



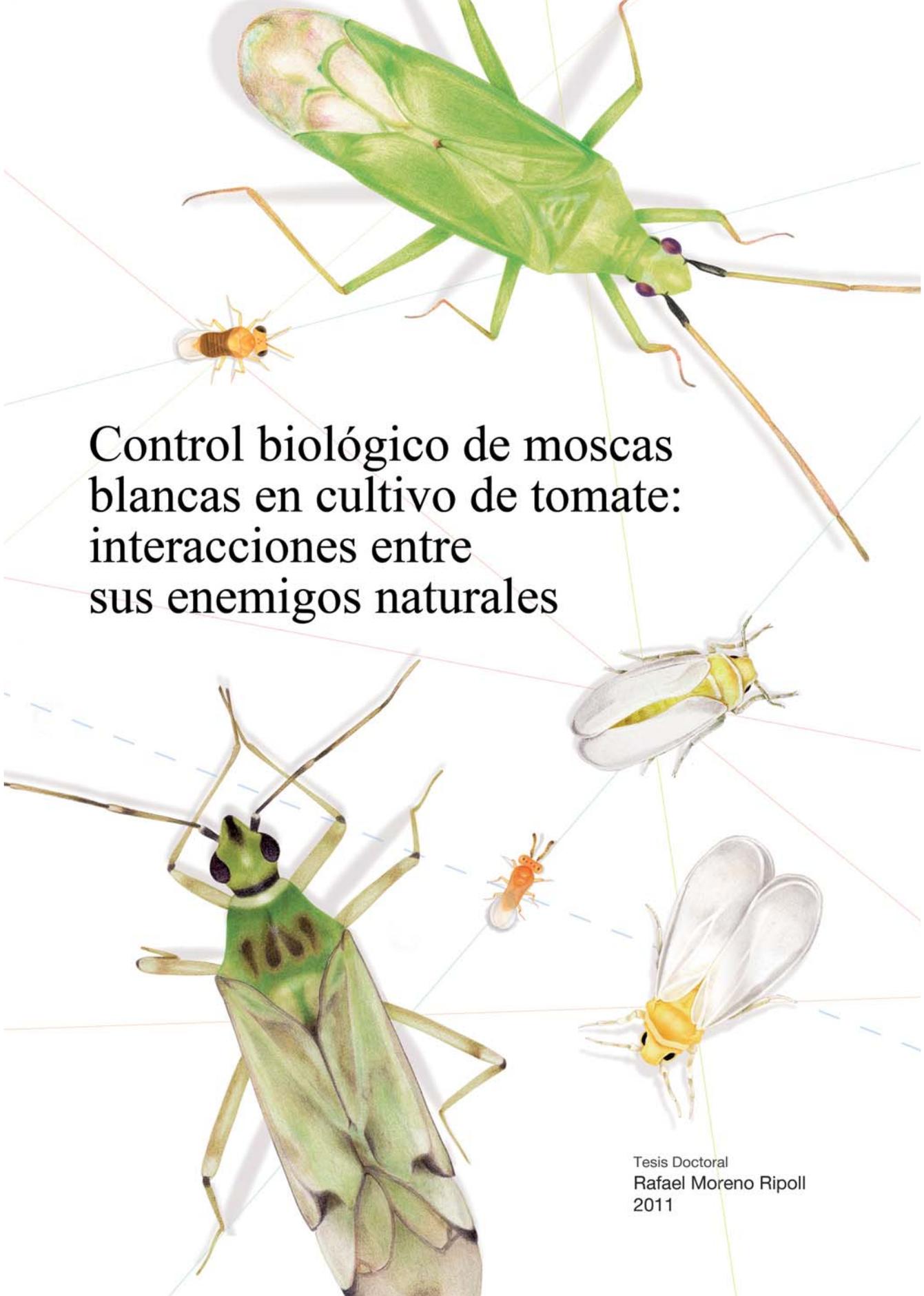
Control biológico de moscas blancas en cultivo de tomate: interacciones entre sus enemigos naturales

Rafael Moreno Ripoll

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



Control biológico de moscas blancas en cultivo de tomate: interacciones entre sus enemigos naturales

Tesis Doctoral
Rafael Moreno Ripoll
2011



DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA ANIMAL

**FACULTAD DE BIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE BARCELONA**

Programa de doctorado de Biología Animal
Bienio 2005-2007

**Control biológico de moscas blancas en cultivo de tomate: interacciones entre sus
enemigos naturales**

Memoria presentada por **Rafael Moreno Ripoll** para
optar al título de Doctor por la Universidad de Barcelona

Tesis realizada en Entomología, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries
(IRTA, Cabrils)

Directoras

Dra. Rosa Gabarra Ambert
Investigadora de Entomología
IRTA – Centro de Cabrils

Dra. Núria Agustí Abella
Investigadora de Entomología
IRTA – Centro de Cabrils

Tutora

Dra. Marta Goula Goula
Investigadora titular Dto. de Biología
Animal
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

Portada: *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Macrolophus pygmaeus*,
Nesidiocoris tenuis, *Eretmocerus mundus* y *Encarsia pergandiella*.

Ilustraciones realizadas por Clara Herreros

Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a las personas e instituciones que han contribuido a mi formación como investigador. En primer lugar, mi agradecimiento al Ministerio de Ciencia e Innovación por la financiación de la beca BES-2005-8683 y del proyecto AGL2010-18811, que han permitido la realización de este trabajo. En segundo lugar deseo agradecer al IRTA el haber puesto a mi disposición los recursos de que dispone. Agradezco a la Doctora Rosa Gabarra su dedicación y apoyo en la elaboración de este trabajo, así como su disponibilidad absoluta, incluso fuera de horario laboral. También a la codirectora de esta Tesis, la Doctora Nuria Agustí, por su apoyo y disponibilidad. A la Doctora Marta Goula, tutora de la Tesis, por su revisión y por su nexo con la facultad de Biología. Asimismo quisiera agradecer la ayuda prestada por el resto de investigadores del Departamento de Entomología cuando lo he necesitado, así como a los técnicos y auxiliares del laboratorio por el apoyo que he recibido en el desarrollo de los experimentos. Muchas gracias a mis compañeras y amigas de la caseta, sin cuya amistad, ayuda y apoyo habría sido mucho más duro acabar esta Tesis, así como a otros amigos que me han ayudado también en el desarrollo de la misma. Y para finalizar, gracias a mi familia y a mi novia, por los ánimos y por aguantarme esta última época mucho más insoportable de lo que normalmente soy.

A mi familia

“... cum rerum natura nusquam magis quam in minimis tota sit [...] cum in contemplatione naturae nihil possit videri supervacuum.”

... puesto que la Naturaleza, toda ella, nunca se mostró tan grande como en las cosas pequeñas [...] puesto que en la contemplación de la Naturaleza nada se nos presenta sin una razón de ser.

Plinio el Viejo. Hist. Nat. Lib. XI, 1, 4.

Índice

Abreviaturas	1
Introducción general	3
El control biológico	3
El tomate	4
Principales plagas del tomate	4
<i>Bemisia tabaci</i> y <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	5
Métodos de control de las moscas blancas	6
Los depredadores polífagos y parasitoides como agentes de control	7
<i>Macrolophus pygmaeus</i> y <i>Nesidiocoris tenuis</i>	8
Identificación de <i>Macrolophus melanotoma</i> (Costa) y <i>M. pygmaeus</i>	9
<i>Eretmocerus mundus</i> y <i>Encarsia pergandiella</i>	10
Depredación intragremial	10
Consecuencias de la depredación intragremial	12
Canibalismo	14
Consecuencias del canibalismo	15
Estudio de las relaciones tróficas entre <i>M. pygmaeus</i> , <i>N. tenuis</i> , <i>E. mundus</i> y <i>E. pergandiella</i>	15
Utilización de métodos moleculares para el estudio de las relaciones tróficas	17
Detección de ADN de la presa	18
Objetivos	21

Capítulo 1. Análisis molecular de la depredación de *Macrolophus pygmaeus* y *Nesidiocoris tenuis* sobre las moscas blancas y sus parasitoides en el cultivo de tomate

1. Introducción	24
2. Material y métodos	26
2.1. Insectos	24
2.2. Diseño de cebadores y extracción y amplificación de ADN	26
2.3. Especificidad y periodos de detección	28
2.4. Muestreo de campo y análisis de depredadores	30
3. Resultados	31
3.1. Especificidad y periodos de detección	31
3.2. Análisis de depredadores	33
3.2.1. Abundancia de depredadores y presas y detección molecular de presas	33
3.2.2. Relación entre la abundancia de presas y su detección molecular	37
3.2.3. Detección molecular conjunta de presas	37
3.2.4. Detección molecular de presa dependiendo del sexo, estadio y especie de depredador	40
4. Discusión	31

Capítulo 2. Depredación intragremial entre *Macrolophus pygmaeus*, *Nesidiocoris tenuis* y *Eretmocerus mundus*

1. Introducción	48
2. Material y métodos	50
2.1. Insectos	50
2.2. Secuenciación, diseño de los cebadores y amplificación de ADN	50
2.3. Especificidad de los cebadores y detección molecular de la depredación y el parasitismo	52
2.4. Estudio de la Depredación Intragremial (DI)	53
2.4.1. <i>Macrolophus pygmaeus</i> y <i>N. tenuis</i>	54

2.4.2. <i>Macrolophus pygmaeus</i> , <i>N. tenuis</i> y <i>E. mundus</i>	54
2.4.3. Efecto de la DI sobre el control de <i>B. tabaci</i>	55
3. Resultados	56
3.1. Especificidad	56
3.2. Detección molecular de los depredadores y del parasitoide	56
3.3. Estudio de la DI	56
3.3.1 <i>Macrolophus pygmaeus</i> y <i>N. tenuis</i>	57
3.3.2. <i>Macrolophus pygmaeus</i> , <i>N. tenuis</i> y <i>E. mundus</i>	59
3.3.3. Efecto de la DI entre <i>M. pygmaeus</i> , <i>N. tenuis</i> y <i>E. mundus</i> sobre el control de <i>B. tabaci</i>	61
4. Discusión	62

Capítulo 3. Efectos letales y subletales de las interacciones conspecíficas y heterospecíficas entre *Macrolophus pygmaeus* y *Nesidiocoris tenuis*

1. Introducción	70
2. Material y métodos	72
2.1. Insectos	72
2.2. Interacción heterospecífica entre hembras y huevos	72
2.3. Interacción heterospecífica entre hembras y ninfas	73
2.4. Interacción conspecífica y heterospecífica entre depredadores del mismo estadio con y sin presa	73
2.4.1. Efecto de la densidad de depredador sobre su supervivencia sobre foliolo de tomate	73
2.4.2. Efecto de la interacción de depredadores sobre su supervivencia, descendencia, distribución y daños en la planta	74
3. Resultados	76
3.1. Interacción heterospecífica entre hembras y huevos	76
3.2. Interacción heterospecífica entre hembras y ninfas	76
3.3. Interacción conspecífica y heterospecífica entre depredadores del mismo estadio con y sin presa adicional	77
3.3.1. Efecto de la densidad del depredador sobre su supervivencia sobre foliolo de tomate	77

3.3.2. Efecto de la interacción de depredadores sobre su supervivencia, descendencia, distribución y daños en la planta	80
3.3.2.1. Efecto sobre la supervivencia	80
3.3.2.2. Efecto sobre la descendencia	82
3.3.2.3. Efecto sobre la distribución de las ninfas en la planta	83
3.3.2.4. Efecto sobre los daños de <i>N. tenuis</i> en la planta	84
4. Discusión	86
Discusión general	91
Conclusiones	97
Bibliografía	99



Abreviaturas

- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- ANCOVA: Análisis de la covarianza
- ANOVA: Análisis de la varianza
- CB: Control biológico
- CIP: Control integrado de plagas
- COI: Subunidad 1 de la enzima citocromo oxidasa
- COII: Subunidad 2 de la enzima citocromo oxidasa
- DI: Depredación intragremial
- ITS-1: Región no codificante 1
- ITS-2: Región no codificante 2
- L1: Larva de primer estadio
- L16:D8: 16 horas de luz y 8 de oscuridad
- L3: Larva de tercer estadio
- L_m : Posición media ponderada de la hoja
- Mp: *Macrolophus pygmaeus*
- N1: Ninfa de primer estadio
- N2: Ninfa de segundo estadio
- N2-N3: Ninfa de segundo-tercer estadio
- N3: Ninfa de tercer estadio
- N4: Ninfa de cuarto estadio
- N5: Ninfa de quinto estadio
- Nt: *Nesidiocoris tenuis*
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- RH: Humedad relativa

Introducción general

El control biológico

Las plagas son un fenómeno asociado al hombre. La pérdida de biodiversidad que suponen los sistemas agrícolas, entre otras razones, favorece la aparición de plagas atraídas por la existencia de recursos abundantes y permanentes (Jacas y Urbaneja, 2008a). El control integrado de plagas (CIP) trata de utilizar racionalmente los sistemas de control disponibles, combinando medidas biológicas, químicas, culturales, biotecnológicas y de mejora genética. Dentro del CIP tiene gran importancia el control biológico (CB), que se define como la utilización de enemigos naturales (depredadores, parasitoides y entomopatógenos) para mantener la población de otro organismo a densidades inferiores de las que tendría en su ausencia (DeBach, 1964). El CB ha ido cobrando más protagonismo a lo largo de la segunda mitad del siglo XX, siendo hoy en día cada vez más aplicado en los cultivos (Jacas y Urbaneja, 2008b).

Según Eilenberg *et al.* (2001) existen 4 tipos de CB: 1) Clásico, consistente en la introducción intencionada de un agente de control exótico; 2) Inoculativo, consistente en la liberación de un agente de control biológico para que aumente su población y controle la plaga durante un periodo largo, pero no de forma permanente; 3) Inundativo, basado en la liberación de un agente de control biológico que permita suprimir una plaga únicamente con los organismos liberados; 4) Conservativo, basado en la modificación del ambiente o de prácticas ya existentes para proteger y aumentar las poblaciones de enemigos naturales. La eficacia del CB dependerá de las características de los enemigos naturales utilizados así como de una correcta utilización de éstos. Hoy día, el CB en cultivos intensivos se basa normalmente en la inoculación y/o conservación de depredadores y parasitoides. En cultivos tempranos o cuando la colonización de enemigos naturales es baja se aumentan sus poblaciones naturales. Es destacable en particular el auge que ha experimentado el CB en los cultivos hortícolas de invernadero, donde por ejemplo, en Almería durante la campaña 2009-2010, se aplicó en el 59 % de los cultivos protegidos como principal componente del CIP (van der Blom, 2010).

El tomate

El cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) es el producto hortícola de mayor importancia económica, con una producción mundial en el 2008 de 136 millones de toneladas, siendo China el principal productor seguido de EE.UU. Dentro de la UE, España se encuentra entre los principales productores, sólo por detrás de Italia, figurando como octavo país productor de tomates del mundo en ese año, con una producción de 3,9 millones de toneladas (FAOSTAT, 2011). En España es con diferencia el cultivo hortícola con mayor producción. De las 54.868 ha en las que se cultivó tomate en el año 2009, aproximadamente la mitad de la superficie se encontraba en la provincia de Almería, de donde procede un cuarto de la producción del país (MAPA, 2009).

Principales plagas del tomate

Las principales plagas que afectan al tomate son polífagas, por lo que no son exclusivas de este cultivo. Las moscas blancas *Bemisia tabaci* Gennadius y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae) se encuentran entre las plagas principales, especialmente en invernadero. Otra plaga que también puede causar importantes daños económicos en el área mediterránea es *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), particularmente importante en los ciclos de verano y otoño. Otras especies de lepidópteros que pueden afectar al cultivo de tomate son *Chrysodeixis chalcites* (Esper), *Spodoptera littoralis* (Boisduval), *Autographa gamma* (L.) y *Lacanobia oleracea* L. (Lepidoptera: Noctuidae). El trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) transmite el virus del bronceado del tomate (TSWV) y puede causar grandes pérdidas si no se cultivan variedades resistentes. Otras plagas que pueden llegar a ser importantes son el ácaro del bronceado, *Aculops lycopersici* (Masse) (Acari: Eriophyidae), los minadores de la hoja del género *Liriomyza* spp (Diptera: Agromyzidae), diversas especies de pulgones (Homoptera: Aphididae), la araña roja, *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae) y la cochinilla *Pseudococcus viburni* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae). Actualmente el lepidóptero *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), que se detectó en

España en el año 2006 y en otras zonas de la cuenca mediterránea en 2007, se ha convertido también en una importante plaga del cultivo de tomate en esta zona (Gabarra y Besri, 1999; Gabarra *et al.*, 2008).

Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum

Aunque varias especies de mosca blanca han sido citadas por alimentarse de cultivos hortícolas, sólo *B. tabaci* y *T. vaporariorum* causan daños económicos importantes (Avilla *et al.*, 2004). En Europa en las zonas templadas *T. vaporariorum* es la principal especie plaga en los cultivos de tomate de invernadero, mientras que esta especie coexiste con *B. tabaci* en la zona de transición y sólo la segunda causa daños en las zonas cálidas (Gabarra y Besri, 1999). Los daños producidos por las moscas blancas son de tres tipos (Avilla *et al.*, 2004): 1) Debilitamiento de la planta al alimentarse de la savia del floema; 2) Producción de melazas que al depositarse sobre las hojas y frutos provocan el asentamiento de hongos que dificultan la fotosíntesis; 3) Transmisión de virus debido a su gran capacidad para actuar como vectores, especialmente *B. tabaci*, transmisora, por ejemplo, del TYLCV (virus del rizado amarillo del tomate) (Moriones y Luis-Arteaga, 1999).

Las moscas blancas pertenecen a la familia Aleyrodidae. Una de las características de sus miembros es que los adultos poseen el cuerpo y las alas cubiertos por secreciones cerosas que les confieren un aspecto pulverulento (Gill, 1990). De las 1.300 especies de moscas blancas descritas sólo los géneros *Bemisia* y *Trialeurodes* han sido citados como vectores de virus (Mound y Halsey, 1978). Se reproducen por arrenotoquia, procediendo los machos de huevos haploides no fecundados y las hembras de huevos diploides fecundados por los machos. Los huevos son depositados por las hembras normalmente en el envés de las hojas. El primer estadio ninfal es el único estadio móvil. Posteriormente, pasa por otros 3 estadios ninfales sésiles (N2, N3 y N4). El 4º estadio se denomina pupa, lo cual es incorrecto debido a que al inicio de dicho estadio la mosca se alimenta y no produce una muda pupal (Gill, 1990; Castañé *et al.*, 2008).

Bemisia tabaci es una plaga de distribución cosmopolita, encontrándose en todos los continentes excepto en la Antártida y siendo su presencia particularmente importante en la cuenca mediterránea (Oliveira *et al.*, 2001; Perring, 2001). Es una de las plagas

que mayores pérdidas económicas ha generado a nivel mundial, tanto en cultivos hortícolas como en ornamentales (Oliveira *et al.*, 2001). Es una especie muy polífaga que ha sido observada atacando más de 600 especies de plantas diferentes, pertenecientes a 63 familias (Mound y Halsey, 1978). Otro problema asociado a esta especie es que las poblaciones que afectan a los cultivos hortícolas y ornamentales de invernadero han desarrollado resistencia a numerosos insecticidas. Existen además diversos biotipos identificados en todo el mundo y que muestran diferencias en lo que se refiere, entre otros aspectos, a hospedadores, parámetros biológicos y capacidad de transmisión de virus (Oliveira *et al.*, 2001; Perring, 2001; de Barro *et al.*, 2005). El biotipo B es el más extendido alrededor del mundo, mientras que el Q es el más extendido en la cuenca mediterránea, estando presente también en Asia y América. Ambos biotipos pueden coexistir en el mismo cultivo, siendo el biotipo Q el más resistente a insecticidas (Horowitz *et al.*, 2005; Arnó *et al.*, 2006a). En cuanto a *T. vaporariorum*, conocida como la mosca blanca de los invernaderos, es también una plaga cosmopolita distribuida en este caso fundamentalmente por las zonas templadas. También causa enormes pérdidas económicas y, al igual que *B. tabaci*, transmite virus vegetales, como por ejemplo el virus de la clorosis infecciosa del tomate (TICV), que no es transmitido por *B. tabaci*. Es altamente polífaga también, atacando a muchos cultivos intensivos de invernadero (Castañé *et al.*, 2008).

Métodos de control de las moscas blancas

El control químico, utilizando insecticidas específicos como los reguladores del crecimiento (IGRs), se utiliza a menudo contra las moscas blancas cuando las poblaciones iniciales de plaga son elevadas o cuando los enemigos naturales no se instalan bien en el cultivo (Gabarra *et al.*, 2008). Pero el control químico conlleva la persistencia de residuos que afectan al medio ambiente, permanecen en los productos y son perniciosos para los que aplican los insecticidas. Además, por la resistencia descrita para *B. tabaci* a los insecticidas, no es recomendable la aplicación continuada para tratar esta plaga (Palumbo, 2001). Por estas razones, el CIP y CB destacan como eficientes armas para luchar contra las moscas blancas. Son numerosos sus enemigos naturales, encontrándose entre ellos diferentes depredadores polífagos, parasitoides y

patógenos (van Lenteren y Martin, 1999; Lipa y Smits, 1999; Gerling *et al.*, 2001, Arnó *et al.*, 2010a).

Entre los patógenos se encuentran diversas especies de hongos entomopatógenos, como *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, *Verticillium lecanii* (Zimmerman) o *Aschersonia aleyrodes* Webber (Lipa y Smits, 1999). Pero la utilización de estos organismos se encuentra aún con diversas barreras, entre otras, su dependencia de condiciones ambientales favorables y elevados costes (Faria y Wraight, 2001).

Los depredadores polípagos y parasitoides como agentes de control

Entre los depredadores de moscas blancas se incluyen coleópteros (por ej., coccinélidos), chinches (por ej., míridos y antocóridos), neurópteros (por ej., crisopas) y ácaros (por ej., fitoseidos). En Europa están disponibles comercialmente entre otros los míridos *Macrolophus caliginosus* Wagner, *Nesidiocoris tenuis* Reuter, los antocóridos *Orius laevigatus* (Fieber) y *O. majusculus* (Reuter) y el fitoseido *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot). Dentro de los depredadores tienen un papel importante los míridos (Albajes y Alomar, 1999; Gerling *et al.*, 2001; Arnó *et al.*, 2010a). Éstos depredadores colonizan los cultivos cuando dejan de aplicarse tratamientos insecticidas de amplio espectro (Alomar *et al.*, 2002; Albajes *et al.*, 2003; Castañé *et al.*, 2004; Gabarra *et al.*, 2004). Las especies *M. pygmaeus* Rambur, *Dicyphus tamaninii* Wagner y *N. tenuis* Reuter han demostrado su eficacia reduciendo las poblaciones de mosca blanca en programas de CIP basados en la conservación y el aumento de las poblaciones autóctonas en cultivo protegido y de aire libre (Albajes *et al.*, 2003; Castañé *et al.*, 2004; Calvo *et al.*, 2009; Arnó *et al.*, 2010b). Una de las ventajas de los depredadores polípagos es que pueden mantenerse en el cultivo alimentándose de otras presas antes de que aparezca la plaga. Además, una vez establecidos en el cultivo, al no depender únicamente de una presa, pueden ejercer control cuando la densidad de presas es baja y mantenerse en el cultivo previniendo la reinfestación de la plaga (Albajes y Alomar, 1999).

Los parasitoides más comunes de las moscas blancas son himenópteros de la familia de los afelínidos siendo los géneros *Encarsia* y *Eretmocerus* los más utilizados en el

control de las moscas blancas (Gerling *et al.*, 2001; Avilla *et al.*, 2004; Arnó *et al.*, 2010a). Comercialmente están disponibles las especies *Encarsia formosa* Gahan, *Eretmocerus mundus* Mercet y *E. eremicus* (Rose y Zolnerowitz) (Castañé *et al.*, 2008). *Encarsia formosa* ha sido un parasitoide muy utilizado para el control de *T. vaporariorum*, y aún hoy sigue utilizándose en el norte de Europa, donde la presencia de esta mosca blanca es predominante. Suele inocularse de forma preventiva y continuada (Gabarra *et al.*, 2008). A finales de los años 70 se introdujo en Italia la especie americana *Encarsia pergandiella* Howard para combatir esta mosca blanca (Viggiani y Mazzone, 1980). Desde entonces se ha establecido en muchas zonas de la cuenca mediterránea, con el consiguiente problema, como después se supo, de que puede interferir en el control ejercido por *E. formosa* (Gabarra *et al.*, 1999). Aún así, este último continúa siendo el parasitoide más usado para el control de *T. vaporariorum* en invernadero (Avilla *et al.*, 2004). Cuando *B. tabaci* se expandió y constituyó un problema en muchas zonas, se barajó la utilización de *E. formosa* para su control (Boisclair *et al.*, 1990; Hoddle *et al.*, 1998), pero ante los insatisfactorios resultados pasó a utilizarse *E. eremicus*, otro parasitoide exótico. Posteriormente se observó que este parasitoide era reemplazado completamente por el parasitoide autóctono *E. mundus*. Debido a esto, este parasitoide pasó a utilizarse para el control de *B. tabaci* (Stansly *et al.*, 2005; Arnó *et al.*, 2010a). Para el control de las moscas blancas también se pueden usar parasitoides y depredadores de forma combinada. En cultivos de tomate se introducen *E. formosa* y *M. pygmaeus* para controlar las poblaciones de *T. vaporariorum*, así como *E. mundus* y *N. tenuis* para controlar las poblaciones de *B. tabaci* (Gabarra *et al.*, 2008).

Macrolophus pygmaeus* y *Nesidiocoris tenuis

La importancia de estas dos especies en los programas de CB estriba en que son especies autóctonas de la cuenca mediterránea y en que, debido a su polifagia, son eficaces depredando un amplio rango de presas. Aparte de moscas blancas, depredan áfidos, ácaros, huevos y larvas de lepidópteros, trips y larvas de minadores de la hoja (Albajes y Alomar, 1999). Su polifagia incluye también el consumo de material vegetal (Sampson y Jacobson, 1999; Trottin-Caudal *et al.*, 2006; Arnó *et al.*, 2010b; Castañé *et*

al., 2011; Pumariño *et al.*, 2011), así pues, poseen un régimen alimenticio zoofitófago, obteniendo de la planta diversos nutrientes y agua, la cual es necesaria para la digestión extraoral que realizan. Por esta condición fitófaga, algunos míridos han sido considerados plagas por temor a que provocasen pérdidas económicas, bien directamente por las heridas que causan a la planta, por la extracción de asimilados o indirectamente asociado a la inoculación de patógenos. Aunque los daños suelen ser el resultado de la interacción entre componentes morfológicos, fisiológicos, hábitos del enemigo natural, tipo de cultivo y factores ambientales, parece que en el caso de los míridos está más asociado a la zona de la planta sobre la que se alimentan (Castañé *et al.*, 2011). Pero la fitofagia no implica necesariamente pérdidas económicas en el cultivo. Es muy extraño que *M. pygmaeus* cause daños y cuando se han observado ha sido a elevadas densidades y sin presa disponible (Sampson y Jacobson, 1999). Sin embargo, el caso de *N. tenuis* es más conflictivo, siendo considerado plaga en algunas zonas (Trottin-Caudal *et al.*, 2006). De hecho está descrito que puede llegar a afectar al crecimiento de la planta y a su producción si la presa es escasa y su densidad elevada (Sanchez, 2008; Calvo *et al.*, 2009; Arnó *et al.*, 2010b). De todas maneras, las ventajas de utilizar *M. pygmaeus* y *N. tenuis* como depredadores son superiores al riesgo de causar daños, de modo que son conservados en el cultivo e incluso liberados para combatir las plagas. Finalmente, cabe considerar una ventaja asociada a la fitofagia, que es la mayor facilidad para establecerse en el cultivo, ya que son menos dependientes de la presa animal (Gabarra *et al.*, 2004; Castañé *et al.*, 2011).

Identificación de *Macrolophus melanotoma* (Costa) y *M. pygmaeus*

Estas dos especies están citadas en la cuenca mediterránea, pero los datos biométricos obtenidos revelan que los valores considerados válidos para ambas especies se solapan. Es por ello que recientemente ha surgido la duda de si en los cultivos de tomate se encuentran una o dos especies de *Macrolophus* (Goula y Alomar, 1994). En los últimos años se han descrito ciertas diferencias morfológicas y genéticas que indican que la especie que se encuentra sobre los cultivos de tomate se trata de *M. pygmaeus*, mientras que la que se encuentra sobre *Dittrichia viscosa* L. Greuter se trata de *M. melanotoma* (Perdikis *et al.*, 2003; Martínez-Cascales *et al.*, 2006). Así pues, parece

que los estudios referidos a *M. melanotoma* sobre tomate y otras hortalizas podrían referirse realmente a *M. pygmaeus*. Actualmente, las empresas que venden *Macrolophus* como fauna útil siguen denominándolo *M. caliginosus* (*M. melanotoma*), cuando en realidad se trata de *M. pygmaeus* (Castañé *et al.*, 2008).

Eretmocerus mundus* y *Encarsia pergandiella

Eretmocerus mundus es un ecto-endoparaitoide específico de ninfas de *B. tabaci* (Rose *et al.*, 1995). Sus hembras depositan los huevos entre la ninfa y la superficie de la hoja y es la larva de primer estadio del parasitoide la que penetra en el huésped (Gerling, 1990). Su reproducción es diversa según el origen de sus poblaciones. Las poblaciones mediterráneas se reproducen mediante arrenotoquia, pero también existen poblaciones que se reproducen por telitoquia, produciendo únicamente hembras, lo cual ha sido asociado a la infección de bacterias endosimbiontes del género *Wolbachia* (de Barro y Hart, 2001). *Encarsia pergandiella* es un endoparasitoide heterónimo. Sus hembras se desarrollan siempre como parasitoides primarios de ninfas de moscas blancas, mientras que los machos lo hacen como autoparasitoides facultativos, parasitando moscas blancas previamente parasitadas por su propia especie o por otras especies de parasitoides (Walter, 1983; Hunter, 1989).

Además de la mortalidad causada por el parasitismo, *E. mundus* y *E. pergandiella* pueden también provocar la muerte de sus huéspedes al alimentarse de él. Este es un modo de alimentación muy extendido en los himenópteros parasitoides mediante el cual las hembras adultas provocan heridas para alimentarse de la hemolinfa y tejidos del huésped (Jervis y Kidd, 1986). Este mecanismo es conocido tanto en *E. mundus*, cuyas hembras pueden causar de este modo un 10 % de mortalidad en las ninfas de *B. tabaci* (Gerling y Fried, 2000), como en *E. pergandiella*, que puede matar 85 ninfas de *B. tabaci* a lo largo de su vida al alimentarse de ellas (Videllet *et al.*, 1997).

Depredación intragremial

La depredación intragremial (DI) es una interacción muy extendida en las comunidades ecológicas que afecta a diferentes taxones y niveles tróficos y que se da también entre los agentes de control biológico afectando a la abundancia, distribución y evolución de

muchas especies (Polis *et al.*, 1989; Rosenheim *et al.*, 1995; Arim y Marquet, 2004). Según Rosenheim *et al.* (1995) la DI es la interacción que implica a dos organismos de diferente especie que comparten una presa o huésped (compitiendo por ella), y que tienen entre ellos alguna interacción (parasitismo o depredación). En sentido amplio, se usa el término “gremial” para referirse a un gremio de organismos que comparten un recurso, y se usa el término “depredación”, también en sentido amplio, para incluir cualquier interacción trófica entre los agentes de control biológico.

La DI puede ser unidireccional, en la cual una de las dos especies implicadas depreda la otra, denominándose la primera “depredador intragremial” y la segunda “presa intragremial”, o puede ser bidireccional, donde ambas especies pueden depredarse la una a la otra actuando como depredadores y presas intragremiales a la vez (fig. I.1).

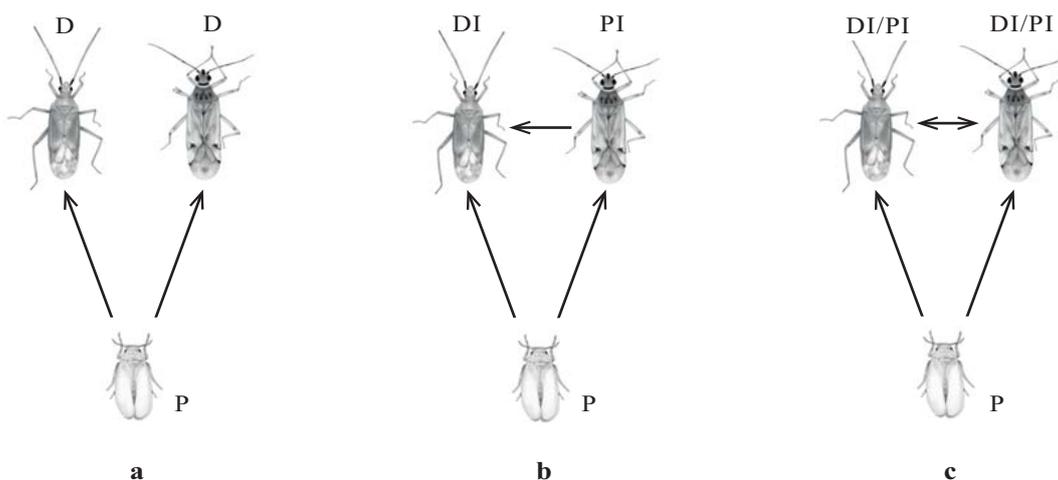


Fig. I.1. Redes tróficas con y sin depredación intragremial a) Competencia: ambos depredadores intragremiales (D) compiten por la presa común (P); b) depredación intragremial unidireccional: el depredador intragremial (DI), además de competir por la presa común, depreda el otro competidor, el cual se convierte en presa intragremial (PI); c) depredación intragremial bidireccional: ambos depredadores intragremiales compiten por una presa común y depredan el otro depredador, siendo ambos a la vez depredadores y presas intragremiales (DI/PI).

La DI combina elementos de la depredación y la competencia, siendo más compleja, ya que cuando un depredador intragremial se alimenta de la otra especie reduce el número de competidores y obtiene beneficios energéticos directamente de ella (Polis y Holt, 1992) (fig. I.1). Aparte de estos beneficios para el depredador, conlleva el riesgo de convertirse en presa del otro depredador (Dixon, 2000).

La DI está influida en general por la diferencia de tamaño y movilidad (o diferentes estadios) de los competidores intragremiales, así como de la presencia de presa alternativa. Una menor movilidad o tamaño, que se traducen en una mayor vulnerabilidad ante el oponente, así como la ausencia de presa, suelen propiciar la aparición o el aumento de intensidad de la DI (Polis *et al.*, 1989; Rosenheim *et al.*, 1995; Lucas *et al.*, 1997; Lucas *et al.*, 1998; Félix y Soares, 2004; Nória *et al.*, 2008).

Conviene remarcar que esta interacción no sólo ocurre entre depredadores. También ocurre entre parasitoides cuando uno parasita un huésped que ha sido parasitado previamente por otra especie. En estos casos de multiparasitismo, los parasitoides compiten dentro del huésped, resultando uno de ellos depredado (Rosenheim *et al.*, 1995; Brodeur y Rosenheim, 2000; Bográn y Heinz, 2002; Naranjo, 2007; Moretti y Calvitti, 2008). De igual manera la DI también sucede entre parasitoides y depredadores, cuando un huésped parasitado es depredado por un depredador o cuando un depredador ataca directamente a un parasitoide adulto.

Consecuencias del la depredación intragremial

El fin último del estudio de la DI en el contexto del CB es saber si esta interacción entre dos competidores afectará positiva o negativamente al control que se ejerce sobre una plaga. En el caso de DI entre dos depredadores, una DI fuerte que provoque una elevada mortalidad de alguno de los depredadores puede traducirse en un aumento de la población plaga, al verse liberada de la presión que éstos ejercían sobre ella. Es un fenómeno que se conoce como cascada trófica (Polis *et al.*, 2000). Sin embargo esto no tendría por qué ocurrir si la DI ocurre entre dos parasitoides o entre un depredador y un parasitoide, dado que en estos casos el huésped (presa compartida) siempre muere. Pero cuando dos depredadores intragremiales compiten, el control sobre la plaga puede verse también afectado positivamente. Diversos son los resultados obtenidos al estudiar las

interacciones entre agentes de control biológico, habiéndose obtenido tanto resultados positivos como negativos al coexistir depredadores, parasitoides o ambos enemigos naturales (Polis *et al.*, 1989; Rosenheim *et al.*, 1995; Losey y Denno, 1998; Gabarra *et al.*, 1999; Colfer y Rosenheim, 2001; Snyder e Ives, 2001; Finke y Denno, 2003; Bográn y Heinz, 2006). En la figura I.2 se muestran las diferentes posibilidades en las que el CB de una plaga puede verse afectado cuando coexisten dos depredadores intragremiales.

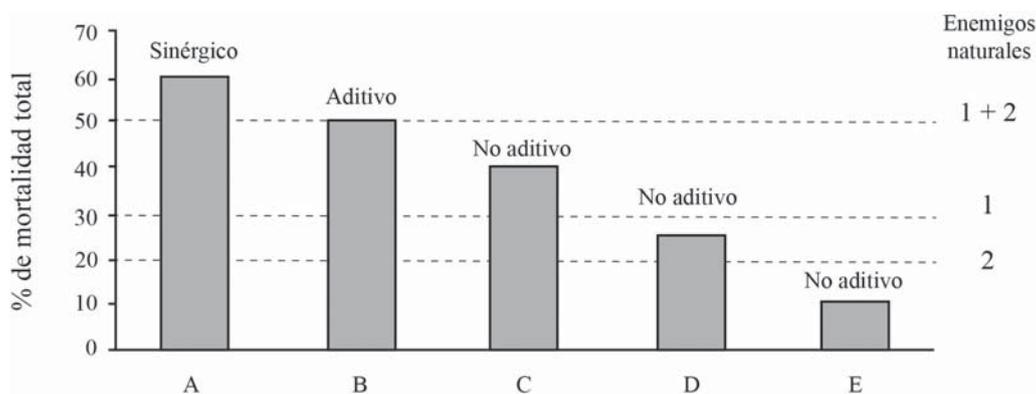


Fig. I.2. Rango potencial de mortalidad total que dos enemigos naturales (1+2) pueden infligir a una población plaga. Las líneas discontinuas muestran las mortalidades producidas por cada uno de ellos por separado (1 y 2) y la mortalidad hipotética producida como resultado de la suma de la actividad de de ambos (1 + 2). El efecto puede ser mayor que la suma del efecto de cada uno (A, sinérgico); igual a su suma (B; aditivo); o menor (C, D y E, no aditivo). En este último caso el efecto puede ser mayor que el mayor de los efectos (C), menor que el menor de ellos (E) o intermedio (D). Dixon (2000).

La mortalidad del otro competidor puede no ser la única consecuencia de la DI. A veces, sólo la presencia del depredador, o incluso ciertas señales o restos de éste, pueden afectar a la biología o al comportamiento de la presa. Así han sido citados efectos como una menor velocidad de desarrollo, el abandono de zonas con presencia del depredador, cambios en su distribución en la planta o una menor oviposición

(Lima, 1998; Magalhães *et al.*, 2004; Lucas *et al.*, 2009; Martinou *et al.*, 2009. Perdikis *et al.*, 2009; Walzer *et al.*, 2009; Choh *et al.*, 2010; van der Hammen *et al.*, 2010).

Canibalismo

El canibalismo, proceso por el cual se depreda un individuo de la misma especie es también una interacción muy extendida en las redes tróficas (Polis, 1981). Tanto la DI como el canibalismo implican a depredadores generalistas que depredan otros depredadores con los que comparte una o más presas. Las dos principales ventajas del canibalismo son las mismas que las de la DI. Depredando a un individuo de la misma especie se adquiere alimento y se eliminan competidores potenciales. Pero hay una diferencia fundamental entre canibalismo y DI, y es que aunque el riesgo de sufrir heridas o muerte es el mismo, el canibalismo conlleva la posibilidad de coste genético, cosa que es imposible en la DI (Wise, 2006). El canibalismo puede reducir el tamaño de la población antes de que un recurso se vuelva limitante, es decir, puede llevar a una autorregulación de la población, a diferencia de la depredación entre individuos de diferentes especies, que tiende a regular la biomasa total de competidores. Aún así, la extinción de una población por canibalismo es improbable, debido a que esta interacción decrece cuando los recursos resultan de nuevo disponibles para los supervivientes, a la vez que las víctimas de la misma especie, al volverse más escasas, son más difíciles de encontrar (Fox, 1975; Polis, 1981).

En general, el canibalismo está relacionado con el diferente tamaño entre caníbal y presa. Se han observado casos en los que caníbales depredan individuos de similar tamaño (Polis, 1981; Wissinger *et al.*, 1996; Lucas *et al.*, 2009), sin embargo el canibalismo suele estar relacionado con el ataque a congéneres de menor tamaño y más vulnerables (Fox, 1975; Polis, 1981; Agarwala y Dixon, 1993), lo cual permite disminuir los riesgos para el atacante (Fox, 1975; Polis, 1981; Cottrell, 2005). Asimismo, el grado de parentesco entre caníbal y presa también suele limitar esta interacción (Agarwala y Dixon, 1993; Wise, 2006). Así pues, las posibilidades de ser depredado por un congénere aumentan si la víctima es más indefensa y si no existe parentesco con el caníbal.

Al igual que la DI, la intensidad o aparición de esta interacción se relaciona con la escasez de presa o con su baja calidad (Fox, 1975; Polis, 1981; Laycock *et al.*, 2006). También está frecuentemente asociado a la densidad de la propia especie (Fox, 1975; Polis, 1981; Buddle *et al.*, 2003; Wise, 2006). Según Polis (1981) esto puede ser debido a dos causas: 1) Una respuesta denso-dependiente (a mayor densidad mayor probabilidad de encontrarse con un congénere) y 2) En muchas especies los individuos mantienen su territorio mostrándose hostiles ante la presencia de un congénere, de esta forma, una densidad alta aumenta la frecuencia de intrusiones promoviendo los ataques. La respuesta denso dependiente sería aplicable a una población caníbal si en ella hay homogeneidad de características entre sus miembros (estadios, tamaños...).

Consecuencias del canibalismo

En principio, las posibles consecuencias negativas para el CB serían las mismas que las derivadas de la DI. Si un depredador practicase canibalismo, esto podría traducirse en un aumento de la población de la plaga, debido a una menor presión sobre ella. Pero la existencia de canibalismo en una especie podría tener una ventaja muy valiosa, dado que al poder autorregular su población evitando la extinción cuando hay escasez de presa, podría facilitar su instalación y permanencia en el cultivo. Esto sería aún más relevante si los estadios jóvenes del depredador pudieran sobrevivir alimentándose de la planta, pudiendo así servir como presa para los estadios más avanzados cuando no hay otras presas disponibles (Laycock *et al.*, 2006).

Estudio de las relaciones tróficas entre *M. pygmaeus*, *N. tenuis*, *E. mundus* y *E. pergandiella*

En las comunidades de depredadores, las interacciones entre enemigos naturales (DI y canibalismo) juegan un papel fundamental a la hora de determinar las densidades de los enemigos naturales y su eficacia (Fox, 1975; Polis, 1981; Polis *et al.*, 1989; Rosenheim *et al.*, 1995). Debido a esto es de suma importancia conocer las interacciones tróficas de estos cuatro enemigos naturales que se pueden encontrar de manera natural en cultivos hortícolas, a fin de conocer posibles impedimentos para su correcta gestión en programas de CB.

Utilización de métodos moleculares para el estudio de las relaciones tróficas

El estudio de las relaciones tróficas puede encontrarse con diversas complicaciones. Los depredadores no suelen elegir sus presas aleatoriamente, sino que su elección está condicionada por diversos factores, tales como las cualidades nutricionales de las mismas, su capacidad de huida, la presencia de toxinas en ellas o su distribución, entre otros. En depredadores invertebrados la observación directa de la depredación puede ser complicada. Por otra parte, los experimentos de laboratorio son incapaces de recrear las condiciones de campo, ya que pueden alterar el comportamiento de los depredadores (Symondson, 2002). Estos problemas pueden evitarse realizando un análisis post mórtem de los depredadores recolectados en campo y estudiando las presas ingeridas. Pero en muchos casos los depredadores realizan una digestión extraoral seguida de una succión del contenido licuado de la presa, como es el caso de muchos de los depredadores polífagos utilizados en programas de CIP (Agustí y Gabarra, 2006), lo que imposibilita la identificación de los restos ingeridos. Incluso los depredadores que no son chupadores pueden ingerir presas sin restos sólidos reconocibles (Symondson, 2002). En lo que a estudios de parasitismo se refiere, los métodos utilizados frecuentemente para la identificación del parasitoide son la recolección y análisis mediante disección, o el mantenimiento de los huéspedes bajo condiciones controladas hasta su emergencia, tras la cual los adultos son identificados a nivel morfológico. Pero estos métodos conllevan también inconvenientes. Las especies cercanas filogenéticamente pueden ser difíciles de identificar, y distinguir los estadios inmaduros o huevos puede ser particularmente difícil o imposible. Por otra parte, mantener a los parasitoides bajo condiciones controladas hasta su emergencia conlleva complicaciones que pueden generar una elevada mortalidad e influir en los resultados (Agustí *et al.*, 2005; Greenstone, 2006).

Por estas razones se han desarrollado técnicas moleculares para identificar restos de presa en el tracto digestivo de los depredadores y para detectar el parasitoide dentro del huésped. Éstas pueden clasificarse en dos grandes grupos: técnicas basadas en la detección de proteínas y técnicas basadas en la detección de ADN. Los métodos de detección de proteínas se pueden separar entre métodos electroforéticos (revisado por Solomon *et al.*, 1996) y métodos serológicos basados en la reacción antígeno-

anticuerpo. En estos últimos se utilizan anticuerpos policlonales o monoclonales, que se unen a un epítipo específico (proteína) de la especie que se quiere detectar (Symondson, 2002). Pero la utilización de anticuerpos, aún siendo una herramienta útil, tiene los impedimentos de que su desarrollo es lento, caro y muy laborioso, y sólo detecta ciertos estadios de desarrollo (Agustí, 1998). Debido a ello se desarrolló una nueva alternativa, la detección de ADN.

Detección de ADN de la presa

Esta técnica se basa en la capacidad de la reacción en cadena de la polimerasa (*Polimerase Chain Reaction* (PCR)) para amplificar pequeñas cantidades de ADN (ácido desoxirribonucleico) a partir de una sola copia (McPherson y Møller, 2000). La PCR, mediante el uso de cebadores específicos, puede facilitar el estudio sobre enemigos naturales usados en programas de CB clásico, aumentativo y conservativo. Los cebadores son fragmentos de ADN que se unen complementariamente al ADN de la especie diana (especie cuyo ADN se quiere amplificar), determinando la región que posteriormente será replicada por la enzima Taq DNA polimerasa (McPherson y Møller, 2000). Esta técnica posee diversas ventajas: existen secuencias de ADN conservadas comunes a un amplio rango de organismos, lo cual permite la amplificación de genes de la especie diana mediante el uso de cebadores universales previamente diseñados, como los de Simon *et al.* (1994) o Caterino *et al.* (2000). Otra ventaja de esta técnica es que permite la detección de todos los estadios de desarrollo de la especie diana, obteniéndose además una mayor sensibilidad en la detección. Por otra parte, el diseño de un cebador específico es un proceso más simple que el de un anticuerpo monoclonal (tan utilizados anteriormente), no requiere del mantenimiento de líneas celulares y una vez que las secuencias de los cebadores han sido publicadas, pueden ser sintetizados y utilizados por el investigador (Agustí, 1998; Symondson, 2002).

Para el diseño eficaz de unos cebadores específicos es fundamental elegir una región adecuada. Se han utilizado diferentes regiones con esa finalidad, siendo las dos más usadas en insectos el ADN mitocondrial (mtDNA) y el ADN ribosómico nuclear (rDNA). Dentro de estos, los genes más utilizados del mtDNA son los de las

subunidades I y II de la enzima citocromo oxidasa (COI, COII). Dentro del rDNA, unas de las más usadas son las de las regiones no codificantes 1 y 2 (*Internal Transcribed Spacer-1* y 2 (ITS-1 y ITS-2)). Todos estos genes son multicopia, lo cual aumenta la probabilidad de ser amplificados, hecho determinante cuando se trata de amplificar fragmentos de ADN en digestión (Agustí *et al.*, 2003; King *et al.*, 2008). En el caso del COI y COII porque al encontrarse en el ADN mitocondrial hay múltiples copias por célula; y en el caso del ITS-1 y 2 porque, aunque son secuencias nucleares, se presentan repetidas en tándem (Hurtado *et al.*, 2008).

Una vez que los cebadores de la especie diana han sido diseñados, el proceso para realizar un estudio de campo es el siguiente: tras la recolección de individuos a analizar (depredadores o huéspedes), se extrae el ADN y se analiza mediante PCR utilizando los cebadores específicos (diseñados para detectar el ADN de la especie diana). Posteriormente, se visualizan los productos de la PCR mediante un gel de agarosa. La amplificación pone de manifiesto a la especie diana dentro del depredador o del huésped.

El primer trabajo que aplicó esta técnica al estudio de la depredación en el CIP fue el de Agustí *et al.* (1999), en el cual se desarrollaron marcadores moleculares específicos para el lepidóptero *H. armigera*, permitiendo su detección dentro del mirmido *D. tamaninii*. Posteriormente se publicaron varios estudios realizados en laboratorio (ver revisión de Symondson, 2002), y no fue hasta unos años después cuando se empezó a aplicar al estudio de la depredación en campo (Agustí *et al.*, 2003). En este trabajo se desarrollaron cebadores específicos para tres especies de colémbolos (*Isotoma anglicana* (Lubbock), *Lepidocyrtus cyaneus* Tullberg y *Entomobrya multifasciata* (Tullberg)) con el fin estudiar su depredación por parte de tres especies de arañas linífidas. Con ello se demostró que las arañas tenían una cierta preferencia por *I. anglicana* y que la presencia de colémbolos permitía mantener a los depredadores en condiciones adversas (falta de presa en invierno). Esta técnica resulta muy útil también para determinar el rango de depredadores que se alimenta de una presa diana, identificando especies depredadoras que podrían pasar desapercibidas. Un ejemplo es el trabajo de Zhang *et al.* (2007), en el cual se identifican diversas especies

depredadoras de *B. tabaci* en algodón, incluidas algunas que no habían sido previamente identificadas como depredadoras de esta especie plaga.

Respecto a los estudios de parasitismo, el primer estudio en el que se utilizaron cebadores específicos fue el de Amornsak *et al.* (1998) donde éstos fueron desarrollados para detectar el parasitoide *Trichogramma australicum* Girault dentro de los huevos de dos especies de lepidóptero. En 2005, Agustí *et al.* aplicaron esta técnica al estudio del parasitismo en campo, detectando el nivel de parasitismo y la distribución geográfica en Francia de los taquinidos *Lydella thompsoni* (Herting) y *Pseudoperichaeta nigrolineata* (Walker) parasitoides del lepidóptero *Ostrinia nubilalis* (Hübner). A partir de aquí, la detección de ADN se ha utilizado en otros estudios de campo, tanto para estudiar depredación como parasitismo. Se han estudiado, por ejemplo, el rango de enemigos naturales que depreda una presa, la incidencia del parasitismo (o incluso del multiparasitismo), la instalación de parasitoides en un cultivo o la preferencia por una presa o un huésped (revisados por Symondson (2002), Greenstone (2006), Garipey *et al.* (2007) y King *et al.* (2008)). Así pues, la detección de ADN es una herramienta muy eficaz que permite la obtención de información muy difícil, si no imposible de obtener mediante otros métodos. En esta Tesis se plantea en particular la utilización de estas técnicas como herramienta para estudiar las relaciones tróficas entre *M. pygmaeus*, *N. tenuis*, *E. mundus* y *E. pergandiella*.

Objetivos

El objetivo general de esta tesis es profundizar en el conocimiento de las relaciones tróficas entre los enemigos naturales de las moscas blancas *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*, con la finalidad de determinar si estas interacciones podrían afectar al control que estos enemigos naturales ejercen sobre estas dos plagas en cultivo de tomate. Para desarrollar este objetivo general se han identificado diferentes objetivos parciales:

Capítulo 1:

Determinar mediante la utilización de marcadores moleculares específicos las relaciones tróficas entre los depredadores *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, los parasitoides de las moscas blancas *Eretmocerus mundus* y *Encarsia pergandiella* y las dos especies de moscas blancas presentes en el cultivo.

Capítulo 2:

Determinar con la ayuda de marcadores moleculares específicos la depredación intragremial entre los depredadores *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, y la de éstos con el parasitoide *E. mundus*, así como el efecto de dicha interacción sobre el control de *B. tabaci* en planta de tomate.

Capítulo 3:

Determinar los efectos letales y subletales asociados a la coexistencia conspecífica y heterospecífica de los depredadores *M. pygmaeus* y *N. tenuis* mediante el estudio de su supervivencia, su progenie, su distribución en la planta y la producción de daños por parte de *N. tenuis*.