Rafael Laborda Cenjor

Directora experimental: Paloma Pérez Díaz

Valencia, Septiembre 2016

Agradecimientos

Quiero dar las gracias a todas las personas que directa o indirectamente han hecho posible este trabajo y en especial a las siguientes personas:

A mi tutor Dr. Rafael Laborda Cenjor, por su predisposición e implicación desde un principio en este trabajo, sintiéndome asesorado y respaldado a lo largo de la elaboración del mismo, y aprendiendo de él mucho más de lo que se queda reflejado en este documento.

A mi cotutora Dra. Paloma Pérez Díaz por transmitirme una pequeña parte del gran conocimiento que tiene sobre los pulgones, por ayudarme en la identificación de las diferentes especies de afídidos y su asesoramiento en todo momento en la elaboración del trabajo.

A Dr. Josep Armengol Fortí por asesorarme y ayudarme en todo momento en la identificación de los diferentes géneros de hongos entomopatógenos.

A Adrián Sánchez por haberme ayudado en el laboratorio a identificar todos los insectos que encontraba en los muestreos.

También quería agradecer a los propietarios de Sa l Fresc, especialmente a Fermín y Julio, por haberme dejado realizar el trabajo en su finca y haberme ayudado en todo lo que han podido.

Y por último, a mis padres que sin su ayuda no habría podido estudiar todos estos años y a todos mis amigos que me han apoyado y, sobre todo, a Raquel que es la que me ha aguantado.

Título

Manejo integrado de pulgones en cultivos hortícolas al aire libre.

Resumen

Los áfidos son un problema grave en hortalizas, ya que producen daños estéticos que provocan una depreciación comercial de las plantas atacadas además de ser vectores de enfermedades víricas. El control de pulgones es relativamente fácil en agricultura convencional mientras que, en la ecológica, la falta de productos con efecto inmediato sobre los áfidos hace que debamos plantear una estrategia de lucha basada en medidas preventivas más que en la terapia. En el presente trabajo se evaluaron diferentes métodos de muestreo de pulgones en campos de lechuga (observación directa en campo, muestreo por aspiración y desmonte en el laboratorio). De todos ellos se determinó que el mejor método fue el de aspiración. Además se han identificado 6 especies de pulgones en los cultivos estudiados (*Brachycaudus cardui*, *Brevicoryne brassicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Aphis fabae* y *Aphis gossypii*). Las dos primeras son especies monófagas mientras que las restantes son polífagas. Se ha estudiado la dinámica poblacional de los pulgones que coloniza dos variedades diferente de lechuga (hoja de roble roja y romana) encontrándose que la primera presenta una población mayor. En el ensayo para determinar la eficacia del control biológico de pulgones por parte de *Aphidius colemani* en cultivo de calabacín al aire libre se han observado que de las muestras recogidas solamente ha emergido *Lysiphlebus testaceipes*, que se encuentra de forma natural en el medio. En cuanto a los parasitoides que se han encontrado actuando sobre estos pulgones, se han identificado las siguientes especies: *Aphelinus abdominalis*, *Aphidius ervi*, *Diaeretiella rapae* y *Lysiphlebus testaceipes* Además, se ha detectado que, dependiendo de la especie vegetal de la que se alimenta el áfido, varía el parasitoide que le ataca. También se han recolectado diferentes familias de especies depredadoras de las colonias de pulgones (Coccinellidae, Syrphidae, Cecidomyiidae y Chrysopidae). La especie presente en todos los cultivos estudiados fue *Propylea quattuordecimpunctata*. Se encontraron bastantes ejemplares de pulgones con presencia de hongos en su cutícula, aunque ninguno de ellos pertenecía al grupo de hongos entomopatógenos

Palabras clave: agricultura ecológica, control biológico, método de muestreo, pulgón, parasitoides, depredadores, hortícolas.

Title

Integrated management of aphids outdoor in vegetable crops.

Abstract

Aphids are a serious problem in vegetables, as make cosmetic damages that cause commercial depreciation of the attacked plant, also they are vectors of viral diseases. The control of aphids is relatively easy in conventional agriculture, in contrast, there aren't effective products against aphids in ecological agriculture. That is the reason why it should be considered a control strategy based in preventive measures instead of the therapy. Different sampling methods for estimating aphid populations on lettuce crops have been evaluated in present work (visual counting, vacuum sampling and cutting plants in the laboratory). It was determined that the best one was vacuum sampling. In addition, six species of aphids were identified in the studied crops (*Brachycaudus cardui*, *Brevicoryne brassicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Aphis fabae* and *Aphis gossypii*). The first two are monophagous species, the rest are polyphagous. Population dynamics of aphids species associated to lettuce crops (red oak leaf and roman) were studied, finding that the first one has bigger population. Assays to determine the efficacy of biological control of aphids by *Aphidius colemani* outdoor in zucchini crop, have shown that only *Lysiphlebus testaceipes* (species that live naturally in the environment) emerged from samples collected. Different species of parasitoids for aphids have been identified: *Aphelinus abdominalis*, *Aphidius ervi*, *Diaeretiella rapae* y *Lysiphlebus testaceipes*. In addition, depending on the plant species which the aphids feed, the parasitoid species which attacked them changed. Also various families of predator species of aphid colonies (Coccinellidae, Syrphidae, Cecidomyiidae y Chrysopidae) were collected. *Propylea quattuordecimpunctata* was present in all studied crops. Quite a few individuals of aphids with fungi in their cuticle were found, although none of them belongs to entomopathogenic fungi group.

Key words: ecological agriculture, biological control, sampling method, aphid, parasitoids, predators, vegetable crops.

ÍNDICES

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Agricultura ecológica	2
1.2	Cultivo de la lechuga.....	5
1.2.1	Taxonomía y morfología	5
1.2.2	Importancia económica	6
1.2.3	Plagas de la lechuga	6
1.2.4	Enfermedades de la lechuga.....	8
1.3	Los pulgones: morfología, ciclos vitales e importancia como plagas agrícolas	10
1.3.1	Morfología.....	10
1.3.2	Ciclo vitales.	13
1.3.3	Los afídidos como plagas agrícolas. Aspectos biológicos y ecológicos.	14
1.3.4	Daños producidos por los pulgones en las plantas.....	15
1.4	Tipos de muestreos y trampas para el seguimiento de la población de afídidos.....	16
1.5	El control biológico de plagas	18
1.5.1	Los insectos parasitoides	20
1.5.2	Los insectos depredadores	24
1.5.3	Hongos entomopatógenos	25
2	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	27
3	MATERIAL Y MÉTODOS	28
3.1	Ubicación de las parcelas.....	28
3.2	Determinación de un método de muestreo para afídidos en lechuga	29
3.3	Control biológico de pulgones en calabacín.	33
3.4	Identificación de las distintas especies de pulgones en otros cultivos y sus auxiliares	34
3.4.1	Muestreos en campo	34

3.4.2	Digestión de los pulgones.	35
3.4.3	Análisis de las muestras e identificación	36
3.5	Identificación e aislamiento de hongos sobre pulgones	36
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1	Método de muestreo de pulgones en lechuga.....	37
4.2	Dinámica población de pulgones en lechuga	42
4.3	Control biológico por incremento en calabacín al aire libre bajo microtúnel en los primero periodos de crecimiento.....	45
4.4	Interacción trófica planta, pulgones y fauna auxiliar	47
4.5	Identificación de hongos asociados a afídidos	53
5	CONCLUSIONES	54
6	BIBLIOGRAFÍA.....	57

1 INTRODUCCIÓN

En los agroecosistemas con predominio de monocultivos, la biodiversidad se encuentra fuertemente alterada produciendo frecuentes situaciones de inestabilidad en el sistema que se manifiestan, por ejemplo, con la aparición de plagas. El manejo del hábitat, consiste en modificar la biodiversidad de estos agroecosistemas, mejorando sustancialmente las interacciones en los distintos niveles tróficos. Una consecuencia directa de esta acción es una regulación de la abundancia de los organismos perjudiciales por sus enemigos naturales (Altieri 1999; Landis et al. 2000). Detrás de este concepto, existen dos hipótesis relacionadas con la máxima simplificación de los agroecosistemas (Root 1973):

1. “Hipótesis de la concentración del recurso”: Considera que los monocultivos ofrecen un recurso abundante y altamente concentrado a los fitófagos. Las plagas encuentran una elevada oferta y disponibilidad del recurso alimenticio (planta). Además, la abundancia de recursos disminuye la probabilidad de que la especie plaga emigre del hábitat una vez que ha llegado a éste. En este sentido, a una menor concentración del recurso, más difícil será para el artrópodo plaga la localización de una planta hospedera.
2. “Hipótesis de los enemigos naturales”: Considera que la simplificación extrema del agroecosistema provoca la reducción de las fuentes de alimentación alternativas (polen, néctar, otras presas) así como de los lugares de refugio y de oviposición requeridos por los enemigos naturales. Esto determina una menor riqueza y abundancia de enemigos naturales, muchos de los cuales son polípagos (con requerimientos alimentarios más diversos). En este sentido, esta hipótesis plantea que, en ambientes con alta diversidad vegetal, como son los cultivos diversificados,
 - a. Se dispone de una mayor diversidad de presas y como resultado, las poblaciones relativamente estables de depredadores generalistas pueden persistir en estos ambientes complejos, alimentándose de una amplia variedad de herbívoros disponibles en diferentes períodos y/o en diversos hábitats.
 - b. Los depredadores especialistas también pueden persistir en el sistema, sin grandes fluctuaciones en su densidad, porque sus presas pueden escapar de la

- aniquilación total encontrando las alternativas de refugio que ofrece un ambiente complejo.
- c. Los hábitats diversos ofrecen una abundancia de recursos alimentarios alternativos, tales como fuentes de néctar y polen, para los depredadores y parasitoides adultos de vida libre. Esto reduce la posibilidad de que dichos organismos se marchen o lleguen a extinguirse en forma local. Estos recursos no están disponibles o lo están en forma muy escasa en los monocultivos.

1.1 Agricultura ecológica

La agricultura ecológica u orgánica es un sistema holístico de gestión de la producción que fomenta y mejora la salud del agroecosistema, y en particular la biodiversidad, los ciclos biológicos, y la actividad biológica del suelo. Hace hincapié en el empleo de prácticas de gestión prefiriéndolas respecto al empleo de insumos externos a la explotación, teniendo en cuenta que las condiciones regionales requerirán sistemas adaptados localmente. Esto se consigue empleando, siempre que sea posible, métodos culturales, biológicos y mecánicos, en contraposición al uso de materiales sintéticos, para cumplir cada función específica dentro del sistema (Comisión del Codex Alimentarius 2001).

La agricultura ecológica ha experimentado un rápido crecimiento durante las últimas décadas. A pesar de esta situación favorable para el desarrollo de la misma, hay una falta de investigación básica y aplicada que permita entender los mecanismos que están actuando en los sistemas de agricultura ecológica, incluidos los relacionados con la sanidad vegetal.

La superficie dedicada a la agricultura ecológica en España ha aumentado de manera espectacular, ya que desde el año 1991 a 2011 la superficie cultivada se ha multiplicado 395 veces (MMARM – Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino 2014)(Figura 1). En la Comunidad Valenciana, la evolución ha sido importante, 50.916 ha cultivadas en 2014 (ocupando el 8º puesto) frente a las 1.183 ha existentes en el año 1995.

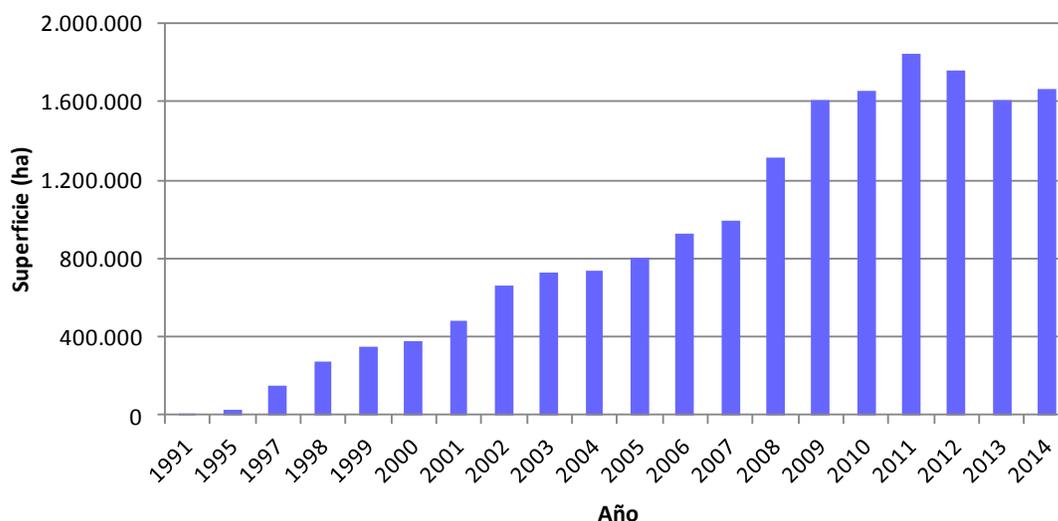


Figura 1. Evolución de la superficie de agricultura ecológica en España (a partir de MMARM, 2014). Hasta el año 2011 se han incluido en los totales el apartado "6 Otras superficies" donde se incluyen las superficies correspondientes a: Terreno forestal y plantas silvestres (sin uso ganadero), rosa de damasco, árboles de navidad, y otras superficies no incluidas en ningún otro lugar, y a partir del año 2012 se excluyen de los totales este apartado.

Uno de los problemas que se enfrenta la agricultura ecológica es el control de las plagas que puedan aparecer en dichos cultivos. Por ello, Wyss et al. (2005) proponen un modelo conceptual para el desarrollo de un programa de manejo de plagas para la producción ecológica. En la primera fase de este modelo las medidas preventivas indirectas tienen la máxima prioridad tal como se representa en la siguiente figura (figura 2), siendo las diferentes prácticas culturales compatibles con los procesos naturales las que tienen mayor importancia.



Figura 2. Representación esquemática de las estrategias de manejo de plagas en cultivo ecológico. La prioridad es para las estrategias preventivas y en caso de no ser suficientes se adoptan medidas más directas (Wyss et al. 2005).

La segunda fase tiene como objetivo el incremento del nivel de biodiversidad en el agrosistema. Este incremento puede producirse en el primer nivel trófico o en niveles superiores. El aumento de la diversidad de plantas puede producir un efecto directo de reducción de la densidad de fitófagos a través de la hipótesis de concentración de recursos. También puede incrementar el tercer nivel trófico (enemigos naturales de las plagas) y de esta manera colaborar en la disminución de los fitófagos (Hesler et al. 1993; Drinkwater et al. 1995; Wyss et al. 1995).

Tanto las fases tercera (introducción de enemigos naturales exóticos y lucha biológica inundativa) y cuarta (uso de plaguicidas botánicos o minerales y confusión sexual) son consideradas medidas curativas y sólo se deberían utilizar cuando las medidas indirectas implementadas durante las dos primeras etapas no son suficientemente eficaces (Zehnder et al. 2007).

1.2 Cultivo de la lechuga

1.2.1 Taxonomía y morfología

La lechuga, *Lactuca sativa* L., pertenece a la familia *Asteraceae*. Está íntimamente relacionada con la lechuga silvestre común o lechuga espinosa (*Lactuca serriola* L.) y menos estrechamente relacionada con otras dos lechugas silvestres (*Lactuca saligna* L. y *Lactuca virosa* L.).

Es una planta anual y autógama que posee un sistema radicular profundo y poco ramificado. Las hojas en los primeros estados fenológicos se disponen en roseta y después se aprietan unas junto a otras formando un cogollo más o menos consistente y apretado según la variedad. Las hojas pueden ser de forma lanceolada, redondeada o casi espatulada con una consistencia acorchada o blanduzca. El borde de los limbos foliares puede ser liso, ondulado o en forma de sierra. Cuando alcanza estados vegetativos avanzados, el cogollo o, en su caso, el manojito central de hojas, se abre para dar paso a un tallo cilíndrico y ramificado portador de hojas, así como de capítulos florales amarillentos en racimos o corimbos. Sus semillas son en realidad frutos en forma de aquenios típicos y están provistos de un vilano plumoso (Maroto et al. 2000).

En España las principales variedades de lechuga que se cultivan son:

Las lechugas batavias –var. *capitata*– con los tipos amarilla, verde y maravilla de verano. Son variedades que tienen el borde de las hojas algo dentados y ondulados.

Las iceberg o crujientes –var. *capitata*– tienen el cogollo apretado, y la superficie de las hojas es irregular, marcando los nervios longitudinales y con el borde de las hojas aserrado.

Las romanas -var. *longifolia*- no forman cogollo aunque sus hojas se cierran más o menos protegiendo a las hojas más jóvenes y ofreciendo un aspecto más alargado. Las hojas tienen el nervio principal recto y carnoso.

Los cogollos de tudela o babies. Son pequeñas plantas con cogollos alargados y ligeramente apretados (Maroto et al. 2000).

1.2.2 Importancia económica

España es el mayor productor de lechuga de la Unión Europea con 870.200 t producidas anualmente y el cuarto a nivel mundial detrás de China (14.000.000 t), Estados Unidos (3.875.520 t) e India (1.075.000 t) (FAO, 2012). En España el cultivo de lechuga ocupa el quinto lugar en cuanto a producción dentro de las hortalizas con 33.196 ha cultivadas, precedida del tomate, la cebolla, el pimiento y el melón (a partir de MMARM, 2012). La región con mayor producción es Murcia con un 39,2%, siguiéndola en importancia Andalucía con un 34,9%, Castilla y la Mancha con un 6,4% y la Comunidad Valenciana con un 5,5%.

Las exportaciones de lechuga desde 1980 han tenido un crecimiento continuo y espectacular, sobre todo debido al incremento de la producción del tipo iceberg. De una exportación de poco más de 5.000 t en 1980, se han pasado a 640.240 t en el año 2012, con un valor de 588.641 miles de euros (a partir de FEPEX, 2012). Estas cifras nos dan una idea de la importancia económica de este cultivo en nuestro país y del interés que suscita las plagas y enfermedades que lo afectan.

1.2.3 Plagas de la lechuga

Las plagas de la **parte aérea** que más frecuentemente afectan a esta planta son las siguientes:

Pulgones (Hemiptera: Aphididae). Pueden ser varias las especies de pulgones que colonizan lechuga: *Acyrtosiphum lactucae* (Passerini), *Aphis craccivora* Koch, *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis gossypii* Glover, *Aphis spiraecola* Patch, *Aulacorthum circumflexum* (Buckton), *Myzus cymbalariae* Stroyan, *Neotrama caudata* (del Guercio), *Prociphilus erigeronensis* (Thomas) *Trama troglodytes* van Heyden, *Uroleucon ambrosiae* (Thomas), *Uroleucon cichorii* (Koch), *Uroleucon formosanus* (Takahashi), *Uroleucon pseudambrosiae* (Olive), *Uroleucon sonchi* (L.), pero solo podemos considerar a cinco como plagas importantes: *Pemphigus bursarius* (L.), *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Myzus persicae* (Sulzer) y *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Blackman y Eastop 2006), siendo esta última especie en los últimos años la que plantea problemas más serios (Morales y Fereres 2008).

Trips (Thysanoptera). Los daños que provoca en este cultivo son de dos tipos: directos e indirectos. Los daños directos son provocados por las picaduras que sobre el tejido tierno realizan estos insectos para su alimentación. Mientras que los indirectos están relacionados con la capacidad que tienen estos insectos para la transmisión de diferentes virosis como Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV), siendo la especie *Frankliniella occidentalis* (Pergande) el principal vector de transmisión (Contreras y Lacasa 1993).

Orugas. Las orugas que causan daños en las hojas y raíces de la lechuga, pertenecen a la familia de los lepidópteros (*Lepidoptera*) correspondiendo a los géneros: *Spodoptera*, *Plusia* y *Heliothis*. La rosquilla negra, *Spodoptera littoralis* (Hübner) y rosquilla verde, *Spodoptera exigua* Boisduval, son larvas de noctuidos que se alimentan de las hojas y reducen la superficie foliar. Al ser una especie gregaria los daños pueden ser importantes (García-Marí y Ferragut 2002).

Minadores. Dípteros (*Diptera*) minadores de hojas, forman galerías en ellas y si el ataque de la plaga es muy fuerte la planta queda debilitada. Las principales especies pertenecen a la familia *Agromyzidae* y son *Liriomyza trifolii* y *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Hernandez-García et al. 1999).

Las plagas del **suelo** que más frecuentemente atacan al cultivo de lechuga son las siguientes:

Gusano de alambre (*Coleoptera: Elateridae*). La presencia de esta plaga depende mucho del tipo de cultivo anterior, favoreciendo su aparición que el mismo sea papa o maíz. La plaga en lechuga está instituida por la larva del coleóptero llamado *Agriotes lineatus* (L.), y sus daños dependen del estado fenológico de la misma. En plantas jóvenes las larvas mordisquean la zona del cuello enterrada llegando a degollar completamente las mismas, mientras que en plantas ya crecidas, atacan al sistema radicular perforando tejidos y creando galerías en las raíces principales (Davis et al. 2002).

Gusano gris (*Lepidoptera: Noctuidae*). La presencia de esta plaga está condicionada por la humedad del suelo, y en consecuencia, por la presencia de malas hierbas. La plaga la constituye la fase larvaria del lepidóptero llamado *Agrotis segetum* (Denis y Schiffermüller), la cual produce daños en el cuello de la planta, y que en el caso de plántulas jóvenes llegan al corte de la misma a nivel de suelo (Aparicio et al. 1995).

Nematodos. La plaga la constituye la especie *Meloidogyne hapla* Chitwood,, la cual forma nódulos, hipertrofias o agallas en las raíces, produciendo un debilitamiento de las

plantas y en ocasiones transmiten enfermedades viróticas o bacterianas (Davis et al. 2002).

1.2.4 Enfermedades de la lechuga

Dentro de las enfermedades criptogámicas de mayor importancia que afectan a la lechuga encontramos:

Mildiu. Representa la principal enfermedad causada por hongos en la parte aérea de la lechuga. El hongo causante de esta enfermedad es el parásito obligado *Bremia lactucae* (Regel). En primavera y otoño cuando las temperaturas son relativamente bajas y las hojas de la lechuga están con frecuencia húmedas, es cuando aparecen ataques más importantes. El mildiu puede atacar a la lechuga a lo largo de todo su desarrollo, las lesiones en plantas jóvenes son de color verde pálido ligeramente cloróticas, volviéndose amarillas o necróticas después del comienzo de la esporulación, mientras que en el envés aparece un micelio vellosos.

Podredumbre gris ó Botrytis. El ataque de este hongo puede presentarse en cualquier fase vegetativa de las plantas, incluso durante su transporte, y su evolución está condicionada por factores de orden climático y de cultivo: exceso de humedad, variaciones bruscas de temperatura, heridas, roturas, etc. El hongo productor de esta enfermedad es el llamado *Botrytis cinérea* (Pers). Se detecta su presencia por una pudrición blanda y acuosa y de color gris parduzco de las hojas así como por unos tallos dañados o senescentes. Desde la base de las hojas el patógeno avanza hasta las partes sanas de la planta misma, causando una pudrición similar del tallo principal y de las hojas adjuntas.

Oídio. El causante de la enfermedad es *Erysiphe cichoracearum* DC., el cual afecta principalmente a las hojas viejas exteriores volviéndolas ligeramente amarillas para pasar a un color parduzco. Los cogollos infectados antes de alcanzar el tamaño comercial pueden continuar siendo pequeños y de mala calidad.

Podredumbre del cuello o Sclerotinia. Enfermedad importante en el cultivo de la lechuga causada por dos especies de hongos del suelo: *Sclerotinia minor* (Jagger) y *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Es la zona del cuello de la planta donde se inician y permanecen los ataques, y esta zona junto con la base de las hojas externas presentan un aspecto húmedo, blando, descompuesto y con abundancia de micelio. Este ataque

detiene el crecimiento de la planta, la amarillea y marchita (Maroto et al. 2000; Davis et al. 2002).

Por otro lado, las enfermedades causadas por bacterias varían mucho según los años ya que su desarrollo está condicionado por factores de humedad y temperatura; siendo las más comunes las siguientes:

Mancha foliar bacteriana. La bacteria causante es *Xantomonas campestris* pv. *vitians* y el daño que produce supone la formación de manchas muy oscuras en las hojas, afectando tanto a la zona central como al borde de las mismas.

Pudrición blanda de la lechuga. Causada por la bacteria polífaga *Erwinia* sp., la cual, pudre todo el tejido inferior de las plantas, dándose solo en condiciones de excesiva y prolongada humedad del suelo (Davis et al. 2002).

Y en cuanto a virus hasta el momento se conocen 53 capaces de atacar a la lechuga, los cuales tienen como vectores en su mayoría a insectos, que incluyen especies de mosca blanca, trips, cicadélidos y sobre todo pulgones.

Los afídidos son los principales vectores de virus en lechuga. Las formas aladas suelen ser más importantes que los ápteros a la hora de dispersar el virus, debido a su mayor movilidad y por ser los responsables de propagar los virus desde la flora silvestre a la cultivada (Davis et al. 2002).

De entre todas las enfermedades que afectan a la lechuga las viróticas son de las más importantes, por los grandes daños que ocasionan, la falta de tratamientos para su curación y la gran facilidad con la que son transmitidas. Los virus más importantes que afectan a lechuga en España son los siguientes:

Tomato spotted wilt virus (TSWV). Este virus supone uno de los mayores problemas del cultivo de la lechuga en España, detectándose de forma generalizada en las zonas costero-mediterráneas e islas (Maroto et al. 2000). Es transmitido por varias especies de trips, siendo el principal vector *F. occidentalis*. Los síntomas consisten en amarillamiento y manchas necróticas pequeñas y redondeadas, internerviales al principio, para luego irse extendiendo y ocupando toda la lámina foliar (Jordá 1991).

Lettuce mosaic virus (LMV). Supone una de las principales virosis que afectan al cultivo de la lechuga, debido a los importantes daños causados. El LMV es un virus que se transmite por las semillas, sirviendo de foco inicial para la posterior dispersión realizada por los pulgones. La especie transmisora más importante es *M. persicae*, seguida de otras especies como *M. euphorbiae* o *A. lactucae*. Tal y como indica su nombre, produce un

característico mosaico verde claro-verde oscuro en hoja, aclareamiento de venas y moteados amarillos.

Lettuce big-vein varicosavirus (LBVV). Tiene cierta incidencia en la zona Sur de la Comunidad Valenciana. Su transmisor es el hongo del suelo *Olpidium brassicae* (Woronin), por lo que la enfermedad se da de manera más acusada en terrenos húmedos con mal drenaje y en periodos de abundantes lluvias (Maroto et al. 2000). Su sintomatología consiste en un engrosamiento de nervios y un bandeado de las zonas de tejido próximas a estas nerviaciones, las plantas pueden presentar menos crecimiento (Jordá 1991).

Además de los descritos anteriormente, se pueden detectar en menor intensidad otra serie de virus: *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) cuyos síntomas son deformación de hojas con mosaico amarillo y verde y enanismo de la planta, y el *Beet western yellows virus* (BWYV) que produce un amarilleo internervial de las hojas externas (Jordá 1991).

1.3 Los pulgones: morfología, ciclos vitales e importancia como plagas agrícolas

Los pulgones pertenecen a la superfamilia Aphidoidea y existen varios criterios para su clasificación. Siguiendo la propuesta por Remaudiere y Remaudiere (1997), dentro de esta superfamilia se encontrarían tres familias: *Adelgidae*, *Phylloxeridae* y *Aphididae*. La familia Aphididae es donde se hallan los individuos conocidos vulgarmente como afídidos o pulgones.

Se conocen 4.700 especies y subespecies de pulgones, clasificadas cerca de 600 taxones del grupo género (Remaudiere y Remaudiere 1997), de las que aproximadamente 300 pueden tener importancia como plaga agrícola. Son insectos que se encuentran ampliamente distribuidos por el mundo, especialmente en las zonas templadas. En nuestro país se han identificado más de 500 especies y subespecies (Nieto Nafría y Mier Durante 1998).

1.3.1 Morfología

Los pulgones suelen presentar polimorfismo intraespecífico, con diferentes formas dentro de la misma especie (Nieto Nafría y Mier Durante 1998). En general, son insectos

de cuerpo globoso y con un tamaño entre 1 y 5 mm. El cuerpo de los pulgones se puede dividir en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen. En las formas aladas, la cabeza está generalmente bien diferenciada del tórax, pero en las formas ápteras, ambas regiones se presentan fusionadas (Figura 3).

Las antenas están insertas directamente en la frente (fr) o sobre tubérculos antenales ubicados en el vértex, que son unas protuberancias de la cabeza que pueden divergir, converger o ser más o menos paralelas. Este aspecto es importante ya que posee valor taxonómico para distinguir entre géneros de afídidos. El número de antenómeros que conforman las antenas, oscila entre 3 y 6 (III-VI). La parte distal de la misma presenta una porción más adelgazada que se denomina “proceso terminal”.

Normalmente en los segmentos III, IV y V (varía dependiendo de las especies) aparecen los sensorios secundarios o rinarias cuya función es olfativa y también es un carácter con valor taxonómico (Nieto Nafría y Mier Durante 1998).

En la cabeza se observa un par de ojos compuestos y las formas aladas poseen además 3 ocelos, ubicados uno en el vértex y los dos restantes adyacentes a cada ojo compuesto.

Poseen aparato bucal picador-chupador. El rostro está formado por 4 artejos, de los cuales sólo el último tiene carácter taxonómico. En el interior del rostro se encuentran los estiletes, que tienen función de perforar la epidermis del vegetal, penetrando en ella para acceder a la savia.

El tórax se compone de 3 segmentos, pro, meso y metatórax, cuyo tamaño es progresivamente mayor en las formas ápteras, pero poco diferenciados entre sí. A cada lado del protórax de los ápteros suele haber un tubérculo marginal. En cambio, en las formas aladas se observa un protórax neto y una segunda porción constituida por la fusión del meso y metatórax y en la cara dorsal del mesotórax se observan 2 grandes lóbulos redondeados. En el meso y metatórax, tanto de ápteros como de alados, se abre un par de espiráculos.

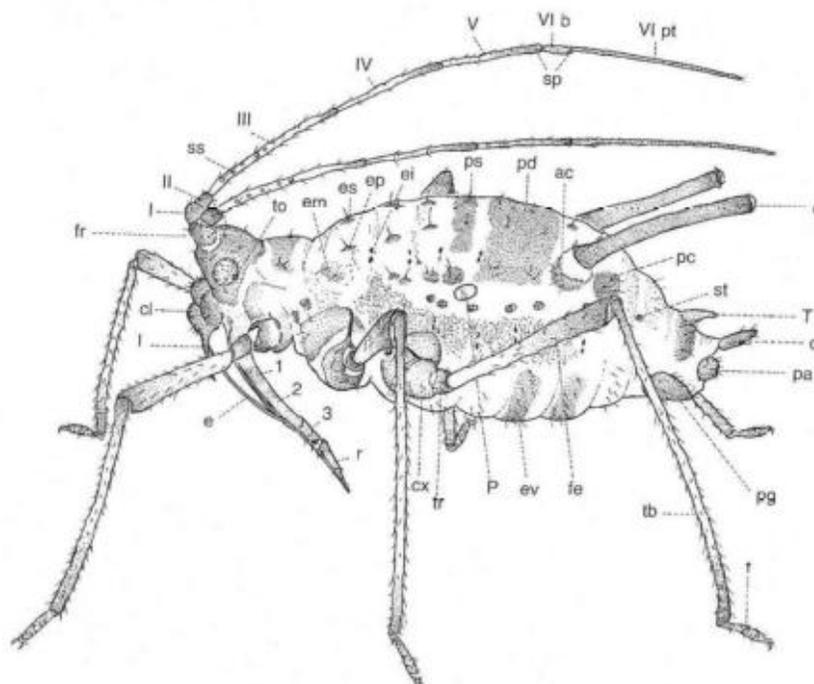


Figura 3. Esquema general de un pulgón áptero en vista lateral (ilustración extraída de Nieto Nafría y Mier Durante, 1998)

Las formas aladas poseen 2 pares de alas membranosas y transparentes. Las anteriores suelen tener entre 3 y 5 venas, y además pueden presentar pigmentación. El pterostigma, pigmentado o no, se encuentra en la parte superior del ala. Las alas posteriores son más pequeñas que las anteriores y tienen un máximo de 3 venas (Nieto Nafría y Mier Durante 1998).

En cada uno de los 3 segmentos torácicos se inserta un par de patas que le permiten al pulgón desplazarse y en algunos casos saltar. Cada pata está constituida por coxa (cx), trocánter (tr), fémur (fe), tibia (tb) y tarso (t) (Nieto Nafría y Mier Durante 1998). Las patas anteriores acaban en tarsos divididos en 2 ó 3 artejos de los cuales, el último, que es el más grande tiene importancia taxonómica.

La segmentación del abdomen es poco evidente en la cara dorsal y algo más marcada en la ventral. Se considera que está constituido por 8 urómeros y termina en una

cauda (q), por debajo de la cual hay una placa anal (pa). Ambas constituirán el 9º urómero y entre ellas se localiza el ano.

En el urómero 5º o 6º están situados generalmente los sifones o cornículos (c), cuya forma va desde simples anillos superficiales hasta proyecciones en forma de tubos. La función que cumplen los sifones está relacionada con la excreción de sustancias volátiles de defensa. Tanto la cauda como los sifones tienen valor sistemático, ya que dependiendo de la especie adoptan distintas formas.

1.3.2 Ciclo vitales

La vinculación que poseen con las plantas hospedadoras y la alternancia de generaciones sexuales y partenogénicas han determinado la existencia de varios tipos de ciclos, entre los que se encuentran (Nieto Nafría y Mier Durante 1998):

Ciclo monoico: cuando el ciclo vital puede completarse sin necesidad de que los individuos cambien de planta hospedadora, es decir, que todas las generaciones de esa especie pueden desarrollarse sobre la misma o sobre las mismas (si son varias) especies vegetales sin migrar. Sin duda, pueden producirse dispersiones, lo que puede significar la colonización de otras especies, pero sin que esto represente un carácter obligatorio.

Ciclo dioico: cuando la migración es necesaria para que se complete el ciclo, entendiéndose por migración el cambio de planta hospedadora que permite el desarrollo de la generación siguiente (o de las generaciones siguientes) a la migradora; así es como algunas generaciones pueden desarrollarse sobre unas plantas concretas que no son aptas para el desarrollo de otras generaciones de la misma especie.

Además, dependiendo de si existe o no generación anfigónica, podemos hablar de **ciclos holociclos y anholociclos**. Se denominan holociclos a los que tienen generación anfigónica. Se tratan por tanto de ciclos completos. Anholociclos son aquellos que carecen de generación anfigónica. Han tenido que aparecer a partir de algún ciclo holocíclico.

Dentro de estos ciclos tenemos 4 tipos de individuos importantes (Nieto Nafría y Mier Durante 1998):

1. **Fundadoras:** son hembras partenogénicas nacidas de los huevos fecundados puestos por las hembras gámicas. Ese huevo es generalmente invernante, aunque hay especies con huevos estivo-invernantes.

2. **Fundatrígenas:** son hembras partenogénicas nacidas de las fundadoras o de otras fundatrígenas y que engendrarán hembras partenogénicas, los números máximo y mínimo de generaciones de fundatrígenas varían según las especies; así como su morfología (áptera o alada).
3. **Sexúparas:** son hembras partenogénicas hijas de las fundatrígenas y que darán lugar a los integrantes de la última generación del ciclo, los sexuales. En algunas especies una misma sexúpara puede engendrar indistintamente machos y hembras, pero en otras lo hacen de forma diferenciada: unas producen machos y otras ovíparas, llamándose respectivamente andróparas y ginóparas. Las sexúparas son según las especies ápteras o aladas como los machos. Las ovíparas normalmente son ápteras.
4. **Virginógenas:** Solo se dan en el ciclo dioico. Son hembras partenogénicas nacidas en el hospedador secundario, bien de las fundatrígenas emigradas o bien de otras virginógenas. Dependiendo de la especie y de la generación que se trate pueden ser ápteras o aladas.

1.3.3 Los áfidos como plagas agrícolas. Aspectos biológicos y ecológicos

Los pulgones han sido siempre considerados como uno de los grupos de insectos plaga de cultivos más importantes, debido a su presencia en un gran número de especies vegetales, a su gran tasa reproductiva y número de generaciones al año.

Hay varios aspectos de su biología y ecología que definen su importancia como plagas sobre una gran variedad de cultivos en todos los agroecosistemas del mundo. Entre ellas pueden destacarse:

Gran potencial biótico: definido por su capacidad de reproducción por viviparidad y partenogénesis. Ambas cualidades los definen como comunidades con estrategias reproductivas tipo “r”, lo que se manifiesta con un gran incremento de las poblaciones cuando le son propicias las condiciones del medio.

Polimorfismo y la alternancia de huéspedes: como ya ha sido explicada anteriormente, lo que le permite aprovechar las condiciones favorables.

Gran capacidad de dispersión y migración: los vuelos que realizan los pulgones son de varios tipos y se los pueden dividir en migratorios y no migratorios. Los vuelos de migración son los que resultan obligados para completar el ciclo vital de la especie. Pueden ser de 2 tipos: de emigración y de remigración. Los primeros ocurren en

primavera y provocan que las poblaciones de una especie determinada desaparezcan del hospedador primario y aparezcan en el secundario. A la inversa, los vuelos de remigración llevan a los pulgones del hospedador secundario al primario en el otoño.

Los vuelos no migratorios o de dispersión o diseminación son los que efectúa cualquier individuo alado, pero sin que ello implique cambio de hospedador (Kring 1972; Nieto Nafría y Seco 1990).

Relaciones con las plantas: el espectro de plantas sobre las que pueden desarrollarse los pulgones varía para cada especie, aunque se han podido observar ciertas coincidencias. Los afídidos reconocen las plantas hospedadoras adecuadas por una serie de procesos sensoriales. La primera aproximación al vegetal es captada por la vista, que se trata de algo poco preciso y que constituye el fundamento de captura de algunas trampas. Una vez posados proceden mediante los tarsos a un reconocimiento mecánico de la superficie de la planta, si éste es positivo se aborda un reconocimiento olfativo, seguido de otro gustativo superficial. En su caso se llega a un reconocimiento gustativo en profundidad, accediendo a los vasos del floema.

La planta hospedadora constituye un carácter taxonómico importante en la identificación de los pulgones, por lo tanto es necesario determinar qué actividad desarrollan los pulgones sobre la misma (Nieto Nafría et al. 1984).

1.3.4 Daños producidos por los pulgones en las plantas

Los daños producidos por pulgones se pueden dividir en dos grupos: directo e indirecto.

El **daño directo** lo produce el afídido por la acción de su aparato bucal al clavar los estiletes dentro de las células que constituyen el floema y succionar savia de las mismas. Los órganos afectados de la planta son principalmente las partes verdes, tales como hojas (donde a veces se observa una preferencia por una posición determinada dentro de ellas), ramas, tallos, brotes, flores y frutos. Las especies que se alimentan de partes verdes, causan deformaciones en los pecíolos o el limbo foliar, abarquillamientos, enrollamientos o crispamientos en las hojas, malformaciones de brotes y frutos. Algunas especies producen agallas, las cuales pueden ser abiertas o cerradas (García Marí y Ferragut 2002). Este tipo de daño causado por los pulgones como plaga de cultivos no puede considerarse un problema agrícola de primera magnitud, salvo cuando se alcanzan densidades poblacionales muy altas. Las especies que no se alimentan de partes verdes como las

raíces, las picaduras producen nudosidades, que al descomponerse acaban destruyendo totalmente el sistema radicular, y si el grado de daño es muy alto puede llegar a provocar la muerte de la planta.

El **daño indirecto** se debe a la excreción de las melazas por parte de los pulgones y su deposición sobre los vegetales generando la proliferación de hongos. Ésta se debe particularmente a que dichos insectos se alimentan de savia elaborada que contiene gran proporción de sacarosa, por lo tanto la fracción no aprovechable es la que se elimina, originando así un daño indirecto.

Por otra parte, causan cuantiosos daños como vectores de virosis vegetales, siendo el grupo más importante dentro de los mismos. Se ha comprobado que más de 300 virosis son transmitidas por unas 200 especies de pulgones, transmitiendo el 75% de las virosis a diversas hortalizas y frutales (Lomeli-Flores et al. 2008). Esto es debido a sus características biológicas, su conducta alimenticia y su especialización en alimentarse sobre vegetales así como su amplia distribución.

1.4 Tipos de muestreos y trampas para el seguimiento de la población de afídidos

Los métodos de muestreo de insectos han resultado de la necesidad de un conocimiento de la abundancia relativa de sus poblaciones que luego pudiera ser trasladada con el fin de hacernos una idea de la situación real (Morris 1960). Debido a los daños que causan los pulgones a las plantas cultivadas, es esencial medir su actividad y conocer sus cambios poblacionales para anticiparse a los problemas que causan, y con el objetivo de tomar decisiones sobre las estrategias de control que deben de ser adoptadas (Robert et al. 1998).

Los distintos métodos utilizados habitualmente para el estudio de las poblaciones de insectos pueden dividirse en dos grandes grupos (Morris 1960):

Estimación absoluta: En animales de gran tamaño con unas poblaciones pequeñas y contables es posible expresar su tamaño poblacional con el número total de individuos. Sin embargo para el resto de animales su número solo se puede referir como densidad por unidad de área, volumen de aire o de hábitat. El muestreo puede ser por conteo directo del número total de individuos que hay en una planta.

Estimación relativa: Son estimaciones en las cuales el número de capturas no puede ser expresado como una densidad por unidad de hábitat, solo permiten comparaciones en espacio-tiempo. Esta estimación se utiliza en estudios extensivos de la distribución de especies, de la riqueza de especies, en estudios medioambientales, estudios de patrones de actividad animal, y en la investigación de la constitución de poblaciones polimórficas.

Los pulgones pueden llegar a ser muy abundantes, especialmente sobre los cultivos agrícolas, sin embargo, extrapolando la información, es posible conocer la dinámica poblacional de una especie de pulgón en un área grande estudiando el número de pulgones en unas pocas plantas (Dixon 1998).

Para el muestreo de pulgones ápteros, se puede emplear los métodos de observación directa y en aquellos casos que exista una gran dificultad para contar los pulgones se puede realizar un muestreo destructivo cortando todas las hojas de la planta (Pascual-Villalobos et al. 2004).

Para el muestreo de pulgones alados, las trampas utilizadas habitualmente son las denominadas de succión y de color, que se pueden incluir en dos de los tres tipos de trampas establecidas por Taylor y Palmer (1972) y cuyas estimaciones son principalmente relativas.

Los pulgones pueden moverse grandes distancias por el aire. Las formas aladas que migran realizan un fuerte movimiento vertical, realizando también vuelos no migratorios a corta distancia por encima del cultivo o entre las plantas (Kring 1972; Irwin 1980; Moericke 2009). A la hora de aterrizar los pulgones se dejan llevar por estímulos visuales (Fereres et al. 1999), siendo atraídos por la forma y el tamaño del objetivo y ciertos colores, particularmente a aquellos cuyo espectro de luz se encuentra entre el amarillo y el verde.

En los últimos años se han empleado trampas de color de diverso tipo, pero con las que se han obtenido los mejores resultados son las denominadas trampas de agua o de Moericke de color amarillo. Estas trampas están basadas en la atracción que ejerce sobre los pulgones el color amarillo, de aproximadamente 500 a 600 nm de espectro de absorción luminosa. Son recipientes pintados interiormente de dicho color y en los que se pone agua, que actúa como elemento de captura. Las trampas amarillas permiten conocer la composición de la afidofauna aérea en una pequeña extensión de terreno. Hay que

considerar además que la atracción que sienten los pulgones no es siempre la misma, dependiendo de las especies. Por ello resultan ser unas trampas especialmente útiles para conocer la dinámica de algunas especies (por ejemplo *Myzus persicae* o *Brevicoryne brassicae*) (Nieto Nafría y Seco 1990).

Las trampas de succión más utilizadas son las de “tipo Rothamsted” (Taylor 1974). Se componen de un tubo de aspiración de plástico de 25 cm de diámetro, que alcanza una altura de 12,20 m. Este tipo de trampas han sido usadas para crear una red entre diversos países de la Unión Europea que registra las capturas de pulgones alados durante varios años consecutivo. Lo cual ha permitido la elaboración de modelos matemáticos para la previsión de las infecciones que son de gran utilidad práctica (Nieto Nafría y Seco, 1990). Otro método de succión frecuentemente empleado son los aspiradores D-VAc (como método absoluto de muestreo) y se puede emplear tanto para capturar formas aladas como ápteras.

Cuando se pretende conocer la riqueza de especies de un área determinada se han usado métodos de muestreo con trampas que suponen o contienen algún tipo de atrayente para los individuos que se quiere coleccionar. Sin embargo, para estudios de la dinámica poblacional, lo que se intenta es conocer la cuantía y evolución real de una población de insectos, por lo que se han buscado métodos de captura que no estén condicionados y nos puedan dar una idea lo más aproximada posible de como es realmente la población estudiada.

1.5 El control biológico de plagas

De las exigencias actuales de los consumidores por productos exentos de residuos químicos y por una agricultura más respetuosa con el medio ambiente, han estimulado a los investigadores a continuar los esfuerzos por la puesta a punto de procedimientos de control biológicos. Dicho procedimiento se define como la acción de parasitoides, depredadores o patógenos que mantiene la densidad de población de un organismo plaga en un promedio menor del que ocurriría en su ausencia (DeBach y Rosen 1991).

El control biológico que realiza el hombre para acabar con una plaga agrícola consiste en la utilización de organismos vivos (depredadores, parasitoides, patógenos,

antagonistas o competidores), denominados enemigos naturales, para acabar con la población de dicha plaga, haciéndola así menos abundante y en consecuencia menos perjudicial (Van Driesche y Bellows 1996).

El control de las poblaciones de artrópodos fitófagos por sus enemigos naturales se produce de forma espontánea en la naturaleza y contribuye decisivamente a que muchos de ellos no constituyan plagas para la agricultura. El uso de insectos depredadores ya era conocido en la antigua China, pero el primer gran éxito de lucha biológica se obtuvo a finales del siglo XIX en California, con el control de la cochinilla a canalada, *Icerya purchasi* Maskell, mediante la introducción del depredador *Rodolia cardinalis* Mulsant importado de la zona originaria de la plaga, desde Australia y Nueva Zelanda (Koul y Dhaliwal 2003; Hajek 2004). A partir de entonces la lucha biológica obtuvo un gran impulso, pero sufrió una paralización después de la Segunda Guerra Mundial con la aparición de los plaguicidas orgánicos de síntesis. Al cabo de los años con motivo de uso excesivo de estos productos aparecieron una serie de problemas (contaminación, intoxicaciones, resistencias, proliferaciones de plaga...) y se le volvió a recuperar la importancia del control biológico como método de lucha contra plagas.

Hoy en día existen tres caminos a seguir para el desarrollo de programas de control biológico:

El de la importación, también conocido como **control biológico clásico**, se utiliza cuando los enemigos naturales autóctonos no son lo suficientemente específicos para acabar con una plaga que procede de otra región. Se trata pues de importar los enemigos naturales de la región de origen de la plaga en cuestión.

El **control biológico aumentativo** consiste en un aumento del número y/o actividad de los enemigos naturales de forma transitoria y artificial por el hombre en un área definida consiguiéndose el control biológico. Esta estrategia incluye la cría en masa y la suelta periódica de los enemigos naturales. Estas liberaciones pueden ser de dos tipos, inoculativas, cuando se hacen una sola vez y el enemigo natural se reproduce en el campo, siendo su descendencia la que controla progresivamente la plaga, o inundativa, cuando se aplican enemigos naturales en gran cantidad a fin de controlar la plaga de forma inmediata, tal como lo haría un plaguicida convencional. En este último caso son los propios insectos que se sueltan los que controlan a la plaga.

Cuando una plaga posee enemigos naturales eficaces en una zona pero estos no pueden actuar de forma adecuada debido a determinadas características del agroecosistema pueden aplicarse diferentes métodos para permitir la acción de la fauna auxiliar autóctona. Es el **control biológico por conservación** y existen una serie de medidas que potencian la conservación de los enemigos naturales: Uso de insecticidas selectivos que no acaben con los mismos, la eliminación de prácticas sobre el cultivo que resulten perjudiciales, uso de prácticas que favorezcan su supervivencia y multiplicación, utilización de variedades del cultivo que favorezcan su colonización, suministro de hospedadores alternativos así como suministro de refugio y comida como polen y néctar para los adultos (Koul y Dhaliwal 2003).

Los enemigos naturales de insectos y ácaros incluyen himenópteros parásitos que usan al individuo plaga como hospedador de su descendencia, depredadores que los consumen como presa, y patógenos que causan enfermedades. Los métodos de control no químicos que no usan enemigos naturales vivos, no son considerados control biológico (Heinz et al. 2004).

1.5.1 Los insectos parasitoides

Un parasitoide es un insecto que en su forma inmadura parasita a otros organismos pero lleva una vida libre cuando son adultos para poder así atacar a sus presas. Los parasitoides son más pequeños que su hospedador y se desarrollan en el interior de su cuerpo (endoparásitos) o sobre él, insertando solo su boca (ectoparásitos). La hembra adulta del parasitoide está adaptada a dejar su huevo dentro o sobre el hospedador en un solo estado de desarrollo del mismo (huevo, larva, pupa o adulto). Completan su ciclo consumiendo una sola presa y su actividad acaba por matarla. En general son específicos, aunque los hay muy polívoros (Flint et al. 1998; Coscollá 2004).

Según Souissi y Ru (1997) un parasitoide debe de cumplir cinco cualidades esenciales que influyen en su eficacia, tales como el patrón de oviposición, longevidad, fecundidad, supervivencia y el tiempo de desarrollo. También afectan a la longevidad del parasitoide los agentes abióticos, tales como temperatura, humedad, viento, etc.

Aunque la de los parasitoides parece ser una estrategia de vida muy especializada, ha sido explotada por numerosos grupos de insectos, siendo abundantes los parasitoides

entre himenópteros, habituales entre los dípteros y existen algunas especies entre los coleópteros, lepidópteros y neurópteros (Hajek 2004).

La primera vez que un parasitoide fue usado comercialmente para el control de una plaga fue en 1949 y se trató del afelínido *Encarsia formosa* Gahan contra la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en invernadero. La mayoría de los parasitoides utilizados en la actualidad en control biológico, pertenecen al orden Hymenoptera, especialmente especies de las superfamilias Chalcidoidea, Ichneumonoidea y Proctotrupeoidea, y al orden Díptera, especialmente la familia Tachinidae (Koul y Dhaliwal 2003).

En los estudios llevados a cabo por Peña et al. (2007) en la cría artificial de *Lysiphlebus testaceipes* Creasson en Cuba, el parásito se desarrolló bien a temperaturas medias y mínimas que oscilan entre 25,5 a 30°C.

Tyler y Jones (1974) en un trabajo realizado sobre la influencia de las bajas temperaturas en el desarrollo y el éxito de la emergencia de *L. testaceipes*, indica que a bajas temperaturas emergían menos adultos debido al aumento del periodo de desarrollo, condensación y formación de moho.

Stadler y Völki (1991) comparan los patrones de alimentación de *L. testaceipes* y *Aphidius colemani* Dalman en plantas de banana. Comprueban que *L. testaceipes* tiene mayor tendencia a buscar los pulgones en áreas abiertas de la planta, mientras que *A. colemani* busca los pulgones tanto en las áreas abiertas de la planta como en las ocultas.

1.5.1.1 Afidiíinos (Hymenoptera: Aphidiinae) parasitoides de pulgones

Los himenópteros son los agentes de control biológico de pulgones más importantes. Se estima que existen cerca de 125.000 especies pertenecientes a unas 40 familias que se desarrollan como parasitoides, estando muchas especies aún por describir (Fisher et al. 1999). Todos los parasitoides de pulgones son endoparasitoides solitarios y pertenecen a familia Aphelinidae y principalmente a la subfamilia Aphidiinae del orden Hymenoptera.

La subfamilia Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) es el grupo más importante, siendo todas las especies que agrupa endoparasitoides estrictos solitarios de pulgones (Stary 1976; Michelena y González 1987). Se conocen aproximadamente 60 géneros y

subgèneros y m3s de 400 especies de afidi3nos repartidas por todo el mundo. Los gèneros m3s comunes son: *Adialytus* F3rster, *Aphidius* Nees, *Diaeretiella* Stary, *Ephedrus* Haliday, *Lipolexis* F3rster, *Lysiphlebus* F3rster, *Monoctonu* Haliday, *Pauesia* Quilis, *Praon* Haliday y *Trioxy*s Haliday (Starý 1988).

Parece ser que los himen3pteros parasitoides proceden de himen3pteros primitivos, cuyas larvas fit3fagas cambiaron su alimentaci3n a base de tejido vegetal de las plantas por huevos y otras larvas pr3ximas, cre3ndose tal dependencia, que la hembra a partir de un momento tuvo que buscar organismos animales para ovopositar sobre ellos (Anento y Selfa 1997).

Los afidi3nos son un grupo de himen3pteros peque1o tama1o (1,5–4,5 mm), poseen una coloraci3n principalmente negra u oscura, con patrones m3s o menos amarillentos o anaranjados. Su reproducci3n es principalmente biparental: huevos no fertilizados dan lugar a machos y fertilizados a hembras (haplo-diploides).

Cuando una hembra de este grupo encuentra un pulg3n, dobla su abdomen entre sus patas y coloca r3pidamente un diminuto huevo (0,1 mm de largo) en la cavidad corporal del hospedador. Una vez dentro del pulg3n, el huevo se expande varias veces respecto a su tama1o inicial. Unos d3as despu3s la larva sale del huevo y comienza a alimentarse de forma osm3tica (Figura 4).

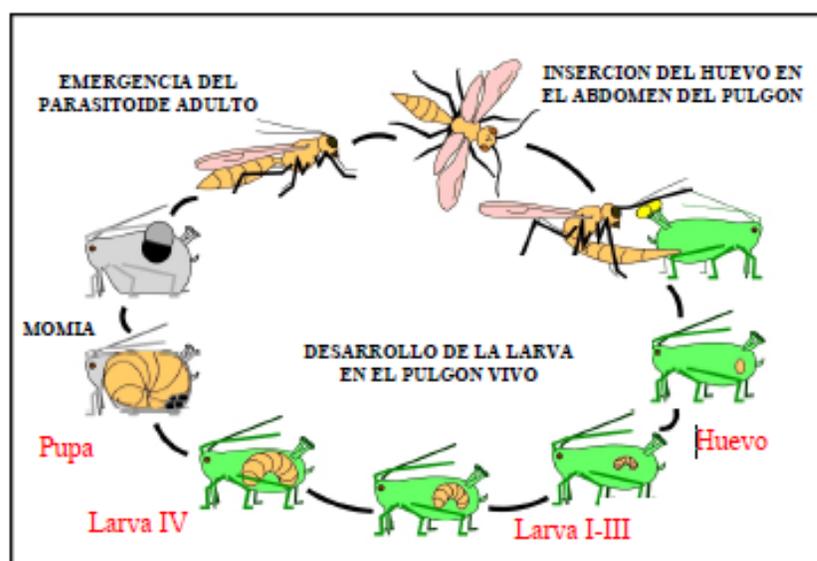


Figura 4. Ciclo de vida de un parasitoide afidi3no en un pulg3n (Rabasse y van Steenis 1999).

La larva pasa por cuatro estadios. Durante los tres primeros no interfiere mucho en el desarrollo del pulgón. Sin embargo en el cuarto estadio, el parasitoide consume todo el tejido interno del pulgón hasta dejar solo la cutícula. En este momento la larva realiza un corte en la base de la cutícula y la sujeta a la hoja con seda para a continuación hilar su capullo. Así se forma la “momia”. La pupación, y en algunos casos la diapausa, transcurren dentro de la momia. Unos días después emerge el adulto (la duración de esta fase depende de las condiciones de temperatura) (Rabasse y van Steenis 1999).

1.5.1.2 El uso de plantas refugio y “banker”

La gran capacidad de desarrollo de los pulgones hace que la dispersión de la plaga por el cultivo pueda ser muy rápida si no se controla de forma temprana. Por ello, una alternativa a las sueltas preventivas reiteradas es el empleo de plantas refugio. Serían aquellas que dan cobijo o algún recurso alimenticio alternativo a los organismos que se encargan de realizar el control biológico y que se pueden plantar en los bordes de las parcelas. También puede emplearse el uso de banker que son plantas que albergan a una presa alternativa, y que son comercializadas por las casas de control biológico.

Estas técnicas permiten mantener y multiplicar una determinada especie de enemigo natural, como puede ser *A. colemani*, de manera independiente de la presencia o no de la plaga.

Las plantas refugio o banker consisten en especies vegetales que pertenezcan a una familia taxonómica diferente a la del cultivo, como puede ser un cereal (trigo o cebada), donde se crían poblaciones de pulgones específicos que no pueden desarrollarse en el cultivo, como por ejemplo *Ropalosiphum padi* Linnaeus. Este organismo de sustitución sirve de hospedador a parasitoides como *A. colemani*, de manera que se crían poblaciones de parasitoide dentro de la planta. Esta técnica está muy expandida por la mayoría de los invernaderos de cultivos hortícolas de Almería y Cartagena, aunque de su empleo al aire libre hay poca información (Vila 1986).

1.5.2 Los insectos depredadores

Los depredadores se distinguen de los parasitoides porque atacan a varias presas durante su vida, ya que, las larvas depredadoras buscan activamente a sus presas a diferencia de los parasitoides, en los cuales es el adulto el que busca al hospedero mientras que la larva se limita a alimentarse de él. Las larvas de los depredadores consumen a veces muchas presas hasta completar su desarrollo y una vez llegadas al estado adulto siguen en la mayoría de los casos con sus hábitos depredadores (Jacas et al. 2005).

Dentro de los insectos depredadores, los principales órdenes que tiene como presa los pulgones son Coleoptera (con la familia Coccinellidae), Diptera (con las familias Syrphidae y Cecidomyiidae) y Neuroptera (con la familia Chrysopidae).

Las especies de coccinélidos depredadoras de pulgones más importantes encontradas en Cataluña sobre cultivos hortícolas son *Adalia bipunctata* (L.), *Coccinella septempunctata* (L.), *Propylea quatuordecimpunctata* (L.) y *Scymnus* spp. (Barberá et al. 2000).

Coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae)

Los coleópteros pertenecientes a la familia coccinellidae son conocidos vulgarmente por mariquitas. Tienen unas coloraciones de los élitros brillantes con ornamentaciones de puntos que les hacen muy característicos.

Entre los insectos que les sirven de alimento destacan los pulgones y los cóccidos, de los cuales llegan a consumir un número tan elevado de presas que pueden desempeñar un importante papel en la regulación de las poblaciones de dichos insectos. Son, por ello, los depredadores que más éxito están teniendo en la lucha biológica contra plagas (Núñez Pérez et al. 1992).

Dípteros (Diptera: Syrphidae y Cecidomyiidae)

Dentro de la familia Syrphidae la mayoría de las especies son depredadoras. Las larvas son las que ejercen la función de depredación y son ápodas con un aparato bucal masticador. Mientras que el adulto es de vida libre y se puede confundir con las avispas por su coloración. Éstos basan su alimentación en néctar y polen de las plantas y tienen

una funció important com a pol·litzadors. Dintre de les espècies depredadores de pulgones destaquen *Episyrphus balteatus* De Geer i *Eupeodes corollae* Fabricius (Jacas et al. 2005).

Existen diverses espècies de mosquitos cecidòmids cuyes larves són depredadors específics de pulgones. Estes són àpodes i de un color naranja-rosáceo, com poca mobilitat i per això depreden preses que tinguin hàbit gregari com els pulgones, àcars i ous de còccids. La espècie *Aphidoletes aphidimiza* Rondani coloniza de manera freqüent espontàniament els cultius infestats amb pulgones. El adult se alimenta de la melassa dels mateixos i del nèctar de les flors. Les larves nada més emergir localitzen a les preses i inyecten una toxina que les paralitza i posteriorment succeixen tot el seu contingut (Vila 1986).

Neuròpters (Neuroptera: Chrysopidae)

Entre els neuròpters hi ha diverses espècies pertanyents a la família Chrysopidae que se alimenten de pulgones, encara que és freqüent que aquests siguin depredadors generalistes per la qual cosa es poden trobar en diferents hàbitats. Les larves presenten mandíbules molt potents amb les quals ataquen i destrossen a les preses, mentre que els adults poden ser depredadors en alguns casos o bé alimentar-se de polen i nèctar de flors (Jacas et al. 2005). Les espècies més comunes en els cultius hortícoles del sud-est espanyol són *Chrysoperla carnea* Stephens i *Chrysoperla formosa* Brauer, sobre tot en cultius a l'aire lliure (Vila 1986).

1.5.3 Hongos entomopatógenos

Entre els organismes entomopatógenos que s'empren en programes de control d'insectes plaga a nivell mundial, destaquen, els hongos entomopatógenos, que cuyes avantatges per a ser emprats en programes de control microbiano d'insectes són: alta especificitat, dispersió natural, possibilitat de cultiu *in vitro* mantenint la patogenicitat, inocuidat per als vertebrats i la possibilitat de provocar un control permanent una vegada establerts en l'entorn. Així mateix, una altra avantatge important que presenten aquests patògens és que la infecció generalment es produeix per contacte, a

través del tegumento de los insectos, no necesitando ser ingeridos por los mismos (Guadalupe 2014).

Los hongos que afectan a los pulgones pertenecen al orden Hypocreales, destacándose los géneros, *Beauveria* Vuill, *Verticillium* Nees e *Isaria* Pers. Sin embargo, dentro del orden Entomophthorales se han descrito un total de 29 especies que afectan a pulgones en Europa, pertenecientes a los géneros, *Batkoa* Humber, *Conidiobolus* Bref, *Entomophaga* A. Batko, *Entomophthora* Fresen, *Erynia* (Nowak. ex A. Batko) Remaud. y Hennebert, *Neozygites* Witlaczil, *Pandora* Humber, *Tarichium* Cohn y *Zoophthora* A. Batko (Keller 2006). De esta manera los Entomophthorales son importantes organismos de control biológico para pulgones, causando epizootias naturales capaces de reducir drásticamente sus poblaciones.

El desarrollo de estas epizootias se ve facilitado por una serie de características morfológicas (cuerpo blando y tamaño pequeño) y biológicas (ciclo de vida corto, a menudo partenogénéticos, vivíparos, las formas ápteras y aladas del adulto) propias de los pulgones que favorecen la transmisión de los hongos entre los individuos de una población y el medio donde habitan (Steinkraus 2006; Díaz et al. 2008).

2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los pulgones son un problema grave en hortalizas, principalmente porque producen daños estéticos que provocan una depreciación comercial de las plantas atacadas. El control de pulgones es relativamente fácil en agricultura convencional mientras que en la ecológica la falta de productos con efecto inmediato sobre los afídidos hace que debamos plantear una estrategia de lucha basada en medidas preventivas más que en la terapia.

En los cultivos al aire libre, la introducción de especies de parasitoides y depredadores exóticos en el marco de programas de control biológico no siempre es viable. Para fomentar la presencia de enemigos naturales autóctonos el control biológico por conservación es especialmente útil. Este tipo de estrategia aprovecha los recursos faunísticos locales evitando los costes que supone la introducción de auxiliares.

El primer paso para desarrollar un programa de control biológico basado en la conservación que favorezca la presencia y desarrollo de las especies autóctonas de parasitoides y depredadores de una región determinada, pasa por tener una idea precisa de qué especies están controlando las poblaciones plaga y en qué proporción.

El trabajo de investigación que se propone tiene los siguientes objetivos:

- Análisis comparativo de diferentes técnicas de muestreo para establecer el método que mejor ofrezca el nivel poblacional de pulgones en lechuga.
- Estudio de la dinámica poblacional de afídidos en el cultivo de lechuga en una explotación dedicada al cultivo de plantas hortícolas al aire libre.
- Determinar la eficacia del control biológico de pulgones por incremento con *Aphidius colemani* de forma preventiva en el cultivo del calabacín al aire libre.
- Definir las asociaciones planta-pulgón-parasitoide halladas en cultivos hortícolas con sistemas de producción ecológica, con el propósito de proveer información básica para el control biológico de estos fitófagos.
- Identificar los hongos asociados a distintas especies de pulgones de los principales cultivos hortícolas en una finca de agricultura ecológica.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Ubicación de las parcelas

Las parcelas de estos ensayos se realizaron dentro de la Comunidad Valenciana ubicadas en el municipio de Alcàsser situada en la comarca de l’Horta Sud.

Alcàsser está situado aproximadamente a 13 km al sur de Valencia, desde donde se accede a través de la pista de Silla por la carretera V-31.

Los estudios se realizarán en cultivos hortícolas de la empresa de productos ecológicos SAIFRESC, que destinan su producción al comercio local de verduras y hortalizas sanas y frescas de la huerta de Valencia, siguiendo una agricultura tradicional aplicando conocimientos científicos agro-tecnológicos, es decir, recuperando variedades locales, empleando fertilización orgánica, control natural de plagas y enfermedades a la vez que emplean aquellos fitosanitarios que están autorizados en agricultura ecológica.

La finca donde se tomaron las muestras se sitúan al norte de la población de Alcàsser, a unos 3 km aproximadamente. (Figura 5).

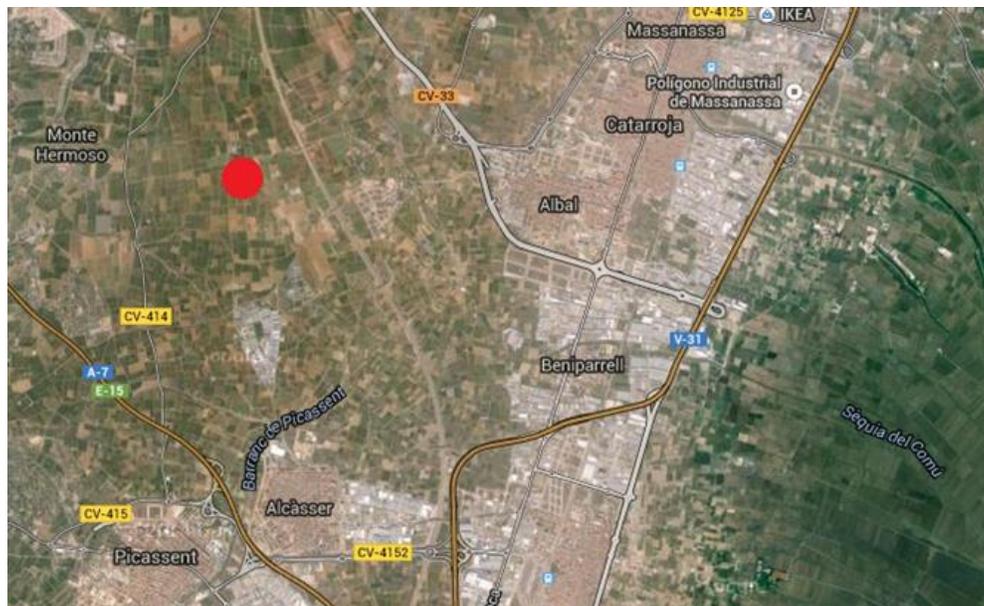


Figura 5. Localización de parcelas donde se realizaron los ensayos.

La finca está formada por 24 parcelas pequeñas, teniendo una superficie total de 13,48 ha (Figura 6).

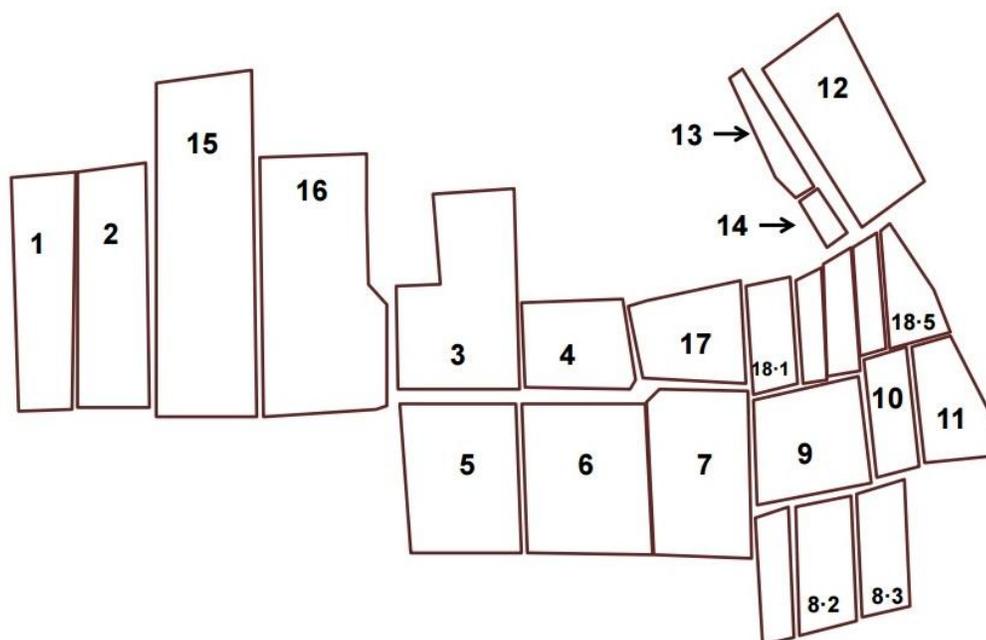


Figura 6. Distribución de las parcelas

El funcionamiento en cultivo ecológico de esta explotación se basa en una rotación constante de diferentes especies de distintas familias, para de esta forma, controlar las distintas plagas y enfermedades además de aprovechar mejor el recurso suelo. Además de una rotación en el espacio, también se hace una alternancia en el tiempo de los cultivos, para de esta forma poder mantener en el mercado los distintos productos de forma continua.

3.2 Determinación de un método de muestreo para áfidos en lechuga

Para determinar las relaciones de los diferentes métodos de muestreos en pulgones en diferentes variedades de lechugas, se han llevado a cabo en las mismas fechas y en las mismas parcelas 3 tipos de muestreos que después son comparados.

- Tipos de muestreo:

Muestreo visual

Uno de los métodos consistió en la visualización individual de plantas al azar para detectar a los insectos refugiados entre las hojas, debido a que los pulgones que en esta finca atacaban a la lechuga son grandes y se ven bien.

Muestreo por aspiración

Este método se realizó con un aspirador de motor de gasolina de 30 cm³, marca Tanaka modelo THV 200 con una capacidad de aspiración de 700 m³/ hora. El aspirador se componía de un ventilador que realiza la succión del aire, conectado a un tubo cilíndrico, al final del cual se adaptaba una bolsa de malla fina donde se recogían los insectos.

El procedimiento seguido fue acercar el cono del aspirador al centro de la planta y mantenerlo durante 4 segundos aproximadamente, repitiendo la misma operación 3 veces más alrededor de toda la planta. El material succionado, quedaba recogido en una bolsa de malla, que se identificaba con una tarjeta de plástico en que se registraba la fecha, la especie de la planta y parcela. Posteriormente se transporta al laboratorio en una nevera.

Muestreo en laboratorio

Se llevó a cabo el desmonte de las plantas en sus diferentes piezas (hojas) y se golpearon sobre una bandeja de color negro para facilitar su posterior conteo.

Para el **muestreo de pulgones en campo**, durante el periodo experimental, se realizaron muestreos periódicos en las parcelas objeto de estudio.

El trabajo de campo se llevó a cabo desde el mes de febrero hasta mayo con un total de 6 muestreos. En cada mes se realizaron entre 1 y 2 salidas a la finca, donde se muestreaban y se recogían muestras vegetales de plantas previamente observadas. Cada parcela presentaba diferentes cultivos hortícolas además de contar con bordes compuestos por diferentes especies vegetales, entre los que destacan *Bromus* L. y *Lobularia marítima* (L.) que estuvieron presentes durante todo el tiempo que se hicieron los muestreos.

Se efectuaron los muestreos en dos variedades distintas de lechuga para comprobar si la variedad influye en la abundancia y las especies de pulgones presentes en ellas:

- Hoja de roble roja: Es reconocible por sus hojas onduladas y sus tonalidades que van del verde al morado. Las hojas son rizadas con una textura tierna y ligeramente crujiente.
- Romana: Es un tipo de lechuga que crece con una larga cabeza y unas hojas robustas, alargadas y con un acentuado nervio central. No forma un verdadero cogollo.

Las lechugas se plantaron en diferentes parcelas con un desfase de 15 días aproximadamente y se fueron alternando en las distintas parcelas de la finca siguiendo la rotación de cultivos que se ha establecido por los técnicos de la explotación. Las plantas se trasplantaban del semillero con 30 días y se mantenían bajo manta térmica durante 20 días tras la plantación.

Esto nos permitía muestrear las lechugas en sus distintos estados fenológicos de crecimiento, en distintas etapas del año y en diferentes zonas del campo. Por ello, en función de la duración del ciclo de la lechuga (Noviembre y Diciembre, 100 días; Febrero y Marzo, 80 días; Marzo y Abril, 70 días) se establecieron 5 fases del cultivo:

- Fase 0: Manta térmica.
- Fase 1: 50% del ciclo.
- Fase 2: 75% del ciclo.
- Fase 3: 100% del ciclo.
- Fase 4: Cosecha.

Se utilizó un índice de valores para estimar el nivel de presencia/ausencia de áfidos en las lechugas. Los valores están comprendidos en una escala del 0-4:

- Grado 0: Sin presencia.
- Grado 1: 1-10 pulgones/planta.
- Grado 2: 11-50 pulgones/planta.
- Grado 3: 51-100 pulgones/planta.

- Grado 4: Más de 100 pulgones/planta.

Las lechugas se muestrearon empleando de forma consecutiva los 3 métodos. Para cada parcela se analizaban 5 lechugas al azar de cada variedad con cada método.

Primero se empleó el método de observación visual, empezando a mirar la lechuga desde sus hojas más externas hasta las más internas, tardando aproximadamente con cada una unos 15-20 segundos, dependiendo del tamaño de las mismas.

Seguidamente, se aspiraban conjuntamente las mismas 5 lechugas de cada variedad, empleando para ello 1 manga entomológica por variedad e identificando cada una de las mangas con papel y lápiz. Las distintas mangas entomológicas se guardaban en una nevera para su conservación y transporte hacia el laboratorio.

Una vez aspiradas, esas mismas lechugas se cortaban por el cuello y se recogían en bolsas de papel en lugar de papel de plástico, para evitar que las plantas perdieran agua. Con cada muestra se apuntó la parcela y la variedad a la que pertenecía. En el traslado de las muestras al laboratorio se utilizaron neveras con refrigerantes para favorecer la inmovilización de los pulgones con la baja temperatura. Una vez en el laboratorio, las bolsas se metieron en la nevera.

El **trabajo de laboratorio** consistió en analizar todas las muestras vegetales que se recogieron en el campo. Todas ellas fueron analizadas en el mismo día.

Para facilitar el conteo de los individuos que fueron recogidos con el aspirador, se introdujeron las bolsas de malla en el congelador durante un corto período de tiempo. El contenido de la manga entomológica se extraía en una bandeja de color negro y se iban aplastando los pulgones con la punta de un cuchillo para evitar contar por error el mismo varias veces, debido a que algunos tenían una cierta movilidad.

Las bolsas con lechugas también se guardaban un cierto tiempo en el congelador para disminuir la movilidad de los afídidos. Posteriormente se iban sacando las que pertenecían a la misma parcela y variedad y se cortaban en diferentes piezas, a la vez que se golpeaban contra una bandeja de color negro, quedando los pulgones en el fondo de la misma. Posteriormente se procedió a contarlos del mismo modo que con los que se encontraban en las bolsas de malla.

3.3 Control biológico de pulgones en cala bacín

El ensayo se realizó en una parcela de calabacín al aire libre situada en la localidad de Alcàsser (Valencia), en la finca de Sa I Fresc. El cultivo fue plantado el 1 de marzo del 2016 y desde entonces estuvo cubierto por un microtúnel con manta térmica.

Los pulgones causan daños muy importantes en esta especie y se plantea la estrategia de suelta preventiva del himenóptero parasitoide de *A. colemani* con el objetivo de que se establezca en el cultivo y controle los niveles de afídidos.

En la parcela experimental se tomaron 6 filas de cultivo cubiertas con microtúnel, en 3 de las cuales se soltó el parasitoide para valorar el nivel de parasitismo sobre los pulgones y las 3 restantes se mantienen como testigo.

El producto utilizado para realizar la liberación del enemigo natural es Apherar 500 que consta de momias mezcladas con serrín, de las cuales emergen 500 avispas parásitas que se distribuyeron en las 3 filas del experimento, de tal manera que la dosis de liberación fue de 0,33 individuos/m².

La aplicación de las momias sobre el cultivo de calabacín se realizó el 8 de abril y una semana después se retiró la manta térmica. Desde éste momento se llevó a cabo los muestreos de pulgones vivos y parasitados (momias) cada 7 días aproximadamente. En cada una de las filas se tomaron al azar 10 hojas y se llevaron a cabo la estimación del % de hoja ocupado por pulgones y momias.

Se tomaron muestras vegetales con presencia de afídidos y momias que se transportaban al laboratorio en sobres de papel, para posteriormente ser evaluadas con lupa binocular y recoger los pulgones adultos (formas aladas y ápteras de mayor tamaño dentro de las colonias) para su posterior identificación siguiendo la clave Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs (Blackman y Eastop 2006).

Por último, se colocaban las muestras vegetales con momias en los evolucionarios, que consistían en un tubo de cartón cilíndrico de 40 x 9 cm. En uno de sus extremos el tubo contaba con un vial de plástico transparente y cerrado mientras que el otro lado estaba cerrado por una malla negra que proporcionaba oscuridad. De esta manera conseguimos que los insectos presentes en la muestra se sientan atraídos hacia la luz. Las muestras se dejaban evolucionar y se revisaban cada 3 días para observar si existía o no presencia de algún insecto. En caso de que sí, se cogía el vial y se le añadía alcohol al 70%

para su conservación. Para la identificación de los parasitoides de pulgones se ha seguido la clave taxonómica citada por Michelena et al. (2004) para los braconidos.

3.4 Identificación de las distintas especies de pulgones en otros cultivos y sus auxiliares

Los muestreos se llevaron a cabo durante los meses de mayo y junio de 2016, realizándose un total de 6 visitas a las parcelas.

La finca durante los meses que se realizaron los muestreos estaba compuesta por distintos cultivos dispuestos en sus diferentes parcelas, y por ello, primeramente se hizo una inspección de cada uno de los cultivos para detectar si existía presencia o no de pulgones. En aquellos que si existían pulgones, se realizaron los muestreos tanto de estos como de la fauna auxiliar que controlaban sus niveles.

3.4.1 Muestreos en campo

En función del objetivo perseguido se efectuaron varios tipos de muestreo.

Muestreo tipo 1. Consistió en coger muestras vegetales tras realizar una observación visual in situ. Se utilizó un índice de valores para estimar el nivel de presencia/ausencia de pulgón en la planta. Los valores están comprendidos en una escala de del 0-3 (0, sin presencia; 1, baja presencia; 2, nivel medio; 3, elevada presencia). El muestreo se realizó observando aquellas plantas que presentaban afídidos, introduciendo las muestras vegetales con individuos en bolsas de papel.

A continuación se transportaban las muestras al laboratorio en una nevera, para posteriormente ser evaluadas con ayuda de una lupa binocular, recogiendo aquellos individuos adultos, es decir, las formas aladas y dentro de las formas ápteras las que tenían mayor tamaño y presentaban inmaduros a su alrededor.

Muestreo tipo 2. Se recogieron aquellas muestras vegetales que tras realizar una observación visual in situ contaban con presencia de pulgones parasitados (momias). Para determinar el nivel de momias se empleó una escala con valores comprendidos del 0-3 (0, sin presencia; 1, baja presencia; 2, nivel medio; 3, elevada presencia). Dichas muestras se

introducían en evolucionarios y se hacían revisiones periódicas cada 5 días. Una vez se observaba la presencia de individuos se cogía el vial y se le añadía alcohol al 70%.

Muestreo tipo 3. El muestreo de depredadores y otros parasitoides de afídidos se realizó con un aspirador. El procedimiento seguido fue acercar el cono del aspirador a la zona de la planta y mantenerlo durante unos 5 segundos, repitiendo esta operación en diferentes partes de plantas adyacentes de la misma especie. El material succionado, quedaba recogido en una bolsa de malla, se identificaba con una tarjeta de plástico en que se registraba el tipo de cultivo y la fecha de recolección. Posteriormente se transportaba al laboratorio en nevera. Las muestras se conservaron en el congelador durante 1-2 días a -20°C , con el objetivo de matar a los artrópodos sin destruirlos. A continuación se procedía a seleccionar los depredadores y parasitoides de pulgones, así como sus posibles hiperparásitos.

3.4.2 Digestión de los pulgones.

En el laboratorio, se procedió a realizar la identificación de las muestras de afídidos recogidas durante el trabajo de campo. Las muestras fueron conservadas en botes de cristal de 40 x 12 mm en alcohol al 70% y fueron agrupadas en función de la especie del hospedante.

Para el estudio de algunas especies de pulgones fue necesario su digestión y se siguió los métodos usados por los autores Blackman y Eastop (1984) y Nieto Nafría y Mier Durante (1998):

1. Se colocó el afídido mediante un pincel en un pocillo de cristal con agua destilada.
2. Se pasa el pulgón a un pocillo con KOH al 10%. Dependiendo de la pigmentación que tuviera el pulgón, el periodo de exposición en potasa frío varía entre 1 y 24 horas.
3. Los pulgones una vez digeridos, se depositan en un pocillo con agua destilada durante 1 o 2 días para proceder a la limpieza de la grasa de su interior.

3.4.3 Análisis de las muestras e identificación

La mayor parte de los especímenes se han identificado mediante observación a través de la lupa binocular. La determinación de los mismos se realizó a nivel de género en la mayor parte de los insectos, en algunos caso se llegó a identificar a nivel de especie.

En el caso de los pulgones, partiendo del hospedante en el que se encontraban, la mayoría fueron identificados a nivel de especie bajo lupa binocular empleando claves taxonómicas para individuos ápteros (Blackman y Eastop 2006) y para los alados (Remaudière y Seco 1990).

Para la identificación de la fauna auxiliar nos hemos basados en diferentes características de valor taxonómico citadas por Bru Martínez y Garcia-Marí (2006) para la identificación de depredadores, la clave taxonómica citada por Michelena et al. (2004) para los braconidos. Por otro lado, se emplearon las claves propuestas por Rosen y DeBach (1979) para los afelínidos, Guerrieri y Noyes (2000) para los encírtidos, Burks (2003) para los eulófidos y Gibson (2001) para los pteromálidos.

3.5 Identificación e aislamiento de hongos sobre pulgones

El muestreo se inició el 24 de mayo de 2016, debido a que se empezó a observar pulgones muertos con síntomas de micosis. Los cultivos que se muestrearon fueron calabacín, berenjena, pepino, pimiento, tomate y sandía, ya que eran aquellos sobre los que el nivel de pulgones era mayor en ese momento.

Los muestreos se realizaban por observación visual de las plantas, deteniéndose en aquellas hojas con desarrollo de colonias de pulgones, para retirar los cadáveres de los individuos que estaban recubiertos por micelio. Para su posterior estudio en el laboratorio, se procedió a recortar parte de la hoja que contenía estos pulgones con hongos y se colocaron dentro de viales de plástico, para facilitar su transporte.

En el caso de los pulgones muertos pero sin signos externos de micosis, éstos fueron colocados en placas de Petri de 60 mm de diámetro con un papel de filtro humedecido con unas gotas de agua destilada estéril (cámara húmeda) y mantenida a 20°C por 24-72 horas para favorecer el desarrollo de la micosis.

El aislamiento de hongos se efectuó bajo condiciones estériles, encámara de flujo laminar y tanto los medios de cultivo como los materiales fueron esterilizados en autoclave.

Para la obtención de los aislamientos los afídidos en los que se observaba crecimiento fúngico fueron colocados en placas Petri con medio de cultivo PDAS (patata-dextrosa- agar + 500 ppm de sulfato de estreptomycin) para inhibir el crecimiento de bacterias. En cada placa se sembraron 7 pulgones y se dejó incubar a temperatura ambiente (20-25 °C) y en oscuridad. A los 7 días se observaron las placas Petri sembradas y de cada tipo de colonia se obtuvo un cultivo puro. Para ello con una aguja flameada se cogió un trocito del borde de cada tipo de colonia diferente y se sembró cada una en el centro de una placa de PDA (patata- dextrosa- agar) y también se volvió a dejar incubar a temperatura ambiente y en oscuridad. A los 7-10 días de haber realizado el repicado a cultivo puro se procedía a hacer preparaciones microscópicas de los distintos tipos de colonias aparecidas en las placas Petri. Las preparaciones fueron observadas al microscopio óptico Nikon con un aumento de 40X. Las estructuras externas del hongo, como hifas, conidios y conidióforos fueron tenidas en cuenta para la identificación. Para determinar el género se utilizaron claves generales de Barnett y Hunter (1998).

Alguno de los hongos no se pudo identificar por medio de sus estructuras externas mediante del microscopio óptico, por lo que se llevo a cabo una identificación molecular utilizando la secuencia de las regiones ITS (Internal Target Spacer) por parte del Grupo de Investigación de Hongos Fitopatógenos en el Laboratorio de Patología Vegetal en la Universidad Politècnica de Valencia.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Método de muestreo de pulgones en lechuga

El total de afídidos presentes en cada lechuga es el resultado de la suma de los individuos capturados por aspiración más el número de pulgones contados en las mismas en el laboratorio. De esta forma se pueden comparar los métodos de aspiración y muestreo visual en campo con el número real de pulgones que hay en las lechugas.

En los muestreos realizados en invierno del 2015 y primavera del 2016 en cultivos de lechuga, el tipo de muestreo que mayor abundancia de pulgones capturó en números

absolutos fue la aspiración, mientras que con la observación en campo solamente se observaron la mitad de individuos con respecto a la aspiración (Tabla 1).

Tabla 1. Número de pulgones por cada tipo de muestreo en el invierno del 2015 y primavera de 2016.

	Tipo de muestreo			
	Total	Laboratorio	Aspiración	Campo
15-feb-2016	350	251	99	21
29-feb-2016	1.650	1.207	443	147
10-mar-2016	2.910	2.478	432	335
10-abr-2016	1.719	1.147	572	241
18-abr-2016	1.487	1.119	368	192
13-may-2016	1.369	840	529	347
Total	9.485	7.042	2.443	1.283

Se ha representado la correlación entre los pulgones totales por lechuga y los áfidos capturados con el método de muestreo por aspiración en las dos variedades de lechuga estudiadas. Todos los muestreos se ajustan bastante a la curva de tendencia, aunque a medida que aumenta el número de pulgones se puede ver como la correlación se empieza a desajustar, implicando que a niveles elevados de pulgones, los sistemas de conteo empleados no son capaces de mostrar el nivel real de la plaga.

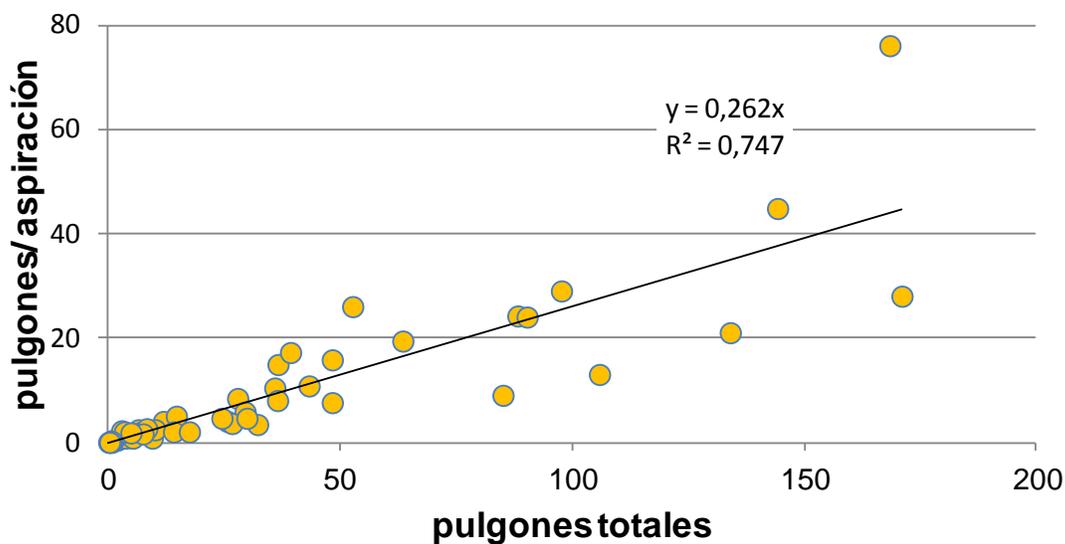


Figura 7. Correlación entre los pulgones totales por lechuga y los áfidos aspirados en las variedades de hoja de roble roja y romana.

En la figura 7 y 8 se puede observar como en la variedad hoja de roble roja se captura con la aspiración una mayor proporción de pulgones que en la romana y por tanto la correlación resultante es un poco mejor.

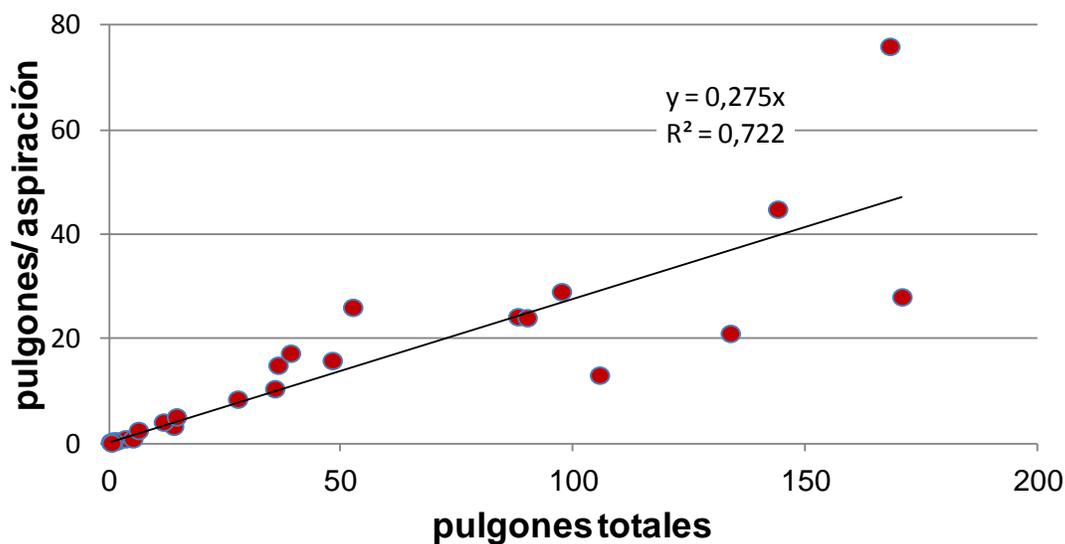


Figura 8. Correlación entre los pulgones totales por lechuga y los áfidos aspirados en la variedad de lechuga de hoja de roble roja.

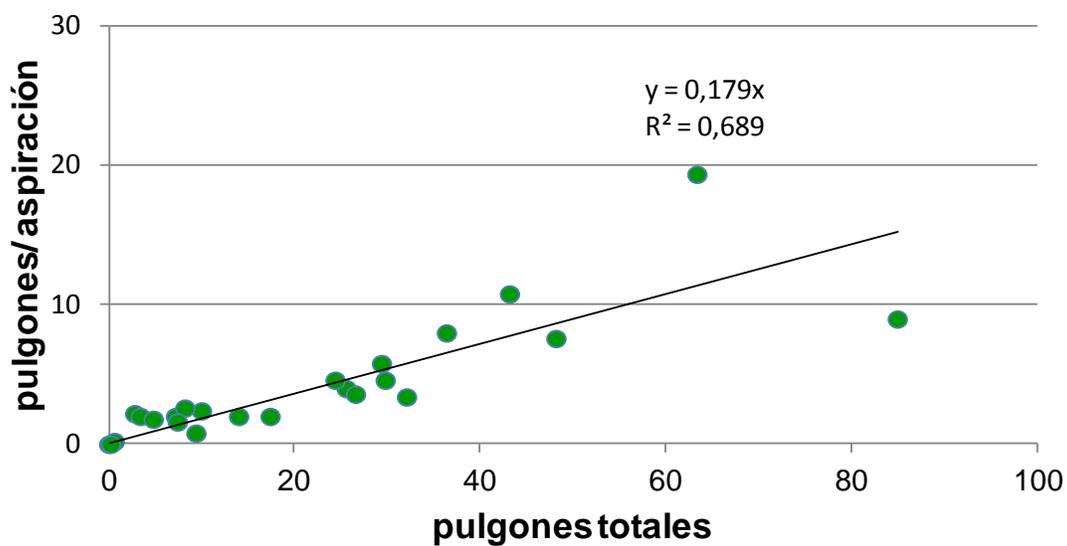


Figura 9. Correlación entre los pulgones totales por lechuga y los áfidos aspirados en la variedad de romana.

En el caso de la correlación de la observación directa en campo de los pulgones con el total de individuos presentes, se observa cómo se detecta una menor proporción de individuos comparado con el método de aspiración, dando como resultado que la correlación no sea tan buena.

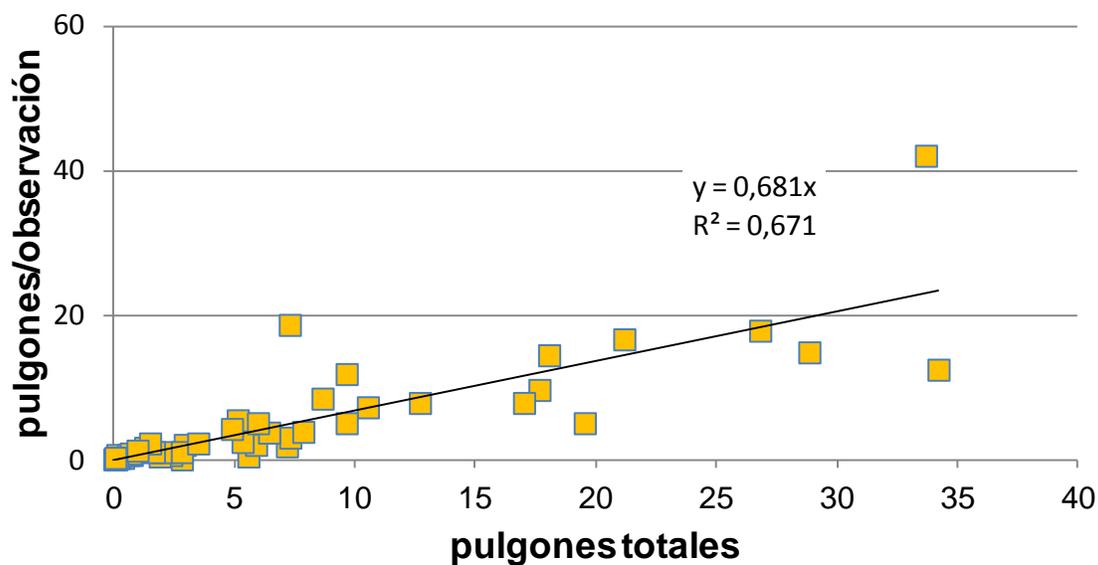


Figura 10. Correlación entre los pulgones totales por lechuga y los áfidos observados en campo en las variedades de hoja de roble roja y romana.

Analizando las correlaciones de ambas variedades por separado, en la lechuga de hoja de roble roja la correlación es mucho más alta que en la romana, pero en el caso de la romana se observa una proporción mayor de pulgones.

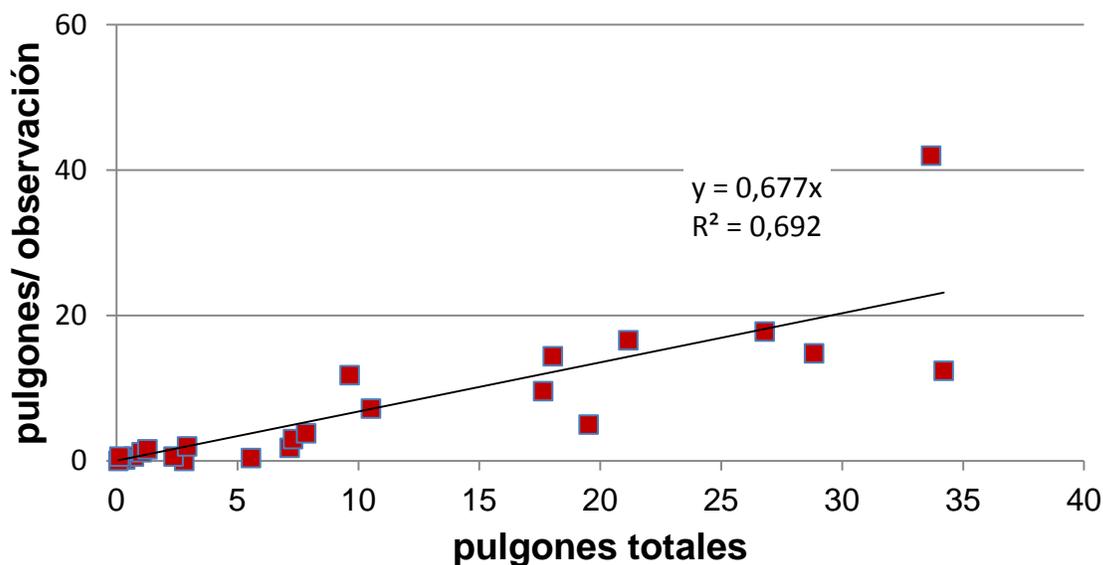


Figura 11. Correlación entre los pulgones totales por lechuga y los pulgones observados en campo en la variedad de lechuga de hoja de roble roja.

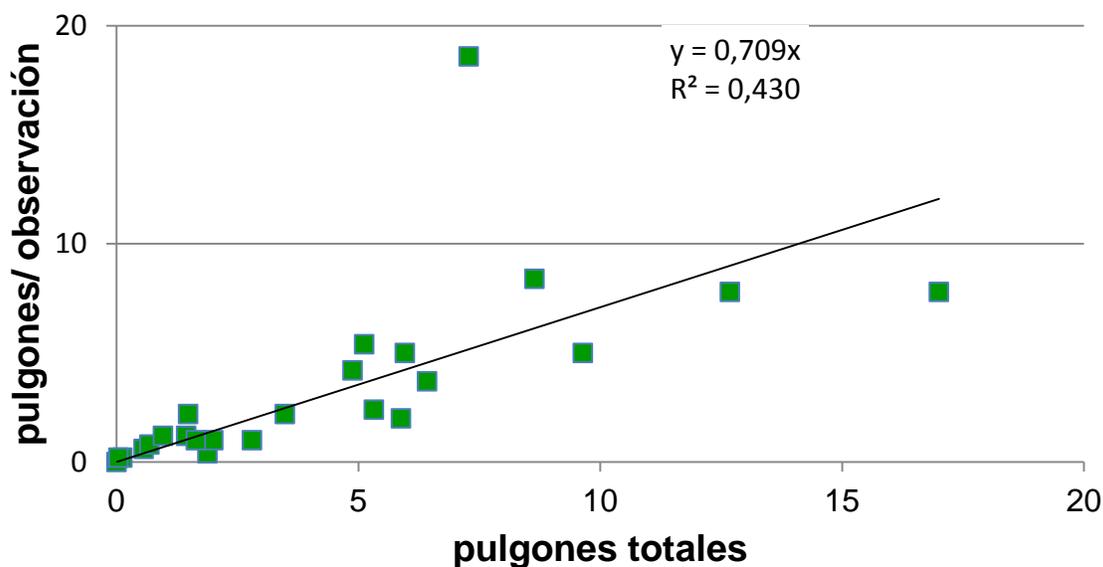


Figura 12. Correlación entre los pulgones totales por lechuga y los pulgones observados en campo en la variedad de lechuga romana.

De la observación de estas gráficas se deduce que todos los sistemas de muestreo empleados coinciden en líneas generales, y salvo excepciones puntuales, en dar los mismos niveles de estimación de la población, aunque con mayor o menor número de individuos. Además, cuando el número total pulgones es bajo, los muestreos se acerca bastante a una línea de tendencia hasta que alcanzan un límite y se comienza a desajustar de la realidad.

Para el muestreo de pulgones que colonizan las plantas Heathcote (1972) dividió las técnicas de muestreo en cinco: observación directa, muestreo cortando la planta, red de barrido, aspirador y tela en el suelo. Determinando que el mejor de los métodos antes descritos es el de observación directa, ya que no se daña a la planta y no se sobrestima o subestima la densidad poblacional.

4.2 Dinámica población de pulgones en lechuga

En el periodo experimental se capturaron, contabilizaron e identificaron 9.485 pulgones en 120 lechugas de la variedad hoja roble roja y 120 de la variedad romana.

La única especie de pulgón que se encontró en la zona estudiada fue *Macrosiphum euphorbiae*, uno de los colonizadores de lechuga en España (Nieto Nafría et al. 1984) y en la Comunidad Valenciana (Michelena et al. 2004), siendo considerada una especie polífaga y cosmopolita.

Se ha representado la evolución estacional de *M. euphorbiae* a partir de las 8 parcelas muestreadas en 2016 en las que se han realizado 7 muestreos. Se comprueba en esta figura que la especie de pulgón presenta una evolución estacional a lo largo del periodo experimental muy distinto según la variedad. Así, la variedad con mayor abundancia es la hoja roble roja, que presenta dos máximos poblacionales, uno en marzo y otro en mayo.

En el caso de la variedad romana la evolución aunque presenta un mínimo el 10 de abril, aparece más estable a lo largo del periodo de seguimiento, con una abundancia alrededor de 30 pulgones/ lechuga.

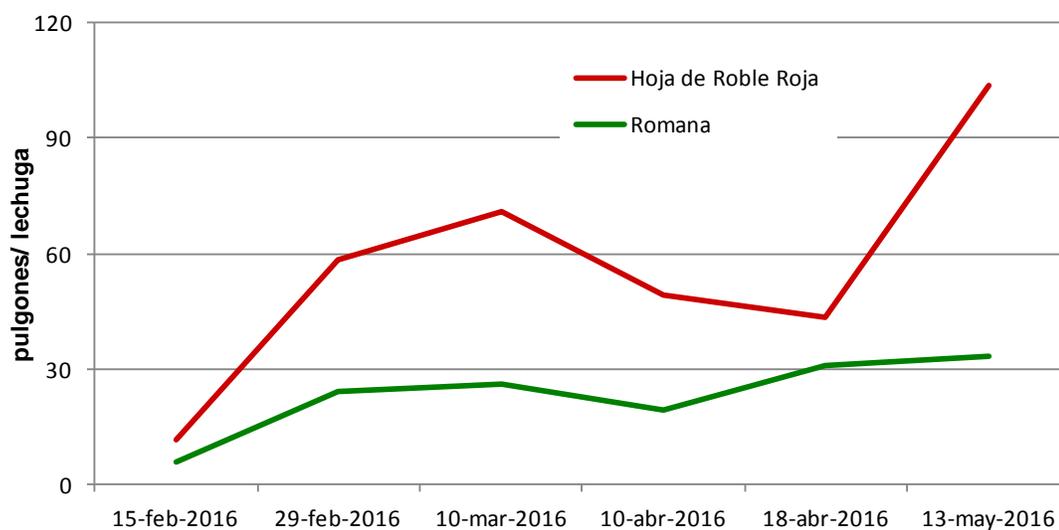


Figura 13. Variación temporal de la abundancia de *Macrosiphum euphorbiae* a lo largo del periodo de seguimiento en la variedades de lechuga hoja de roble roja y romana. Se representa el promedio de pulgones por lechuga.

En la siguiente figura (figura 13) se representa el comportamiento de los pulgones a medida que va aumentando de tamaño, pudiéndose observar como en ambas variedades se produce un crecimiento lineal de la población, obteniéndose el máximo de individuos cuando la planta entra en el periodo de cosecha. En la fase 0, los primeros pulgones que se observaban eran formas aladas, los cuales daban lugar a las colonias de pulgones ápteros. Pascual-Villalobos et al. (2004) en un estudio de *N. ribisnigri* encuentra unos resultados similares.

En la figura 14 cabe destacar como a partir de la fase 3 de ambas variedades se produce una evolución divergente de las poblaciones de *M. euphorbiae*, llegando a ser el número de pulgones por lechuga en la variedad hoja de roble roja dos tercios mayor que en la variedad romana.

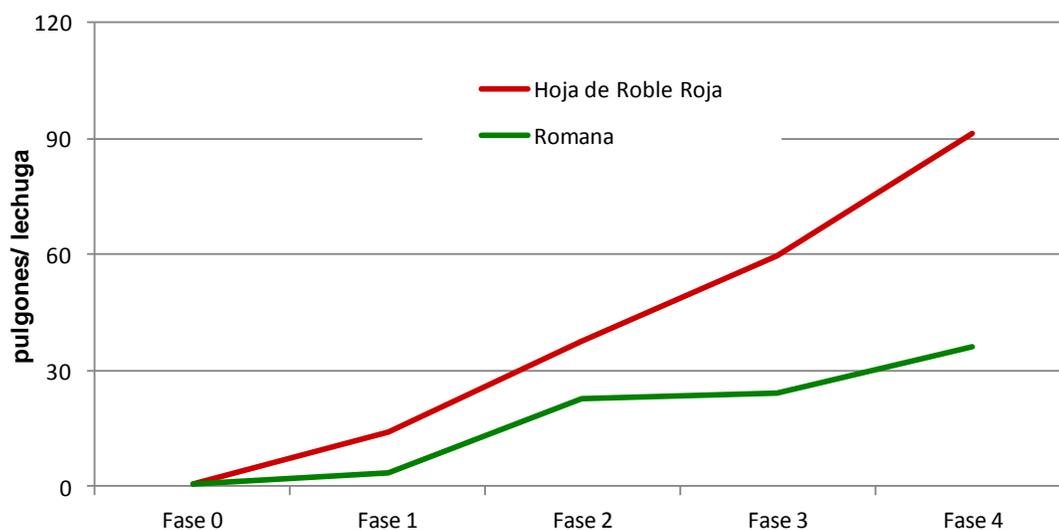


Figura 14. Variación estacional de la abundancia de *Macrosiphum euphorbiae* en las variedades Hoja de Roble Roja y Romana. Se representa el promedio de pulgones en las distintas fases del ciclo del cultivo (fase 0: manta térmica; fase 1: 50% del ciclo; fase 2: 75% del ciclo; fase 3: 100% del ciclo y fase 4: cosecha).

Los pulgones constituyen un serio problema en la producción y al crecimiento de la lechuga debido fundamentalmente a que causan daños directos por su propia alimentación, además, de que pueden actuar como vectores de virosis así como su mera presencia en las hojas disminuye su valor comercial (Reinink y Dieleman 1989).

Al evaluar la actuación de *M. euphorbiae* sobre las diferentes variedades de *L. sativa*, se observa una mayor población sobre la variedad hoja roble que sobre la variedad romana.

La baja población en la variedad romana podría deberse a diferentes mecanismos de defensa que incluyen barreras químicas y físicas.

Dentro de las barreras físicas, diferencias estructurales en el grosor de la epidermis, tanto de la epicutícula como de la endocutícula, pudiendo éstas ser suficiente para no permitir que el pulgón se alimente del floema y de este modo disminuir su crecimiento poblacional sobre el cultivo (Painter 1951; Lage et al. 2004).

Dentro de las barreras químicas, la baja actuación de este pulgón en la variedad romana podría deberse a varios factores o sustancias. En primer lugar, se ha demostrado que en algunas variedades de lechugas resistentes a *N. ribisnigri* poseen **proteínas coagulantes** en el floema que generan la interrupción de la ingestión del mismo (van Helden y Tjallingii 1993; Tjallingii 2006). Pudiendo estas proteínas ocasionar efectos parecidos en el pulgón *M. euphorbiae*. Por otro lado, existen estudios que sugieren que la biosíntesis o la presencia de **metabolitos secundarios** como los ácidos fenólicos pueden tener un rol en la resistencia de las variedades (Hillis y Inoue 1968; Todd et al. 1971). Además, se ha verificado que la presencia de grandes concentraciones de **ácido isoclorogénico** en las hojas de lechuga (Sharples 1964) puede producir un efecto adverso sobre ciertos pulgones (Cole 1984).

4.3 Control biológico por incremento en calabacín al aire libre bajo microtúnel en los primeros periodos de crecimiento

Se han identificado tanto los insectos capturados en las muestras vegetales como los obtenidos en los evolucionarios. Los pulgones determinados pertenecen a las especies *Aphis gossypii* y *Myzus persicae*. Ambas son muy polífagas y cosmopolitas así como dos de las principales colonizadores de las cucurbitáceas, entre las que destaca el calabacín, en España (Nieto Nafria et al. 1984) y en la Comunidad Valenciana (Michelena et al. 2004). En cuanto a los parasitoides identificados pertenecen al orden de los himenópteros y a la familia de los braconidos.

Entre los parasitoides identificados en las muestras puestas en los evolucionarios, cabe destacar que todos los individuos pertenecen a la especie *L. testaceipes*. Este resultado nos lleva a pensar que *A. colemani* no ha sido capaz de ocupar el nicho ecológico de *L. testaceipes*.

También se debe destacar la presencia de depredadores en las plantas de calabacín que pueden complementar la acción de los parasitoides. Los depredadores de pulgones capturados pertenecen a la familia de los coccinélidos (*C. septempunctata* y *P. quatuordecimpunctata*), de los cecidómidos y además de otros depredadores generalistas del género *Chrysoperla*.

En la siguiente gráfica se representa la evolución del % de hoja ocupada por pulgones y de momias, donde se puede observar que tanto en el tratamiento donde se realizó la suelta con *A. colemani* como en el testigo se produce un aumento de la población de áfidos. Ambas gráficas siguen el mismo patrón, existiendo un número de pulgones ligeramente superior en las filas donde se liberó al parasitoide (Gráfica 15).

También hay que destacar que desde el 18 de abril que se iniciaron los muestreos hasta el 2 de mayo no se observó presencia de pulgones parasitados, hecho que hacia intuir que la suelta con *A. colemani* no había sido efectiva.

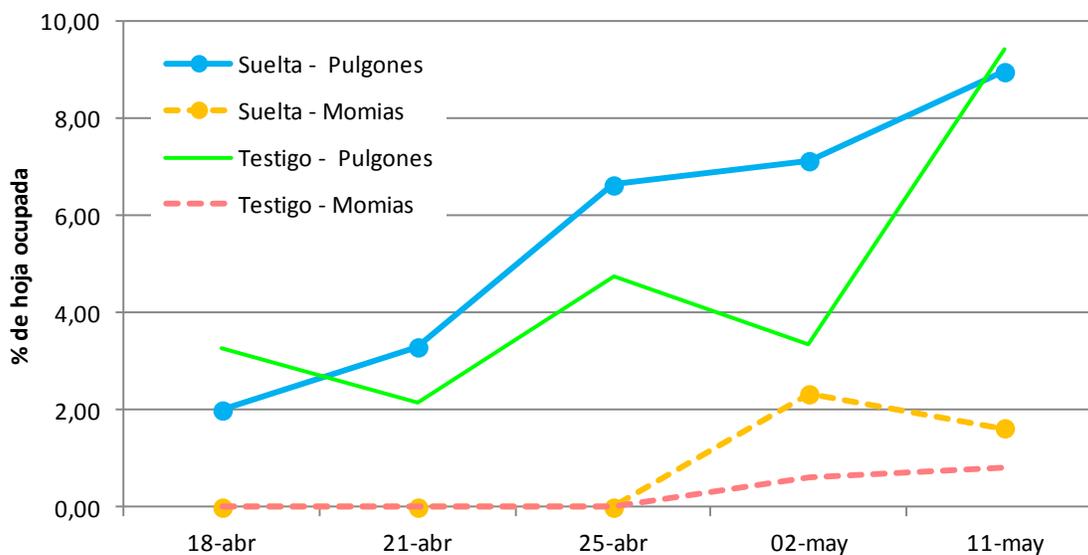


Figura 15. Evolución del % de hoja ocupada por pulgones (líneas continuas) y momias (líneas discontinuas) en las filas de tratamiento donde se realizó la suelta de *Aphidius colemani* (líneas con marcador) y el testigo (líneas sin marcador).

Una de las hipótesis que se barajan sobre la no aparición de *A. colemani* en las muestras recogidas de los evolucionarios, es que el parásito autóctono *L. testaceipes* no le permitió establecerse, como indica Laborda et al. (2011) en su estudio, y por otro lado que cuando se realizó la suelta preventiva el nivel de pulgones era tan bajo que al parasitoide *A. colemani* no le dio tiempo a instalarse. Por otro lado, también se cree que al realizar la suelta en microtúnel y retirarlo a la semana, los individuos se podrían haber dispersado en busca de presas a otros cultivos colindantes.

4.4 Interacción trófica planta, pulgones y fauna auxiliar

En la tabla 2 se relacionan las plantas muestreadas y las especies de pulgones encontradas en ellas durante el periodo de estudio. Además, en la mayoría de las plantas se han encontrado los parasitoides asociados a los afídidos presentes en ellas.

Tabla 2. Matriz de interacciones planta-áfido-parasitoide en distintos cultivos ecológicos registradas en el agroecosistema de la finca Sa I Fresc en Alcàsser (Valencia).

Abreviaciones: A= *Aphidius spp*; Ae= *Aphidius ervi*; Aa= *Aphelinus abdominalis*; Dr= *Diaeretiella rapae*; Lt= *Lysiphlebus testaceipes*.

Familia	Cultivo	Especies de pulgones	Parasitoides				
			A	Ae	Aa	Dr	Lt
Amaranthaceae	Acelga	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>					
	Espinaca	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>					
	Remolacha	<i>Aphis fabae</i>					
Asteraceae	Alcachofa	<i>Brachycaudus cardui</i>					
	Lechuga	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>		X			
Brassicaceae	Brócoli	<i>Brevicoryne brassicae</i>				X	
	Col lombarda	<i>Brevicoryne brassicae</i>				X	
	Coliflor	<i>Brevicoryne brassicae</i>				X	
	Colinabo	<i>Brevicoryne brassicae</i> <i>Myzus persicae</i>				X	X
Cucurbitaceae	Calabacín	<i>Aphis gossypii</i>					X
		<i>Myzus persicae</i>					X
	Pepino	<i>Aphis gossypii</i>					X
	Sandia	<i>Aphis gossypii</i>					X
Fabaceae	Judía	<i>Aphis fabae</i>					
		<i>Aphis gossypii</i>					
Solanaceae	Berenjena	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>		X			
		<i>Myzus persicae</i>					X
	Pimiento	<i>Aphis gossypii</i>					X
		<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	X				
		<i>Myzus persicae</i>					X
	Tomate	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>		X	X		

En el conjunto de plantas hospedantes evaluadas se hallaron 6 especies de pulgones. *Brachycaudus cardui* fue la única especie que se presentó asociada a un único cultivo: la alcachofa. Esto puede ser debido a que es la única especie cultivada de toda la finca que tiene un ciclo más largo, 2 años, dando tiempo a que el pulgón se pueda establecer sobre las plantas.

Algo similar ocurre con la especie *Brevicoryne brassicae*, que es una especie que vive sobre crucíferas y puede colonizar todas las plantas cultivadas pertenecientes a esta familia botánica (Nieto Nafría et al. 1984; Seco 1990), de forma que se presentó en las siguientes plantas hospedadoras: brócoli, col lombarda, coliflor y colinabo. El hecho de que estos 4 cultivos se mantienen a lo largo del año en la explotación siguiendo la rotación de cultivo establecida, permite que esta especie específica de las crucíferas, se pueda establecer y mantener a lo largo del tiempo. El parasitoide encontrado sobre esta especie fue *Diaeretiella rapae* Stary, que es una especie oligófaga y la literatura señala a *B. brassicae* como la especie huésped preferida por este parasitoide (Berta et al. 2002; Michelena et al. 2004).

Aphis fabae, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* y *Myzus persicae* fueron registrados sobre diversas familias de plantas hospedantes. Cabe destacar la importancia de que 4 de las 6 especies de pulgones halladas en las parcelas experimentales sean consideradas polífagas (Blackman y Eastop 2006). Este hecho nos indica que debido al tipo de manejo agroecológico que se lleva a cabo en la explotación, basado en rotaciones de cultivo con ciclos de producción cortos en parcelas de dimensiones más pequeñas que en agricultura convencional, no permite el establecimiento de las especies de pulgones específicas de los cultivos, pero sí la proliferación de especies polífagas que sí se pueden mantener en el tiempo debido a que se pueden alimentar de distintos cultivos.

M. euphorbiae resultó ser el afídido que habitualmente ataca a los cultivos de acelga, berenjena, espinacas, lechuga, pimiento y tomate, pudiendo observarse su gran predilección por las plantas de la familia de las solanáceas (Salvador Sola 2015). También presentó el complejo de parasitoides más diverso siendo el más frecuente *Aphidius ervi* y confirmando la relación de éste parasitoide con los pulgones “grandes”. Esta interacción afídido-parasitoide ya se ha registrado en la provincia de Valencia (Suay Cano y Michelena 1998) y Alicante (González y Michelena 1987) además de en otros países como en Argentina (Berta et al. 2002; Zumoffen et al. 2015). También es conocida la asociación de *Aphelinus abdominalis* Dalman con *M. euphorbiae* en cultivos como el pimiento, tomate,

berenjena (Duarte et al. 2012), pero en nuestro caso solo se ha encontrado asociado al cultivo del tomate. *A. abdominis* es uno de los parasitoides empleados en el control biológico por incremento en los invernaderos debido a que su pequeño tamaño le permite parasitar estadíos ninfales, siendo capaz de alimentarse de los pulgones y, además, repartir puestas a lo largo de su extensa longevidad como adulto (Salvador Sola 2015).

A. gossypii fue el segundo pulgón en importancia, estando asociado principalmente a la familia de las cucurbitáceas como el calabacín, pepino y la sandía (Tizado et al. 1992; Nieto Nafría 2005). También se observó su presencia en plantas de pimiento (Nieto Nafría et al. 1984) y judía (Álvarez-Álvarez et al. 2004). En todos los cultivos donde se ha encontrado esta especie, se ha hallado el parasitoide *L. testaceipes*, lo que demuestra la preferencia de esta especie hacia los pulgones del género *Aphis* (Suay Cano y Michelena 1997; Pons et al. 2004). Algunas de estas asociaciones de cultivo-afídido-parasitoide se han demostrado en países como Cuba (Ceballos et al. 2009).

M. persicae ha sido identificado en 4 de los cultivos muestreados: berenjena, calabacín, colinabo y pimiento. Esta especie de pulgón ya se ha registrado en cultivos de berenjena en la provincia de Castellón (Meliá 1980) y de Málaga en invernadero (Meliá 1986). En España no se ha encontrado ninguna cita bibliográfica que confirme la asociación de éste afídido con el calabacín, pero sí en otros países como Perú (Delfino 2005). No se ha encontrado tampoco en la literatura la interacción entre *M. persicae* y el colinabo, pero sí que se relaciona con cultivos de la familia a la que pertenece, las crucíferas (Nieto Nafría et al. 1984; Ricci y Kahan 2005). En pimiento *M. persicae* es una de las especies de pulgón clave, no tanto por los daños directos que provoca como por ser un gran vector de virus (Valério et al. 2007). En todos los cultivos que se observó la presencia de *M. persicae* se encontraron momias. En el caso del colinabo se capturaron parasitoides de la especie *D. rapae*, confirmando la relación de este braconido con *M. persicae* como se ha descrito en la literatura (González y Michelena 1987; Michelena et al. 2004). En los otros cultivos se encontraron pulgones parasitados por *L. testaceipes*, asociación que se ha justificado en España en la provincia de Alicante (González y Michelena 1987) y Valencia (Suay Cano y Michelena 1997), además de otros países como Argentina (Ceballos et al. 2009; Zumoffen et al. 2015).

A. fabae fue de las especies polífagas menos abundante en los diferentes cultivos de las parcelas, observando su presencia en judía y remolacha. Este afídido ya se había asociado a éstos cultivos en España (Nieto Nafría et al. 1984) y en la provincia de Castellón

(Meliá 1980). *A. fabae* es una de las especies de pulgones que presenta una mayor problemática en el cultivo de la judía y en estudios realizados en campos de dicha especie, en Asturias fue el afidido más capturado (Álvarez-Álvarez et al. 2004). En remolacha queda clara su importancia en el estudio de la afidofauna alada característica de este cultivo en Salamanca, al ser la especie con mayor número de individuos recolectados (Dueñas y Ovilo 1990). En cuanto a los parasitoides no se encontró ningún pulgón momificado por lo que no se pudo establecer ninguna asociación trófica.

Un factor negativo en la acción de los afidíinos es la actividad sobre ellos de otros grupos de himenópteros como son los hiperparásitos. Los hiperparásitos que han emergido de los evolucionarios pertenecen a la familia *Cynipidae*, *Eulphidae*, *Encyrtidae* y *Pteromalidae* (Tabla 3).

Tabla 3. Asociaciones planta-pulgón-parasitoide-hiperparásitos en cultivos hortícolas.

Cultivo	Pulgón	Especie Parasitoide	Familia/ Género Hiperparásito
Calabacín	<i>Myzus persicae</i>	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	<i>Cynipidae</i>
Pimiento	<i>Myzus persicae</i>	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	<i>Pteromalidae</i> / <i>Pachyneuron aphidis</i>
Sandía	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	<i>Eulophidae</i> / <i>Pteromalidae</i> / <i>Pachyneuron aphidis</i>
Tomate	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	<i>Aphidius ervi</i>	<i>Encyrtidae</i>

Pachyneuron aphidis Bouché es un hiperparastioide de pulgones a través de afidíinos, fundamentalmente sobre *Aphidius*, *Diaretiella*, *Lysiphlebus*, *Praon* y *Trioxys* (Suay Cano et al. 1998). En nuestro caso solo lo hemos encontrado asociado al parasitoide *L. testaceipes* actuando como parasitoide primario sobre *M. persicae* en pimiento y sobre *A. gossypii* en sandía.

En la tabla 4 se muestran los depredadores asociados a pulgones capturados con el aspirador. La familia más representada es la de los coccinélidos, seguido por el orden diptera, donde encontramos insectos con hábitos depredadores que pertenecen a la

familia de los sírfidos y los cecidómidos. Por último, se muestran los depredadores generalistas pertenecientes a la familia de los crisópidos (Urbaneja et al. 2005).

Tabla 4. Matriz de interacciones depredador-pulgon registradas en el agroecosistema de la finca Sa I Fresc en Alcàsser (Valencia). Abreviaciones: Af= *Aphis fabae*; Ag= *Aphis gossypii*; Bb= *Brevicoryne brassicae*; Bc= *Brachycaudus cardui*; Me= *Macrosiphum euphorbiae*; Mp= *Myzus persicae*.

Orden	Familia	Género/ especie depredador	Pulgones					
			Af	Ag	Bb	Bc	Me	Mp
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Adalia bipunctata</i>	X		X			X
		<i>Coccinella septempunctata</i>		X				X
		<i>Propylea quatuordecimpunctata</i>	X	X	X	X	X	X
		<i>Scymnus interruptus</i>		X			X	X
Diptera	Syrphidae	<i>Eupeodes corollae</i>					X	
	Cecidomyiidae	<i>Aphidoletes spp</i>		X			X	X
Neuroptera	Chrysopidae	<i>Chrysoperla spp</i>		X			X	X

Es importante remarcar la acción por parte de la mayor parte de los depredadores en el control de las poblaciones de las especies *A. gossypii*, *M. euphorbiae* y *M. persicae*.

Dentro de la familia de coccinellidae se destaca la especie *P. quatuordecimpunctata* que se ha hallado sobre todas las especies de pulgones estudiadas en las diferentes parcelas experimentales. Además, los resultados reflejan algunas asociaciones entre coccinélidos y afídidos establecidas en los cultivos de la provincia de León estudiadas por Núñez Pérez et al. (1992), como es el caso de *A. bipunctata* con *M. persicae* y *C. septempunctata* con *A. fabae*, *B. cardui* y *M. persicae*.

Los cecidómidos estaban presentes sobre todo en los cultivos de la familia de las cucurbitáceas, alimentándose de las dos especies de pulgones encontradas sobre ellas.

Por último, *E. corollae* solo se encontró en el cultivo de lechuga alimentándose de *M. euphorbiae*.

4.5 Identificación de hongos asociados a afídeos

En el periodo de muestreo realizado a partir de mayo sobre cultivos hortícolas en la finca de Sa I Fresc en la localidad de Alcàsser, se determinó la presencia de hongos saprofitos asociados a pulgones pertenecientes a los siguientes géneros: *Alternaria* Nees, *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Chaetomium* Kuzne, *Cladosporium* Link, *Fusarium* Link y *Thielavia* Zopf (Figura 16).

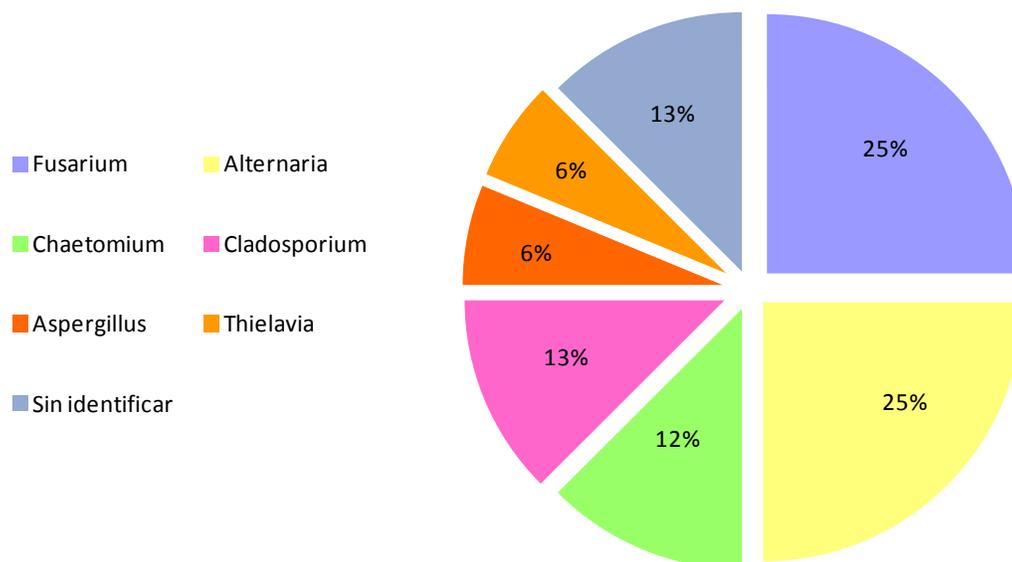


Figura 16. Incidencia de hongos saprofitos en *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* y *Myzus persicae* en cultivos de berenjena, calabacín, pepino, pimiento, sandía y tomate en Alcàsser.

Los géneros de los cuales se obtuvieron más aislados fueron los de *Alternaria* y *Fusarium*, representando cada uno el 25% del total de hongos identificados. Hay que destacar que el 13% de los aislados no se pudo identificar debido a que los hongos no llegaron a formar esporas.

No se registró la presencia de hongos entomopatógenos pertenecientes al orden Entomophthorales (Clase Zygomycetes) a pesar de encontrar una gran cantidad de pulgones con síntomas de falta de apetito, movilidad lenta, recubiertos por micelio, cuerpos endurecidos, quebradizo y momificados, típicos de las infecciones producidas por los mismos.

5 CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo, se han llegado las siguientes conclusiones:

1. En muestreos realizados en cultivos de lechuga el método que mejor ofreció una estimación del número de pulgones por planta fue el de aspiración.
2. La única especie de pulgón que se identificó en las dos variedades de lechuga estudiadas, hoja roja de roble y romana, fue *Macrosiphum euphorbiae*.
3. La variedad de lechuga con mayor abundancia de pulgones a lo largo de todo el periodo experimental fue la hoja roble roja, con dos máximos poblacionales, uno en marzo y otro en mayo. En el caso de la variedad romana se mantiene estable durante el tiempo de seguimiento.
4. En ambas variedades de lechuga se produce un crecimiento lineal de la población de pulgones a medida que estas van aumentando su tamaño, llegando a alcanzarse el máximo de individuos cuando la planta entra en la fase de cosecha.
5. En la fase inicial de crecimiento de las lechugas los primeros individuos que se encontraban eran formas aladas que daban lugar a las colonias ápteras.
6. En el ensayo de la liberación del parasitoide *Aphidius colemani* en el cultivo de calabacín bajo microtúnel para el control de las especies de pulgón *Aphis gossypii* y *Myzus persicae*, no se han recuperado individuos de *Aphidius colemani*. Sin embargo, se han recogido ejemplares de *Lysiphlebus testaceipes* que está presente de forma natural.
7. En los 16 cultivos estudiados pertenecientes a 6 familias botánicas, se han identificado 6 especies de pulgones: *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Brachycaudus cardui*, *Brevicoryne brassicae*, *Macrosiphum euphorbiae* y *Myzus persicae*.
8. De las especies de pulgones recolectadas solamente existe dos monófagas: *Brachycaudus cardui* y *Brevicoryne brassicae*. Esto puede ser debido al manejo agroecológico que se lleva a cabo en la finca, que no permite el establecimiento de las especies de áfididos específicas.

9. Destaca la especie *Macrosiphum euphorbiae* que se ha encontrado en 6 cultivos diferentes: acelga, berenjena, espinacas, lechuga, pimiento y tomate, destacando su preferencia por la familia solanácea.
10. Se identificaron 3 especies de afidíinos (*Aphidius ervi*, *Diaeretiella rapae* y *Lysiphlebus testaceipes*) y 1 especie de afelínido (*Aphelinus abdominalis*) parasitando de forma natural a pulgones asociados a los diferentes cultivos de la finca.
11. La especie de parasitoide puede variar dependiendo de la especie vegetal sobre la que se encuentra el afidido. En el caso de *Myzus persicae* se relacionó con los parasitoides *Diaeretiella rapae* en colinabo y con *Lysiphlebus testaceipes* en berenjena, calabacín y pimiento. *Macrosiphum euphorbiae* en su caso fue parasitado por *Aphidius ervi* en berenjena, lechuga y tomate, por *Aphelinus abdominalis* en tomate y en pimiento por parasitoides del género *Aphidius*.
12. Fueron identificados himenópteros pertenecientes a las familias Cynipidae, Eulophidae, Encyrtidae y Pteromalidae. Algunas de estas familias son conocidas por incluir especies hiperparásitas con el consiguiente efecto negativo sobre el control biológico.
13. Los únicos ejemplares de hiperparásitos que se pudieron identificar hasta nivel de especie fueron *Pachyneuron aphidis* encontrándolos asociados al parasitoide *Lysiphlebus testaceipes* y que a su vez parasitaba a *Myzus. persicae* en pimiento y sobre *Aphis gossypii* en sandía.
14. Se capturaron depredadores asociados a pulgones pertenecientes a las siguientes familias: Coccinellidae, Syrphidae, Cecidomyiidae y Chrysopidae. Entre los coccinélidos se han identificado las siguientes especies: *Adalia bipunctata*, *Coccinella septempunctata*, *Propylea quatuordecimpunctata* y *Scymnus interruptus*. Los ejemplares de sírfidos capturados pertenecen a la especie *Eupeodes corollae*. Los cecidómidos y crisópidos que se encontraron corresponden a los siguientes géneros: *Aphidoletes* y *Chrysoperla*, respectivamente.
15. De la familia Coccinellidae es destacable la especie *Propylea quatuordecimpunctata* que se ha hallado sobre todas las especies de pulgones estudiadas en las diferentes parcelas experimentales.

16. Los hongos que se han encontrado sobre los pulgones pertenecen a los siguientes géneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Thielavia*. No se registró la presencia de hongos entomopatógenos pertenecientes al orden Entomophthorales.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Altieri, M. A. 1999.** Manejo Integrado de Plagas. En: Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. Ed. Clades.199-209 p.
- Álvarez-Álvarez, A., I. Feito y M. V. Seco-Fernández. 2004.** Dinámica de vuelo de los áfidos (Homoptera: Aphididae) plaga de la judía de Asturias (*Phaseolus vulgaris* L.) y su relación con las condiciones ambientales. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 30: 533-446
- Anento, J. L., y J. Selfa. 1997.** Himenópteros Parasitica y control de plagas.Boletín de la Sociedad de Entomología Aplicada, 20: 151-160
- Aparicio, V., M. D. Rodríguez, V. Gómez, E. Sáez, J. E. Belda, E. Casado y J. Lastres. 1995.** Plagas y enfermedades de los principales cultivos hortícolas de la provincia de Almería: Control racional. Comunicación I+D Agroalimentaria 11/95 (Junta de Andalucía).17-94 p.
- Barberá, C., A. Jacas, J. Ràfols y J. Saus. 2000.** Enemics naturals de plagues en diferents cultius a Catalunya. Dossiers agraris. Institució Catalana d'Estudis Agraris (ICEA). Barcelona. 83-99 p.
- Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1998.** Illustrated genera of imperfect fungi. 4th ed. St. Paul, Minn. The American Phytopathological Society. 198-211 p.
- Berta, D. C., M. V. Colomo y N. E. Ovruski. 2002.** Interrelations between aphid colonies in tomato and their parasitoid Hymenoptera in Tucuman (Argentina). Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 28: 67-77.
- Blackman, R. L. y V. F. Eastop. 2000.** Aphids on the world's crops: an identification and information guide.2nd edn. Wiley and Sons, Chichester, UK. 476 p.
- Blackman, R. L. y V. F. Eastop. 2006.** Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs. An Identification and Information Guide. Host List and Keys. London. J. Wiley y Sons, Chichester, UK. Vol. 1 y 2: 1460 p.
- Bru Martínez, P. F. y F. Garcia-Marí. 2006.** Insectos depredadores en los cultivos cítricos valencianos, abundancia, evolución estacional y distribución espacial. Trabajo de Fin de Carrera. Departamento Ecosistemas Forestales. Universidad Politécnica de Valencia.
- Burks, R.A. 2003.** Key to the nearctic genera of Eulophidae, subfamilies Entedoninae, Euderinae, and Eulophinae (Hymenoptera Chalcidoidea). University of California, Riverside. [En línea]. [Fecha de consulta: 10/7/16]. Disponible en: <http://cache.ucr.edu/~heraty/Eulophidae/index.html>.
- Ceballos, M., M. Martínez, L. Duarte, H. Baños y A. Sánchez. 2009.** Asociación áfidos-parasitoides en cultivos hortícolas. Revista Protección Vegetal, 24 (3): 180-183 p.
- Cole, R. A. 1984.** Phenolic acids associated with the resistance of lettuce cultivars to the lettuce root aphid. Annals of Applied Biology, 105: 129-145.
- Comisión del Codex Alimentarius. 2001.** Directrices para la producción, elaboración, etiquetado y

- comercialización de alimentos producidos orgánicamente. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Roma.
- Contreras, J. y A. Lacasa. 1993.** Comportamiento de *Frankliniella occidentalis* en la transmisión del virus del bronceado del tomate: planteamientos para su control en cultivos hortícolas. *Phytoma* (50). 4º sym.inter. sobre las virosis en los cultivos hortícolas mediterráneos.
- Coscollá, R. 2004.** Introducción a la Protección Integrada. *Phytoma-España*. 356 p.
- Davis, R. M., K. V. Subbarao, N. R. Richard y E. A. Kutz. 2002.** Plagas y enfermedades de la lechuga. The American Phytopathological Society. Ediciones Multi-Prensa. Madrid, España. 79 p.
- DeBach, P. y D. Rosen. 1991.** Biological control by natural enemies. 2nd edn. Cambridge University Press, 440 p.
- Delfino, M. A. 2005.** Inventario de las asociaciones áfido-planta en el Perú. Checklist of aphid-plant associations in Perú. *Ecología Aplicada*, 4 (1-2): 143-148.
- Díaz, B. M., C. C. L. Lastra, M. Oggerin, A. Fereres y V. Rubio. 2008.** Identificación de hongos entomopatógenos asociados a pulgones en cultivos hortícolas en la zona centro de la península ibérica. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 34: 287–296.
- Dixon, A. F. G. 1998.** Aphid ecology an optimization approach. Springer; 2nd edn. 300 p.
- Douglas, A. E. y H. F. van Emden. 2007.** Nutrition and symbiosis. In: *Aphids as crop pests*. Cambridge, United Kingdom. CABI Publishing. Cap. 5: 115-135.
- Drinkwater, L. E., A. H. Van Bruggen, C. Shennan, D. K. Letourneau y F. Workneh. 1995.** Fundamental differences between conventional and organic tomato agroecosystems in California. *Ecological Applications*, 5: 1098-1112.
- Duarte, M. Ceballos y Ma. de los Á. Martínez. 2012.** *Aphelinus abdominalis* Dalman (Hymenoptera: Aphelinidae): Parámetros biológicos, hospedantes y cultivos asociados. *Revista de Protección Vegetal*, 27 (3): 147–150.
- Dueñas, E. y I. Ovílo. 1990.** Trampeo de áfidos en el cultivo de la remolacha. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 16: 71–79.
- FAO. 2012.** Base de datos FAOSTAT. [En línea]. [Fecha de consulta: 3/7/16]. Disponible en: <http://faostat.fao.org/>.
- FEPEX. 2012.** Base de datos FEPEX. [En línea]. [Fecha de consulta: 3/7/16]. Disponible en: <http://www.fepex.es/datos-del-sector/exportacion-importacion-esp%C3%B1ola-frutas-hortalizas>.
- Fereres, A., G. E. Kampmeier y M. E. Irwin. 1999.** Aphid attraction and preference for soybean and pepper plants infected with potyviridae. *Annals of the Entomological Society of America*, 92 (4): 542–548.
- Fisher, T. W., T. S. Bellows, L. E. Caltagirone, D. L. Dahlsten, C. B. Huffaker y G. Gordh. 1999.** Handbook of biological control: principles and applications of biological control. Elsevier

- Science. Academic Press, 1031 p.
- Flint, M. L., S. H. Dreistadt y J. K. Clark. 1998.** Natural enemies handbook: the illustrated guide to biological pest control. Calif. Press, 160 p.
- García-Marí, F. y F. Ferragut. 2002.** Las plagas agrícolas. 3ª edición. Phytoma-España, 400 p.
- Gibson, G. A. P. 2001.** The Australian species of *Pachyneuron* Walker (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 10(1): 29-54.
- González, P. y J. M. Michelena. 1987.** Relaciones parastoide-pulgón (Hym. Aphidiidae; Hom. Aphididae). En la provincia de Alicante Boletín de la Asociación Española de Entomología, 11: 249-258.
- Guadalupe, R. 2014.** Hongos entomofitales patógenos de pulgones plaga de cultivos de cereales y hortícolas de la Región Pampeana de la Argentina. Estudios comparativos de la diversidad y prevalencia. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo
- Guerrieri, E. y J. S. Noyes. 2000.** Revision of European species of genus *Metaphycus mercet* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Encyrtidae), parasitoids of scale insects. *Systematic Entomology*, 25: 147-222.
- Hajek, A. E. 2004.** Natural enemies. An introduction to biological control. Cambridge University Press, 378 p.
- Heathcote, G. D. 1972.** Evaluating aphid populations on plants. In H. F. van Emden (Ed). *Aphid technology*. London Academic Press, 105-145.
- Heinz, K. M., R. Van Driesche y M. P. Parrella. 2004.** Biocontrol in protected culture. Chicago Review Press, 560 p.
- Hernandez-García, M., M. C. Acosta y A. Carnero. 1999.** Eficacia de la utilización de microtúnel de malla frente a la aplicación de los insecticidas abamectina y ciromazina en el control del minador *Liriomyza trifolii* (Burgess, 1880) (Diptera: Agromyzidae). En cultivo de lechuga. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 25: 165-174.
- Hesler, L. S., A. A. Grigarick, M. J. Orazo y A. T. Palrang. 1993.** Arthropod fauna of conventional and organic rice fields in California. *Journal of Economic Entomology*, 86 (1): 149-158.
- Hillis, W.E. y T. Inoue. 1968.** The formation of polyphenols in trees-IV. The polyphenols formed in *Pinus radiata* after *Sirex* attack. *Phytochemistry*, 7: 13-22 p.
- Irwin, M. E. 1980.** Sampling aphids in soybean fields. *Sampling methods in soybean entomology*. M. Kogan and D. C. Herzog, Springer-Verlag New York Heidelberg Berlin. Chapter. 11: 239-259 p.
- Jacas, J., P. Caballero y J. Avilla. 2005.** El control biológico de plagas y enfermedades la sostenibilidad de la agricultura mediterránea. Publicacions de la Universitat Jaume I. 209 p.
- Jordá, C. 1991.** Virosis de las plantas hortícolas. *Phytoma-España*, 30(6-7): 16-24.
- Keller, S. 2006.** Entomofitales attacking aphids with a description of two new species. *Sydowia*, 58(1): 38-74.

- Koul, O. y G. S. Dhaliwal. 2003.** Predators and parasitoids. Vol. 3. CRC Press. 208 p.
- Kring, J. B. 1972.** Flight behaviour of aphids. *Annual Review of Entomology*, 17(1): 461-492.
- Laborda, R., A. Sánchez, O. Martínez y P. Xamaní. 2011.** Fauna auxiliar asociada a pulgones en el arbolado urbano del municipio de Jerez de la Frontera (Cádiz). [En línea]. [Fecha de consulta: 10/6/16]. Disponible en: <http://jerezmasnatural.es/jerezmasnatural/jerezmasnatural/wp-content/uploads/upv11.pdf>
- Lage, J., B. Skovmand y S.B. Andersen. 2004.** Resistance categories of synthetic hexaploid wheats resistant to the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*). *Euphytica*, 136(3): 291-296.
- Landis, D. A., S. D. Wratten y G. M. Gurr. 2000.** Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, 45: 175-201.
- Lara, F. M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. 2nd edn, São Paulo, Ícone, 336p.
- Lomeli-Flores, J. R., H. C. Arredondo y L. A. Rodríguez. 2008.** Pulgón del melón y algodón, *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae), pp. 137-153. En: *Casos de Control Biológico en México*. Arredondo-Bernal, H. C. y L. A. Rodríguez del-Bosque (eds.). Ed. Mundiprensa, México-España. 423 p
- Maroto, J. V., A. M. Gómez y C. B. Soria. 2000.** La lechuga y la escarola. Cuadernos de Agricultura Nº 6. Ed. Mundi Prensa. 242 p.
- Meliá, A. 1980.** Investigación del suborden aphinidea en la provincia de Castellón sobre plantas de interés agrícola. Madrid: Ministerio de Agricultura, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. 184 p.
- Meliá, A. 1986.** Contribución al conocimiento de los pulgones (Homoptera, Aphidoidea) sobre plantas agrícolas y forestales en España. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 12: 335-342.
- Michelena, J. M. y P. González. 1987.** Contribución al conocimiento de la familia Aphidiinae (Hymenoptera) En España. I *Aphidius nees*. *Eos*, 63: 115-131.
- Michelena, J. M., P. González, E. Soler y P. E. G. Soler. 2004.** Parasitoides afidíinos (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) de pulgones de cultivos agrícolas en La Comunidad Valenciana. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 30: 317-326.
- MMARM – Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2012.** Superficies y producciones agrícolas. [En línea]. [Fecha de consulta: 3/7/16]. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2014/default.aspx>
- MMARM – Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 2014.** Estadísticas 2014 Agricultura Ecológica. España.
- Moericke, V. 2009.** Über die lebensgewohnheiten der geflügelten blattläuse (aphidina) unter besonderer berücksichtigung des verhaltens beim landen. *Zeitschrift Für Angewandte Entomologie*, 37 (1): 29-91.

- Morales, I. y Fereres, A. 2008.** Umbral de temperatura para el inicio del vuelo de los pulgones de la lechuga, *Nasonovia ribisnigri* y *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera:Aphididae). Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 34: 275-285.
- Morris, R F. 1960.** Sampling Insect populations. Annual Review of Entomology, 5 (1): 243–264.
- Nieto Nafría, J. M., T. E. Díaz y M. P. Mier. 1984.** Catalogo de los pulgones (Homoptera, Aphidoidea) de España y sus plantas hospedadoras. Universidad de León. 174 p.
- Nieto Nafría, J. M., y M. P. Mier Durante. 1998.** Hemiptera, Aphididae I. En: Fauna Ibérica, vol. 11. Ramos, M.A. et al. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. 424 p.
- Nieto Nafría, J. M., M.P. Mier Durante, N. P. Hidalgo y F. G. Prieto 2005.** Hemiptera, Aphididae III. En: Fauna Ibérica. Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. Vol. 28: 362 p.
- Nieto Nafría, J. M. y M. V. Seco. 1990.** Pulgones y su captura mediante trampas: la red euraphid. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 16: 593–603.
- Núñez Pérez, E, E. J. T. Morales y J. M. Nieto Nafría. 1992.** Coccinélidos (Col.: Coccinellidae) depredadores de pulgones (Horn. Aphididae) sobre plantas cultivadas de León. Boletín de Sanidad Vegetal- Plagas, 18: 765–775.
- Painter, R. H. 1951.** Insect resistance in crop plants. New York, USA, The McMillan Co. New York. 151 p.
- Pascual-Villalobos, M. J., J. A. Sanchez, T. Kabaluk, A. Lacasa, A. Gonzalez, P. Varo y A. Gonzalez Insti-. 2004.** Distribución espacial del pulgón *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Hemiptera: Aphididae) En un cultivo intercalado de lechuga ecológica. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas,30: 615–621.
- Peña, M., Y. Limonta, A. Quiñones y T.M.L.D.A. Álvarez. 2007.** Desarrollo de un método de cría masiva de *Lysiphlebus* spp., como control biológico de afídidos. Fitosanidad, 11(2):120-121.
- Pons, X., B. Lumbierres y P. Starý. 2004.** Plagas de los espacios verdes urbanos: bases para su control integrado. Boletín Sanidad Vegetal de Plagas, 32: 373-384.
- Rabasse, J. M. y M. J. Van Steenis. 1999.** Biological control of aphids. In R. Albajes, M. Lodovica Gullino, J. C. Van Lenteren and Y. Elad (eds), Integrated pest and disease management in greenhouse crops. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 235-241 p.
- Reinink, K. y F. L. Dieleman. 1989.** Resistance in lettuce to the leaf aphids *Macrosiphum euphorbiae* and *Uroleucon sonchi*. Annals of Applied Biology, 115 (3): 489–498.
- Remaudière, G. y M. V. Seco. 1990.** Claves de pulgones alados de la Región Mediterránea. 2 vols. Ed. Universidad de León. España. 205 p.
- Remaudiere, G. y M. Remaudiere. 1997.** Catalogue des aphide du monde. Catalogue of the world's Aphididae. Homoptera: Aphidoidea. Editions Quae. 478 p.
- Ricci, M. y A. E. Kahan. 2005.** Estudios biológicos y poblacionales de *Brevicoryne brassicae* L. y *Myzus persicae* Sulz. (Hemiptera :Aphididae) sobre crucíferas. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 31: 3–9.

- Robert, Y., C. A. Dedryver y J. S. Pierre. 1998.** Sampling techniques. In A. K. Minks and P. Harrewijn (eds), *Aphids, their Biology, Natural Enemies and Control*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers. Vol. 2B:1-17.
- Root, R. B. 1973.** Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: The fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological monographs*. Ecological Society of America, 43 (1): 95–124.
- Rosen, D. y P. I. DeBach. 1979.** Species of *Aphytis* of the world (Hymenoptera: Aphelinidae). *Series entomologica*. 17: 801.
- Salvador Sola, F. J. 2015.** Pulgones grandes: *Macrosiphum euphorbiae* y *Aulacorthum solani*. [En línea]. [Fecha de consulta: 6/8/16]. Disponible en: <http://www.fundacioncajamar.es/pdf/bd/comun/transferecia/012-pulgones-1446548205.pdf>
- Seco, M. V. 1990.** Actividad de vuelo en León, del pulgón *Brevicoryne brassicae* (Horn. Aphidoidea), resultados de siete años de trampeo. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 16(1): 391–397.
- Sharples, C. C. 1964.** Polyphenol content of head lettuce. In *proceedings of the American Society of Horticultural Science*, 84: 356–363.
- Souissi, R. y B. Ru. 1997.** Effect of host plants on fecundity and development of *Apoanagyrus lopezi*, an endoparasitoid of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 82 (2): 235–238.
- Stadler, B. y W. Völki. 1991.** Foraging patterns of two aphid parasitoids, *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani* on banana. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 58 (3): 221–229.
- Stary, P. 1976.** Aphid parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) of the mediterranean area. *Springer Science & Business Media*, Vol. 86(2): 92 p.
- Starý, P. 1988.** Natural enemies. In A. K. Minks and P. Harrewijn (eds), *Aphids, their Biology, natural enemies and control*. Vol. 2B, Amsterdam, Elsevier Science Publishers. 1-17 p.
- Steinkraus, Donald C. 2006.** Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(3): 125–131.
- Suay Cano, V. A. y J. M. Michelena. 1997.** Dispersión de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) y rango de hospedadores en Valencia. *Zoologica baetica*, 8: 111-121.
- Suay Cano, V. A., F. L. Martínez y J. M. Michelena. 1998.** Parasitoides no afidíinos de pulgones (Chalcidoidea: Aphelinidae) e hiperparasitoides de las superfamilias Chalcidoidea, Ceraphronoidea y Cynipoidea (Hymenoptera: Apócrifa: Parastitica) en la provincia de Valencia. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 22(1-2): 99-113.
- Suay Cano, V. A., y J. M. Michelena. 1998.** Afidíinos (Hymenoptera: Braconidae) y relaciones pulgón-parasitoide en la provincia de Valencia. *Boletín de la Asociación Española de*

- Entomología, 22: 3–4 p.
- Taylor, L. R. y J. M. P. Palmer. 1972.** Aerial sampling. In H. F. van Emden (ed), Aphid technology. Academic Press London.189-234 p.
- Taylor, L. R. 1974.** Insect migration, flight periodicity and the boundary layer. The Journal of Animal Ecology, 43: 225–238.
- Tizado, E. J., E. Nuñez y J. M. Nieto. 1992.** Reservorios silvestres de parasitoides de pulgones del género aphid con interés agrícola en la provincia de León (Hym., Braconidae: Aphidiinae; Hom., Aphididae). Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 18: 309–313.
- Tjallingii, W. F. 2006.** Salivary Secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. Journal of Experimental Botany, 57 (4): 739–745.
- Todd, G. W., A. Getahun y D. C. Cress. 1971.** Resistance in barley to the greenbug, schizaphis graminum. 1. toxicity of phenolic and flavonoid compounds and related substances. Annals of the Entomological Society of America, 64 (3). 718–722.
- Tyler, B. M. J. y P. A. Jones. 1974.** Influence of low temperature on development and successful emergence of *Lysiphlebus testaceipes*, a parasite of the greenbug. Environmental Entomology, 3(3):377–379.
- Urbaneja, A., J. L. Ripollés, R. Abad y J. Calvo. 2005.** Importancia de los artrópodos depredadores de insectos y ácaros en España. Departamento de Investigación Y Desarrollo. Koppert Biological Systems S.L., 31: 209–223.
- Valério, E., A. Cecílio y A. Mexia. 2007.** Interactions between aphid species and beneficial organisms in sweet pepper protected crop. Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas, 33(2): 143-152.
- Van Driesche, R. y T. S. Bellows. 1996.** Biological control. New York: Chapman and Hall. 539 p.
- van Helden, M. y W. F. Tjallingii. 1993.** Tissue localisation of lettuce resistance to the aphid *Nasonovia ribisnigri* using Electrical Penetration Graphs. Entomologia Experimentalis et Applicata, 68 (3): 269–278.
- Vila, E. 1986.** Enemigos naturales para el control de pulgones en cultivos hortícolas. Dpto I+D+i de Agrobío, S.L. Seminario de Especialistas en Horticultura, 15:139-148.
- Wyss, E., U. Niggli y W. Nentwig. 1995.** The impact of spiders on aphid populations in a strip-managed apple orchard. Journal of Applied Entomology, 119: 473-478.
- Wyss, E., H. Luka, L. Pfiffner, C. Schlatter, G. Uehlinger y C. Daniel. 2005.** Approaches to pest management in organic agriculture: a case study in European apple orchards. Organic Research, 33–36 p.
- Zehnder, G., G. M. Gurr, S. Kühne, M. R. Wade, S. D. Wratten y E. Wyss. 2007.** Arthropod pest management in organic crops. Annual Review of Entomology, 52: 57–80.
- Zumoffen, L., M. Rodriguez, M. Gerding, C. E. Salto y A. Salvo. 2015.** Plantas ,afididos y parasitoides: interacciones tróficas en agroecosistemas de la provincia de Santa Fé,

Argentina y clave para la identificación de los aphidiinae y aphelinidae (Hymenoptera) conocidos de la región. *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina*, 74 (3-4): 133–144.

