



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.



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

Discusión general

En esta Tesis se han estudiado las interacciones entre los enemigos naturales de las moscas blancas. En el capítulo 1 se ha estudiado la depredación en campo de *Macrolophus pygmaeus* y *Nesidiocoris tenuis* sobre *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*, y sobre dos de sus parasitoides, *Eretmocerus mundus* y *Encarsia pergandiella*, mediante la utilización de marcadores moleculares. La detección de presa ingerida mediante métodos moleculares permite la identificación de relaciones tróficas imposibles de identificar mediante otros métodos (Kuusk y Agustí, 2008). En esta Tesis se ha demostrado que en condiciones de campo *M. pygmaeus* y *N. tenuis* depredan ambas moscas blancas, así como ambos parasitoides. La detección molecular de presa fue posible en invernaderos donde su abundancia era muy baja, e incluso en los que ni siquiera se observó bajo lupa binocular. Por lo tanto, esta técnica molecular muestra el consumo cualitativo real en condiciones de campo sin subestimar la depredación, a diferencia de los métodos tradicionalmente utilizados en este tipo de estudios. Otros estudios han señalado también la imposibilidad de distinguir mediante métodos tradicionales qué especies de presa son consumidas por cada especie de depredador cuando éstos coexisten en el mismo invernadero (Castañé *et al.*, 2004; Arnó *et al.*, 2005). Sin embargo, utilizando este método molecular, esto ha sido posible.

Por otra parte, el estudio de las relaciones tróficas de las moscas blancas se ha llevado a cabo tradicionalmente en laboratorio, debido a la dificultad para observar estas relaciones directamente en campo. Estos trabajos se basan generalmente en estudios de preferencia bajo condiciones controladas (Arnó *et al.*, 2010a). Respecto a los estudios en campo, éstos se han basado en el conteo bajo lupa binocular de las pupas depredadas encontradas sobre las hojas (Castañé *et al.*, 2004). En esta Tesis se han utilizado por primera vez marcadores moleculares para estudiar estas relaciones tróficas en cultivo de tomate. El conteo de las pupas depredadas es acumulativo, es decir, tiene en cuenta todas las pupas depredadas a lo largo de un periodo indeterminado de tiempo. Sin embargo, mediante este análisis molecular se detecta la depredación que ha sucedido en un periodo determinado y reciente. De hecho, en esta

Tesis no se encontró relación entre el conteo de pupas depredadas en el cultivo y el número de depredadores en los que se detectaron las moscas blancas mediante PCR.

Esta herramienta molecular también es muy útil para el estudio de la depredación sobre los parasitoides en condiciones de campo. La depredación sobre los estadios inmaduros del parasitoide no puede ser analizada ni detectada bajo lupa binocular debido a que sus huevos y larvas jóvenes no dejan ningún rastro de su presencia al ser depredadas. Sin embargo, mediante la utilización de marcadores moleculares pueden identificarse restos de parasitoides ingeridos independientemente de su estadio de desarrollo (Agustí *et al.*, 2005; Garipey *et al.*, 2008). En el capítulo 1 no se observó relación entre la presencia de pupas del parasitoide presentes en el cultivo y su detección molecular en los depredadores, lo que sugiere que éstos consumieron sobre todo estadios inmaduros del parasitoide. El hecho de que se detectase ADN de los parasitoides y de sus huéspedes conjuntamente dentro de los depredadores parece apoyar esta hipótesis.

Mediante el uso de marcadores moleculares se observó que *M. pygmaeus* y *N. tenuis* depredan fundamentalmente moscas blancas, aunque también ejercen una depredación importante sobre los dos parasitoides de éstas. Se observó una mayor voracidad en *N. tenuis* que en *M. pygmaeus*, lo cual coincide con otros trabajos de laboratorio que también señalan mayor depredación por parte de esta especie (Barnadas *et al.*, 1998; Arnó *et al.*, 2009). En el caso de *N. tenuis*, cuanto mayor era la presencia de moscas blancas, tanto pupas como adultos, mayor era la depredación sobre ellas. Sin embargo, en el caso de *M. pygmaeus* esta relación positiva se observó únicamente con la abundancia de adultos de mosca blanca, lo que sugiere que esta especie depredó de forma más intensa adultos que pupas. Esto coincide con los resultados de Montserrat *et al.* (2000b), que al estudiar la depredación de *M. caliginosus* sobre *Frankliniella occidentalis* y *T. vaporariorum*, mostraron su tendencia a depredar presas móviles. Asimismo se observó que en general las hembras depredaban más activamente que los machos, lo cual coincide con los resultados de Urbaneja *et al.* (2009) y parece estar asociado a unos mayores requerimientos energéticos debidos a la reproducción. Sin embargo, el consumo por parte de ninfas y adultos fue similar para todas las presas, a excepción del consumo de *B. tabaci* por parte de *M. pygmaeus*, que fue mayor en

ninfas que en adultos. Esto podría resultar beneficioso para el CB de esta plaga, debido a la mayor presencia de ninfas que de adultos en este cultivo (tabla 1.4).

Cuando en el capítulo 2 de esta Tesis se estudiaron más profundamente las relaciones tróficas entre *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, y las de éstos con el parasitoide *E. mundus*, el análisis molecular de las presas ingeridas mostró que existía una elevada depredación sobre el parasitoide. Aún así, se demostró que estos depredadores no poseen preferencia por las ninfas de mosca blanca parasitadas. Aunque se ha citado que *M. pygmaeus* evita depredar moscas blancas parasitadas por *E. mundus* (Malo, 2009), la ausencia de preferencia observada en esta Tesis parece estar relacionada con la incapacidad de los depredadores para distinguir los estadios jóvenes del parasitoide, lo cual ya ha sido citado anteriormente para otros depredadores (Fazal y Xiang, 2004). Los resultados obtenidos en esta Tesis, tanto mediante el conteo de ninfas parasitadas bajo lupa binocular como mediante detección molecular, mostraron que el parasitismo de *E. mundus* sobre *B. tabaci* no se vio afectado por la presencia de los depredadores.

Por otra parte, se observó que la mortalidad ejercida sobre *B. tabaci* por parte de ambos depredadores y *E. mundus* a la vez, era mayor que aquella ejercida sólo por los dos depredadores, mostrando que el efecto de éstos y del parasitoide es aditivo. Al igual que en esta Tesis, en otros estudios también se ha observado este efecto aditivo de depredadores y parasitoides a pesar la existencia de DI sobre éstos últimos (Colfer y Rosenheim, 2001; Snyder y Ives, 2003; Chacón *et al.*, 2008). Estos resultados van en la misma línea que los obtenidos por Gabarra *et al.* (2006). En dicho estudio se comparó la depredación de *B. tabaci* por parte de *M. pygmaeus* y por parte de *M. caliginosus* y *E. mundus* a la vez en condiciones de semicampo, comprobándose su efecto aditivo. Por todo ello, parece que en condiciones de campo, el efecto de los depredadores y los parasitoides estudiados en esta Tesis resultará aditivo, y por ello beneficioso para el control de las moscas blancas.

Al estudiar la DI entre las ninfas de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* no se observó una mortalidad asociada a esta interacción. Sin embargo, sí se observó una disminución de la depredación sobre *B. tabaci*, mostrándose que su efecto sobre *B. tabaci* no es aditivo. Estos resultados coinciden con los de Perdakis *et al.* (2009), que ya apuntaban en esta dirección al observar que la depredación sobre *T. vaporariorum* era menor al

coexistir ambos depredadores. Nuestros experimentos realizados sobre planta sugieren que las densidades altas de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* podrían disminuir la eficacia del CB de las moscas blancas ejercido por estos dos depredadores.

Por esta razón, en el capítulo 3 de esta Tesis se profundizó en los efectos letales y subletales de las interacciones conspecíficas y heterospecíficas de *M. pygmaeus* y *N. tenuis*. Se observó que las hembras de *N. tenuis* depredaron activamente N2-N3 de *M. pygmaeus*, pero las hembras de *M. pygmaeus* no depredaron N2-N3 de *N. tenuis*. Esto coincide con otros estudios que muestran la existencia de DI entre individuos de diferentes estadios (Polis *et al.*, 1989; Rosenheim *et al.*, 1995; Lucas *et al.*, 1998) y también con los resultados que muestran una mayor voracidad de *N. tenuis*, como se describe en el capítulo 1, así como en Barnadas *et al.* (1998) y en Arnó *et al.* (2009). A pesar de esto, ninguna de las dos especies depredaron N1 ni huevos de la otra especie. Esto podría deberse a ciertos mecanismos por parte de las N1 para evitar a los depredadores, así como a la inserción de los huevos en el tejido vegetal, lo que dificultaría su localización. Cuando coexistieron ninfas de *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, no se produjo una DI ni canibalismo significativos ni sobre foliolo ni sobre planta de tomate (al igual que en el capítulo 2). Esto sugiere un comportamiento poco agresivo de las ninfas hacia individuos de la otra especie o de su propia especie. Sin embargo el resultado fue distinto cuando coexistieron hembras, observándose DI y canibalismo entre ellas, tanto sobre foliolo como sobre planta. En general, este fenómeno estuvo asociado a la ausencia de presa alternativa. Estos resultados muestran que a las densidades de depredadores analizadas en esta Tesis, menores que las densidades poblacionales que han sido observadas en invernaderos y cultivos al aire libre de tomates comerciales (Castañé *et al.*, 2004; Arnó *et al.*, 2006b), puede existir canibalismo y DI entre *M. pygmaeus* y *N. tenuis*. Por esta razón, en condiciones de campo, donde la escasez de presa es frecuente, el canibalismo y la DI pueden ser importantes.

En esta Tesis se observaron además efectos subletales asociados a la interacción intraespecífica e interespecífica de estas dos especies. Cuando aumentó la densidad de hembras se observó una menor descendencia. Este efecto no estuvo asociado a la presencia de la otra especie depredadora, sino simplemente a la elevada densidad de

hembras y a la ausencia de presa. En otros estudios se ha observado que las presas son capaces de detectar la presencia de los depredadores, lo que puede provocar una menor oviposición (Agarwala *et al.*, 2003; Eitam y Blaustein, 2004; Choh *et al.*, 2010) o una menor depredación, como se muestra tanto en el capítulo 2 como en Schmitz *et al.*, (1997) y en Okuyama (2002). En esta Tesis se observó que cuando las hembras disponían de presa alternativa la puesta era mayor. Así pues, estos resultados sugieren que esta menor oviposición a elevadas densidades parece estar provocada por un descenso en la actividad depredadora de las hembras. Este efecto parece ser más acusado en *M. pygmaeus*, ya que la elevada densidad reducía su descendencia incluso en presencia de presa, lo cual sugiere una mejor adaptación de *N. tenuis* a situaciones de elevada densidad. Estos resultados sugieren que una elevada densidad de la propia especie o de ambas a la vez podría conllevar problemas en la instalación de estos móridos en el cultivo.

Nesidiocoris tenuis puede producir importantes daños en el cultivo (Sanchez, 2008; Calvo *et al.*, 2009; Arnó *et al.*, 2010b). En esta Tesis se observaron más daños en la planta cuando coexistieron hembras de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* sin presa disponible. Esto podría ser debido a que las hembras de *N. tenuis*, ante la presencia de *M. pygmaeus*, tienden a agregarse en ciertas partes de la planta, causando más daños debido a las picaduras que realizan repetidamente en ciertos puntos (Raman y Sanjayan, 1984). Perdakis *et al.* (2009) estudiaron la actividad de N5 de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* en placas de Petri, y observaron que *N. tenuis* se desplazaba más activamente en presencia de *M. pygmaeus*. Tal vez al aumentar la superficie (planta de tomate), las hembras de *N. tenuis* se desplacen a otras zonas, permaneciendo en ellas para evitar el encuentro con las hembras de *M. pygmaeus*, lo que explicaría el mayor número de daños cuando *M. pygmaeus* está presente. Este resultado muestra que la coexistencia de estas dos especies podría incrementar los daños que *N. tenuis* produce en el cultivo.

Así pues, en esta Tesis, mediante métodos tradicionales y métodos moleculares, se ha profundizado en las relaciones tróficas entre los depredadores *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, entre éstos y las moscas blancas *B. tabaci* y *T. vaporariorum* y entre éstos y los parasitoides de las moscas blancas, *E. mundus* y *E. pergandiella*. De todas las interacciones tróficas posibles, mostradas en la figura I.1, las observadas en esta Tesis

fueron: la depredación de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* sobre *B. tabaci* y *T. vaporariorum*; el parasitismo de *E. mundus* y *E. pergandiella* sobre *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, respectivamente; la DI entre *M. pygmaeus* y *N. tenuis*; la DI de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* sobre *E. mundus* y *E. pergandiella* y el canibalismo de *M. pygmaeus* y *N. tenuis*. Estos resultados pueden ser de gran utilidad en la aplicación de programas de CB basados en la utilización de estos enemigos naturales. Respecto a la interacción entre los depredadores y parasitoides, parece que aunque *M. pygmaeus* y *N. tenuis* depreden parasitoides, esta depredación no será suficiente para afectar de forma significativa al parasitismo, y así, el efecto de los depredadores y los parasitoides sobre la plaga posiblemente será aditivo. En cuanto a la presencia conjunta de *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, en esta Tesis se ha demostrado que cuando coexisten ambas especies sus poblaciones se ven afectadas, se da una menor depredación sobre la plaga y aumentan los daños que *N. tenuis* causa en la planta de tomate. Asimismo, su descendencia se ve afectada no sólo por la presencia de la otra especie, sino también por un aumento en la densidad de su propia especie, lo que podría afectar a la instalación de estos depredadores en el cultivo. Así pues, mientras que la coexistencia de depredadores y parasitoides no parece perjudicial para el CB, la coexistencia de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* sí puede serlo, pudiendo además incrementar los daños de *N. tenuis* en el cultivo. Por ello, sería recomendable determinar la abundancia de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* al aplicar programas de CIP basados en la conservación y/o la inoculación de estas dos especies, especialmente cuando el nivel de plaga sea bajo. Esto debería tenerse en cuenta tanto al planificar sueltas de uno de los depredadores como al utilizar plantas refugio para favorecer la colonización de estos depredadores.

Conclusiones

- Los marcadores moleculares específicos de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* y de sus parasitoides *E. mundus* y *E. pergandiella* permiten analizar las relaciones tróficas entre los depredadores *M. pygmaeus* y *N. tenuis* y sus presas.
- Los cebadores específicos de los depredadores *M. pygmaeus* y *N. tenuis* permiten analizar la depredación intragremial entre ambas especies depredadoras.
- Los cebadores específicos de *E. mundus* permiten detectar el parasitoide en todos sus estadios de desarrollo (desde larvas de primer estadio hasta pupas) dentro de *B. tabaci*.
- La utilización conjunta de los cebadores específicos de *B. tabaci* y *E. mundus* permite detectar tanto el parasitoide como el huésped cuando los depredadores se han alimentado de ninfas parasitadas.
- Ambos depredadores consumen principalmente moscas blancas, aunque la depredación sobre los parasitoides es elevada incluso a bajas densidades de los mismos.
- La detección molecular de la depredación de *N. tenuis* sobre las moscas blancas está relacionada con la abundancia de los adultos y pupas de éstas. Sin embargo, la depredación de *M. pygmaeus* se relaciona únicamente con la abundancia de los adultos. Esto sugiere una menor depredación de *M. pygmaeus* sobre pupas que sobre adultos de moscas blancas.
- La detección molecular de los parasitoides dentro de los depredadores no está relacionada con la abundancia de pupas de parasitoides en el cultivo, lo que sugiere que depredan estadios más jóvenes y/o adultos del parasitoide.
- La evaluación molecular de la depredación proporciona información sobre la depredación producida en un periodo de tiempo no muy alejado al muestreo, dado que la detección molecular de las presas disminuye rápidamente, a diferencia del recuento de pupas depredadas, que es acumulativo.

- La depredación de ambos depredadores es generalmente mayor en hembras que en machos, mientras que es bastante similar en ninfas y en adultos. Asimismo, también es más elevada en *N. tenuis* que en *M. pygmaeus*.
- No hay depredación intragremial entre las ninfas de *M. pygmaeus* y de *N. tenuis*, pero su coexistencia produce una menor depredación sobre *B. tabaci* debido a que ambos depredadores reducen su consumo.
- Aunque *M. pygmaeus* y *N. tenuis* depredan *E. mundus*, no muestran preferencia por este parasitoide y la depredación no afecta significativamente a los niveles de parasitismo.
- La mortalidad de *B. tabaci* causada conjuntamente por los dos depredadores y el parasitoide es mayor que la causada únicamente por los depredadores, mostrando que el efecto de los dos depredadores y el parasitoide es aditivo.
- Las hembras de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* no depredan los huevos ni las ninfas de primer estadio de la otra especie. Sin embargo las hembras de *N. tenuis* sí depredan las ninfas de segundo-tercer estadio de *M. pygmaeus* en ausencia de presa.
- No se da ni depredación intragremial ni canibalismo entre las ninfas de *M. pygmaeus* y *N. tenuis*, lo que sugiere una baja agresividad de las ninfas.
- Por el contrario, entre las hembras de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* sí existe depredación intragremial y canibalismo a densidades similares a las encontradas en campo, estando en general asociadas a la ausencia de presa alternativa.
- La coexistencia conspecífica y heterospecífica de hembras de *M. pygmaeus* y *N. tenuis* reduce su descendencia cuando su densidad es elevada.
- En presencia de presa alternativa, la descendencia de *N. tenuis* no se ve afectada por la elevada densidad de hembras, lo que sugiere una mejor adaptación de esta especie a densidades elevadas.
- Los daños producidos por las hembras de *N. tenuis* en planta de tomate son mayores cuando coexisten con hembras de *M. pygmaeus*.