



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN FITOSANIDAD - ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**EFFECTOS LETALES Y SUBLETALES DE DOS INSECTICIDAS SOBRE
Dicyphus hesperus (HEMIPTERA: MIRIDAE)**

REYNA VARGAS ABASOLO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

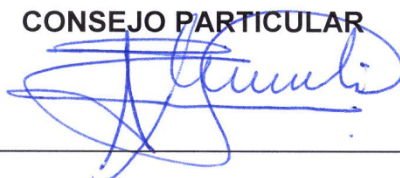
2016

La presente tesis titulada **EFFECTOS LETALES Y SUBLETALES DE DOS INSECTICIDAS SOBRE *Dicyphus hesperus* (HEMIPTERA: MIRIDAE)** realizada por la alumna REYNA VARGAS ABASOLO bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

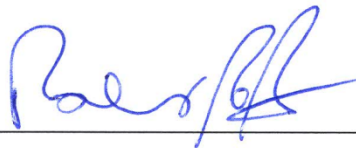
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



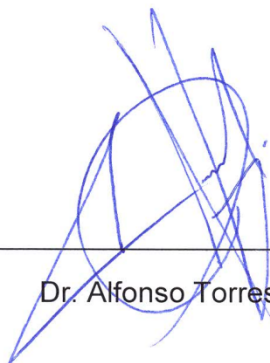
Dr. J. Refugio Lomeli Flores

ASESOR



Dr. Esteban Rodríguez Leyva

ASESOR



Dr. Alfonso Torres Ruíz

Montecillo, Texcoco, Edo. de México, abril de 2016

EFFECTOS LETALES Y SUBLETALES DE DOS INSECTICIDAS SOBRE *Dicyphus hesperus* (HEMIPTERA: MIRIDAE)

Reyna Vargas Abasolo

Colegio de Postgraduados, 2016

RESUMEN

Dicyphus hesperus Knight es un depredador generalista zoofitófago que tiene potencial para el control de insectos plaga en jitomate en condiciones de invernadero. Sin embargo, el particular hábito de este depredador de alimentarse de la planta hospedera podría incrementar el riesgo de mortalidad por las aplicaciones de insecticidas sistémicos. Considerando que no existen reportes del efecto que los insecticidas podrían causar sobre este mírido, se desarrolló la presente investigación con los siguientes objetivos: 1) evaluar el efecto letal de dos insecticidas en aplicaciones directa y residual sobre *D. hesperus* en condiciones de laboratorio; 2) Evaluar el efecto residual de imidacloprid y flonicamid sobre la supervivencia de *D. hesperus* en condiciones de invernadero; 3) evaluar el efecto subletal de estos insecticidas sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad de *D. hesperus*. Imidacloprid fue altamente tóxico para el mírido debido a que causó mortalidad de 100% antes de 24 h. Así mismo, se demostró que es altamente residual (hasta 91 d) en plantas de jitomate en condiciones de invernadero y de acuerdo con la clasificación de la International Organization of Biological Control (IOBC) se clasificó como altamente nocivo. Respecto a los efectos subletales, este producto redujo la fecundidad alrededor del 26% y la longevidad 9.5 d con respecto al testigo. En cambio, los resultados con flonicamid no difirieron del testigo en ningún experimento, y de acuerdo con la IOBC se clasificó como inofensivo. En conclusión, no se recomienda usar imidacloprid en combinación con *D. hesperus*, y se considera que flonicamid si puede ser una opción; no obstante, este resultado no se debe tomar como definitivo pues se necesitan realizar más estudios en condiciones de campo y pruebas en laboratorio que evalúen más parámetros fisiológicos y comportamentales de *D. hesperus* así como otros métodos de exposición a este producto.

Palabras clave. Toxicidad, depredador, zoofitófago, imidacloprid, flonicamid.

LETHAL AND SUBLETHAL EFFECTS OF TWO INSECTICIDES ON *Dicyphus Hesperus* (HEMIPTERA: MIRIDAE)

Reyna Vargas Abasolo

Colegio de Postgraduados, 2016

ABSTRACT

Dicyphus hesperus Knight is a zoophytophagous generalist predator that has potential to control tomato insect pests under greenhouse conditions. However, this predator's particular habit of feeding on the host plant could increase the risk of mortality by applications of systemic insecticides. Whereas there are no reports of effects that insecticides could cause this mirid to suffer, this research was developed with the following objectives: 1) to assess the lethal effect of two insecticides in direct and residual application on *D. hesperus* under laboratory conditions; 2) to evaluate the residual effect of imidacloprid and flonicamid on the survival of *D. hesperus* under greenhouse conditions; 3) to evaluate the sublethal effects of these insecticides on fecundity, fertility and longevity of *D. hesperus*. Imidacloprid was highly toxic to the mirid, as it caused 100% of mortality within 24 hrs. Also, it proved to be highly residual (up to 91 d) in tomato plants under greenhouse and according to the classification of the International Organization of Biological Control (IOBC), it was classified as highly harmful. Regarding the sublethal effects, this product reduced fertility around 26% and longevity by 9.5 d compared to the control group. Instead, the results did not differ between flonicamid and the control group in any experiment. Furthermore, according to IOBC it was classified as harmless. In conclusion, it is not recommended to use imidacloprid in combination with *D. hesperus*, and is considered to flonicamid may be an alternative. However, this result should not be taken as definitive, because laboratory tests and further studies in field conditions are needed to evaluate more physiological and behavioral parameters on *D. hesperus* as well as other methods of exposure to this product.

Key words. Toxicity, predator, zoophytophagous, imidacloprid, flonicamid.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría en sus instalaciones.

A Koppert México por facilitarme material para realizar mis experimentos.

Al Dr. J. Refugio Lomeli Flores por aceptar ser mi consejero, por sus aportes a este trabajo, por su tiempo y por el apoyo brindado durante mi investigación.

Al Dr. Esteban Rodríguez Leyva por el espacio otorgado para la revisión de este trabajo, así como sus valiosas observaciones y sugerencias.

Al Dr. Alfonso Torrez Ruíz por aceptar ser parte de mi consejo particular.

Al M.C. Jorge Zambrano Gutiérrez y al M.C. Lauro Soto Rojas por su apoyo en el análisis estadístico.

Al personal académico del programa de Entomología y Acarología por los conocimientos brindados, los cuales contribuyeron en mi formación profesional.

A la señora Trinidad Lomeli Flores por el apoyo brindado para la realización de mis experimentos.

A mi familia por su apoyo y amor incondicional, pero sobre todo a mi hermana Ime, gente va y viene, pero sé que pase lo que pase siempre nos tendremos la una a la otra.

CONTENIDO

| | |
|--|------|
| RESUMEN..... | iii |
| ABSTRACT..... | iv |
| AGRADECIMIENTOS..... | v |
| CONTENIDO..... | vi |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | viii |
| ÍNDICE DE CUADROS..... | viii |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL..... | 1 |
| 1.1. <i>Dicyphus hesperus</i> | 1 |
| 1.1.1. Distribución..... | 1 |
| 1.1.2. Hospederos..... | 2 |
| 1.1.3. Aspectos biológicos..... | 2 |
| 1.2. Insecticidas y enemigos naturales..... | 3 |
| 1.3. Objetivos..... | 4 |
| 1.3.1. Objetivo general..... | 4 |
| 1.3.2. Objetivos específicos..... | 4 |
| CAPÍTULO 2. TOXICIDAD AGUDA DE DOS INSECTICIDAS SISTÉMICOS SOBRE <i>Dicyphus hesperus</i> (HEMIPTERA: MIRIDAE)..... | 5 |
| 2.1. Resumen..... | 5 |
| 2.2. INTRODUCCIÓN..... | 6 |
| 2.3. MATERIALES Y METODOS..... | 7 |
| 2.3.1. Material biológico..... | 7 |
| 2.3.2. Insecticidas..... | 7 |
| 2.3.3. Exposición residual..... | 7 |
| 2.3.4. Exposición directa..... | 8 |
| 2.3.5. Residualidad de insecticidas en plantas de jitomate en condiciones de invernadero..... | 8 |
| 2.3.6. Análisis estadístico..... | 9 |
| 2.4. RESULTADOS..... | 9 |
| 2.4.1. Exposición residual..... | 9 |

| | |
|---|----|
| 2.4.2. Exposición directa. | 10 |
| 2.4.3. Residualidad de insecticidas en plantas de jitomate en condiciones de invernadero. | 10 |
| 2.5. DISCUSIÓN | 11 |
| 2.5.1. Exposición directa y residual | 11 |
| 2.5.2. Exposición residual en plantas de jitomate en condiciones de invernadero. | 13 |
| CAPÍTULO 3. EFECTOS SUBLETALES DE IMIDACLOPRID Y FLONICAMID EN <i>Dicyphus hesperus</i> (HEMIPTERA: MIRIDAE)..... | 15 |
| 3.1. Resumen..... | 15 |
| 3.2. INTRODUCCIÓN | 15 |
| 3.3. MATERIALES Y MÉTODOS | 17 |
| 3.3.1. Material biológico | 17 |
| 3.3.2. Insecticidas..... | 17 |
| 3.3.3. Efectos subletales. | 18 |
| 3.3.4. Análisis estadístico..... | 19 |
| 3.4. RESULTADOS..... | 19 |
| 3.5. DISCUSIÓN | 22 |
| 4. CONCLUSIONES GENERALES..... | 24 |
| 5. LITERATURA CITADA..... | 25 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Distribución de <i>D. hesperus</i> | 1 |
| Figura 2. Huevos de <i>D. hesperus</i> incrustados en tejido vegetal. | 2 |
| Figura 3. Mortalidad acumulada de <i>D. hesperus</i> en plantas de jitomate en condiciones de invernadero. | 11 |
| Figura 4. Fecundidad media de <i>D. hesperus</i> por hembra por semana (Repetición 1). . | 21 |
| Figura 5. Fecundidad media de <i>D. hesperus</i> por hembra por semana (Repetición 2). . | 21 |
| Figura 6. Supervivencia semanal de hembras adultas de <i>D. hesperus</i> después de ser expuestas a plantas tratadas con insecticidas sistémicos..... | 22 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Mortalidad de <i>D. hesperus</i> en bioensayos en laboratorio..... | 10 |
| Cuadro 2. Efecto subletales de insecticidas sistémicos sobre hembras adultas de <i>Dicyphus hesperus</i> (medias \pm EE). | 20 |

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. *Dicyphus hesperus*

Varias especies de hemípteros depredadores se clasifican como zoofitófagos porque se alimentan, en todas las etapas de desarrollo, tanto de la planta como de insectos fitófagos. Algunas de ellas no causan daños significativos sobre el cultivo objetivo y se han usado como agentes de control biológico en programas de manejo integrado de plagas (McGregor et al. 2000, Castañé et al. 2011). Algunos depredadores zoofitófagos ofrecen la ventaja de establecerse y persistir en el cultivo antes de la colonización de la plaga, y de subsistir en periodos de escasez de presa (Gabarra et al. 2004, Castañé et al. 2011). Las familias de Hemiptera que presentan especies con este régimen alimenticio son Miridae, Anthocoridae, Lygaeidae, Nabidae, Pentatomidae y Reduviidae (Goula y Alomar 1994). En lo que respecta a la familia Miridae se ha puesto especial atención a *Dicyphus hesperus* (Knight), un depredador generalista que ha mostrado ser eficaz para controlar a mosca blanca, psílido de la papa, araña roja y trips en jitomate en condiciones de invernadero (McGregor et al. 1999, Shipp y Wang 2006, Calvo et al. 2016).

1.1.1. Distribución

Dicyphus hesperus es originario de América del norte y se encuentra distribuido en parte de Canadá, Estados Unidos y Baja California Norte, México (Cassis 1984) (Figura 1).



Figura 1. Distribución de *D. hesperus*.

1.1.2. Hospederos

Dicyphus hesperus se asocia con una amplia gama de plantas hospedantes entre los que se encuentran: *Verbascum thasus* (Scrophulariaceae), *Rubus strigosus* (Rosaceae), *Stachys rigida*, *S. albens* (Labiatae), *Arctostaphylos* sp. (Ericaceae), *Phacelina distans* (Llydrophyllaceae), *Ribes* sp. (Grossulariaceae) y *Lycopersicom* sp. (Solanaceae) (Cassis 1984).

1.1.3. Aspectos biológicos

Son insectos chupadores de cuerpo blando que en estado adulto miden aproximadamente 6 mm de largo. Las hembras ovipositan alrededor de 175 huevos durante un promedio de vida de 9 semanas. Los huevos son incrustados dentro del tejido vegetal (Figura 2) (Gillespie et al. 2001), y se ha observado que el tiempo de eclosión es de 13.5 d cuando el mórdo se alimenta de huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (Koppert, datos no publicados).

Posee cinco estadios ninfales y todas las etapas de desarrollo se alimentan de la planta hospedera y de la presa al mismo tiempo (Gillespie et al. 2001). Este depredador tiene la capacidad de moverse libremente sobre la superficie de plantas con tricomas como el jitomate debido a su tarso especializado que les permite desplazarse sin dificultad (Gillespie et al. 2007).



Figura 2. Huevos de *D. hesperus* incrustados en tejido vegetal.

1.2. Insecticidas y enemigos naturales

Los insecticidas tienen un papel importante en la producción de alimentos (Bennett et al. 2013); no obstante, la dependencia excesiva de estas sustancias ha llevado al desarrollo de resistencia de plagas, por lo que se ha optado por otros métodos de control como el uso de agentes de control biológico.

En una propuesta de manejo integrado de plagas (MIP), donde no siempre es posible eliminar el uso de insecticidas, el uso de enemigos naturales con el uso de algún insecticida en casos extremos de plagas puede conducir a un incremento del rendimiento y reducción de plagas sin ningún o poco riesgo al ambiente (Stark et al. 2007). No obstante, hay varios escenarios por los que los insectos benéficos pueden estar expuestos a los insecticidas: (a) cuando entran en contacto directo con estos (por exposición directa o residual), (b) cuando el depredador se alimenta de una presa que consumió alimento contaminado o (c) cuando el huésped muere por efecto del insecticida antes de que los entomófagos completen su desarrollo (Cloyd y Bethke 2011). En el caso de los insecticidas sistémicos que se aplican en las primeras etapas de desarrollo de las plantas, por lo general son persistentes y pueden tener un efecto perjudicial, particularmente en los insectos que se alimentan del polen o del tejido vegetal de la planta (Tillman y Mullinix 2004, Krischik et al. 2007)

Los efectos adversos de los insecticidas sobre los insectos benéficos dependen de varios factores como la concentración del producto, etapa de desarrollo del insecto, especie (depredadores o parasitoides), tiempo de exposición y modo de aplicación del insecticida (Cloyd 2012). Por ello, se requiere de estudios sobre los efectos de estas sustancias en el comportamiento, fisiología y dinámica de poblaciones de enemigos naturales para saber más a detalle sobre cómo interactúan estos compuestos con los insectos benéficos (Desneux et al. 2006).

Debido al impacto de los insecticidas y los efectos negativos en insectos benéficos es necesario el empleo de productos selectivos que controlen a la plaga clave sin afectar a organismos no objetivo, o que causen el menor impacto posible sobre estos. Para hacer frente a esta situación se necesitan estudios, en laboratorio y campo, sobre el uso combinado de insecticidas y enemigos naturales, por lo que el presente trabajo abordó los objetivos que se describen a continuación.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la toxicidad y residualidad de dos insecticidas sobre *D. hesperus* en ensayos de laboratorio e invernadero.

1.3.2. Objetivos específicos

- a) Evaluar el efecto letal de dos insecticidas en aplicación directa y residual sobre *D. hesperus* en condiciones de laboratorio.
- b) Determinar el efecto residual de imidacloprid y flonicamid sobre la supervivencia de *D. hesperus* en plantas de jitomate en condiciones de invernadero.
- c) Evaluar los efectos subletales de estos insecticidas sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad de *D. hesperus*.

CAPÍTULO 2. TOXICIDAD AGUDA DE DOS INSECTICIDAS SISTÉMICOS SOBRE *Dicyphus hesperus* (HEMIPTERA: MIRIDAE)

2.1. Resumen

Se evaluó el efecto letal y residual de dos insecticidas sobre *D. hesperus* en ensayos de laboratorio e invernadero. Para la exposición directa y residual en laboratorio los míridos se expusieron a los tratamientos mediante una torre de Potter, y la mortalidad se evaluó a las 24 y 72 h después de la aplicación. Para el experimento de residualidad en invernadero los insecticidas se aplicaron vía sistémica en plantas de jitomate. Los insectos se liberaron en las plantas tratadas dentro de jaulas en un invernadero. Dos veces por semana se retiraban los insectos vivos y muertos, se introducían nuevos y se hacía el registro de mortalidad, este procedimiento se repitió hasta que la mortalidad fue menor al 25%. Imidacloprid causó mortalidad de 100% antes de 24 h, además se demostró que es altamente residual (hasta 91 d) en plantas de jitomate en invernadero, por lo que de acuerdo con la clasificación de la International Organization of Biological Control (IOBC) fue altamente nocivo; en cambio, flonicamid se ubicó en la categoría 1 (inofensivo) debido a que la mortalidad del mírido fue menor a 13.5% a las 72h, así mismo fue inofensivo al depredador desde el primer día de exposición en plantas tratadas vía sistémica. De acuerdo con lo anterior, se deduce que imidacloprid no es compatible con *D. hesperus*, por lo tanto, no se recomienda hacer liberaciones de este depredador antes de los 70 d de que se aplique dicho insecticida. Por otro lado, flonicamid puede ser considerado como una opción para ser usado en combinación con este enemigo natural; sin embargo, se necesitan más estudios en campo que avalen estos resultados.

Palabras clave. Residualidad, imidacloprid, flonicamid, depredador.

2.2. INTRODUCCIÓN

Dicyphus hesperus Knight (Hemiptera: Miridae) es un depredador generalista zoofitófago que ha mostrado tener potencial para el control de mosca blanca, psílido de la papa, araña roja y trips en jitomate bajo invernadero (McGregor et al. 1999, Shipp y Wang 2006, Calvo et al. 2016). Para completar su desarrollo, este insecto necesita alimentarse de la presa y de la planta hospedera; a pesar de ello, no causa daños significativos sobre ésta ni pérdidas económicas (McGregor et al. 2000). La fitofagia le permite establecerse y persistir en el cultivo antes de la colonización de la plaga, además puede subsistir en periodos de escasez de presa (Castañé et al. 2011); esta cualidad lo convierte en un candidato ideal para ser usado como agente de control biológico; no obstante, este hábito alimenticio lo hace más susceptible a los insecticidas sistémicos empleados para el control de esas plagas.

En los cultivos hortícolas comúnmente se emplean insecticidas sistémicos ya que permanecen activos por un tiempo prolongado en el sistema vascular de la planta. Estos productos han sido la base para el control de plagas por su eficacia y rápida acción (Elbert et al. 1998, Byrne y Toscano 2006, Elbert et al. 2008); sin embargo, la dependencia a ellos puede traer problemas de resistencia, brotes de plagas secundarias, o pueden afectar a artrópodos no objetivo como insectos entomófagos y polinizadores (Foster et al. 2003, Nauen y Denholm 2005).

En una propuesta de manejo integrado de plagas (MIP) es posible el uso combinado del control químico con el biológico. No obstante, los enemigos naturales pueden ser vulnerables a la aplicación de insecticidas, ya que estos pueden causar efectos negativos y afectar su establecimiento en cultivos agrícolas (Delbeke et al. 1997, Studebaker y Kring 2003, Bostanian et al. 2005, Nakahira et al. 2010). Para evaluar tales efectos comúnmente se realizan pruebas de laboratorio o de campo con diferentes métodos de exposición (Croft 1990). Así mismo, es importante considerar el modo de acción del insecticida y los hábitos alimenticios del insecto. En el caso de depredadores zoofitófagos, se debe tomar en cuenta que estos también se alimentan de la savia de la planta, por lo que es importante evaluar qué efectos se producen cuando se alimentan de plantas tratadas con insecticidas sistémicos. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto letal y residual de dos insecticidas

sistémicos empleados comúnmente en el cultivo de jitomate sobre adultos de *D. hesperus* en ensayos de laboratorio e invernadero.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1. Material biológico. Se emplearon hembras de *D. hesperus* de 2 a 6 d de edad las cuales fueron proporcionadas por la empresa Koppert México (Municipio del Marqués, Querétaro), donde se mantiene una cría experimental del mírido desde 2014. Como fuente de alimento se utilizó huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (ENTOFOOD[®]) proporcionados por la misma institución. Así mismo, se utilizaron plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) variedad Floradade[®], las cuales se mantuvieron en condiciones de invernadero en macetas de plástico (19 cm de diámetro x 20 cm de altura) con sustrato de arena de tezontle y peat moss (Growing Mix[®]), en una proporción de 2:1 (V:V). Para la fertilización se empleó una solución nutritiva (Ultrasol[®] 1g/L) que se aplicó mediante un sistema de riego por goteo automatizado.

2.3.2. Insecticidas. Se evaluaron dos formulaciones comerciales de insecticidas de acción sistémica de diferente grupo toxicológico: imidacloprid 350 gL⁻¹, neonicotinoide, (CONFIDOR, Bayer de México) y flonicamid 500 gL⁻¹, piridinocarboxamidas, (BELEAF GS, FMC Agroquímica de México S. de R.L de C.V.). De cada insecticida se utilizó la dosis media recomendada por el fabricante: 870 mLha⁻¹ de imidacloprid y 250 gha⁻¹ de flonicamid. Para preparar las soluciones se tomó como base 400 L de agua.

2.3.3. Exposición residual. Para la realización de este experimento se empleó una torre de Potter para pulverizaciones de precisión (120 cm alto X 40 cm largo X 40 cm ancho). Las aplicaciones se realizaron con una boquilla de cono lleno (1/4J-SS, Spraying systems[®]) a una presión de aire de 40 lb que se proporcionó con un compresor de 40 L (ADIR[®]). Los tratamientos estuvieron constituidos por el insecticida diluido en agua destilada. El bioensayo consistió en colocar cajas Petri de vidrio de 9 cm de diámetro x 1 cm de alto dentro de la cámara de pulverización en donde se les aplicó 3 mL de solución del tratamiento por repetición, se dejaron secar a temperatura ambiente por 30 minutos y posteriormente se introdujeron huevos de *E. kuehniella* y

algodón húmedo sin contaminar, los cuales se emplearon como fuente de alimento y agua. Finalmente en cada dispositivo se introdujeron 10 insectos. La unidad experimental se constituyó de la caja Petri con los insectos. Las cajas se taparon con una tapa de organza (previamente tratada) para permitir la ventilación y se colocaron al azar en una cámara bioclimática a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $60.0\pm 10\%$ HR y un fotoperiodo de 16:8 h luz-oscuridad. La mortalidad se registró a las 24 y 72 h posteriores a la realización del bioensayo. Se consideraron muertos aquellos individuos que no presentaron movimientos o que tuvieron dificultad para desplazarse al ser estimulados con un pincel de cerdas finas (000). Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento más un testigo (agua destilada).

2.3.4. Exposición directa. En este experimento los tratamientos estuvieron constituidos por el insecticida diluido en agua destilada más 1mL/L de adherente Inex[®]. Para facilitar la aplicación y evitar el desplazamiento de los insectos, estos se colocaron en frío (3°C) durante 1 min, enseguida se transfirieron a cajas Petri en grupos de 10 y se introdujeron en la torre de Potter en donde se aplicaron 3 mL de solución por repetición. Posteriormente, las hembras se trasladaron a cajas Petri de plástico de 9 cm de diámetro x 1 cm de alto con la tapa perforada y cubierta con organza para permitir la ventilación. Como fuente de alimento y agua se proporcionó una cinta adhesiva con huevos de *E. kuehniella* y algodón húmedo. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento más un testigo al que se le aplicó agua destilada más adherente. Las cajas se colocaron al azar en una cámara bioclimática con las condiciones que se mencionaron en el apartado anterior. La mortalidad se registró a las 24 y 72 h posteriores a la realización del bioensayo.

Ambos experimentos se realizaron dos veces en el tiempo. Los productos se clasificaron de acuerdo a su toxicidad en base a los criterios establecidos por la Organización Internacional de Control Biológico (IOBC) para bioensayos en laboratorio: 1, inofensivo (<30%); 2, ligeramente nocivo (30-79%); 3, moderadamente nocivo (80-99%); 4, altamente nocivo (>99%) (Hassan 1992).

2.3.5. Residualidad de insecticidas en plantas de jitomate en condiciones de invernadero. Para la realización del bioensayo se utilizaron plántulas de jitomate de 35

d de edad libre de insecticidas. Las plántulas se sumergieron hasta la raíz en la solución de cada tratamiento por 10 s. Cuatro días después se trasplantaron a macetas de plástico. Las macetas con la planta de jitomate tratada se colocaron de manera individual dentro de una jaula de organza (35 cm de largo x 30 cm de ancho x 60 cm de alto), dentro de cada una se liberaron 15 hembras del mírido con ayuda de un aspirador bucal, y como alimento se ofrecieron huevos de *E. kuehniella* sobre una tira de cinta adhesiva (aproximadamente 150 huevos/día). Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento incluyendo al testigo, al que se le aplicó agua corriente. Las jaulas se colocaron aleatoriamente en un invernadero ($21\pm 10^{\circ}\text{C}$; 70 ± 10 HR). La mortalidad se cuantificó después de 24 h; posteriormente, dos veces por semana, se retiraban los móridos vivos y muertos, se hacía el registro de mortalidad y se liberaban nuevos insectos; este procedimiento se repitió hasta que la mortandad fue $< 25\%$. El experimento completo se repitió dos veces en el tiempo.

Cuando concluyó el experimento del tratamiento con imidacloprid se colectaron 500 g de follaje, mismos que se enviaron a analizar a un laboratorio de residuos de plaguicidas, con el fin de conocer que concentración de insecticida estaba presente en la planta cuando la mortalidad del mírido fue menor al 25%.

2.3.6. Análisis estadístico

Los datos de mortalidad se sometieron a la prueba de Shapiro-Wilk y Bartlett ($p\leq 0.05$) para comprobar la normalidad y homogeneidad de varianzas. Debido a que no hubo normalidad, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis y para la comparación de medias se realizó una prueba de Bonferroni. Así mismo, las comparaciones entre repeticiones en el tiempo se hicieron mediante una prueba de U de *Mann-Whitney*. Todos los análisis se realizaron en el programa SAS versión 9.0.

2.4. RESULTADOS

2.4.1. Exposición residual. Los resultados de las evaluaciones de exposición residual en laboratorio mostraron una susceptibilidad diferencial de *D. hesperus* ($\chi^2=52.07$; $df=2$; $P<0.0001$) (Cuadro 1). Imidacloprid causó mortalidad de 100% a las 24 h posteriores al tratamiento. Por otro lado, aunque estadísticamente flonicamid fue

diferente al testigo, la mortalidad acumulada a las 72 h fue de 6.5%, lo que demuestra su baja toxicidad sobre el m^{irido}. Los datos de las repeticiones en el tiempo se analizaron conjuntamente, ya que la mortalidad en todos los tratamientos no fue significativamente diferente a las 24 y 72 h posteriores al experimento (P= 0.1).

2.4.2. Exposición directa. La mortalidad entre repeticiones en el tiempo en todos los tratamientos no fue diferente a las 24 y 72 h posteriores al experimento (P> 0.2), por lo que los datos se analizaron de manera conjunta. *D. hesperus* fue altamente susceptible cuando se expuso a imidacloprid pues este ocasionó mortalidad de 100% antes de 24 h de haber realizado el bioensayo. En cambio, con flonicamid la mortalidad no sobrepasó el 25% y aunque fue diferente al testigo, de acuerdo con la clasificación de la IOBC se considera como inofensivo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Mortalidad de *D. hesperus* en bioensayos en laboratorio.

| Tratamiento | Mortalidad acumulada (%±EE)* | | | |
|----------------|------------------------------|-----------|--------------------|-----------|
| | Exposición residual | | Exposición directa | |
| | 24 h | 72 h | 24 h | 72 h |
| Imidacloprid | 100±0.0a | 100±0.0a | 100±0.0a | 100±0.0a |
| Flonicamid | 3.0±1.05b | 6.5±1.09b | 10.5±2.3b | 13.5±2.6b |
| Testigo | 0.0±0.0c | 0.0±0.0c | 0.0±0.0c | 0.0±0.0c |
| X ² | 51.09 | 52.07 | 51.2 | 52.5 |
| Df | 2 | 2 | 2 | 2 |
| P | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |

*Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí a un nivel de significancia de 0.05.

2.4.3. Residualidad de insecticidas en plantas de jitomate en condiciones de invernadero. Los resultados muestran que hubo diferencias significativas en la residualidad entre tratamientos (X²> 27.5, df= 2, P< 0.0001), además, los periodos de residualidad entre repeticiones en el tiempo se comportaron de manera similar en el testigo y en flonicamid, no así para imidacloprid (P= 0.04), por lo que se presentan los resultados de ambas replicas (Figura 3). El efecto residual de imidacloprid fue mayor en la repetición 1, con una diferencia de 14 d con respecto a la segunda repetición. En cambio, flonicamid no mostró residualidad desde el día uno del establecimiento del experimento, por lo que no mostró actividad tóxica significativa sobre *D. hesperus* con

respecto al testigo. Por otra parte, los resultados del análisis en laboratorio mostraron que la concentración a la que imidacloprid ya no producía efectos adversos sobre el mírido fue de 0.01 ppm.

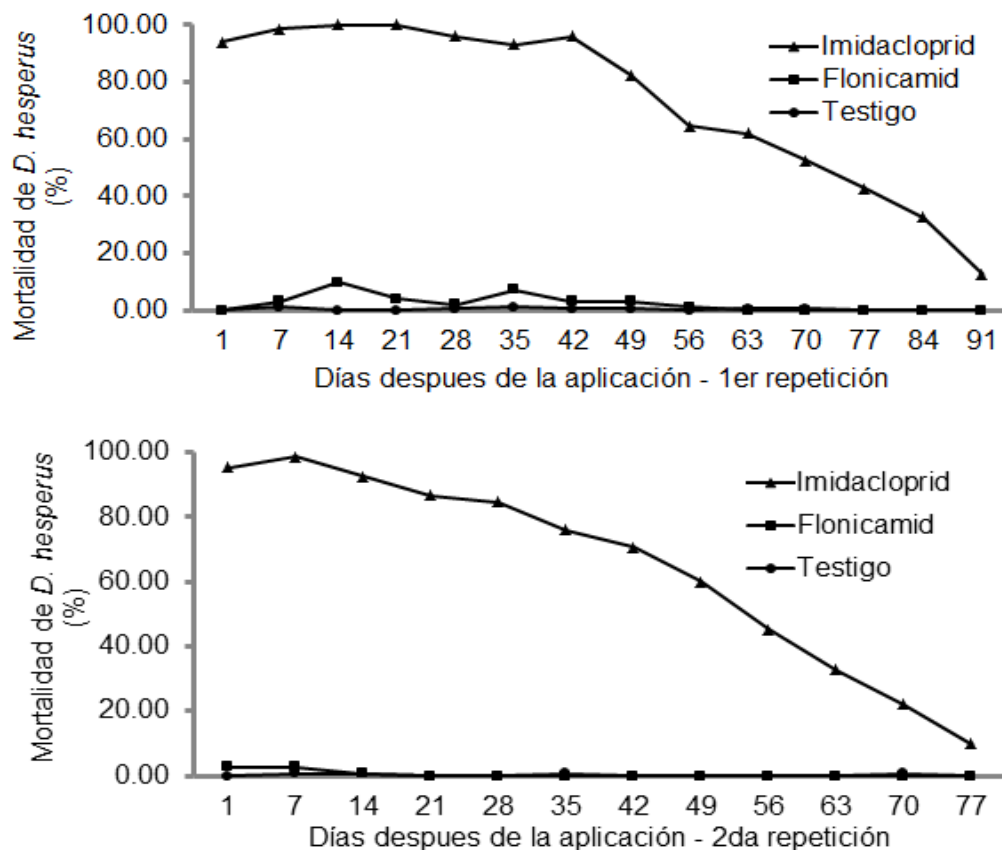


Figura 3. Mortalidad acumulada de *D. hesperus* en plantas de jitomate en condiciones de invernadero.

2.5. DISCUSIÓN

2.5.1. Exposición directa y residual

De acuerdo con la clasificación de la IOBC, imidacloprid se considera como altamente nocivo (Categoría 4) y flonicamid como Inofensivo (Categoría 1) para *D. hesperus* en los bioensayos por contacto directo y residual en laboratorio. En este estudio imidacloprid causó 100% de mortalidad antes de 24 h de haber realizado los experimentos. Estos resultados coinciden con Delbeke et al. (1997), ellos encontraron que este insecticida causó mortalidad severa en ninfas de quinto estadio de *Orius*

laevigatus (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae), de igual forma Roubos et al. (2014) reportaron que fue altamente tóxico a *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae) al exponerlo a superficies tratadas. Así mismo, los residuos de imidacloprid fueron tóxicos para *O. insidiosus* y *Geocoris punctipes* (Say) (Hemiptera: Lygaeidae) cuando se expusieron a hojas de cítricos tratadas con dicho insecticida (Prabhaker et al. 2011). Tiacloprid otro neonicotinoide causó mortalidad de 100% en ninfas de primer instar de *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) después de 72 h de exposición (Martinou et al. 2014). Por otra parte, en este estudio flonicamid fue inofensivo al depredador y en ambos experimentos se comportó de manera similar al testigo. Resultados similares se reportaron por Cloyd y Dickinson (2006) al evaluar el efecto de esta sustancia en otros enemigos naturales. Así mismo, se ha dicho que este insecticida es selectivo para ciertos insectos chupadores como pulgones y mosca blanca (Morita et al. 2007).

La diferencia en el grado de toxicidad de los insecticidas en este estudio sobre *D. hesperus* puede estar relacionada con la cantidad de producto que este absorbe. Leite et al. (1998) y Lemes et al. (2010) han señalado que la tasa de penetración de insecticidas en el tegumento de los insectos está relacionada con el espesor de la cutícula, factores fisiológicos del insecto y composición química del insecticida. Una cutícula con más lípidos promueve mayor afinidad a los insecticidas que presentan menos solubilidad en agua y que son de bajo peso molecular, lo que facilita la penetración de estos en el insecto. Para medir la capacidad de absorción de una sustancia en tejidos grasos se utiliza el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}), el cual es una medida de como una sustancia química puede distribuirse en dos solventes: agua (solvente polar) y octanol (solvente no polar, representa a las grasas) (Leo et al. 1971). La diferencia en toxicidad de imidacloprid (alta) y flonicamid (baja) se pueden explicar con los valores de K_{ow} , debido a que el primero posee un valor de 0.57 y el segundo de -0.24, (Anónimo 2016). Al respecto, Moscardini et al. (2013) reportaron que la mezcla de imidacloprid y spirotetramat afectó la viabilidad de huevos de *O. insidiosus*, mientras que pimetrozina no tuvo efectos adversos, y atribuyeron estos resultados a que los valores de K_{ow} de 2.51 y -0.18 respectivamente, provocaron una alta y baja penetración de estos productos.

Estos bioensayos simulan una ruta de exposición de *D. hesperus* a los insecticidas cuando son aplicados foliarmente, ya que probablemente estos insectos pasan un tiempo considerable caminando sobre la superficie de la planta contaminada en la búsqueda de presa y/o sitios de oviposición (Roubos et al. 2014). No obstante, cuando se trabaja con insectos de hábitos zoofitófagos lo más adecuado es hacer bioensayos que impliquen el uso de plantas; los trabajos que emplean sustratos artificiales aunque proporcionan información útil no deben ser el único medio para evaluar efectos de insecticidas sobre estos depredadores (Studebaker y Kring 2003).

2.5.2. Exposición residual en plantas de jitomate en condiciones de invernadero.

La residualidad de Imidacloprid fue de 70 a 91 días, en cambio flonicamid prácticamente no tuvo efecto residual sobre la supervivencia de *D. hesperus*. En otro trabajo, tiametoxam (neonicotinoide) mostró un efecto residual sobre la supervivencia de ninfas de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) hasta 52 d posteriores a la aplicación (Torres y Ruberson 2004). Así mismo, Nakahira et al. (2011) reportaron que la supervivencia de *Pilophorus typicus* Distant (Hemiptera: Miridae) se vio afectada 35 d al exponerlo a plantas tratadas vía sistémica con cuatro neonicotinoides. Figuls et al. (1999) dijeron que imidacloprid fue inofensivo para *Macrolophus caliginosus* (Wagner) y *Dyciphus tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae) 21 y 30 d después de aplicarlo vía foliar. Como se puede apreciar, los efectos de este insecticida varían entre especies y por el método de aplicación que se emplee. En lo que respecta a flonicamid, se ha reportado que no causa efectos negativos en enemigos naturales (Colomer et al. 2011), lo cual coincide con nuestros resultados.

La prolongada residualidad de imidacloprid se puede deber a la cubierta plástica del invernadero en el que se desarrolló el experimento, ya que esta pudo interferir en la transmisión de los rayos UV y en consecuencia la degradación de este producto fue lenta. Pues en trabajos anteriores se ha descrito que la velocidad de disipación de los insecticidas en las plantas depende de factores ambientales como la radiación ultravioleta (UV) (Smirle et al. 2004, Santis et al. 2012). Así mismo, se ha dicho que los rayos UV pueden acelerar la descomposición de los neonicotinoides (Maienfisch et al. 2001, Tomlin 2009).

La alta y baja residualidad de imidacloprid y flonicamid encontrada en este trabajo, puede depender de la cantidad de insecticida absorbido por la planta, y esto a la vez puede estar relacionado con la cantidad de producto retenido en el suelo. Para medir como un compuesto es adsorbido por el suelo se utiliza el coeficiente adsorción de carbono orgánico (Koc) (Candela 2003). Así, a mayor valor de koc, el producto se fija más al suelo por lo que poca cantidad es lixiviada. Imidacloprid tiene un valor de Koc de 225 (Anónimo 2015) y flonicamid 1.6 (Anónimo 2016). El primero tiene menor capacidad de moverse en el suelo respecto al segundo, por ello, es probable que las plantas tuvieron mayor oportunidad de absorberlo y debido a ello tuvo una alta residualidad, lo cual afectó más tiempo la supervivencia del mírido; el valor de Koc de flonicamid es bajo lo que indica que es altamente móvil en el suelo y se lixivia con mayor rapidez, lo que hace suponer que debido a la movilidad de este producto, la planta tuvo menor oportunidad de absorberlo, de ahí que en este estudio no afectó la supervivencia de *D. hesperus*.

La concentración final de imidacloprid en plantas de jitomate cuando este redujo la mortalidad del mírido a menos del 25% fue de 0.01 ppm. Esto indica que para poder aplicar esta sustancia en combinación con *D. hesperus* tendría que ser una concentración similar a esta; no obstante, concentraciones de esa magnitud normalmente no tienen efectos negativos sobre una plaga; por lo que este resultado solo es un indicativo más de que imidacloprid no es compatible con este depredador.

Flonicamid parece ser un producto que tiene características para ser usado para el control de plagas en combinación con *D. hesperus*, aunque se requieren de más estudios que respalden este hecho. En este trabajo se demostró que los insecticidas aplicados vía sistémica pueden afectar negativamente a *D. hesperus*. Por ello, el conocimiento de la toxicidad residual de estas sustancias es importante para saber el momento oportuno para hacer liberaciones de enemigos naturales sin afectar su establecimiento dentro del cultivo.

CAPÍTULO 3. EFECTOS SUBLETALES DE IMIDACLOPRID Y FLONICAMID EN *Dicyphus hesperus* (HEMIPTERA: MIRIDAE)

3.1. Resumen

Se evaluaron los efectos subletales de dos insecticidas sistémicos (imidacloprid y flonicamid) sobre hembras de 2 a 6 d de edad de *Dicyphus hesperus*, un depredador generalista que tiene potencial para el control de plagas en hortalizas en condiciones de invernadero. Los efectos subletales de longevidad, fecundidad y fertilidad de huevos se evaluaron cuando la mortalidad del mívrido fue menor al 25% cuando se expuso a plantas tratadas vía sistémica. Se encontró que las hembras tratadas con imidacloprid tuvieron una reducción de la fecundidad de poco más de 23% y vivieron 9.5 días menos que las del testigo; en fertilidad no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. De acuerdo con este estudio, imidacloprid afectó la fecundidad y longevidad de este depredador y flonicamid no tuvo efectos adversos en esos parámetros. Aunque se deben realizar evaluaciones adicionales en los parámetros fisiológicos y comportamentales de *D. hesperus*, así como otros métodos de exposición al producto, se considera que flonicamid puede ser un candidato a incluirse en el manejo integrado de plagas cuando se use este depredador.

Palabras clave. Insecticida, fecundidad, fertilidad, longevidad, mívrido.

3.2. INTRODUCCIÓN

Los insecticidas sistémicos son ampliamente utilizados para el control de plagas que se alimentan del floema de las plantas como mosca blanca, psílido de la papa, pulgones y trips (Elbert et al. 1998, Elbert et al. 2008). La alta capacidad reproductiva y rápida diseminación de estas obliga a los productores a aplicar estos agroquímicos en forma excesiva para evitar pérdidas económicas y recuperar su inversión. Los neonicotinoides son algunos de los insecticidas más eficaces para el control de estas plagas (Tomizawa y Casida 2005). Entre ellos, imidacloprid se ha colocado dentro de los principales insecticidas empleados por ser de acción sistémica y traslaminar, tener amplio espectro de plagas objetivo y larga actividad residual (Bai et al. 1991, Elbert et al. 2008). Otro producto que está causando impacto por su eficacia es flonicamid, un

insecticida de reciente introducción al mercado, de acción sistémica y traslaminar (Colomer et al. 2010, Morita et al. 2007) que pertenece al grupo de las piridinocarboxamidas y representa una nueva clase química para el control de estas plagas. No obstante, los beneficios que pueden ofrecer estos productos pueden ser temporales, ya que su uso constante podría generar resistencia en las plagas y dificultar su manejo (Nakahira et al. 2002, Foster et al. 2003, Denholm et al. 2002, Nauen y Denholm 2005). Por ello es necesaria la implementación de otros métodos de control, como es el uso de agentes de control biológico; sin embargo, estos pueden resultar afectados negativamente por los agroquímicos, por lo que se ha optado por hacer estudios para evaluar la compatibilidad de enemigos naturales con insecticidas.

Las evaluaciones más comunes consisten en hacer comparaciones de toxicidad aguda (Torres y Ruberson 2004, Stark et al. 2007, Prabhaker et al. 2011), las cuales se miden en un periodo de 24 a 96 h. No obstante, los insectos que sobreviven a estas exposiciones pueden resultar afectados en sus parámetros biológicos: fisiológicos o comportamentales, tales como alteraciones en la fecundidad, fertilidad o longevidad del insecto (Haynes 1988, Dong-Soon et al. 2006, Desneux et al. 2007, Cloyd 2012). Al respecto, Moscardini et al. (2013) reportaron que la mezcla de imidacloprid con spirotretamat redujo la viabilidad de huevos de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). Imidacloprid también redujo el 90% de longevidad de *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae) (Adán et al. 2011). En otro estudio Carbofuran e imidacloprid afectaron la longevidad y fecundidad de *Hippodamia undecimnotata* (Coleoptera: Coccinellidae) (Papachristos y Milonas 2008).

Los ejemplos anteriores demuestran que además de evaluar la toxicidad aguda es importante determinar los efectos subletales para un análisis completo del impacto de los insecticidas sobre organismos benéficos, ya que estos estudios ofrecen una herramienta para la selección adecuada de insecticidas en un plan de manejo de plagas donde se involucre el uso de agentes de control biológico con insecticidas. Ante esta situación, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos subletales de dos insecticidas sistémicos sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad de *D. hesperus*.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1. Material biológico. Se emplearon hembras de *Dicyphus hesperus* de 2 a 6 d de edad que se mantienen en una cría experimental desde 2014 sobre plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill); como fuente de alimento se utilizaron huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (ENTOFOOD®). El material fue proporcionado por la empresa Koppert México ubicada en municipio del Marqués, Querétaro.

3.3.2. Insecticidas. Se evaluaron dos formulaciones comerciales de insecticidas de acción sistémica: imidacloprid 350 gL⁻¹, (CONFIDOR, Bayer de México) y flonicamid 500 gL⁻¹, (BELEAF GS, FMC Agroquímica de México S. de R.L de C.V.). De cada insecticida se utilizó la dosis media recomendada por el fabricante: 870 mLha⁻¹ de imidacloprid y 250 gha⁻¹ de flonicamid, y para preparar las soluciones se tomó como base 400 L de agua.

La evaluación de efectos subletales se estudió sobre hembras adultas de *D. hesperus* obtenidas de poblaciones que fueron sometidas a plantas tratadas con insecticidas. En el presente estudio se partió de la idea de que cuando un insecticida causa mortalidad menor al 25% se considera inofensivo de acuerdo con la clasificación de la IOBC para ensayos en invernadero (Hassan 1992). Por ello, los bioensayos se realizaron sobre poblaciones que sufrieron menos del 25% de mortalidad después de estar expuestas por 72 h a plantas tratadas con los insecticidas estudiados.

Para evaluar los efectos subletales de imidacloprid y flonicamid aplicados vía sistémica se realizó un experimento previo. Para la realización del bioensayo se utilizó plántula de jitomate de 35 días de edad libre de insecticidas. Las plántulas se sumergieron hasta la raíz en la solución de cada tratamiento por 10 s. Cuatro días después se trasplantaron a macetas de plástico con sustrato de arena de tezontle y peat moss (Growing Mix®) en una proporción de 2:1 (V:V). Las macetas con la planta de jitomate tratada se colocaron de manera individual dentro de una jaula de organza (35 cm de largo x 30 cm de ancho x 60 cm de alto), en cada jaula se liberaron 15 hembras del mírido con ayuda de un aspirador bucal, y como alimento se ofreció

huevos de *E. kuehniella* sobre una tira de cinta adhesiva (aproximadamente 150 huevos/día). Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento incluyendo al testigo, al que se le aplicó agua corriente. Las jaulas se colocaron aleatoriamente en un invernadero. La mortalidad se cuantificó después de 24 h; posteriormente, dos veces por semana se retiraban los móridos vivos y muertos, se hacía el registro de mortalidad y se liberaban nuevos insectos; este procedimiento se repitió hasta que la mortandad fue < 25%.

3.3.3. Efectos subletales. Este experimento se realizó después de determinar el periodo de residualidad de los insecticidas en invernadero. Flonicamid no tuvo efectos residuales sobre la supervivencia del mórido desde el día 1 del bioensayo; en cambio, imidacloprid fue residual hasta después de 91 d (Vargas-Abasolo, ver capítulo 2). Para evaluar los efectos subletales se necesitaba sincronizar todos tratamientos, por ello, cuando la mortalidad de *D. hesperus* fue menor al 25% en las plantas tratadas con imidacloprid, inmediatamente se aplicó flonicamid en plantas de jitomate sin tratar y se realizó el mismo procedimiento que se empleó con imidacloprid. Una vez que se tenían constituidas todas las unidades experimentales se liberaron insectos en todos los tratamientos. Los móridos que sobrevivieron después de tres días de exposición se utilizaron para evaluar los parámetros de longevidad, fecundidad y fertilidad.

Para evaluar los efectos subletales, la arena experimental consistió de un vaso de plástico transparente de polipropileno (Reyma[®]) del número 10, con la base perforada y cubierta con organza para permitir la ventilación, el vaso se colocó en forma invertida y se introdujo un foliolo de jitomate. El pedicelo del foliolo se sumergió dentro de un vial de cristal (6 cm de largo x 1 cm de diámetro) con agua corriente para mantener la turgencia. Con un aspirador bucal en cada dispositivo se colocó una hembra tratada y un macho sin tratar, como fuente de alimento se ofreció huevos de *E. kuehniella* sobre una tira de cinta adhesiva. El foliolo sirvió como sustrato de oviposición y fuente de agua para el mórido. Se realizaron 20 repeticiones por tratamiento, todos los dispositivos se colocaron aleatoriamente en una cámara bioclimática a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $60\pm 10\%$ HR y un fotoperiodo de 16:8 h luz-oscuridad. Los experimentos se repitieron dos veces en el tiempo.

Para determinar fecundidad, los folíolos de jitomate se revisaron diariamente en un microscopio estereoscópico para observar huevos ovipositados. Cada tercer día el folíolo era sustituido por otro, así mismo, cuando moría un macho se sustituía por otro. Este parámetro se observó hasta que las hembras morían. Para evaluar fertilidad, cada semana se seleccionaron al azar 30 huevos por tratamiento procurando tomar folíolos con huevos de la mayoría de las repeticiones, y se conservaron en la cámara bioclimática hasta la emergencia de las ninfas. Este procedimiento se realizó durante 10 semanas pues después de ese tiempo la fecundidad ya era menor al 10% en todos los tratamientos. Finalmente la longevidad se determinó cuantificando el número de sobrevivientes hasta que murió la última hembra.

3.3.4. Análisis estadístico

Los datos se sometieron a la prueba de Shapiro-Wilk y Bartlett ($p < 0.05$) para comprobar la normalidad y homogeneidad de varianzas. Una vez que se comprobó la normalidad se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA); adicionalmente cuando se presentaron diferencias se realizó una separación de medias con Tukey a una significancia de 0.05. Todos los análisis se realizaron en el programa SAS versión 9.0.

3.4. RESULTADOS

No hubo diferencias significativas en los parámetros de fertilidad y longevidad entre repeticiones en el tiempo, por lo que los datos se analizaron de manera conjunta; no así en fecundidad, por ello los datos de esta variable se presentan por separado (Cuadro 2).

Las hembras de *D. hesperus* mostraron una respuesta diferencial a los insecticidas. La diferencia entre tratamientos fue significativa en el parámetro de fecundidad ($F_{2, 57} = 9.48$, $P < 0.001$; $F_{2, 57} = 6.71$, $P = 0.002$) y longevidad ($F_{2, 117} = 4.99$; $P = 0.008$), pero no en fertilidad ($F_{2, 27} = 0.85$; $P = 0.43$) (Cuadro 2). Imidacloprid fue el insecticida que causó los efectos subletales más severos, pues redujo la fecundidad 23.7 y 25.8% y la longevidad en 9.5 d en relación al testigo. Por otro lado, los resultados con flonicamid no fueron diferentes al testigo.

Cuadro 2. Efecto subletales de insecticidas sistémicos sobre hembras adultas de *Dicyphus hesperus* (medias \pm EE) *.

| Parámetro | | Imidacloprid | Flonicamid | Testigo |
|--|-----------------------------------|------------------|-------------------|------------------|
| Fertilidad ((% de eclosión) | $F_{2,27} = 0.85$ $P = 0.43$ | 74.6 \pm 1.8a | 76.3 \pm 2.2a | 71.8 \pm 3.1a |
| Longevidad (promedio de vida en días) | $F_{2,117} = 4.99$ $P = 0.008$ | 72.2 \pm 2.3b | 82.1 \pm 2.4a | 81.7 \pm 2.7a |
| Fecundidad total (número de huevos/hembra) | | | | |
| | | Imidacloprid | Flonicamid | Testigo |
| Repetición 1 | $F_{2,57} = 9.48$ $P < 0.001$ | 141.1 \pm 8.1b | 175.4 \pm 6.5a | 185.0 \pm 8.2a |
| Repetición 2 | $F_{2,57} = 6.71$ $P = 0.002$ | 117.9 \pm 4.7b | 152.6 \pm 5.07a | 159.1 \pm 13a |

*Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí.

Al realizar un análisis semanal de los efectos de los insecticidas sobre la fecundidad de *D. hesperus* se observó un comportamiento similar entre tratamientos en las repeticiones en el tiempo. Imidacloprid fue el tratamiento que disminuyó más la fecundidad en casi todas las semanas con respecto al testigo, mientras que las hembras expuestas a flonicamid prácticamente en todas las semanas tuvieron un comportamiento similar con este último (Figura 4 y 5). Como ya se mencionó anteriormente, en el parámetro de fertilidad total los tratamientos no difirieron significativamente ($P > 0.05$), y tampoco se observaron diferencias significativas en este parámetro al ser analizado por semana. La supervivencia de los insectos tratados con imidacloprid declinó más rápido en comparación con el testigo. En 10 semanas el porcentaje de supervivencia de imidacloprid fue menor al 60%, mientras que en el testigo y flonicamid la supervivencia aún era superior al 70% (Figura 6).

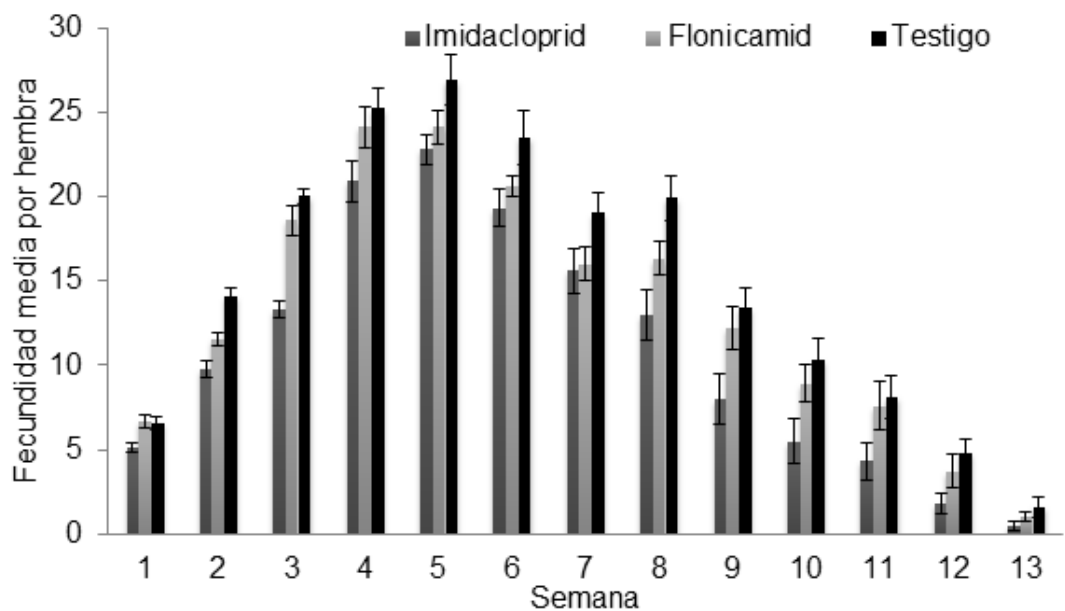


Figura 4. Fecundidad media de *D. hesperus* por hembra por semana (Repetición 1).

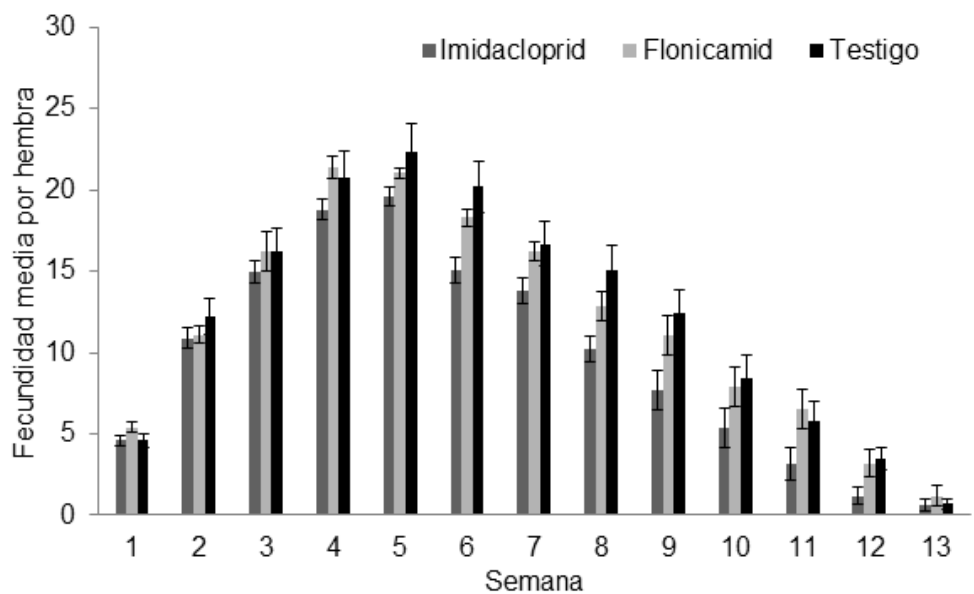


Figura 5. Fecundidad media de *D. hesperus* por hembra por semana (Repetición 2).

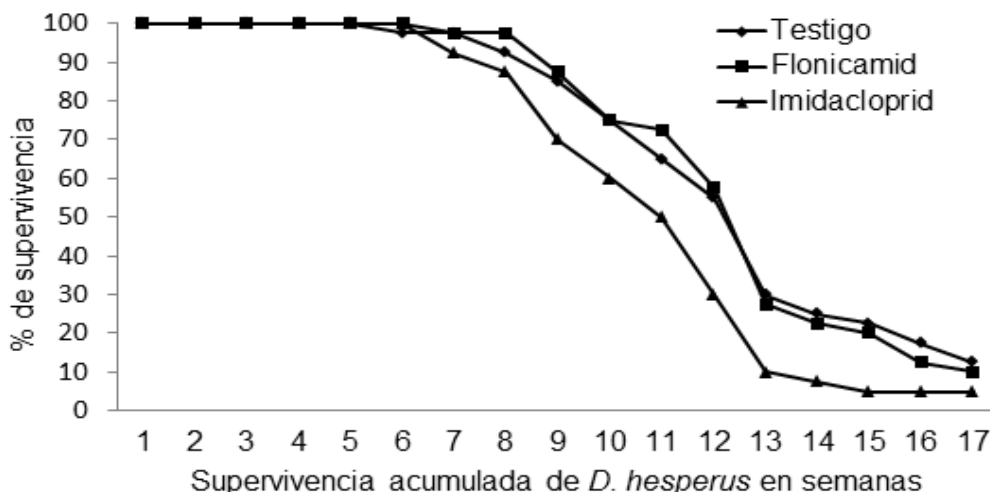


Figura 6. Supervivencia semanal de hembras adultas de *D. hesperus* después de ser expuestas a plantas tratadas con insecticidas sistémicos.

3.5. DISCUSIÓN

Imidacloprid redujo la fecundidad 23.7% (repetición 1) y 25.8% (repetición 2) con respecto al testigo. Hasta el momento no hay estudios detallados de efectos subletales de insecticidas aplicados vía sistémica sobre *D. hesperus*; sin embargo, en otros trabajos sobre hemípteros se ha descrito que este compuesto también redujo la fecundidad (Shi et al. 2011, Qu et al. 2015). La reducción de la fecundidad en las hembras de *D. hesperus* tratadas con este insecticida puede ser consecuencia de una toxicidad retardada. La alimentación sobre plantas tratadas con este producto pudo haber provocado una acumulación de este insecticida en el insecto, lo cual podría explicar algunos efectos deletéreos en el tiempo (Boina et al. 2009).

En este estudio no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en la fertilidad de *D. hesperus*. En lo que concierne a longevidad, esta se redujo 9.5 d con respecto al testigo en las hembras expuestas a plantas con imidacloprid. En otro estudio también se encontró que imidacloprid y tiametoxam afectó la supervivencia de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) (Torres et al. 2002). No obstante, Tan et al. (2012) no encontraron efectos adversos en la longevidad de hembras de *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) (Hemiptera: Miridae) al someterlo a una

aplicación tópica con este producto. Estas diferencias en los resultados se pueden deber al método de exposición que se empleó.

Aunque se sostiene que los insecticidas neonicotinoides aplicados vía sistémica como el imidacloprid, por lo general tienen menor impacto en los enemigos naturales (Prabhaker et al. 2011), el régimen alimenticio de algunos depredadores puede exponerlos más a los insecticidas sistémicos (Morrison et al 1979, Hough-Goldstein y Whalen 1993). *D. hesperus* al ser un depredador zoofitófago se alimenta de la planta hospedera independientemente de la disponibilidad de presas, por lo que está más expuesto a efectos adversos provocados por estos insecticidas y estos resultados así lo demostraron.

Por otra parte, flonicamid no afectó negativamente los parámetros evaluados sobre *D. hesperus*. Los resultados obtenidos en este estudio son indicativos de la baja toxicidad de este producto sobre el mírido, y tal vez se puede señalar que es poco tóxico contra enemigos naturales como se demostró en este y otros trabajos (Jansen et al. 2011, Colomer et al. 2011).

En este trabajo se corrobora que además de los efectos letales es importante evaluar los efectos subletales para determinar la selectividad de un insecticida. De acuerdo con nuestros resultados, imidacloprid afectó la fecundidad y en menor grado la longevidad de este depredador; mientras que flonicamid no tuvo efectos adversos en los parámetros evaluados, por lo que se considera que al menos este insecticida puede ser empleado en situaciones de riesgo de altas poblaciones de algunas plagas en combinación con este mírido en un manejo integrado de plagas. Sin embargo, se necesitan más estudios que evalúen más parámetros fisiológicos y comportamentales de *D. hesperus* así como otros métodos de exposición de este producto.

4. CONCLUSIONES GENERALES

Imidacloprid resultó altamente tóxico en los bioensayos de exposición directa y residual en laboratorio. Así mismo, se demostró que es altamente residual (hasta 91 d) en plantas de jitomate en condiciones de invernadero afectando negativamente la supervivencia de *D. hesperus*. Por otra parte, flonicamid fue inofensivo al mírido y no tuvo efectos residuales adversos sobre este. Con respecto a los efectos subletales, imidacloprid redujo la fecundidad 23.7 y 25.8% y la longevidad 9.5 d con respecto al testigo. En cambio los resultados con flonicamid no fueron diferentes a este último.

El uso de insecticidas selectivos que permiten la supervivencia de enemigos naturales es importante en programas de MIP en donde se emplea el uso combinado de estos dos métodos de control. Nuestros resultados establecieron algunos riesgos de usar dos insecticidas sistémicos sobre *D. hesperus*. Por lo que de acuerdo a ello, no se recomienda usar imidacloprid en combinación con este mírido y se considera que flonicamid si puede ser una opción; no obstante, este resultado no se debe tomar como definitivo pues se necesitan realizar más estudios en condiciones de campo y pruebas en laboratorio que evalúen más parámetros fisiológicos y comportamentales de *D. hesperus* así como otros métodos de exposición de este producto.

5. LITERATURA CITADA

- Adán, A., E. Viñuela, P. Bengochea, F. Budia, P. Del Estal, P. Aguados, and P. Medina. 2011. Lethal and sublethal toxicity of fipronil and imidacloprid on *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *J. Econ. Entomol.* 10: 1541-1549.
- Anonymous. 2016. University of Hertfordshire. Footprint. Pesticide properties database. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm> (Consultado: 01/02/16).
- Anónimo. 2015. Bayer CropScience. Ficha de datos de seguridad (Confidor 20 L).
- Bai, D., S.C.R. Lummis, W. Leicht, H. Breer, and D.B. Sattelle. 1991. Actions of imidacloprid and a related nitromethylene on cholinergic receptors of an identified insect motor neurone. *Pestic Sci.* 33: 197-204.
- Bennett, A. B., C. Chi-Ham, G. Barrows, S. Sexton, and D. Zilberman. 2013. Agricultural biotechnology: Economic, environment, ethics and the future. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 38: 249-279.
- Boina, D. J., E. O. Onagbola, M. Salyani, and L. L. Stelinski. 2009. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Manag. Sci.* 65: 870-877.
- Bostanian, J. N., J. M. Hardman, E. Ventard, and G. Racette. 2005. The intrinsic toxicity of several neonicotinoids to *Lygus lineolaris* and *Hyaliodes vitripennis*, a phytophagous and a predacious mirid. *Pest Manag. Sci.* 61: 991-996.
- Byrne, J. F., and N. C. Toscano. 2006. Uptake and persistence of imidacloprid in grapevines treated by chemigation. *Crop Prot.* 25: 831-834.
- Calvo, F. J., A. Torres-Ruíz, J. C Velázquez-González, E. Rodríguez-Leyva and J. R. Lomeli-Flores. 2016. Evaluation of *Dicyphus hesperus* for biological control of sweet potato whitefly and potato psyllid on greenhouse tomato. *BioControl in press*. DOI 10.1007/s10526-016-9719-2.
- Candela, L. 2003. El transporte de los plaguicidas a las aguas subterráneas. *Boletín Geológico y Minero.* 14: 409-417.

- Cassis, G. 1984. A systematic of the subfamily Dicyphinae (Heteroptera: Miridae). thesis doctoral. Oregon State University. 389 p.
- Castañé, C., J. Arnó, R. Gabarra, and O. Alomar. 2011. Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biol. Control* 59: 22-29.
- Cloyd, R. A., and A. Dickinson. 2006. Effect of insecticides on Mealybug Destroyer (Coleoptera: Coccinellidae) and parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), natural enemies of citrus Mealybug (Homoptera: Pseudococcidae). *J. Econ. Entomol.* 99: 1596-1604.
- Cloyd, R. A., and A. Bethke. 2011. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. *Pest Manag. Sci.* 67: 2-9.
- Cloyd, R. 2012. Indirect Effects of Pesticides on Natural Enemies, *Pesticides – Advances in Chemical and Botanical Pesticides*, Dr. R.P. Soundararajan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0680-7, DOI: 10.5772/48649. (Consultado: 3/01/16) <http://www.intechopen.com/books/pesticides-advances-in-chemical-and-botanical-pesticides/indirect-effects-of-pesticides-on-natural-enemies>.
- Colomer, I., P. Aguado, P. Medina, R. M. Heredia, A. Feredes, J. E. Belda, and E. Viñuela. 2011. Field trial measuring the compatibility of methoxyfenozide and flonicamid with *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae) and *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) in a commercial pepper greenhouse. *Pest Manag. Sci.* 67: 1237-1244
- Croft, B. A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. A while-interscience, New York.
- Delbeke, F., P. Vercruyse, L. Tirry, P. de Clerq, and D. Degheele. 1997. Toxicity of diflubenzuron, pyriproxyfen, imidacloprid and diafenthiuron to the predatory bug *Orius laevigatus* (Het.: Anthocoridae). *Entomophaga* 42: 349-358.

- Denholm, I., G. Devine, S. Foster, K. Gorman, and R. Nauen. 2002. Incidence and management of insecticide resistance to neonicotinoids. *Crop Prot.* 1: 161-168.
- Desneux, N., R. Denoyelle, and L. Kaiser. 2006. A multistep bioassay to assess the effect of the deltamethrin on the parasitic wasp *Aphidius ervi*. *Chemosphere* 65: 1696-1706.
- Desneux, N., A. Decourtye, and Jean-Marie Delpuesch. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- Dong-Soon, K., D. J. Brooks, and H. Riedl. 2006. Lethal and sublethal effects of abamectin, spinosad, methoxyfenozide and acetamiprid on the predaceous plant bug *Deraeocoris brevis* in the laboratory. *BioControl* 51: 465-484.
- Elbert, A., R. Nauen, and W. Leicht. 1998. Imidacloprid, a novel chloronicotinyl insecticide, biological activity and agricultural importance, in: *Insecticides with novel modes of action, mechanism and application*. New York. 50-73.
- Elbert, A., M. Hass, B. Springer, W. Thielert, and R. Nauen. 2008. Mini-review applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Manag. Sci.* 64: 1099-1105.
- Figuls, M., C. Castañé, and R. Gabarra. 1999. Residual toxicity of some insecticides on the predatory bugs *Dicyphus tamaninii* and *Macrolophus caliginosus*. *Biocontrol.* 44: 89-98.
- Foster, S. P., I. Denholm, and R. Thompson. 2003. Variation in response to neonicotinoid insecticides in peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Pest Manag. Sci.* 59: 166-173.
- Gabarra, R., O. Alomar, C. Castañé, C. Goula, and M. R. Albajes. 2004. Movement of the greenhouse whitefly and its predators between in and outside of mediterranean greenhouses. *Agr. Ecosys. Environ.* 102: 341-348.
- Gillespie, D., A. Sanchez, R. McGregor, and D. Quiring. 2001. *Dicyphus Hesperus* – life history, biology and application in tomato greenhouses. Technical report # 166. Pacific Agri – Food Centre (Agassiz), Agriculture and Agri – Food Canada.

- Gillespie, D., R. McGregor, J. A. Sanchez, S. Vanlaerhoen, D. Quiring, B. Roitberg, R. Footitt, M. Schwartz, and L. Shipp. 2007. An endemic omnivorous predator for control of greenhouse pests. CAB International. Biological control: a global perspective.
- Goula, M., y O. Alomar. 1994. Míridos (Heteroptera: Miridae) de interés en el control integrado de plagas de tomate. Guía de identificación. Bol. San. Veg. Plagas 20: 131-143.
- Hassan, S. A. 1992. Guideline for the evaluation of side effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. IOBC/WPRS Working Group: Pestic and Bene Organism Bulletin. 3: 18-39.
- Haynes, K. F. 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. Ann. Rev. Entomol. 33: 149-168.
- Hough-Goldstein, J., and J. Whalen. 1993. Inundative release of predatory stink bugs for control of Colorado potato beetle. Biol. Control. 3:343-347.
- Jansen, J. P., T. Defrance, and A. M. Wamier. 2011. Side effects of flonicamide and pymetrozine on five aphid natural enemy species. BioControl. 56: 759-770.
- Krischik, V. A., A. L. Landmark, and G. E. Heimpel, 2007. Soil-applied imidacloprid is translocated to nectar and kills nectar-feeding *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae). Environ. Entomol. 36: 1238-1245.
- Leite, G. L. D., M. Picango, R. N. C. Guedes, and M. R. Gusmão. 1998. Selectivity of insecticides with and without mineral oil to *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae), a predator of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Ceiba 39: 191-194.
- Lemes, F. F., L. Bacci, and M. S. Fernandes. 2010. Impact and selectivity of insecticides to predators and parasitods. EntomoBrasilis. 3: 01-10.
- Leo, A., C. Hansch, and D. Elkins. 1971. Partition coefficients and their uses. Chem. Rev. 71: 525-616.
- Maienfish, P., M. Angst, F. Brandl, W. Fischer, D. Hofer, H. Kayser, W. Kobel, A. Rindlisbacher, R. Senn, A. Steinemann, and H. Widmer. 2001. Chemistry and

- biology of thiamethoxam; a second generation neonicotinoid. *Pest Manag. Sci.* 57: 906-913.
- Martinou, A. F., N. Seraphides, and M. C. Stavrinides. 2014. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. *Chemosphere* 96: 167-173.
- McGregor, R., D. R. Gillespie, D. M. Quiring, and M. R. J. Foisy. 1999. Potential use of *Dicyphus hesperus* Knight (Heteroptera: Miridae) for biological control of pests of greenhouse tomatoes. *Biol. Control* 16: 104-110.
- McGregor, R., D. R. Gillespie, C. G. Park, D. M. Quiring, and M. R. J. Foisy. 2000. Leaves or fruit? The potential for damage to tomato fruits by the omnivorous predator, *Dicyphus hesperus*. *Entomol. Exp. Appl.* 95: 325-328.
- Morita, M., T. Ueda, T. Yoneda, T. Koyanagi, and T. Haga. 2007. Flonicamid, a novel insecticide with a rapid inhibitory effect on aphid feeding. *Pest Manag. Sci.* 63: 969-973.
- Morrison, D. E., J. R. Bradley, and J. W. VanDuyn. 1979. Populations of corn earworm and associated predators after applications of certain soil-applied pesticides to soybeans. *J. Econ. Entomol.* 72: 97-100.
- Moscardini, V. F., P. G. Da Costa, G. C. Andrade, R. O. Lopes, J. M. Braga, and F. S. Fonseca. 2013. Toxicity and sublethal effects of seven insecticides to eggs of the flower bug *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). *Chemosphere.* 92: 490-496.
- Nakahira, K., R. Kashitant, M. Tomoda, R. Kodama, K. Ito, S. Yamanaka, M. Momoshita, R. Nauen, N. Stumpf, and A. Elber. 2002. Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 58: 868-875.
- Nakahira, K., R. Kashitani, M. Tomoda, R. Kodama, K. Ito, S. Yamanaka, M. Monoshita, and R. Arakawa. 2010. Side effects of vegetable pesticides on a predatory mirid bug, *Pilophorus typicus* Distant (Heteroptera: Miridae). *Appl. Entomol. Zool.* 45: 239-243.
- Nakahira, K., R. Kashitani, M. Tomoda, R. Kodama, K. Ito, S. Yamanaka, M. Monoshita, R. Arakawa, and M. Takagi. 2011. Systemic nicotinoid toxicity against the

- predatory mirid *Pilophorus typicus*: Residual side effect and evidence for plant sucking. J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 56: 53-55.
- Nauen, R., and I. Denholm. 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. Arch. Ins. Biochem. Physiol. 58: 200-215.
- Papachristos, D. P., and P. G. Milonas. 2008. Adverse effects of soil applied insecticides on the predatory coccinellid *Hipodamia undecimnotata* (Coleoptera: Coccinellidae). Biol. Control 47: 77-81.
- Prabhaker, N., S. J. Castle, S. E. Naranjo, N. C. Toscano, and J. G. Morse. 2011. Compatibility of two systemic neonicotinoids, imidacloprid and thiamethoxam, with various natural enemies of agricultural pests. J. Econ. Entomol. 104: 773-781.
- Qu, Y., D. Xiao, J. Li, Z. Chen, A. Biondi, N. Desneux, X. Gao, and D. Song. 2015. Sublethal and hormesis effects of imidacloprid on the soybean aphid *Aphis glycines*. Ecotoxicol. 24: 479-487.
- Roubos, C. R., C. Rodriguez-Saona, R. Holdcraft, K. S. Mason, and R. Isaacs. 2014. Relative toxicity and residual activity of insecticides used in blueberry pest management: mortality of natural enemies. J. Econ. Entomol. 107: 277-285.
- Santis, L. E., L. A. Hernández, A. M. Martínez, J. Campos, J. I. Figueroa, P. Lobit, J. M. Chavarrieta, E. Viñuela, G. Smagghe, and S. Pineda. 2012. Long-term foliar persistence and efficacy of spinosad against beet armyworm under greenhouse conditions. Pest Manag. Sci. 68: 914-921.
- SAS (SAS Institute). 2010. Language guide for personal computers release 9.0 edition. SAS Institute Cary N C. USA, SAS® 1028 p.
- Shi, X., L. Jiang, H.Y. Wang, K. Qiao, D. Wang, and K. Wang. 2011. Toxicities and sublethal effects of seven neonicotinoid insecticides on survival, growth and reproduction of imidacloprid-resistant cotton aphid, *Aphis gossypii*. Pest Manag. Sci. 67: 1528-1533.
- Shipp, J. L., and K. Wang. 2006. Evaluation of *Dicyphus hesperus* (Heteroptera: Miridae) for biological control of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on greenhouse tomato. J. Econ. Entomol. 99: 414-220.

- Smirle, M. J., D. T. Lowery, and C. L. Zurowski. 2004. Chemical residues and bioactivity of tebufenozide applied to apple foliage. *Pest Manag. Sci.* 60: 1137-1142.
- Stark, J. D., R. Vargas, and J. E. Banks. 2007. Incorporating ecologically relevant measures of pesticides effects for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. *J. Econ. Entomol.* 100: 1027-1032.
- Studebaker, G. E. and T. J. Kring. 2003. Effects of insecticides on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae), measured by field, greenhouse and petri dish bioassays. *Fla. Entomol.* 86: 178-185.
- Tan, Y., A. Biondi, N. Desneux, and Xi-Wu Gao. 2012. Assessment of physiological sublethal effects of imidacloprid on the mirid bug *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür). *Ecotoxicol.* 21: 1989-1997.
- Tillman, P. G., and B. G. Mullinix. 2004. Comparison of susceptibility of pest *Euschistus servus* and predator *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae) to selected insecticides. *J. Econ. Entomol.* 97: 800-806.
- Tomizawa, M., and J. E. Casida. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45: 247-268.
- Tomlin, C. D. S. 2009. *The pesticide manual*. 15th ed. British Crop Production Council, Alton, United Kingdom.
- Torres, J. B., S. A. Silva-Torres, M. R. Oliveira, and J. Ferreira. 2002. Compatibilidade de insecticidas e acaricidas com o percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em algodoeiro. *Neotrop. Entomol.* 31: 311-317.
- Torres, J. B., and J. R. Ruberson. 2004. Toxicity of thiamethoxam and imidacloprid to *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs associated to aphid and whitefly control in cotton. *Neotrop. Entomol.* 33: 099-106.