



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**TOXICIDAD DE INSECTICIDAS SOBRE
TRES ESPECIES DE ENEMIGOS
NATURALES DE *Melanaphis sacchari*
(HEMIPTERA: APHIDIDAE)**

ISIS ANMERANY JAIMEZ RUIZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

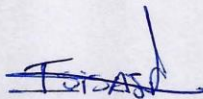
2019

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe ISIS ANMERANY JAIMEZ RUIZ, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor DR. J. REFUGIO LOMELI FLORES, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis TOXICIDAD DE INSECTICIDAS SOBRE TRES ESPECIES DE ENEMIGOS NATURALES DE MELANAPHIS SACCHARI (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 05 de FEBRERO de 2019



Firma del
Alumno (a)



Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **TOXICIDAD DE INSECTICIDAS SOBRE TRES ESPECIES DE ENEMIGOS NATURALES DE *Melanaphis sacchari* (HEMIPTERA: APHIDIDAE)** realizada por la alumna: **ISIS ANMERANY JAIMEZ RUIZ** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

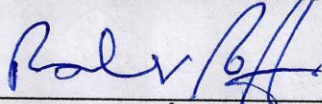
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



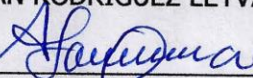
DR. J. REFUGIO LOMELI FLORES

ASESOR



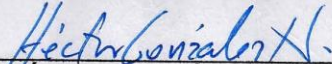
DR. ESTEBAN RODRÍGUEZ LEYVA

ASESORA



DRA. LAURA DELIA ORTEGA ARENAS

ASESOR



DR. HÉCTOR GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

ASESOR



DR. RAFAEL BUJANOS MUÑIZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2019

**TOXICIDAD DE INSECTICIDAS SOBRE TRES ESPECIES DE ENEMIGOS
NATURALES DE *Melanaphis sacchari* (HEMIPTERA: APHIDIDAE)**

Isis Anmerany Jaimez Ruiz, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

Melanaphis sacchari es una plaga reportada en sorgo desde noviembre de 2013 en México, y ocasionó pérdidas del 30 al 100% en la producción de este cultivo. Por disposición oficial, el manejo para esta plaga contempla el control cultural, legal, genético, biológico y como última táctica el control químico, usando insecticidas efectivos para su control. No obstante, se desconoce el efecto de estos productos sobre la fauna benéfica. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto letal y residual de los insecticidas recomendados contra *M. sacchari* sobre tres de sus enemigos naturales. Se realizaron bioensayos para evaluar la toxicidad y persistencia a través de la exposición directa, superficie y alimento contaminado sobre *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea* y *Aphidius colemani*. También, se realizaron pruebas en campo del efecto de insecticidas sobre poblaciones de *M. sacchari* y sus enemigos naturales. Finalmente, se determinaron las concentraciones letales 50 (CL₅₀) a tres insecticidas recomendados para el control de *M. sacchari*, en poblaciones de *H. convergens* susceptibles y de campo. El insecticida biorracional (jabón agrícola) no fue eficiente en el control de *M. sacchari*, como si fueron los insecticidas convencionales. De acuerdo a la clasificación de la Organización Internacional de Control Biológico (IOBC), imidacloprid resultó ser tóxico y persistente para las tres especies de enemigos naturales en condiciones de laboratorio, y ligeramente persistente en semicampo. Sulfoxaflor, flupyradifurone y spirotetramat fueron inofensivos a moderadamente tóxicos (mortalidad < 70%), y fueron de no persistentes a ligeramente persistentes en condiciones de laboratorio y semicampo, respectivamente. El sulfoxaflor (CL₅₀ = 316.24 ppm) y flupyradifurone (CL₅₀ = 231.15 ppm) tuvieron baja toxicidad sobre *H. convergens*, por debajo de la CL₅₀ reportada para la plaga, por lo que son los insecticidas que pudieran ser adecuados para el control de ésta. Adicionalmente, es factible su uso dentro del manejo integrado de *M. sacchari* por ser efectivos en su control y de bajo impacto para los enemigos naturales.

Palabras clave: Sulfoxaflor, flupyradifurone, *Hippodamia convergens*, *Aphidius* sp.

**TOXICITY OF INSECTICIDES ON THREE SPECIES OF NATURAL ENEMIES OF
Melanaphis sacchari (HEMIPTERA: APHIDIDAE).**

Isis Anmerany Jaimez Ruiz, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

Melanaphis sacchari is a pest of sorghum which was reported in Mexico since November 2013, and it has caused production losses from 30 to 100%. By official disposition the management of this pest considers the cultural, legal, genetic, and biological control and, as corrective tactic, the chemical control using effective insecticides. Nevertheless, its effect on beneficial fauna is unknown. Therefore, the objective of this work was to establish the lethal and residual effects of the insecticides recommended against *M. sacchari* on three of its natural enemies. Different bioassays were conducted to evaluate the toxicity and persistence through direct exposure, surface and food contaminated on *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea* and *Aphidius colemani*. Also, some field tests of effect of insecticides on populations of *M. sacchari* and natural enemies were made. Finally, the toxicity and lethal concentration values (LC₅₀) were determined for three insecticides, recommended for the control of the pest, in susceptible and field populations of *H. convergens*. The biorational insecticide (agricultural soap) showed no efficiency in the control of *M. sacchari*, contrary to conventional insecticides. According to the International Organization of Biological Control (IOBC) categories, imidacloprid was toxic and persistent for the three species of natural enemies in laboratory conditions, and slightly persistent in semifield. Sulfoxaflor, flupyradifurone and spirotetramat were harmless to moderately toxic (mortality < 70%), and were non-persistent to slightly persistent under laboratory and semifield conditions, respectively. Sulfoxaflor (LC₅₀ = 316.24 ppm) and flupyradifurone (LC₅₀ = 231.15 ppm) presented low toxicity on *H. convergens*, lower than that reported by the pest; consequently, these are insecticides that can be used within the integrated management of *M. sacchari*, because they are effective in controlling the pest and have low impact on its natural enemies.

Keywords: Sulfoxaflor, flupyradifurone, *Hippodamia convergens*, *Aphidius* sp.

DEDICATORIA

A mis padres,
por darme la oportunidad de estudiar,
por su apoyo incondicional,
por ser mis guías y sabios consejeros

A mi amado esposo,
por ser mi compañía en este camino,
por entender mi pasión,
por inspirarme cada día a ser mejor,
por su apoyo y amor

A ti que te sueño desde hace tiempo,
te deseo y construyo un mejor futuro

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados y al Posgrado en Fitosanidad por permitirme realizar mis estudios de doctorado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado para la realización del Doctorado en Ciencias.

Al Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario (CONACOFI) y Fundación Guanajuato Produce por financiar los experimentos de la tesis doctoral.

A Koppert México y Organismos Benéficos para la Agricultura (OBA) por facilitar el material biológico de parasitoides y depredadores.

Al Dr. J. Refugio Lomeli Flores por ser mi guía en este proceso de formación, por creer en mí, por darme la oportunidad de difundir mis conocimientos del uso de insecticidas sobre plagas y enemigos naturales en congresos, talleres o pláticas, por permitirme ser creativa e idear metodologías y por incentivar a ser una persona más crítica.

Al Dr. Esteban Rodríguez Leyva por sus consejos, por su apoyo durante todo el proceso de mi doctorado, por ser un acertado crítico en mis experimentos y manuscritos.

A la Dra. Laura Delia Ortega Arenas por sus adecuadas observaciones en los manuscritos, por su apoyo en la realización del bioensayo de susceptibilidad de insecticidas sobre una especie de depredador y por sus pláticas académicas pero también personales.

Al Dr. Héctor González Hernández por sus comentarios siempre positivos que me hacían creer que podía continuar creciendo en este ámbito profesional, por su tiempo y observaciones en los manuscritos.

Al Dr. Rafael Bujanos Muñiz por su apoyo aún en la distancia, por ser un sabio consejero en la aplicación de insecticidas, por sus atinadas observaciones en los manuscritos.

A los Dres. Ariel W. Guzmán Franco, Javier Suárez Espinoza y al M.C. Víctor H. García Méndez por las asesorías y colaboración en el análisis estadístico.

Al Dr. Ángel Lagunes Tejeda, por su colaboración como sinodal.

Al personal de campo del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por facilitar las labores de deshierbe, surcado, riego, entre otras labores.

Al Dr. Jorge Zambrano Gutiérrez por su asesoría y colaboración al momento de la siembra de sorgo y seguimiento en su desarrollo, así como su apoyo en el establecimiento de la cría del pulgón.

Al Dr. Juan M. Vanegas Rico y al M.C. Oscar E. Hernández Torres por su apoyo en las aplicaciones y evaluación de insecticidas sobre el pulgón y sus enemigos naturales en Guanajuato. A la M.C. Susana E. Rodríguez Rodríguez por su apoyo en la siembra de sorgo.

A Trinidad Lomeli Flores y a los compañeros del laboratorio de Control Biológico por su colaboración y apoyo en cualquier momento del desarrollo de la tesis, así como sus consejos sobre manuscritos y exposiciones para congresos.

A la Sra. Silvia Colín por su apoyo y facilidad en los trámites, así como al personal del Posgrado en Fitosanidad y Campus Montecillo por su colaboración en cualquier proceso administrativo.

A los laboratorios de Fitosanidad y Generales del Campus Montecillo, por facilitar sus espacios para estilizar suelo, material de vidrio, obtener agua destilada, entre otros.

A los productores en Guanajuato, quienes dieron la oportunidad de realizar los experimentos en sus predios

A esta tierra mexicana por acogerme y darme mejores oportunidades.

A mis amigos de México y Venezuela, por su tiempo, cariño, comprensión y amistad.

A mi familia, que a pesar de la distancia siempre me han apoyado con sus palabras de aliento y amor. Espero impulsar a mis primos y sobrinos a estudiar y ser profesionales con grandes valores y talento.

A mis suegros por sus consejos, amor y apoyo incondicional.

A mi esposo por ayudarme en algunos experimentos, por ser mí soporte en este proceso académico y por su eterno amor.

A mis padres por ser gran apoyo en todo momento, por creer en mis capacidades e impulsarme a ser una mejor profesional, por todo su amor.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
LISTA DE CUADROS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS.....	8
CAPÍTULO I: TOXICITY OF INSECTICIDES ON NATURAL ENEMIES OF <i>Melanaphis sacchari</i> (HEMIPTERA: APHIDIDAE) UNDER THREE EXPOSURE METHODS	9
Abstract	9
1.1 Introduction	10
1.2 Materials and methods	12
1.2.1 Insects	12
1.2.2 Insecticides	12
1.2.3 Toxicity of insecticides on predators	13
<i>Direct exposure</i>	13
<i>Ingestion exposure</i>	14
<i>Exposure to contaminated surfaces</i>	14
1.2.4 Toxicity of insecticides on the parasitoid	15
<i>Direct exposure</i>	15
<i>Ingestion exposure</i>	15
<i>Exposure to contaminated surfaces</i>	16
1.2.5 Statistical analysis	16
1.3 Results	17
1.3.1 Toxicity of insecticides in predators	17
1.3.2 Toxicity of insecticides on the parasitoid	20
1.4 Discussion	21

1.4.1 Toxicity of insecticides in predators	21
1.4.2 Toxicity of insecticides on the parasitoid	23
1.5 Conclusions.....	25
CAPÍTULO II: TOXICIDAD RESIDUAL DE INSECTICIDAS SOBRE TRES ESPECIES DE ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A <i>Melanaphis sacchari</i> (HEMIPTERA: APHIDIDAE)	26
Resumen	26
2.1 Introducción.....	27
2.2. Materiales y métodos.....	28
2.2.1 Insectos	28
2.2.2 Insecticidas.....	28
2.2.3 Toxicidad residual en laboratorio.....	29
2.2.4 Toxicidad residual en semi-campo	30
2.2.5 Análisis estadístico	31
2.3 Resultados.....	32
2.4 Discusión.....	36
2.5 Conclusiones.....	39
CAPÍTULO III: ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE INSECTICIDAS EN CAMPO SOBRE EL PULGÓN AMARILLO DEL SORGO Y SUS ENEMIGOS NATURALES....	41
Resumen	41
3.1 Introducción.....	42
3.2 Materiales y Métodos	43
3.2.1 Bioensayo	43
3.2.2 Análisis estadístico	45
3.3 Resultados.....	45
3.4 Discusión.....	51
3.5 Conclusiones.....	55
CAPÍTULO IV: LÍNEAS BASE DE SUSCEPTIBILIDAD DE <i>Hippodamia convergens</i> (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) A INSECTICIDAS UTILIZADOS PARA EL MANEJO DE <i>Melanaphis sacchari</i> (HEMIPTERA: APHIDIDAE).....	56
Resumen.	56

4.1 Introducción	57
4.2 Materiales y Métodos	59
4.2.1 Insectos	59
4.2.2 Insecticidas	59
4.2.3 Bioensayos	60
4.2.4 Análisis	61
4.3 Resultados	61
4.4 Discusión	64
4.5 Conclusiones	67
CONCLUSIONES GENERALES	68
LITERATURA CITADA	70

LISTA DE CUADROS

Table 1.1. Insecticides and concentrations evaluated on adults of natural enemies of <i>Melanaphis sacchari</i>	13
Cuadro 2.1. Insecticidas y concentraciones evaluados en adultos de enemigos naturales de <i>Melanaphis sacchari</i>	29
Cuadro 3.1. Insecticidas y concentraciones evaluados en poblaciones del pulgón amarillo del sorgo y sus enemigos naturales.....	44
Cuadro 3.2. Enemigos naturales asociados a <i>Melanaphis sacchari</i> en Guanajuato.	46
Cuadro 4.1. Porcentaje de mortalidad causada por tres insecticidas en adultos de una población susceptible de <i>Hippodamia convergens</i>	63
Cuadro 4.2. Toxicidad de insecticidas en adultos de <i>Hippodamia convergens</i> procedentes de una colonia susceptible, a las 24 h después de la exposición	64
Cuadro 4.3. Comparación de concentraciones recomendadas (Quijano <i>et al.</i> , 2017) y concentraciones letales (CL ₉₀) de sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid entre poblaciones de <i>Melanaphis sacchari</i> (Jones <i>et al.</i> , 2017) y su depredador <i>Hippodamia convergens</i>	66

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estructura de neonicotinoides, butenolides y sulfoxaminas..... 7
- Figure 1.1. Mean mortality ($\% \pm$ standard error) of adults of *Hippodamia convergens* at 24, 48 and 72 h post-application by direct exposure (A), ingestion (B) and contaminated surface (C) with insecticides. Means with different letters within each of the graphs are statistically different (Tukey-Kramer $\alpha = 0.05$)..... 18
- Figure 1.2. Mean mortality ($\% \pm$ standard error) of adults of *Cycloneda sanguinea* at 24, 48 and 72 h post-application by direct exposure (A), ingestion (B) and contaminated surface (C) with insecticides. Means with different letters within each of the graphs are statistically different (Tukey-Kramer $\alpha = 0.05$). 19
- Figure 1.3. Mean mortality ($\% \pm$ standard error) of adults of *Aphidius colemani* at 24 h post-application by direct exposure (A), ingestion (B) and contaminated surface (C) with insecticides. Means with different letters within each of the graphs are statistically different (Tukey-Kramer $\alpha = 0.05$)..... 20
- Figura 2.1. Toxicidad y persistencia de insecticidas sobre *Cycloneda sanguinea* en condiciones de laboratorio. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas. La flecha indica el momento en que el insecticida es inofensivo para la especie de enemigo natural. La línea punteada es el porcentaje de mortalidad a la que el insecticida se considera inofensivo. 33
- Figura 2.2. Toxicidad y persistencia de insecticidas sobre *Hippodamia convergens* en (A) condiciones de laboratorio y (B) semi-campo. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas. Flecha indica momento en el insecticida es inofensivo para la especie de enemigo natural. La línea punteada es el porcentaje de mortalidad a la que el insecticida se considera inofensivo. 34
- Figura 2.3. Toxicidad y persistencia de insecticidas sobre *Aphidius colemani* en (A) condiciones de laboratorio y (B) semi-campo. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas. Flecha indica momento en el insecticida es inofensivo para la especie de enemigo natural. La línea punteada es el porcentaje de mortalidad a la que el insecticida se considera inofensivo. 35

Figura 3.1. Promedio de *Melanaphis sacchari* por hoja de sorgo. AA: antes de la aplicación, 1DDA: 1 día después de la aplicación, 7DDA: 7 días después de la aplicación. A: Pénjamo, B: Abasolo, C: Celaya-Cortazar. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de evaluación. Línea punteada representa el umbral (50 individuos por hoja). 47

Figura 3.2. Promedio de *Aphidius platensis* por planta. AA: antes de la aplicación, 1DDA: 1 día después de la aplicación, 7DDA: 7 días después de la aplicación. A: Pénjamo, B: Abasolo, C: Celaya-Cortazar. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de evaluación 48

Figura 3.3. Promedio de *Hippodamia convergens* por planta. AA: antes de la aplicación, 1DDA: 1 día después de la aplicación, 7DDA: 7 días después de la aplicación. A: Pénjamo, B: Abasolo, C: Celaya-Cortazar. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de evaluación. 50

INTRODUCCIÓN GENERAL

El cultivo de sorgo para obtener grano o forraje representa el segundo cereal en importancia en cuanto a superficie sembrada en México, con alrededor de 1.5 millones de hectáreas destinadas en 2018 (SIAP, 2019). Recientemente, la producción de sorgo se vio afectada por la presencia de una plaga, *Melanaphis sacchari* (Zehntner), que se reportó por primera vez en México en noviembre de 2013 (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015). Esta plaga afectó inicialmente al cultivo en el estado de Tamaulipas, el cual concentra más del 50% de la producción nacional de sorgo (SIAP, 2018), pero en menos de dos años se reportó en la mayoría de los estados que producen sorgo en México.

M. sacchari fue reportado en México invadiendo el cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), por lo que se conoce como pulgón amarillo del sorgo (PAS); pero previamente en Estados Unidos de América se reportó asociado a la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), por lo que se identificó como sugarcane aphid (SCA) (Bowling *et al.*, 2016; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015, 2018). Es importante considerar, que debido a las especies y biotipos de pulgones asociados a caña de azúcar y sorgo, se forma un complejo denominado *M. sacchari/sorghum* (Peña-Martínez *et al.*, 2016).

López (2015) anotó tres hipótesis para sugerir cómo pudo haber llegado el PAS a México. La primera, probablemente por la movilización del PAS hasta Tamaulipas a través de los vientos ocasionados por el huracán Ingrid, que ocurrió en Estados Unidos en septiembre de 2013, desde los estados de Texas, Luisiana y Florida, donde la plaga se encontraba presente. La segunda hipótesis se sustenta en la capacidad de vuelo de pulgones alados del PAS, y del aprovechamiento de corrientes de aire de Texas a las superficies agrícolas de México. La última

hipótesis propone el traslado del PAS por medio de movilización de maquinaria, desde Estados Unidos a México, ya que muchos productores de México rentan maquinaria de ese país para la cosecha de sorgo.

Ante la detección del PAS en Tamaulipas (noviembre 2013), y el posible riesgo de dispersión de la plaga hacia zonas libres del país, se implementó el Manejo Fitosanitario del Sorgo. Un año después, el SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria) implementó la Campaña Contra el Pulgón Amarillo del Sorgo, ya que la plaga se había distribuido en 17 estados productores, a pesar de las medidas de contención o mitigación. Por lo tanto, a partir del 2017 se estableció el Manejo Integrado contra el PAS. Actualmente, el pulgón se encuentra ampliamente distribuido en las zonas sorgueras del país, excepto por Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur y Zacatecas (SENASICA, 2018).

El PAS se distingue por presentar color amarillento, con tarsos y sífúnculos oscuros (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018). Además, se caracteriza por ser una especie anholocíclica y parcialmente holocíclica monoécica en Guanajuato, Querétaro y Sinaloa; mientras que, en el resto de los estados de México y Estados Unidos de América es anholocíclica (Peña-Martínez *et al.*, 2017). Tiene un desarrollo entre 4 y 12 días, la longevidad del adulto va de 10 a 37 días con una reproducción de 34 a 96 ninfas por hembra, la especie puede tener entre 10 y 20 generaciones por año; estos parámetros biológicos varían en función de la temperatura, lluvia y nutrición (Chang *et al.*, 1982, Singh *et al.*, 2004a). Estas características de capacidad adaptativa, y rápido crecimiento poblacional convierten al PAS en una plaga de importancia económica.

La alimentación del PAS en el envés de las hojas, de las que extrae savia, ocasiona daños en el cultivo del sorgo como la reducción de la fotosíntesis, clorosis, necrosis, excreción de

mielecilla que favorece el desarrollo de fumagina, retardo en la floración, y reducción de la cantidad y calidad del grano (Singh *et al.*, 2004a; Bowling *et al.*, 2016).

Debido a los daños que ocasiona el PAS en las plantas de sorgo, surgió la necesidad de implementar medidas de control basadas en el concepto de manejo integrado. Las primeras medidas son preventivas a través del control legal, cultural y genético, además del uso del control biológico y de ser necesario el control químico (Moreno *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

La táctica de control cultural se basa en la eliminación de residuos de cosechas del ciclo anterior, a través barbecho y rastreo sin quemar el follaje, también se debe eliminar el zacate Johnson en las zonas cercanas al cultivo, ya que éste es un hospedante alterno. Por su parte, con el control legal se establecieron fechas de siembra y un periodo libre del cultivo, para evitar el refugio y crecimiento de poblaciones del PAS durante todo el año. Por ejemplo, para el estado de Guanajuato se debe sembrar sorgo únicamente del 15 de abril al 5 julio (Moreno *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018; Szczepaniec, 2018).

Respecto al control genético, es indispensable el uso de variedades tolerantes al PAS. Cada estado debe seleccionar las variedades de sorgo adecuadas para su zona y que sean tolerantes a la plaga (Fitiwy *et al.*, 2008; Armstrong *et al.*, 2015; Moreno *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018). Además, las semillas deben tratarse con insecticidas como clothianidin, tiametoxam e imidacloprid más bifentrina, con el fin de proteger al cultivo al menos 30 días después de emergidos, pero sin ocasionar daños en la fauna benéfica (Quijano *et al.*, 2017).

Otra táctica es el uso de agentes de control biológico por conservación, el cual es un factor determinante para la supresión de poblaciones de PAS, ya que se han reportado al menos

47 especies de enemigos naturales entre depredadores, parasitoides y hongos entomopatógenos (Singh *et al.*, 2004a). En México, se reportan hasta 21 especies de enemigos naturales asociados al PAS (Cortez-Moncada, 2016; Marín y Herrera, 2016; Vázquez-Navarro *et al.*, 2016; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018), dentro de los cuales *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville se distingue por ser la más abundante (Rodríguez-Palomera *et al.*, 2016; Tamayo y Marín, 2016; Vázquez-Navarro *et al.*, 2016; Salas *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018), y se considera como una especie con potencial importante en el control del PAS (Colares *et al.*, 2015). La segunda especie en abundancia, que se considera importante en el control del PAS, es *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Rodríguez-Palomera *et al.*, 2016). Tanto *H. convergens* como *C. sanguinea* se caracterizan por ejercer control cuando las poblaciones de PAS son altas, adicionalmente, por ser especies de depredadores generalistas, se comercializan en el país para la regulación de poblaciones de varias especies de pulgones.

Por otro lado, los parasitoides son los encargados de regular poblaciones de PAS cuando éstas son bajas. Dentro de los parasitoides asociados a dicha plaga destaca en abundancia el género *Aphidius* (López-Gutiérrez *et al.*, 2016). En un principio se consideró a *A. colemani* Viereck como el responsable de parasitar las poblaciones de PAS en México (Marín y Herrera, 2016; Tamayo y Marín, 2016), posteriormente se determinó que era *A. plantensis* Bréthes (García-Suárez *et al.*, 2016). Para *A. plantensis* no se han establecido crías comerciales, mientras que *A. colemani* se comercializa en el país; quizá por esa razón se considera que puede usarse como modelo de estudio por tener un comportamiento similar con *A. plantensis* con respecto al efecto de los insecticidas.

Además de las tácticas de control, es indispensable considerar el muestreo, el umbral y la presencia de enemigos naturales para tomar decisiones en caso de necesitar del control químico.

Para el PAS se considera que se debe realizar muestreo del sorgo, para detectar cualquier foco de infestación de la plaga, al menos una vez por semana; el umbral para tomar medidas de control químico es de 50 individuos hoja⁻¹ en 20% de plantas infestadas (Moreno *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

Entre las décadas de los 70 y 80', se determinó la eficacia en el control del PAS con el uso de insecticidas organofosforados como disulfotón y forato con aplicaciones al suelo. Hasta los 90' el uso de organofosforados como dimeton-S-methyl, dimetoato, paratión, diazinón, malatión, oxidemeton-metil, mevinfos, quinalfos y carbofenotión; organoclorados como endosulfan, y carbamatos como carbofuran, fueron efectivos por medio de aplicaciones foliares a los 50-90 días después de siembra, cuando las poblaciones de PAS eran entre 70 y 155 pulgones planta⁻¹. Adicionalmente, en el 2001 se demostró que dimetoato, clorpirifos, malatión y endosulfan por eliminar la plaga favorecían el peso del grano y el rendimiento del sorgo. No obstante, se debe considerar que muchos de los insecticidas utilizados para el control del PAS pueden matar coccinélidos y sírfidos. Lo que conlleva que en ausencia de enemigos naturales, las poblaciones del PAS pueden resurgir y entonces se requiera de más aplicaciones, que no son económicamente rentables para los productores de sorgo (Singh *et al.*, 2004a).

Desde los reportes de PAS en Estados Unidos de América y México surgió la necesidad de probar insecticidas específicos, con el fin de determinar su efecto sobre el PAS. En Estados Unidos de América, se recomienda a sulfoxaflor y flupyradifurone por ocasionar mortalidades > 98% hasta por 21 días después de la aplicación (DDA), con actividad específica sobre la plaga y de bajo impacto en fauna benéfica (Bowling *et al.*, 2016).

En México se han evaluado algunos insecticidas biorracionales y convencionales para el manejo del PAS. En Sinaloa, el uso de jabón agrícola demostró 85% de control del PAS a 4

DDA, pero también aplicaciones de acefate, acetamiprid, clotianidín, flonicamid, imidacloprid, pymetrozine, spirotetramat, sulfoxaflor, flupyradifurone, las mezclas de tiametoxam + cialotrina e imidacloprid + betacyflutrina reflejaron eficacia en el control del PAS (Moreno *et al.*, 2016). En Guerrero, los insecticidas imidacloprid, sulfoxaflor, flupyradifurone, spirotetramat, pymetrozine y afidopyropen mantuvieron las poblaciones de PAS < 8 individuos hoja⁻¹. Posteriormente, en Guanajuato y Tamaulipas, se recomendó más específicamente el uso de sulfoxaflor, flupyradifurone, spirotetramat, imidacloprid y tiametoxam dentro de la campaña contra el PAS (Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018). Imidacloprid es el ingrediente activo más utilizado por los productores de sorgo en México, porque desde un inicio estaba disponible para su uso en sorgo de grano y demostró efectividad en el manejo del PAS (Bowling *et al.*, 2016).

Los cinco insecticidas recomendados en la campaña del PAS en México pertenecen a diferentes grupos toxicológicos, con diferentes modos de acción (MoA). Spirotetramat está clasificado en el grupo 23 actuando como inhibidor de la acetil CoA carboxilasa. Mientras que los otros cuatro insecticidas están en el grupo 4 actuando como moduladores competitivos del receptor nicotínico de la acetilcolina, pero están en diferentes subgrupos. Imidacloprid y tiametoxam forman el subgrupo 4A neonicotinoides, flupyradifurone el 4B butenolides y sulfoxaflor el 4C sulfoxaminas (IRAC, 2018). Entre ellos se presentan diferencias en sus estructuras (Figura 1), por ejemplo en sulfoxaflor y flupyradifurone se presenta sustitución de moléculas de nitrógenos y adición de moléculas de flúor. Dichas diferencias les confieren efectos diferentes sobre las plagas y enemigos naturales (Brück *et al.*, 2009; Sparks *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2015).

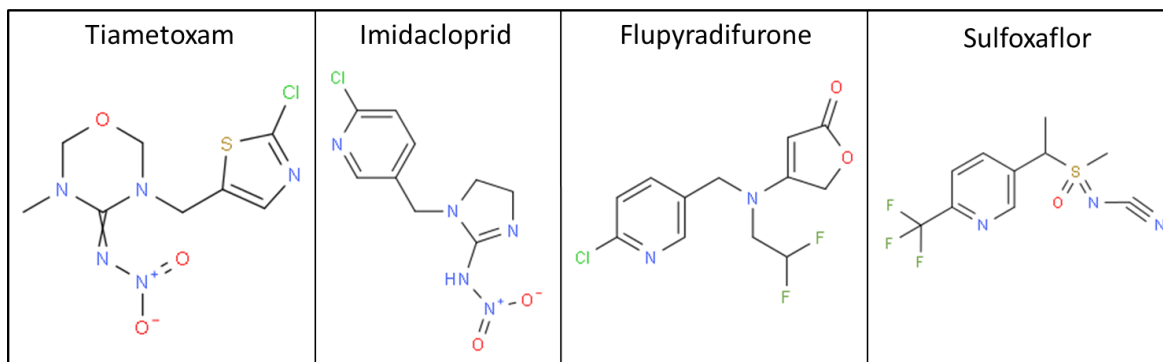


Figura 1. Estructura de neonicotinoides, butenolides y sulfoxaminas.

Hasta ahora la aplicación de insecticidas es uno de los métodos que parece efectivo para combatir al PAS, ya que en pocos días disminuye la densidad de la plaga. Aunque se presupone que los enemigos naturales (depredadores y parasitoides) presentes en el campo pueden ejercer un nivel importante de control sobre el PAS, la aplicación de insecticidas puede demeritar su acción (Vincent *et al.*, 2000; Wells *et al.*, 2001; Michaud, 2002; Desneux *et al.*, 2007; Varenhorst y O'Neal, 2012; Krischilk *et al.*, 2015). Aparentemente, los insecticidas recomendados en la campaña del PAS presentan bajo impacto sobre algunas especies de enemigos naturales (Brück *et al.*, 2009; Sparks *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2015); sin embargo, es importante determinar su efecto sobre los depredadores y parasitoides asociados al PAS, para poder disminuir los problemas a la hora de integrar tácticas de control biológico y químico dentro del manejo del PAS.

OBJETIVOS

Objetivo General

Buscar que insecticidas son compatibles con enemigos naturales para el control de *Melanaphis sacchari*.

Objetivos Específicos

1. Evaluar la toxicidad de cinco insecticidas sobre tres especies de enemigos naturales bajo tres métodos de exposición en condiciones de laboratorio
2. Determinar el efecto residual de tres insecticidas sobre tres especies de enemigos naturales en condiciones de laboratorio y semi-campo
3. Evaluar la efectividad biológica de cuatro insecticidas sobre las poblaciones de *Melanaphis sacchari* y sus enemigos naturales en condiciones de campo
4. Determinar la susceptibilidad de *Hippodamia convergens* a los principales insecticidas recomendados para el control de *Melanaphis sacchari*

**CAPÍTULO I: TOXICITY OF INSECTICIDES ON NATURAL ENEMIES OF
Melanaphis sacchari (HEMIPTERA: APHIDIDAE) UNDER THREE EXPOSURE
METHODS**

Isis A. Jaimez-Ruiz¹, J. Refugio Lomeli-Flores^{1*}, Esteban Rodríguez-Leyva¹, Laura D. Ortega-Arenas¹, Rafael Bujanos-Muñiz², Héctor González-Hernández¹, Javier Suárez-Espinosa³

¹Posgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología, ³Posgrado de Estadística, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km. 36.5, Montecillo, CP 56230, Texcoco, Estado de México, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental del Bajío, CP 38110 Celaya, Guanajuato, México. *Corresponding author jrlomeli@hotmail.com

Abstract

The sugarcane aphid (SCA), *Melanaphis sacchari*, is a recent pest in Mexico and South of USA, which has caused economic losses up to 100% in areas with no control activities. In Mexico in 2017, the SCA campaign established an Integrated Management Program in sorghum cultivation, where chemical control might be affecting the beneficial fauna. Therefore, the objective of this study was to determine the toxicity of imidacloprid, chlorpyrifos ethyl, flupyradifurone, sulfoxaflor and spirotetramat, applied under three exposure methods, on the predators *Hippodamia convergens* and *Cycloneda sanguinea* and the parasitoid *Aphidius colemani*. The toxicity depended on the species, time and method of exposure. The insecticides imidacloprid and chlorpyrifos ethyl were more toxic for the three species evaluated, according to the IOBC

classification, causing up to 100% mortality. Sulfoxaflor was the least harmful (<30% mortality) and flupyradifurone slightly toxic (67% mortality) on predators, but the two products were classified from moderately toxic to toxic for the parasitoid. On the other hand, spirotetramat was harmless for the three species (<24% mortality), but moderately toxic for the parasitoid by ingestion and contaminated surface (82 and 80% mortality, respectively). The results suggested compatibility of spirotetramat with adults of the three natural enemies evaluated and that sulfoxaflor and flupyradifurone should be used sparingly since they can affect parasitoids. It would be wise to avoid the use of imidacloprid and chlorpyrifos ethyl because they affect the survival of natural enemies, also we must not encourage the use them in the integrated management of this pest.

Keywords: *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea*, *Aphidius colemani*, sugarcane aphid.

1.1 Introduction

The sugarcane aphid (SCA), *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae), a new and invasive pest of sorghum in North America was detected for the first time in 2013 at Texas Gulf Coast, United States (Bowling *et al.*, 2016) and Tamaulipas, Mexico (Rodríguez-del-Bosque and Terán 2015). After its detection, the SCA caused losses between 30 and 100% of forage and grain sorghum in some of the production regions of Mexico (Moreno *et al.*, 2016). Currently, the SCA is widely distributed in all sorghum fields in this country (Rodríguez-del-Bosque and Terán, 2015), and because of its damage, the sorghum growing area has gone from 2.3 million hectares in 2013 to 1.5 million hectares in 2018 (SIAP, 2019).

The damage of SCA is occasioned by sap extraction, reduction in photosynthetic efficiency, chlorosis, necrosis, delayed flowering, effect on grain filling and reduction in the quality of sorghum (Singh *et al.*, 2004a; Bowling *et al.*, 2016). The strategy for the management of SCA in México includes at least four control tactics: 1) genetic, using less susceptible sorghum hybrids, 2) cultural, i.e. eliminating alternative hosts and establishment of planting calendar, 3) chemical, using conventional pesticides after the insect threshold has been reach, and 4) trying to improve the biological control by conservation (Quijano *et al.*, 2017).

In the states where grain sorghum is produced in Mexico, there are at least 12 species of natural enemies which feed and develop on SCA field populations, those include predators such as *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) and the parasitoid *Aphidius* sp. Viereck (Marín and Herrera, 2016); they are also commercially available in the country. On this scenario, there are at least five recommended insecticides for chemical control of SCA, sulfoxaflor, flupyradifurone, spirotetramat, imidacloprid and thiamethoxam (Quijano *et al.*, 2017). However, the impact of those products on the natural enemies of the SCA is not clear. To date, only the effect of sulfoxaflor and flupyradifurone on larvae and adults of *H. convergens*, *Chrysoperla carnea* (Stephens) and *Orius insidiosus* (Say) has been evaluated, obtaining levels of toxicity that depend on the species, stage of development, insecticide, concentration and exposure method (Barbosa *et al.*, 2017; Colares *et al.*, 2017). Therefore, is necessary to evaluate the effect of other recommended insecticides on the natural enemies associated with SCA; in addition, to determine the effect of different exposure sources. The objective of this study was to evaluate the toxicity of some of the insecticides recommended in Mexico for the control of SCA on the predators *H. convergens*, *C. sanguinea* and the parasitoid

A. colemani under laboratory conditions, and using the methods of direct exposure, ingestion and contaminated surface.

1.2 Materials and methods

1.2.1 Insects

The natural enemies were used on the adult stage; *H. convergens* and *C. sanguinea* were provided by OBA (Organismos Benéficos para la Agricultura, Autlán, Jalisco). While the parasitoid, *A. colemani*, was supplied by Koppert Mexico through the APHIPAR[®] product. Predators and parasitoid were kept in 20 × 15 × 10 cm plastic containers with ventilation in a bioclimatic chamber at 24 ± 2 °C, 60 ± 5% RH and 16 L: 8 D h. Before using the insect on the assays, they were fed *at libitum* offering a wick cotton (inserted in a vial 20 mL) saturated in a honey water solution (1:3). For the bioassays, we used predator adults 5-15 d after emergence, and parasitoids 1-3 d after emergence.

1.2.2 Insecticides

Four commercial insecticides were selected among those recommended for the control of SCA (Quijano *et al.*, 2017) (Table 1.1). Additionally, chlorpyrifos ethyl was included as “chemical control” (Table 1), although it is not authorized, various sources report it as an efficient product in the control of SCA populations (Singh *et al.*, 2004b) but it is highly toxic for natural enemies (Gholamzadeh-Chitgar *et al.*, 2014; Gorri *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2016). The five products were diluted in distilled water plus 1 mL L⁻¹ adherent (INEX-A[®]) based on an amount of 300 L ha⁻¹ of water (Quijano *et al.*, 2017). The control group received distilled water and the adherent. An absolute control was included (only distilled water) in the parasitoid

bioassays, since a toxic effect was detected with the use of the adherent in preliminary tests. Fresh solutions were prepared for each repetition before application.

Table 1.1. Insecticides and concentrations evaluated on adults of natural enemies of *Melanaphis sacchari*.

Active ingredient	Product		Toxicological Group	Company	Dosis	
	Comercial Name				mL ha ⁻¹	mg a.i. L ⁻¹
sulfoxaflor	Toretto® 21.8 SC		Sulfoximines	Dow AgroSciences de México S.A. de C.V	100	80
flupyradifurone	Sivanto® prime 200 SL		Butenolides	Bayer de México S.A de C.V.	200	133.33
spirotetramat	Movento® 150 OD		Tetronic and tetramic acid derivates	Bayer de México S.A de C.V.	300	150
imidacloprid	Confidor 350 SC		Neonicotinoids	Bayer de México S.A de C.V.	200	233.33
chlorpyrifos ethyl	Lorsban® 480 EM		Organophosphates	Dow AgroSciences de México S.A. de C.V	500	800

1.2.3 Toxicity of insecticides on predators

Direct exposure

The toxic effect of insecticides on predator adults was evaluated following the method of Morales *et al.* (2015) with some slight modifications. Prior to spray application of the insecticide solutions, the adults were anesthetized with CO₂ for 5 min in a hermetic bag of 1 L capacity (Ziploc®) to facilitate the application of the treatments. Subsequently, the adults were passed on the base of a Petri dish (9.0 x 1.5 cm) and placed inside an acrylic Potter tower (150 x 50 x 50 cm, with full cone stainless steel nozzle ¼ J- SS, Sraying Systems Co. Wheaton, IL, USA), connected to a 10 L y 2 HP air compressor (Adir®), at a distance of 120 cm from the nozzle. Each spray was 4 mL of the insecticide solution at 206.8 kPa of pressure. Then, using an entomological fine hairbrush, treated adults were transferred to clean Petri dishes (9.0 x 1.5 cm) with a 4.0 cm diameter perforated lid sealed with organza for ventilation, and previously placed

honey lines as a feeding substrate. The Petri dishes were closed and maintained at 24 ± 2 °C, $60 \pm 5\%$ RH and photoperiod of 16 L: 8 D h. Mortality was recorded at 24, 48 and 72 h after the application of the treatments. These treatments were repeated ten times each. The insect who did not present any type of movement to the stimulus of a fine hair brush was considered dead, also those that were exhibiting disoriented movements or slight movements of its appendages were considered dead.

Ingestion exposure

The toxicity of insecticides on predator adults by ingestion exposure was evaluated following the method of Singh *et al.* (2004b) with light modifications. Groups of 300 SCA adults, reared on sorghum plants free of insecticides for more than 20 generations, were sprayed with the Potter tower as described for the direct exposure bioassay. Treated aphids were dried for 5 min at room temperature, and transferred, using an entomological brush to a clean plastic Petri dish (9.0×1.5 cm). The Petri dish had an opening (4.0 cm diameter) in the lid which was covered with organza for ventilation. Then, in each experimental unit, 10 adults of a natural enemy species previously anesthetized with CO₂ and fasting for 24 h were introduced. As in the previous experiment, the Petri dishes were kept under controlled conditions and were observed for mortality at 24, 48 and 72 h post-application. The entire experiment was repeated 10 times.

Exposure to contaminated surfaces

For this experiment, we followed the methodology proposed by Luna-Cruz *et al.* (2011). This test consisted of immersing glass Petri dishes (10.0×1.5 cm) for 20 s in a tray with 500 mL of the corresponding treatment, after they were dried for 2 h at room temperature. Then, 10

predators of one of the species, previously anesthetized with CO₂, were placed inside the insecticide impregnated Petri dishes. A solution of honey water (1:3) offered in a cotton swab dipped inside a lid of an Eppendorf tube (1000 µL) was used to offer food to the insects. The Petri dishes were covered and kept in controlled conditions. As in the previous experiments, mortality was recorded at 24, 48 and 72 h post-application, the experiment was repeated 10 times.

1.2.4 Toxicity of insecticides on the parasitoid

Direct exposure

The same direct exposure protocol on predators was followed with some modifications. The parasitoids were anesthetized using CO₂ for 2 min, and transferred after application to a 500 mL plastic cup with a lid that had an orifice (4.0 cm diameter) which was sealed with organza for ventilation. A solution of honey and water (1:3) offered in a cotton wick inside a 5 mL glass vial was used as the feeding substrate, and the mortality was evaluated at 24 h post-application as indicated in the previous section.

Ingestion exposure

In this experiment the methodology of Abdu-Allah and Pittendrigh (2018) was followed with slight modifications. The treatments were diluted in a water honey solution (3:1), which was offered in a cotton wick inside a 5 mL glass vial. The vial and 10 adults of the parasitoid, previously anesthetized with CO₂, were introduced into a 500 mL plastic cup with a lid that had an orifice (4.0 cm diameter) which was sealed with organza to provide ventilation. Like the other

bioassays, the treatments were located in controlled conditions of temperature, RH and light; mortality was assessed at 24 h and the experiment was repeated 10 times.

Exposure to contaminated surfaces

To assess the toxicity of contaminated surfaces on natural enemies we followed the methodology of Desneux *et al.* (2006) with certain modifications. One hundred milliliters of the insecticide solution was added to a plastic cup of 500 mL, after that the cup was covered and shook for 20 s to disperse the insecticide on the entire inner surface, including the lid. The excess of liquid was drained, and the cups and lids were allowed to dry for 2 h at room temperature. Subsequently, 10 parasitoid adults, previously anesthetized with CO₂, were introduced. As in the direct exposure test, a solution of water and honey (3:1) was offered in a cotton wick inside a 5 mL vial for offering something to eat during the test. The mortality was recorded in a similar way as was described in the previous experiments; and 10 repetitions were performed for each treatment.

1.2.5 Statistical analysis

The mortality results were corrected based on observations in the control by means of Abbott's equation (Abbott, 1925). The maximum level of acceptable mortality in the control was <10%. The corrected mortality data for the parasitoid were subjected to a logistic regression analysis and those of predators to a longitudinal logistic regression analysis, with a composite symmetry covariance structure. In cases where significant differences were detected among treatments and observation times, a mean comparison test was performed by the Tukey-Kramer adjustment $\alpha \leq 0.05$; in both analyses, the SAS program version 9.4 was used (SAS Institute

2013). The percentages of uncorrected mortality were used for the graphs. In addition, we classified insecticides by their toxicity to the evaluated species under laboratory conditions, according to the International Organization for Biological and Integrated Control (IOBC) (Hassan *et al.*, 1994), into four categories: 1 = harmless, <30% mortality; 2 = slightly harmful, 30-79% mortality; 3 = moderately harmful, 80-99% mortality; and 4 = harmful, >99% mortality.

1.3 Results

All evaluated insecticides showed some degree of toxicity on the three natural enemies, although the level of toxicity depended on the species, insecticide, method and time of evaluation.

1.3.1 Toxicity of insecticides in predators

For *H. convergens* and *C. sanguinea* imidacloprid was the most toxic product under the three exposure methods. Using imidacloprid by direct exposure 100% of mortality was reached 24 h post-application (Tukey-Kramer $P = 1.0000$) (harmful) (Figure 1.1A, 1.2A). By ingestion, the mortality varied from 95% at 24 h to 99% at 72 h (Tukey-Kramer $P = 0.9368 - 1.0000$) (moderately harmful) (Figure 1.1B, 1.2B). In the case of contaminated surface using this insecticide, *H. convergens* suffered 100% mortality (harmful) within the next 24 h (Tukey-Kramer $P = 0.9794 - 0.9971$); but for *C. sanguinea* mortality was 87% at 24 h and increased up to 95% for 72 h (Tukey-Kramer $P < 0.0001 - 0.8749$) (moderately harmful) (Figure 1.1C, 1.2C).

Imidacloprid was the most toxic product regardless of the method of exposure with mortalities between 87 and 100%. Chlorpyrifos ethyl was moderately harmful and harmful, since it caused mortalities between 82 and 100% (Tukey-Kramer $P = 0.0301 - 1.0000$) in both

predators (Figure 1.1 and 1.2). However, in the direct exposure and ingestion tests on *H. convergens*, it was slightly harmful; with mortality of 30 to 70% between 24 and 72 h (Tukey-Kramer $P < 0.0001 - 0.4660$) (Figure 1.1A, B) and the mortality caused was not significant difference to that of flupyradifurone (Tukey-Kramer $P = 0.7566 - 1.0000$). Same as with *C. sanguinea* at 24 h by ingestion exposure (slightly harmful, 53% mortality, Tukey-Kramer $P = 0.9662$) (Figure 1.2B).

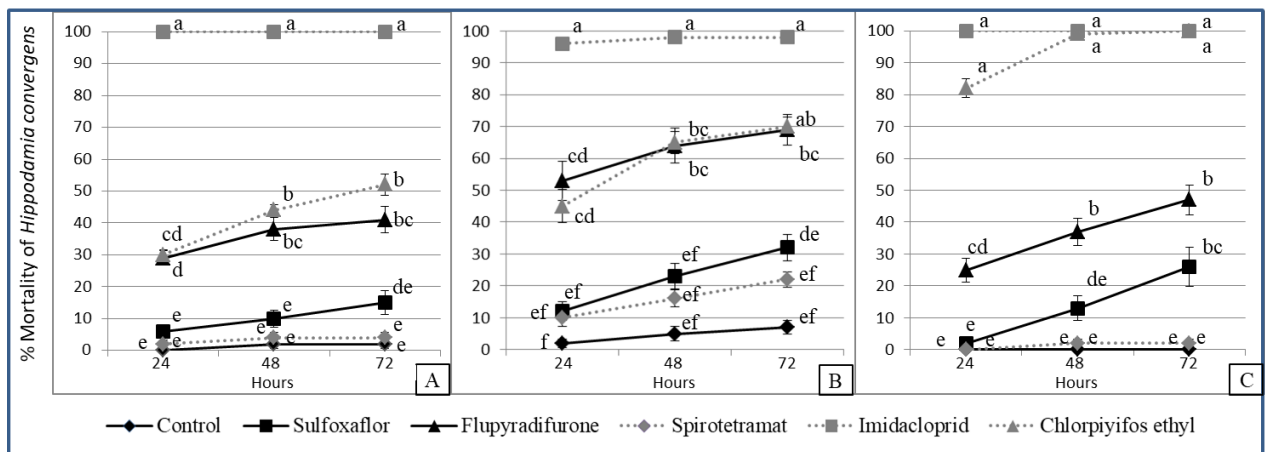


Figure 1.1. Mean mortality (% \pm standard error) of adults of *Hippodamia convergens* at 24, 48 and 72 h post-application by direct exposure (A), ingestion (B) and contaminated surface (C) with insecticides. Means with different letters within each of the graphs are statistically different (Tukey-Kramer $\alpha = 0.05$).

Flupyradifurone, sulfoxaflor and spirotetramat resulted less toxic for *H. convergens* and *C. sanguinea*. Flupyradifurone was slightly harmful due to having mortalities between 35 and 69% (Tukey-Kramer $P < 0.0001 - 0.9999$) in both predators (Figure 1.1 and 1.2) for the three methods of exposure, except for direct exposure (29% mortality, Tukey-Kramer $P = 0.0015 - 0.0239$) and for contaminated surface (25% mortality, Tukey-Kramer $P < 0.0001 - 0.9419$) (Figure 1.1A, 1.1C) for *H. convergens* at 24 h where it was considered harmless.

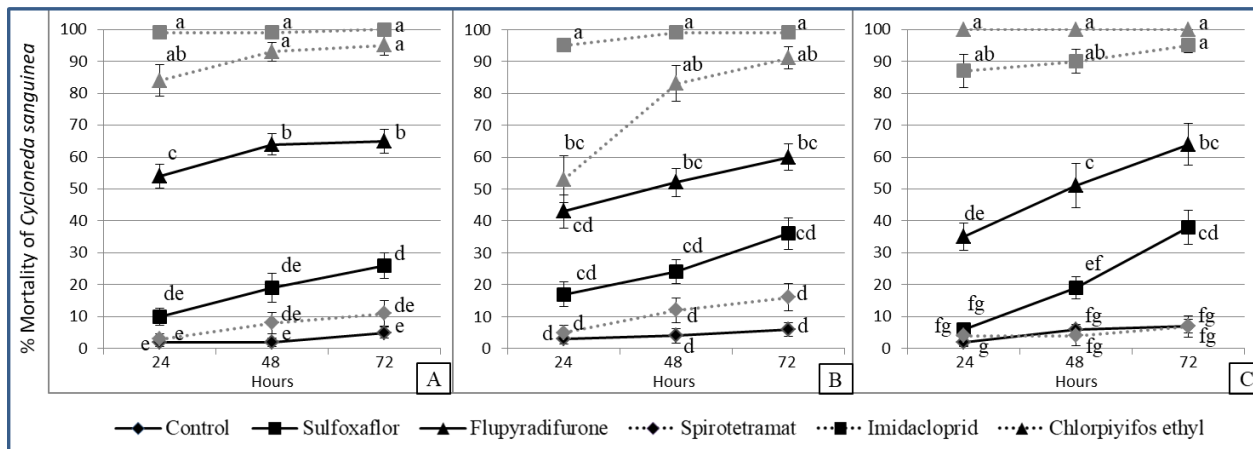


Figure 1.2. Mean mortality (% \pm standard error) of adults of *Cycloneda sanguinea* at 24, 48 and 72 h post-application by direct exposure (A), ingestion (B) and contaminated surface (C) with insecticides. Means with different letters within each of the graphs are statistically different (Tukey-Kramer $\alpha = 0.05$).

Sulfoxaflor proved to be harmless because it caused mortalities less than 30% (Tukey-Kramer $P < 0.0001 - 1.0000$) over the two predators (Figure 1.1 and 1.2), with the exception of mortalities by ingestion in *H. convergens*, ingestion and contaminated surface in *C. sanguinea* that increased to 32% (Tukey-Kramer $P = 0.6455 - 0.7394$) (Figure 1B), 36% (Tukey-Kramer $P = 0.9999 - 1.0000$) (Figure 1.2B) and 38% (Tukey-Kramer $P < 0.0001$) (Figure 1.2C), respectively at 72 h.

Finally, in any of the three methods of exposure, spirotetramat caused mortalities lower than 22% (Tukey-Kramer $P = 0.2021 - 1.0000$), therefore, and it was considered harmless (Figure 1.1 and 1.2) and it was significantly equal to sulfoxaflor (Tukey-Kramer $P = 0.1743 - 1.0000$) and the control treatment (Tukey-Kramer $P = 0.3864 - 1.0000$).

1.3.2 Toxicity of insecticides on the parasitoid

Unlike the results with predators, four of the insecticides (sulfoxaflor, flupyradifurone, imidacloprid and chlorpyrifos ethyl) evaluated under the different forms of exposure were toxic to the parasitoid reaching 100% mortality (harmful); except for flupyradifurone and sulfoxaflor in direct exposure, which caused mortality of 96 and 99%, respectively (moderately harmful) (Figure 1.3A). However, there were no significant differences between these mortality values of the four insecticides (Tukey-Kramer $P = 1.0000$).

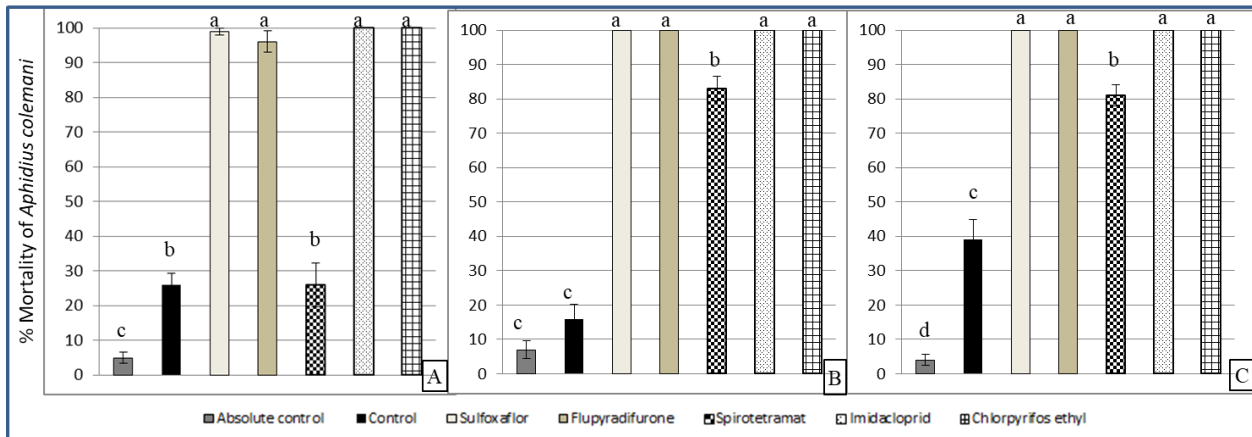


Figure 1.3. Mean mortality ($\% \pm$ standard error) of adults of *Aphidius colemani* at 24 h post-application by direct exposure (A), ingestion (B) and contaminated surface (C) with insecticides. Means with different letters within each of the graphs are statistically different (Tukey-Kramer $\alpha = 0.05$).

Only spirotetramat showed little effect (26% mortality) to *A. colemani* by direct exposure (Figure 1.3A), and it was not different from the control (Tukey-Kramer $P = 1.0000$), but it was of the absolute control (Tukey-Kramer $P = 0.0007$). However, when the parasitoid was exposed to contaminated surface (Figure 1.3C) and ingestion (Figure 1.3B) of the product, it reached 81 and 83% mortality, respectively (moderately harmful), and consequently was significantly different

from the rest of the treatments (Tukey-Kramer $P < 0.0001 - 0.0220$). In other hand, the control with the application of the adherent was slightly harmful (39% mortality) per contaminated surface (Figure 1.3C), and was significant different to the absolute control (Tukey-Kramer $P < 0.0001$).

1.4 Discussion

1.4.1 Toxicity of insecticides in predators

All the insecticides evaluated showed some degree of toxicity to *Hippodamia convergens* and *Cycloneda sanguinea* adults; however, the level of toxicity depends on the type of insecticide, the method and time of exposure, as well as the species evaluated (Roubos *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2016; Barbosa *et al.*, 2017; Colares *et al.*, 2017). Imidacloprid caused mortalities between 87 and 100% so, regardless of the method of exposure, adults of these predators are considered highly susceptible to this insecticide. The same effect has been observed in adults of *C. sanguinea*, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Michaud, 2002) and *Adalia bipunctata* (Linnaeus) (Jalali *et al.*, 2009). Additionally, Mizell and Sconyers (1992) reported that imidacloprid has a toxic effect on beneficial insects, when applied in foliar form similar to what was observed in the present study. Likewise, Michaud (2002) found that the larvae of *C. sanguinea* and *H. axyridis* are more susceptible to imidacloprid compared to adults, which suggests it would be used with caution. We confirmed that imidacloprid was highly harmful to *H. convergens* and *C. sanguinea* adults, thus, there is not compatibility between this insecticide and some of the most common predators of SCA.

Chlorpyrifos is highly toxic to natural enemies, both in laboratory and field conditions (Gholamzadeh-Ghitgar *et al.*, 2014; Gorri *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2016). *Cycloneda*

sanguinea showed high susceptibility to chlorpyrifos through residual contact and ingestion (Tavares *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2016), and even this insecticide is more toxic to *C. sanguinea* than other predators such as *O. insidiosus* and *Chauliognathus flavipes* Frabricius (Fernandes *et al.*, 2016). Although chlorpyrifos is not currently included in the list of insecticides recommended for SCA control (Quijano *et al.*, 2017), it was included in the experiments since it can reduce aphid populations (Singh *et al.*, 2004a) and we use it as positive control.

The results obtained for flupyradifurone coincide with those of Barbosa *et al.* (2017), who found that this insecticide was harmless for larvae and slightly harmful for adults of *C. carnea* exposed to contaminated surfaces. In addition, other studies indicate that ingestion was slightly harmful to larvae and adults of *H. convergens* (Colares *et al.* 2017). However, this insecticide can be toxic depending on the type of exposure, species and stage of development; consequently affecting survival, development time, preoviposition period and consumption rate of natural enemies (Barbosa *et al.*, 2017; Colares *et al.*, 2017).

The differences between the toxicity of flupyradifurone to natural enemies at different times, suggest that 24 h exposure was not enough time to see the effects, so more time would be needed to see the accumulated effect of this product and generate a significantly higher mortality in adults of the parasitoid at 48 and 72 h (Garantonakis *et al.*, 2016). The results of the present study suggested that flupyradifurone is a product that should be tested at field because it caused mortality for up to 67% on the beneficial organisms exposed to this product in lab conditions.

Although, it is reported that sulfoxaflor causes toxicity and affects the survival of some natural enemies (Garzón *et al.*, 2015; Wanumen *et al.*, 2016; Barbosa *et al.*, 2017), in the present study, it caused less than 30% mortality on *H. convergens* and *C. sanguinea* adults, which coincides with the response found on *A. bipunctata* adults by Garzón *et al.* (2015); Colares *et al.*

(2017) in adults of *H. convergens*; and Barbosa *et al.* (2017) on larvae of *C. carnea*. The former suggests that this insecticide is a good candidate within the integrated management program of the SCA.

On the other hand, in laboratory tests spirotetramat has reported survival of more than 80% in several species of predators such as adults of *A. bipunctata*, *C. carnea* (Garzón *et al.*, 2015), *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Wanumen *et al.*, 2016) and *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot on contaminated surface tests (Fernández *et al.*, 2017) and adults of *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) for contaminated food tests (Azod *et al.*, 2016). Spirotetramat presents characteristics of systemic and translaminar activity, acropetala and basipetal mobility, which lead to an advantage in the control of the pest (Nauen *et al.*, 2008). This effectiveness in controlling populations of aphids and being harmless to *H. convergens* and *C. sanguinea* highlights the advantage of using this product within integrated management programs of the SCA.

1.4.2 Toxicity of insecticides on the parasitoid

Unlike what was found on predators, all the products evaluated were toxic to *A. colemani* despite the type of exposure and type of insecticide used. In general, a rapid toxic effect was registered in the parasitoid when the products were applied. Within 24 h post-application, total death of the exposed individuals was recorded. In other hand, the control treatment (distilled water plus the adherent) showed mortalities of up to 36% of the parasitoid, which reflects the high susceptibility of this organism to any chemical compound including the adherent, which facilitates the penetration of their alcoholic components through the cuticle (Vera-Nuñez *et al.*, 2009), which in turn leads to the subsequent dehydration of the insect. This could also be related

to stress during the experiment, as there is often an increase in mortality as the observation times in the extended experiments (Kalule and Wright, 2005; Roubos *et al.*, 2014). The high susceptibility of the parasitoid may be due in part to the fragility of its soft body, lacking protective structures that allow them to protect themselves against the absorption of insecticides through the cuticle, contrary to what happens with the exoskeleton of the coccinellids (Garantonakis *et al.*, 2016).

The results of high toxicity (greater than 96% mortality) of the products evaluated coincide with those reported by other authors in other parasitoids, such as sulfoxaflor for *Eretmocerus mundus* (Mercet) (Fernández *et al.*, 2015), imidacloprid for *Encarsia formosa* Gahan (Estay *et al.*, 2005) and *A. colemani* (Ketabi *et al.*, 2014); as well as chlorpyrifos for *Anagyrus* sp. Howard (Mansour *et al.*, 2011). In addition, there are experiments with acetamiprid (neonicotinoids) and dimethoate (organophosphates) that have shown high toxicity on individuals of *A. colemani* in 24 h (Stara *et al.*, 2011; Garantonakis *et al.*, 2016); therefore, the convenience of using them in programs where the parasitoid are one of the main natural enemies should be analyzed a priori.

Spirotetramat applied directly was the least harmful product for the parasitoid (mortality less than 30%), which suggests that exposure for a few seconds does not generate sufficient contamination to affect *A. colemani*. However, by ingestion and contaminated surface was moderately harmful (82% mortality) (Studebaker and Kring, 2003).

Similarly, it has been reported that this insecticide has no negative effects on the survival of parasitoids such as *Anagyrus* sp. Howard (Mansour *et al.*, 2011), *Microplitis mediator* (Haliday) (Moens *et al.*, 2012) and *Aphytis melinus* DeBach (Garcera *et al.*, 2013). Therefore, depending on the previous work and the results obtained in the present study, it is evident that

spirotetramat may be compatible with the parasitoid *A. colemani* and used within integrated management programs of the SCA.

We would like to emphasize that this assays were intended to address only acute toxicity of the insecticides tested, but the potential sublethal effects (Desneux *et al.*, 2007; Biondi *et al.*, 2013) on *H. convergens*, *C. sanguinea* and *A. colemani* must be further evaluated to fully understand the effect of insecticides on some of the most common natural enemies of the SCA.

1.5 Conclusions

All insecticides assayed were toxic to the natural enemies evaluated; although the degree of toxicity depends on the species, insecticide, dose and form in which the insects were exposed to the products.

According to the IOBC, the five insecticides evaluated were harmful (category 3 and 4) to the parasitoid *A. colemani*, and the effect was accentuated by ingestion and contaminated surfaces exposition. Imidacloprid and chlorpyrifos ethyl were harmful (category 3 and 4) for the predators *H. convergens* and *C. sanguinea* regardless of the method of exposure. Flupyradifurone, sulfoxaflor and spirotetramat showed low levels of toxicity (category 1 and 2).

**CAPÍTULO II: TOXICIDAD RESIDUAL DE INSECTICIDAS SOBRE TRES ESPECIES
DE ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A *Melanaphis sacchari* (HEMIPTERA:
APHIDIDAE)**

Resumen

Hay información de toxicidad de algunos insecticidas para el control de *Melanaphis sacchari* y su efecto sobre varios de sus enemigos naturales, pero existe menos evidencia de la residualidad de éstos sobre esa fauna benéfica. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto residual de sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid sobre *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens* y *Aphidius colemani* en condiciones de laboratorio y semi-campo; en laboratorio se utilizó una torre de Potter, y en semi-campo una mochila motorizada para la aplicación de los tratamientos. En ambos casos se evaluó la toxicidad residual de los productos, desde un día después de la aplicación (DDA) hasta que resultaron inofensivos (menor de 30% y 25% de mortalidad), según las categorías de la Organización Internacional de Control Biológico. El parasitoide *A. colemani* fue más susceptible a los insecticidas comparado con los coccinélidos, y los productos fueron más residuales. Imidacloprid presentó la mayor toxicidad residual sobre las tres especies de enemigos naturales en condiciones de laboratorio y semi-campo. En laboratorio imidacloprid fue persistente (mortalidad > 30% por más de 30 DDA) para las tres especies de enemigos naturales; mientras que en semi-campo fue ligeramente persistente (mortalidad < 25% entre 5 y 15 DDA) sobre *H. convergens*. Para ambos depredadores flupyradifurone y sulfoxaflor fueron ligeramente persistentes (mortalidad < 30% entre 5 y 15 DDA) y no persistentes (mortalidad < 25% entre 5 y 15 DDA) en laboratorio y semi-campo, respectivamente.

Palabras claves: *Cycloneda sanguinea*, *Hippodamia convergens*, *Aphidius colemani*, residuos.

2.1 Introducción

En México una de las principales tácticas de manejo de *Melanaphis sacchari* (Zehntner), o pulgón amarillo del sorgo = PAS, dentro de las zonas sorgueras es el uso de insecticidas, ya que los trabajos de campo han demostrado que cuando las poblaciones de PAS sobrepasan el umbral de acción, el control ejercido por parasitoides y depredadores en forma natural es insuficiente (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015), lo anterior debido al alto potencial reproductivo de esta plaga (Peña-Martínez *et al.*, 2017). Los insecticidas recomendados por la Campaña Nacional Fitosanitaria del SENASICA contra el PAS, presentan altos niveles de toxicidad con más del 95% de control y hasta 21 días de residualidad sobre las poblaciones plaga (Tejeda-Reyes *et al.*, 2017).

El uso acertado de insecticidas se basa en la eficiencia contra la plaga, pero debe considerar también el efecto sobre los enemigos naturales asociados al PAS (Cloyd y Bethke, 2011). De esta manera se trata de favorecer que las poblaciones de enemigos naturales persistan dentro del cultivo, para que contribuyan en la regulación poblacional de la plaga (Roubos *et al.*, 2014). Por esta razón, es importante considerar su nivel de toxicidad y residualidad sobre los enemigos naturales (Cloyd y Bethke, 2011; Roubos *et al.*, 2014).

A la fecha hay estudios sobre los efectos letales de algunos insecticidas para el control del PAS sobre especies de sus enemigos naturales. Por ejemplo, sobre *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *Chrysoperla carnea* (Stephens), *Orius insidiosus* (Say), *Cycloneda sanguinea* (L.) y *Aphidius colemani* Viereck (Barbosa *et al.*, 2017; Colares *et al.*, 2017; Jaimez-Ruiz *et al.*, 2016, 2017a). Aunque no se ha determinado la toxicidad residual sobre estos organismos. En función de los efectos letales y residuales que tiene los insecticidas sobre los enemigos naturales se podría mejorar la propuesta de control del PAS. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo

fue determinar la toxicidad residual de insecticidas recomendados para el control del PAS, sobre tres especies de enemigos naturales en condiciones de laboratorio y semi-campo.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1 Insectos

En este ensayo se emplearon dos especies de depredadores (*Hippodamia convergens* y *Cycloneda sanguinea*) y un parasitoide (*Aphidius colemani*) disponibles comercialmente, pero sobre todo porque son algunos de los más abundantes en campos de sorgo. Los adultos de *H. convergens* y *C. sanguinea*, entre 5-15 d de edad, fueron proporcionados por la empresa Organismos Benéficos para la Agricultura S.A. de C.V. Los adultos de *A. colemani* (producto APHIPAR®), entre 1-3 d de edad, se obtuvieron de Koppert México S.A. de C.V.

Previo a los experimentos los individuos se mantuvieron en recipientes de plástico (20 x 15 x 10 cm) con ventilación y se les suministro alimento *at libitum* (una solución de agua y miel en proporción 3:1, dentro de un vial de 20 mL con una mota de algodón). Todos los ensayos se realizaron en condiciones de laboratorio a 24 ± 2 ° C, $60 \pm 5\%$ HR y fotoperiodo 16 L: 8 O h .

2.2.2 Insecticidas

En este trabajo se emplearon tres de los cinco insecticidas recomendados dentro de la Campaña Nacional contra el PAS (Cuadro 2.1). Estos insecticidas se seleccionaron considerando los diferentes niveles de toxicidad sobre los enemigos naturales que se obtuvieron en estudios previos (Capítulo I de esta tesis). Los insecticidas se diluyeron en agua destilada más adherente (INEX-A® 1 mL L⁻¹) a la dosis que recomienda el fabricante y se consideraron 300 L ha⁻¹ de agua (Quijano *et al.*, 2017).

Cuadro 2.1. Insecticidas y concentraciones evaluados en adultos de enemigos naturales de *Melanaphis sacchari*.

Producto		Grupo toxicológico	Compañía	Dosis	
Nombre genérico	Nombre comercial			mL ha ⁻¹	mg de i.a. L ⁻¹
Sulfoxaflor	Toretto [®] 21.8 SC	Sulfoximinas	Dow AgroSciences de México S.A. de C.V	100	80
flupyradifurone	Sivanto [®] prime 200 SL	Butenolides	Bayer de México S.A de C.V.	200	133.33
imidacloprid	Confidor 350 SC	Neonicotinoides	Bayer de México S.A de C.V.	200	233.33

2.2.3 Toxicidad residual en laboratorio

Para realizar las pruebas se siguió el método propuesto por Roubos *et al.* (2014), con algunas modificaciones. Se evaluaron tres insecticidas (Cuadro 2.1) más un testigo (agua destilada más adherente INEX-A[®] 1 mL L⁻¹), excepto en el caso del parasitoide, donde se evaluó un tratamiento adicional denominado testigo absoluto (agua destilada). Para la aplicación de los tratamientos se usó una torre de Potter de acrílico, 150 x 50 x 50 cm, con boquilla de acero inoxidable de cono lleno ¼ J-SS (Sraying Systems Co. Wheaton, IL, USA); la boquilla estaba conectada a un compresor de aire de 10 L y 2 HP (Adir[®], Estado de México) que proporcionaba una presión de 206.84 kPa en cada aplicación. En cada tratamiento primero se asperjaron las bases y tapas de cajas Petri de vidrio (10.0 x 1.5 cm), se usaron 4 mL de solución en cada caso, y las cajas Petri siempre estuvieron a una distancia de 120 cm de la boquilla en la torre de Potter. Las cajas Petri tratadas se dejaron a temperatura ambiente por 2 h, para eliminar el exceso de la solución y luego se trasladaron a una habitación a 24 ± 2 °C, 60 ± 5% HR y fotoperiodo 16 L: 8 O h, para permitir la evaporación completa de cada solución-tratamiento.

Todos los tratamientos se aplicaron el mismo día, y cada tratamiento tuvo cinco repeticiones. Un día después de la aplicación (DDA), en cada caja Petri se colocaron 10 individuos del enemigo natural y adicionó alimento *at libitum* (agua y miel en proporción 3:1, dentro de un vial de 1 mL con una mota de algodón) y se volvieron a colocar en habitación con las condiciones controladas. La mortalidad se evaluó a las 24 h después de la exposición de los individuos a los tratamientos; se consideró a un individuo muerto al que al estímulo de una aguja de disección presentó movimientos lentos, desorientados o no reaccionó. A los 5 DDA se adicionaron nuevos individuos a cada una de las mismas cajas Petri con los tratamientos, este procedimiento se repitió cada tercer día hasta obtener mortalidades menores al 30% del enemigo natural o se tuvieran dos meses de evaluación. La mortalidad menor del 30% colocaba a ese insecticida en la categoría de inofensivo, según la Organización Internacional de Control Biológico (IOBC) para experimentos de laboratorio (Hassan *et al.*, 1994).

2.2.4 Toxicidad residual en semi-campo

Para este ensayo se siguió la metodología propuesta por Luna-Cruz *et al.* (2015), con ligeras modificaciones. Este experimento se realizó sobre plantas de sorgo de la variedad UPM-219 de 2.5 meses de edad y seis hojas extendidas, las plantas se desarrollaron en un área de 564 m² en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México. Se probaron tres insecticidas (Cuadro 2.1) más un testigo (agua destilada más adherente INEX-A[®] 1 mL L⁻¹); todos los tratamientos se realizaron el mismo día entre 9:00 y 11:00 h. La aplicación de cada tratamiento se dirigió al envés de las hojas de 120 plantas que cubrían un área de 96 m², para ello se usó una mochila motorizada (Honda PWC 2525, motor GX 25T, capacidad 25 L, Morelos, México) a 100 psi. Un DDA se recolectaron cinco hojas al azar, de plantas diferentes,

de cada tratamiento. De cada hoja tratada se cortó un disco foliar de 9.0 cm de diámetro. Cada disco se colocó, con el área del envés hacia arriba, sobre una toalla de papel húmeda en la base de una caja Petri de plástico (9.0 x 1.5 cm), posteriormente se colocaron 10 individuos adultos del enemigo natural y se colocó la tapa. En la tapa de cada caja Petri se hizo un orificio (4.0 cm diámetro), mismo que se cubrió con tela de organza para proporcionar ventilación, y se le adicionaron líneas de miel sobre la tapa, como sustrato de alimento. Las cajas Petri con el parasitoide y el depredador se colocaron en un cuarto de cría a las condiciones ambientales señaladas anteriormente. La mortalidad se evaluó a las 24 h como en el experimento anterior. A los 5 DDA se recolectaron hojas de campo para cortar los discos foliares y adicionar enemigos naturales y evaluar mortalidad como el primer DDA. Este procedimiento se repitió cada tercer día hasta obtener mortalidades menores al 25% del enemigo natural, que indica que el producto dejó de ser tóxico, según la IOBC para experimentos de campo, semi-campo e invernadero (Hassan *et al.*, 1994).

2.2.5 Análisis estadístico

En todos los experimentos se utilizó un diseño estadístico completamente al azar. Los resultados de mortalidad se corrigieron con la observada en el testigo por medio de la ecuación de Abbott (1925). La mortalidad máxima aceptada para los testigos fue $\leq 10\%$. Los valores de mortalidad se sometieron a un análisis por regresión logística longitudinal y las medias se compararon por el ajuste de Tukey-Kramer $\alpha \leq 0.05$ usando el programa SAS versión 9.4 (SAS Institute, 2013). En las figuras se representan los valores de mortalidad sin corregir. La toxicidad de los insecticidas se clasificó según su persistencia en los enemigos naturales de acuerdo con la propuesta del IOBC (Hassan *et al.*, 1994). Las categorías son: 1 = no persistente, inofensivos en

menos de 5 d; 2 = poco persistente, inofensivos entre 5 y 15 d; 3 = moderadamente persistentes, inofensivos entre 16 y 30 d; y 4 = persistentes, inofensivos después de 30 d. Inofensivo se refiere a menos de 30% de mortalidad en condiciones de laboratorio, y 25% de mortalidad en condiciones de semi-campo (Hassan *et al.*, 1994).

2.3 Resultados

Los tres insecticidas evaluados mostraron toxicidades residuales variables en las tres especies de enemigos naturales estudiadas, tanto en las condiciones de laboratorio, como de semi-campo. En general, siguiendo las categorías de la IOBC se observó mayor persistencia de los insecticidas en condiciones de laboratorio, en comparación con semi-campo. Adicionalmente, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, en los tiempos de evaluación (DDA) y la interacción de estos dos factores (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

Para el caso de los depredadores en pruebas de laboratorio (Figura 2.1, 2.2A), imidacloprid resultó ser el más tóxico (Categoría 4), puesto que al primer DDA causó 100% de mortalidad. Además, aunque las mortalidades de *C. sanguinea* (Figura 2.1) y *H. convergens* (Figura 2.2A) comenzaron a disminuir gradualmente, este insecticida se ubicó dentro de la categoría de productos persistentes (Categoría 4) para ambas especies por que ocasionó mortalidades superiores a 30% después de 30 DDA.

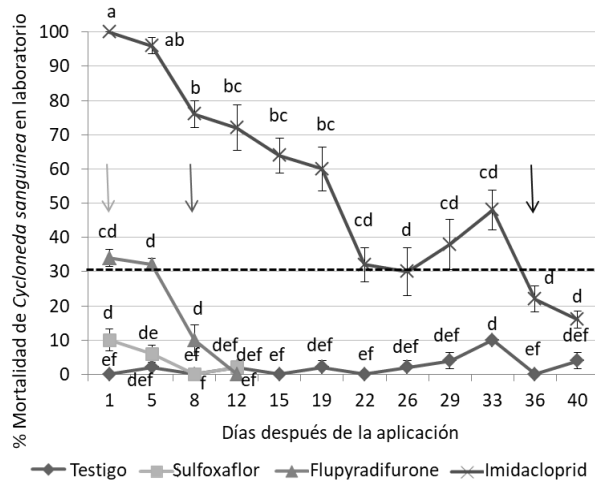


Figura 2.1. Toxicidad y persistencia de insecticidas sobre *Cycloneda sanguinea* en condiciones de laboratorio. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas. La flecha indica el momento en que el insecticida es inofensivo para la especie de enemigo natural. La línea punteada es el porcentaje de mortalidad a la que el insecticida se considera inofensivo.

Flupyradifurone fue ligeramente tóxico (Categoría 2) en condiciones de laboratorio; desde el primer DDA ocasionó 30 y 34 % de mortalidad para *H. convergens* y *C. sanguinea*, respectivamente. Dicha toxicidad disminuyó con el tiempo y se catalogó como ligeramente persistente (Categoría 2) por ocasionar mortalidades menores a 30% entre los 5 y 15 DDA.

Con respecto a sulfoxaflor, fue inofensivo (Categoría 1) desde el primer DDA para ambos depredadores, la mortalidad que ocasionó fue 10% para *C. sanguinea* (Figura 2.1) y 12% para *H. convergens* (Figura 2.2). Por lo anterior, sulfoxaflor es un producto no persistente (Categoría 1) por tener mortalidades menores a 30% antes de 5 DDA.

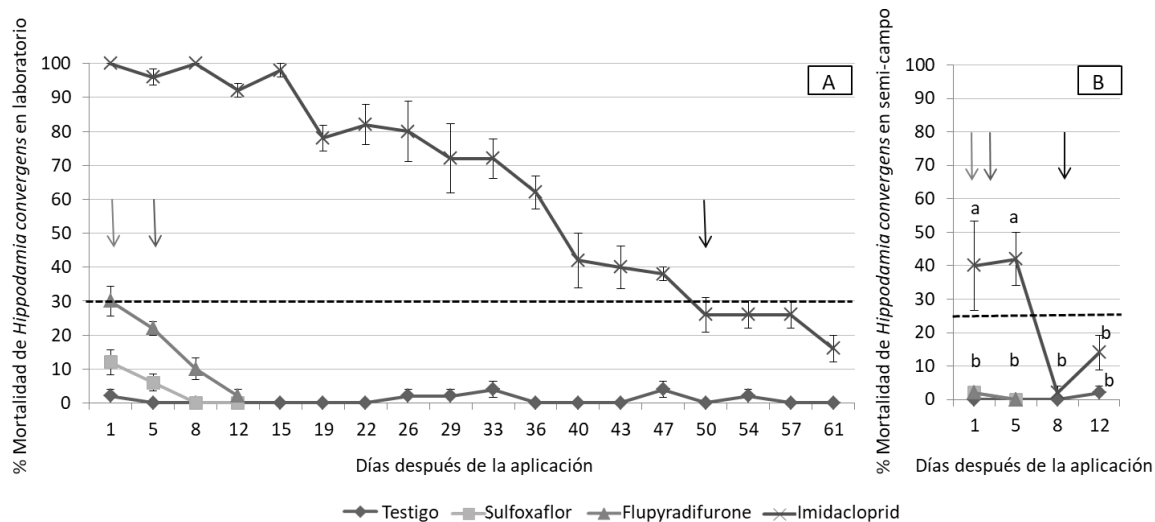


Figura 2.2. Toxicidad y persistencia de insecticidas sobre *Hippodamia convergens* en (A) condiciones de laboratorio y (B) semi-campo. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas. Flecha indica momento en el insecticida es inofensivo para la especie de enemigo natural. La línea punteada es el porcentaje de mortalidad a la que el insecticida se considera inofensivo.

En el ensayo de condiciones de semi-campo, sólo se evaluó la actividad de los insecticidas sobre *H. convergens* (Figura 2.2B), por ser el depredador más abundante en campo asociado al PAS. Al igual que en los ensayos de laboratorio el imidacloprid fue el insecticida más tóxico al depredador, en comparación con sulfoxaflor y flupyradifurone. Sin embargo, la toxicidad de imidacloprid fue menor puesto que al primer DDA sólo causó 40% de mortalidad, es decir, fue ligeramente tóxico (Categoría 2) y a los 8 DDA fue inofensivo con 2% de mortalidad, por lo que se consideró como ligeramente persistente (Categoría 2). Mientras que sulfoxaflor y flupyradifurone desde el primer DDA fueron inofensivos (Categoría 1) y por tanto ubicados como no persistentes (Categoría 1) debido a que las mortalidades fueron menores al 25% antes de los 5 DDA.

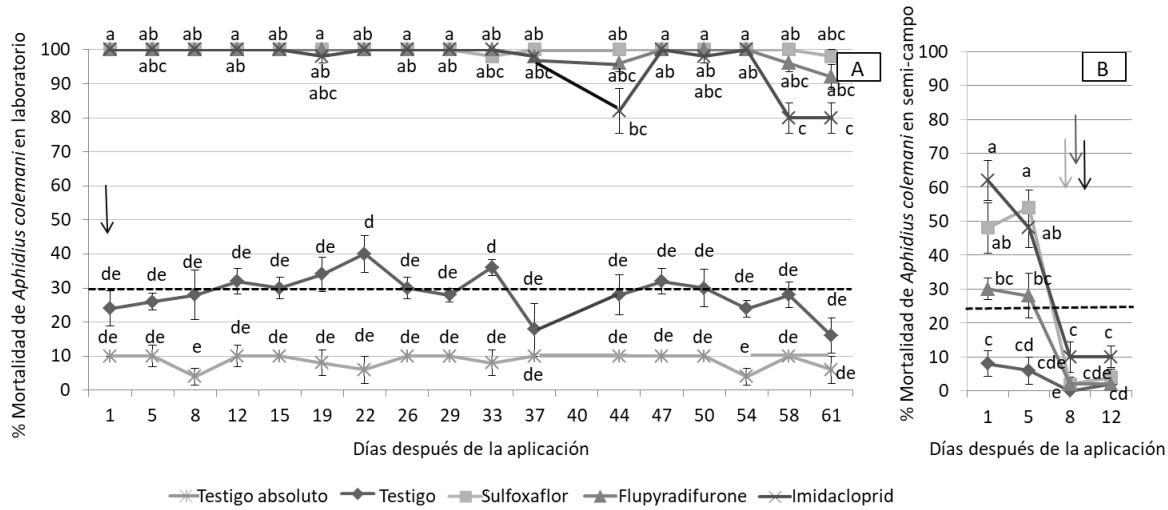


Figura 2.3. Toxicidad y persistencia de insecticidas sobre *Aphidius colemani* en (A) condiciones de laboratorio y (B) semi-campo. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas. Flecha indica momento en el insecticida es inofensivo para la especie de enemigo natural. La línea punteada es el porcentaje de mortalidad a la que el insecticida se considera inofensivo.

Con respecto al parasitoide (*A. colemani*) en condiciones de laboratorio (Figura 2.3A), se confirmó que el uso del adherente afectó al parasitoide (mortalidad $\geq 10\%$), lo que justificó la inclusión en la prueba de un testigo absoluto de referencia. El efecto del adherente ocasionó mortalidad de 24% sobre el parasitoide el primer DDA por lo que se consideró que era no persistente (Categoría 1). Por el contrario, los tres insecticidas resultaron tóxicos para *A. colemani* (Categoría 4), actividad que se mantuvo desde el primer hasta 37 DDA con 100% de mortalidad; por tanto se consideraron persistentes (Categoría 4).

Considerando la clasificación de la IOBC, las categorías de los insecticidas fueron diferentes en las condiciones de semi-campo (Figura 2.3B). Imidacloprid ocasionó 64% de mortalidad de *A. colemani* en el primer DDA por lo que fue moderadamente tóxico (Categoría

3). Además, se categorizó como ligeramente persistente (Categoría 2) porque disminuyó la mortalidad a menos de 25% a los 8 DDA.

Flupyradifurone y sulfoxaflor en el parasitoide fueron ligeramente tóxicos con 30 y 48% de mortalidad al primer DDA, respectivamente. Los dos insecticidas se clasificaron como inofensivos (Categoría 1) a los 8 DDA, y fueron ligeramente persistentes (Categoría 2), debido a que presentaron mortalidades menores al 25% entre los 5 y 15 DDA.

2.4 Discusión

Los resultados de este estudio revelan que los enemigos naturales fueron adversamente afectados por tres de los insecticidas actualmente recomendados para el control del PAS ya que mostraron diferentes niveles de toxicidad y persistencia para *H. convergens*, *C. sanguinea* y *A. colemani*; que dependieron del tipo de insecticida, el tiempo de evaluación y la especie evaluada.

En condiciones de laboratorio, la toxicidad y persistencia de los insecticidas sobre los tres enemigos naturales fue mayor que en semi-campo. Esto es razonable porque en condiciones controladas se regula la degradación de los productos por acción de factores ambientales (Roubos *et al.*, 2014), y los insectos pierden la oportunidad de desplazarse a áreas libres de contaminación de insecticidas (Studebarker y Kring, 2003).

La toxicidad y persistencia también está relacionada con la forma en que actúan los productos. Aun cuando en este estudio se evaluaron insecticidas con el mismo modo de acción (IRAC, 2018), la mayor toxicidad y persistencia en los tres enemigos naturales la mostró imidacloprid, tanto en condiciones de laboratorio como de semi-campo. Actividad que se extendió por más de 30 DDA; mientras que sulfoxaflor y flupyradifurone fueron menos tóxicos y persistentes. Estos contrastes pudieran deberse a que estos dos últimos insecticidas presentan

diferencias en sus estructuras químicas, con respecto a imidacloprid, lo que conlleva a una mayor toxicidad y especificidad hacia insectos que se alimenten de la savia de las plantas como el pulgón, pero no hay actividad insecticida sobre otros organismos no objetivo (Sparks *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2015) como sería el caso de los depredadores *H. convergens* y *C. sanguinea*.

Por otro lado, imidacloprid presenta mayor toxicidad sobre las especies de enemigos naturales en condiciones de laboratorio (Studebaker y Kring, 2003); probablemente se deba a que en dichas condiciones no hay radiación o precipitación lo que tendría como consecuencia que la degradación de imidacloprid sea lenta (Roubos *et al.*, 2014) y por consiguiente se registró mayor residualidad. Además, la degradación del insecticida es gradual (Ramasubramaian *et al.*, 2016), considerándolo persistente sobre los enemigos naturales, ya que causó mortalidades mayores a 30% y se mantuvo activo por más de un mes.

Imidacloprid actúa por contacto y de manera sistémica (Fuentes-Contreras *et al.*, 2007), como los enemigos naturales presentan alta movilidad y continuo acicalamiento, es probable que estuvieran en más contacto con el insecticida y por ello se obtuvieron mortalidades mayores a 30%. Otro aspecto que propició que la toxicidad del imidacloprid se mantuviera fue el hecho de que las cajas Petri, al ser superficies inertes, no tenían la capacidad de absorber el insecticida, por lo que quizás el insecto benéfico haya entrado en contacto directo con el insecticida adherido a las paredes de las cajas tratadas (Studebaker y Kring, 2003). Cabe señalar que aún, si el enemigo natural expuesto a los insecticidas tuviera la posibilidad de evitar la contaminación de dichos insecticidas, se considera que la dosis letal en las cajas Petri y en las condiciones de laboratorio, es mayor para las especies entomófagas (Studebaker y Kring, 2003).

A diferencia de lo encontrado con los depredadores, todos los insecticidas resultaron tóxicos al parasitoide y su actividad tóxica se mantuvo hasta por dos meses. Los parasitoides por

lo general son organismos frágiles, de cuerpo blando, de menores dimensiones y masa (peso), altamente susceptibles a residuos químicos, debido a que los insecticidas tienden a penetrar fácilmente por el cuerpo blando de éste (Garantonakis *et al.*, 2016); haciendo blanco en los receptores nicotínicos de la acetilcolina lo que ocasiona alteraciones en el sistema nervioso del parasitoide, con la consecuente parálisis y la muerte del individuo (Huang *et al.*, 1999; Sparks *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2015).

En condiciones de semi-campo, la aplicación de insecticidas sobre plantas de sorgo reflejó resultados contrastantes con lo encontrado en condiciones de laboratorio. La toxicidad y persistencia de los insecticidas fue menor en condiciones de semi-campo. Una de las explicaciones que más frecuentemente se señalan es la interacción de factores ambientales que no se controlan como sucede en las condiciones de laboratorio. Desde el momento en que el insecticida es aplicado, intervienen factores como la temperatura, radiación, precipitación, humedad relativa y el viento; que degradan o hidrolizan los insecticidas (Stuebaker y Kring, 2003; Hulbert *et al.*, 2011; Roubos *et al.*, 2014; Maia *et al.*, 2016; Wanumen *et al.*, 2016) y por tanto bajo esta situación de semi-campo los insecticidas pierden su actividad tóxica más rápido.

Otra explicación puede ser que los insecticidas se unen al sustrato, es decir, que la superficie de la hoja de sorgo absorbe parte de los insecticidas (Stuebaker y Kring, 2003). Lo que conlleva a que los insecticidas no estén disponible en la misma cantidad para el enemigo natural (Stuebaker y Kring, 2003). Adicionalmente, aun con aspersiones con mochilas motorizadas se tienen áreas que probablemente no estuvieron expuestas a la contaminación de los insecticidas. Lo anterior sugiere la realización de pruebas de aplicación de insecticidas sobre plantas de sorgo que presenten poblaciones de insectos benéficos para determinar un efecto directo.

Cabe mencionar que sólo algunos trabajos incluyen la respuesta de los enemigos naturales a los insecticidas tanto en condiciones de laboratorio y semi-campo, por lo que el presente trabajo consideró combinar el efecto de sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid sobre adultos de *C. sanguinea*, *H. convergens* y *A. colemani*. Las evaluaciones realizadas en condiciones de semi-campo tienen una aproximación más real con respecto a la absorción y permanencia de residuos de insecticidas en las plantas de sorgo, situación que es diferente sobre la superficie inerte de las cajas Petri en laboratorio (Studebarker y Kring, 2003). Esas dos condiciones permiten evaluar mejor el efecto residual de los insecticidas sobre los enemigos naturales con el fin de potenciar su uso. Aunque hace falta más investigación para poder llegar a hacer una recomendación de campo, lo anterior sugiere que hay alternativas para utilizar insecticidas que tengan menos efectos adversos (toxicidad y residualidad) sobre las especies de enemigos naturales, lo que puede contribuir a la regulación de esa plaga.

2.5 Conclusiones

En condiciones de laboratorio los insecticidas reflejaron mayor toxicidad y persistencia sobre las tres especies de enemigos naturales. El parasitoide, *A. colemani*, fue la especie más susceptible a la exposición de sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid.

Independientemente si las condiciones fueron de laboratorio o semi-campo, imidacloprid presentó mayor toxicidad y persistencia para los tres enemigos naturales. Mientras que sulfoxaflor y flupyradifurone fueron ligeramente tóxicos y ligeramente persistentes sobre los depredadores.

Con base en lo anterior, de ser necesario el control químico en la campaña del PAS se sugiere el uso de sulfoxaflor y flupyradifurone, por ser productos menos tóxicos y persistentes sobre los enemigos naturales más abundantes de esa plaga.

CAPÍTULO III: ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE INSECTICIDAS EN CAMPO SOBRE EL PULGÓN AMARILLO DEL SORGO Y SUS ENEMIGOS NATURALES

Resumen

El pulgón amarillo del sorgo (PAS) es una plaga que ha generado daños y pérdidas en las zonas sorgueras de México; y en este trabajo se planteó evaluar en campo el efecto de insecticidas biorracionales y convencionales sobre las poblaciones de PAS y sus enemigos naturales. Se seleccionaron tres predios de sorgo en los municipios de Pénjamo, Abasolo y Celaya-Cortazar, Guanajuato; en estos se detectó el PAS y varias especies de sus enemigos naturales. Allí se realizó la aplicación de los tratamientos siguientes: sales potásicas de ácidos grasos, sulfoxaflor, flupyradifurone, imidacloprid, un testigo con adherente (INEX-A[®]) y un testigo absoluto (no aplicación). Previo a la aplicación, y a uno y siete días después de la aplicación (1 DDA y 7 DDA) se realizó el conteo de PAS, parasitoides y depredadores. Todos los tratamientos (excepto testigo absoluto) disminuyeron las poblaciones de PAS 1 DDA, pero a los 7 DDA las poblaciones de PAS se reestablecieron en los tratamientos con sales potásicas de ácidos grasos y con el adherente; y esos fueron diferentes de los insecticidas convencionales. Solo sulfoxaflor y flupyradifurone lograron mantener las poblaciones de PAS por debajo del umbral (50 individuos hoja⁻¹) por 7 DDA. Las especies de enemigos naturales más abundantes fueron *Hippodamia convergens* y *Aphidius platensis*. La mayor disminución de la densidad poblacional de ambas sucedió por efecto de imidacloprid desde 1 DDA. Se recomienda continuar evaluando a sulfoxaflor y flupyradifurone como candidatos para usarse dentro del manejo integrado del PAS, pues fueron eficientes sobre la plaga y aparentemente tuvieron menor toxicidad y efecto residual sobre los enemigos naturales.

Palabras clave: Insecticidas, *Melanaphis sacchari*, *Hippodamia convergens*, *Aphidius platensis*.

3.1 Introducción

El pulgón amarillo del sorgo (PAS) es una plaga reportada en México desde finales del 2013, la cual se identificó como *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015). Esta plaga ha ocasionado daños que repercuten en la calidad y cantidad del grano del sorgo (Singh *et al.*, 2004a; Bowling *et al.*, 2016), además de pérdidas en la producción entre el 30 y 100% (Moreno *et al.*, 2016). El PAS tiene un ciclo de vida corto, con una alta tasa de reproducción, y puede alcanzar entre 10 y 20 generaciones por año (Singh *et al.*, 2004a). Por lo que, cuando las poblaciones sobrepasan el umbral de 50 individuos hoja⁻¹ se recomienda el uso de insecticidas (Moreno *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

Los insecticidas sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid son algunos de los plaguicidas recomendados dentro de la campaña del PAS, bajo condiciones de campo logran mantener las poblaciones de la plaga por debajo del umbral económico, hasta por 21 días después de la aplicación (Bowling *et al.*, 2016; Tejeda-Reyes *et al.*, 2017). Sin embargo, al momento de una aplicación en campo, también se afecta a la fauna benéfica (Tenczar y Krischik, 2006).

Hasta la fecha se ha demostrado la efectividad de insecticidas sobre PAS en condiciones de laboratorio (Martínez *et al.*, 2016; Jones *et al.*, 2017), así como el efecto de insecticidas convencionales en poblaciones del PAS en campo (Tejeda-Reyes *et al.*, 2017). Además, se ha evaluado el impacto de algunos insecticidas convencionales en cinco especies de enemigos naturales en laboratorio (Barbosa *et al.*, 2017; Colares *et al.*, 2017; Jaimez-Ruiz *et al.*, 2016, 2017a, b, 2018) y semicampo (Jaimez-Ruiz *et al.*, 2018). Sin embargo, se reporta que pueden existir hasta 47 especies de parasitoides y depredadores asociados al PAS (Singh *et al.*, 2004a),

por lo que sería conveniente analizar el efecto de insecticidas sobre los insectos benéficos más abundantes encontrados en campo y asociados a esta plaga.

Aun cuando hay varios ensayos en laboratorio con insecticidas, la mortalidad observada en estos bioensayos no necesariamente refleja la mortalidad en campo (Studebaker y Kring, 2003), por lo que se necesita realizar un bioensayo donde se determine, al mismo tiempo, el efecto de los insecticidas sobre PAS y los enemigos naturales. Lo anterior, contribuiría a la toma de decisiones para el manejo integrado de dicha plaga, considerando los productos químicos que pudieran ser menos dañinos para mantener el control biológico por conservación. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar, a nivel de campo, el efecto de los insecticidas convencionales (sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid) y biorracional (sales potásica de ácidos grasos) en poblacionales del PAS y sus enemigos naturales.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Bioensayo

En el estado de Guanajuato se seleccionaron tres predios con el cultivo de sorgo de dos a tres meses de desarrollo, con presencia de PAS y de enemigos naturales. Las parcelas se ubicaron en Pénjamo ($20^{\circ}26'54''N$ $101^{\circ}32'59.5''W$), Abasolo ($20^{\circ}27'15.1''N$ $101^{\circ}32'00.6''W$) y en Celaya-Cortazar ($20^{\circ}30'45.6''N$ $100^{\circ}56'03.3''W$). Cada parcela se dividió completamente al azar en 18 unidades experimentales, cada una de 20 x 4.8 m.

Previo a la asignación y aplicación de los tratamientos (AA), se realizó conteo de individuos del PAS y de sus enemigos naturales. Para ello, de cada unidad experimental se seleccionaron 20 plantas al azar. De cada planta se estimó el número de áfidos en dos hojas: la primera hoja superior después de la hoja bandera, y en la primera hoja inferior erecta, según la

tarjeta de monitoreo rápido de PAS propuesta por Bowling *et al.* (2015). También se determinó el número de depredadores y parasitoides con cualquiera de sus estados de desarrollo en toda la planta.

Los tratamientos fueron tres insecticidas convencionales recomendados en la Campaña Nacional del PAS: sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid, y un insecticida biorracional: sales potásicas de ácidos grasos (Cuadro 3.1) (Quijano *et al.*, 2017). Los tratamientos se diluyeron en agua más adherente (INEX-A[®] 1 mL L⁻¹) en un volumen de 300 L ha⁻¹ de agua (Quijano *et al.*, 2017). Además, se incluyó un testigo con agua más adherente (INEX-A[®] 1 mL L⁻¹) y un testigo absoluto donde no hubo aplicación, excepto para la parcela de Abasolo no se consideró el testigo absoluto. Cada uno de los seis tratamientos tuvo tres repeticiones. Los tratamientos se aplicaron con una mochila motorizada (Honda PWC 2525, motor GX 25T, capacidad 25L, Morelos, México) a una presión de 100 psi. La aplicación se dirigió al envés de las hojas de la planta de sorgo, y se realizó en días diferentes para cada localidad.

Cuadro 3.1. Insecticidas y concentraciones evaluados en poblaciones del pulgón amarillo del sorgo y sus enemigos naturales.

Producto		Grupo toxicológico	Compañía	Dosis
Nombre genérico	Nombre comercial			mL ha ⁻¹
sales potásicas de ácidos grasos	Impide [®] 49 LS	Jabón agrícola	Gowan Mexicana S.A.P.I. de C.V.	2000
sulfoxaflor	Toretto [®] 21.8 SC	Sulfoximinas	Dow AgroSciences de México S.A. de C.V	100
flupyradifurone	Sivanto [®] prime 200 SL	Butenolides	Bayer de México S.A de C.V.	200
imidacloprid	Confidor 350 SC	Neonicotinoides	Bayer de México S.A de C.V.	200

A uno y siete días después de la aplicación (1 DDA y 7 DDA) se realizó el conteo de áfidos y enemigos naturales, siguiendo el protocolo que se describió en la evaluación previa a la aplicación.

3.2.2 Análisis estadístico

De cada tratamiento se estimó el número de pulgones; para ello, se obtuvo el promedio de 120 hojas por parcela, es decir dos hojas por planta, de 20 plantas al azar y de tres repeticiones. Además, se determinó el promedio de depredadores y parasitoides en 60 plantas, es decir para cada especie de enemigo natural se contabilizó el total de individuos en sus diferentes estados de desarrollo por planta de 20 plantas al azar y se realizaron tres repeticiones. En cada predio, para cada tiempo de evaluación, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias entre los tratamientos a través del programa SAS versión 9.4 (SAS Institute, 2013).

3.3 Resultados

En los tres predios evaluados en Guanajuato se encontraron ocho especies de enemigos naturales, una especie de parasitoide y siete de depredadores (Cuadro 3.2). Del parasitoide se observaron individuos adultos, e individuos de PAS momificados; de los depredadores se registraron todos los estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y el adulto. El parasitoide *A. platensis* y el depredador *H. convergens* fueron las especies más abundantes en todos los predios.

Cuadro 3.2. Enemigos naturales asociados a *Melanaphis sacchari* en Guanajuato.

Orden	Familia	Género y especie
Hymenoptera	Braconidae	<i>Aphidius plantensis</i> Bréthes
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Hippodamia convergens</i> Guérin-Ménéville <i>Cycloneda sanguinea</i> (Linnaeus) <i>Harmonia axyridis</i> (Pallas) <i>Olla v-nigrum</i> (Mulsant) <i>Scymnus loewii</i> Mulsant
Neuroptera	Chrysopidae	<i>Chrysoperla</i> sp.
Diptera	Syrphidae	<i>Allograpta</i> sp.

La población inicial (AA) del PAS fue variable en los predios (Figura 3.1). El predio de Pénjamo se caracterizó por tener poblaciones de PAS bajas y menores al umbral de acción (Figura 3.1A); mientras que en el predio de Abasolo, la densidad poblacional del PAS fue cercana al umbral (Figura 3.1B) y en el predio de Celaya-Cortazar, la población inicial del PAS fue mayor al umbral (Figura 3.1C).

En el predio de Pénjamo (Figura 3.1A), la aplicación de insecticidas convencionales redujo en 25% la población del PAS desde 1 DDA, pero sucedió lo contrario con el insecticida biorracional (sales potásicas de ácidos grasos) puesto que se registró un aumento de 44% de la población de PAS a 1 DDA. A los 7 DDA se observó una disminución diferencial de las poblaciones en todos los tratamientos ($P < 0.0001$).

En los predios de Abasolo (figura 3.1B) y Celaya-Cortazar (Figura 3.1C), los tratamientos de insecticida biorracional con sales potásicas de ácidos grasos y testigo con adherente, provocaron que las poblaciones de PAS disminuyeron 1 DDA entre un 12 y 69 %, pero a los 7 DDA las poblaciones de PAS fueron similares a las iniciales, por lo que fueron iguales estadísticamente entre ellos pero diferentes de los otros tratamientos ($P < 0.0001$). Con

respecto a los insecticidas convencionales, las poblaciones de PAS disminuyeron 1 DDA entre un 74 y 94% y se mantuvieron bajas a los 7 DDA con 85 y 98% de control de PAS. Al cabo de los 7 DDA así como en la localidad de Pénjamo, se establecieron dos grupos con los tratamientos, uno formado por el testigo absoluto, testigo y sales potásicas; mientras que el segundo grupo fue constituido por sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid. Entre ambos grupos se presentaron diferencias significativas para ambos predios (Abasolo: $P = 0.0002$, Celaya-Cortazar: $P < 0.0001$).

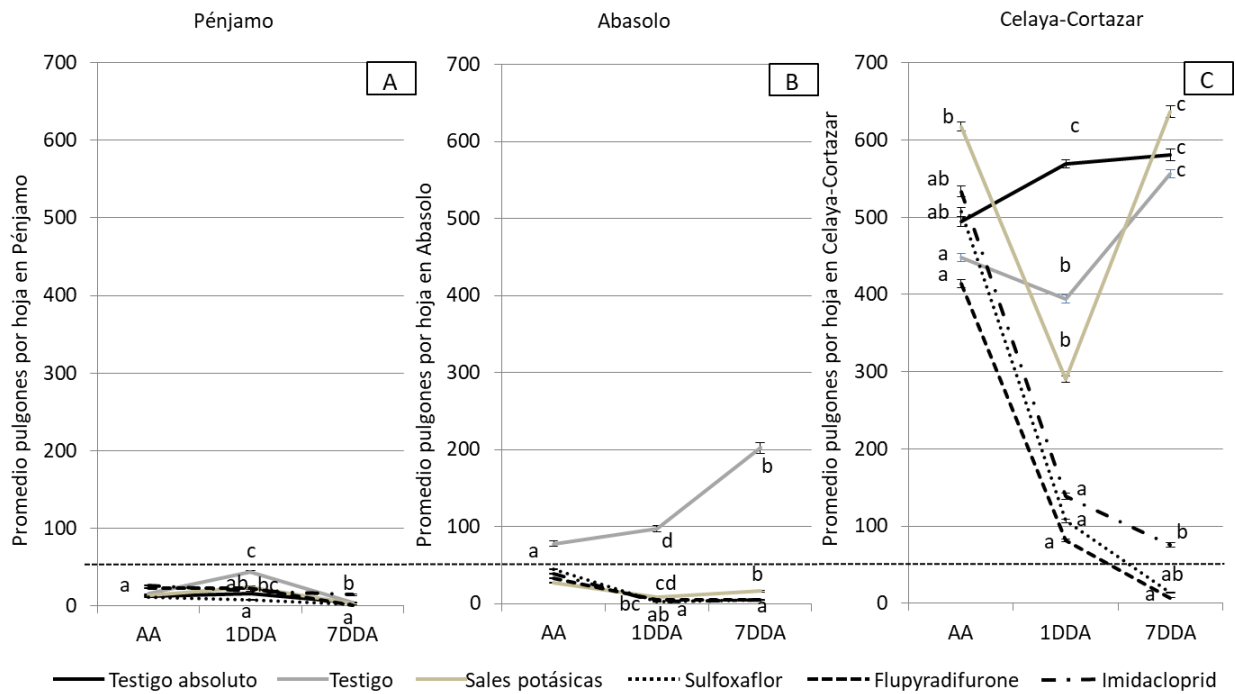


Figura 3.1. Promedio de *Melanaphis sacchari* por hoja de sorgo. AA: antes de la aplicación, 1DDA: 1 día después de la aplicación, 7DDA: 7 días después de la aplicación. A: Pénjamo, B: Abasolo, C: Celaya-Cortazar. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de evaluación. Línea punteada representa el umbral (50 individuos por hoja).

Con respecto al parasitoide *A. platensis* (Figura 3.2), en el predio de Abasolo se presentaron poblaciones bajas, las cuales, desde el inicio del experimento, eran menores al promedio de 1 individuo planta⁻¹ y dicha población no cambió hasta finalizar el experimento, por lo que no se observaron diferencias entre los tratamientos en los diferentes tiempos de evaluación (AA: P = 0.0159, 1 DDA: P= 0.5561, 7 DDA: P = 0.0168) (Figura 3.2B).

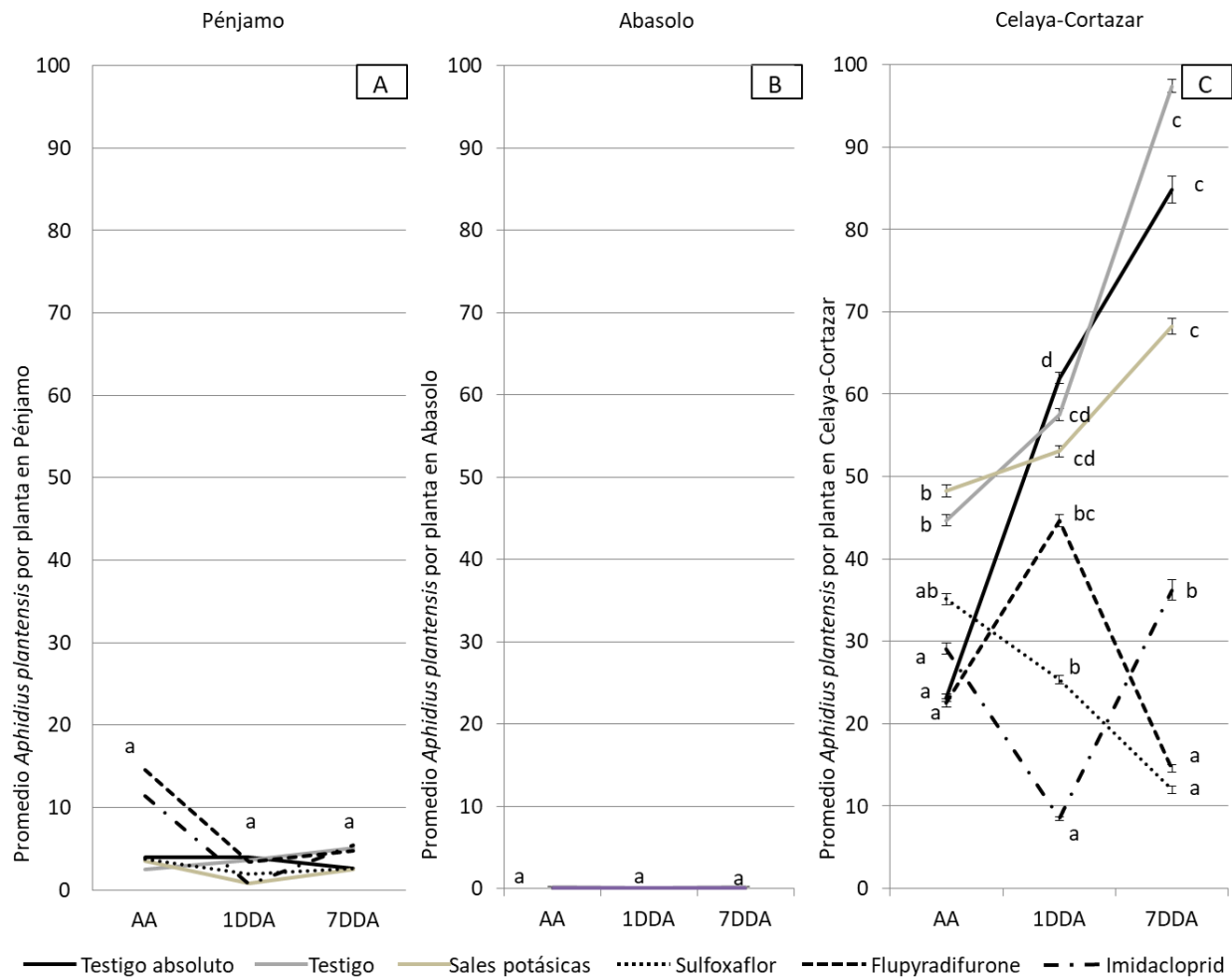


Figura 3.2. Promedio de *Aphidius platensis* por planta. AA: antes de la aplicación, 1DDA: 1 día después de la aplicación, 7DDA: 7 días después de la aplicación. A: Pénjamo, B: Abasolo, C: Celaya-Cortazar. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de evaluación

En Pénjamo, después de aplicar los tratamientos, se observó que los cuatro insecticidas ocasionaron una disminución de la población del parasitoide en un 78% para el biorracional, y entre 48 y 94% para los convencionales. Sin embargo, el imidacloprid fue el insecticida que generó una mayor disminución en la población de *A. platensis* con un 94% desde 1 DDA. A los 7 DDA, las poblaciones del parasitoide se mantuvieron bajas entre el 27 y 67% para los cuatro insecticidas, sin ser significativamente diferentes entre ellas ni con los testigos ($P = 0.1023$) (Figura 3.2A).

En el predio de Celaya-Cortazar se determinó que sulfoxaflor e imidacloprid disminuyeron las poblaciones de *A. platensis* 1 DDA, en un 28 y 71%, respectivamente, imidacloprid presentó diferencias significativas con el resto de los tratamientos ($P < 0.0001$). Por otro lado, en los tratamientos testigo absoluto, testigo y el insecticida biorracional, se observó a los 7 DDA el doble o triple de la población del parasitoide con diferencias significativas con respecto a los tres insecticidas convencionales ($P < 0.0001$) (Figura 3.2C).

Al evaluar a *H. convergens* (Figura 3.3), en el predio de Pénjamo se observó la mayor disminución de sus poblaciones por el efecto de los tres insecticidas convencionales, disminución entre un 56 y 76% desde 1 DDA, y se presentaron diferencias significativas entre estos insecticidas convencionales con el resto de los tratamientos ($P = 0.0005$). Sin embargo, a los 7 DDA todos los tratamientos, incluyendo los testigos, tuvieron una disminución del depredador mayor al 83% sin diferencias significativas entre ellas ($P = 0.0332$) (Figura 3.3A).

Similarmente que con el parasitoide, el predio de Abasolo se caracterizó por presentar una baja población de *H. convergens*, con menos de 2 individuos planta⁻¹. A 1 DDA, los cuatro insecticidas disminuyeron las poblaciones del depredador entre un 65 y 89%, pero no hubo diferencias entre los tratamientos ($P = 0.2410$). La población de *H. convergens* se mantuvo baja a

los 7 DDA para los cuatro insecticidas con menos de 1 individuo planta⁻¹, pero esto fue casi el triple para el testigo (adherente), por lo que se presentaron diferencias significativas entre los cuatro insecticidas con este testigo (P= 0.0001) (Figura 3.3B).

Para el predio de Celaya-Cortazar desde 1 DDA el insecticida que más afectó a *H. convergens* fue imidacloprid, ya que disminuyó su población en un 60% y este tratamiento fue diferente significativamente con respecto al resto (P = 0.0001). A los 7 DDA sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid disminuyeron entre un 61 y 92% las poblaciones del depredador siendo diferentes significativamente de los otros tres tratamientos (P < 0.0001), los cuáles elevaron sus poblaciones al triple (Figura 3.3C).

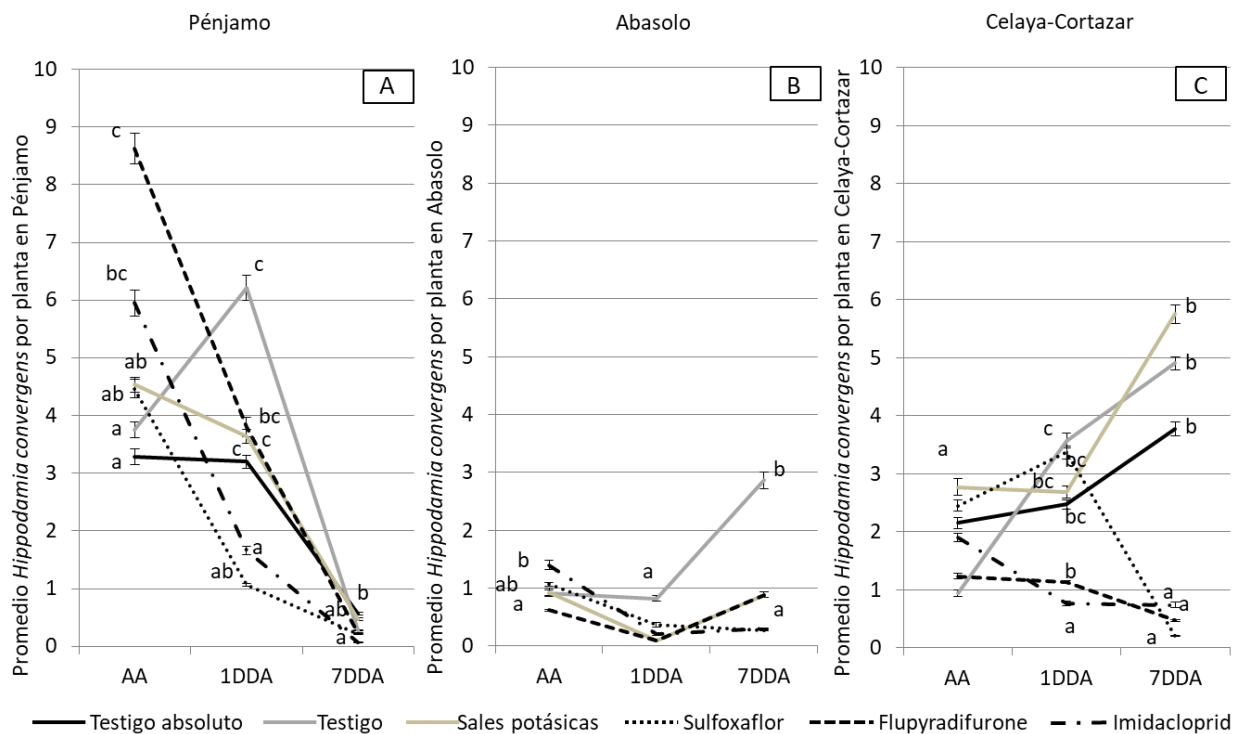


Figura 3.3. Promedio de *Hippodamia convergens* por planta. AA: antes de la aplicación, 1DDA: 1 día después de la aplicación, 7DDA: 7 días después de la aplicación. A: Pénjamo, B: Abasolo, C: Celaya-Cortazar. Barras representan el error estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de evaluación.

La suma del resto de los coccinélidos, las crisopas y sírfidos que se encontraron en los tres predios de Guanajuato (en sus diferentes estados de desarrollo) no sobrepasó el promedio de 1 individuo planta⁻¹.

3.4 Discusión

En los predios de Pénjamo, Abasolo y Celaya-Cortazar, Guanajuato, se registraron ocho especies de enemigos naturales asociados al PAS, este número y las especies concuerdan con lo registrado en esa zona (Marín y Herrera, 2016). Para otras zonas del país como Durango, Tamaulipas y Sinaloa, se ha registrado mayor diversidad de enemigos naturales, con 12, 19 y 21 especies para cada estado respectivamente (Cortez-Moncada, 2016; Vázquez-Navarro *et al.*, 2016; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

De las ocho especies encontradas en Guanajuato, siete fueron depredadores y de esas *H. converges* fue la especie más abundante asociada al PAS. La abundancia de esta especie sobre el PAS no sólo se ha registrado para ese estado (Tamayo y Marín, 2016), sino también en Nayarit (Rodríguez-Palomera *et al.*, 2016), en la Comarca Lagunera, Durango (Vázquez-Navarro *et al.*, 2016), Chiapas (Salas *et al.*, 2017) y Tamaulipas (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018). Esta frecuencia y abundancia contribuyó a hacer las evaluaciones en esa especie de depredador en este trabajo.

Con respecto al parasitoide encontrado en campo, sólo se identificó a *A. platensis* parasitando PAS en los tres predios de Guanajuato; esta especie ya se había reportado en este estado (García-Suárez, 2016). Aunque en Irapuato, Guanajuato, en estudios previos, se han

reportado ochos especies parasitando al PAS, la mayoría del género *Aphidius* (López-Gutiérrez *et al.*, 2016).

En general todos los tratamientos evaluados (biorracional y convencionales) fueron efectivos para disminuir de manera inmediata las poblaciones del PAS; sin embargo, el uso de las sales potásicas de ácidos grasos como el jabón agrícola ejercieron un control inmediato en la plaga, pero perdieron rápidamente su actividad, lo que provocó que las poblaciones del PAS crecieran nuevamente (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018) debido a su alto poder reproductivo, como ocurrió en los predios de Abasolo o Celaya-Cortazar.

Aunque se han señalado algunos otros insecticidas biorracionales con extractos vegetales de chile, chilguacle (Martínez *et al.*, 2016), cempasúchil, higuierilla (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2016) y neem (Yadav *et al.*, 2016) con potencial para el combate del PAS, ninguno de esos trabajos evaluó su eficiencia en condiciones de campo. Por otro lado, en Tamaulipas y Sinaloa algunas evaluaciones de campo con extractos vegetales como neem, chile habanero y ajo sobre el PAS no encontraron ningún efecto de control de la plaga (Moreno *et al.*, 2016; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

Con respecto a los enemigos naturales en campo, las aplicaciones con el adherente y sales potásicas no generaron mortalidades sobre estos. En Sinaloa se había determinado que el uso de las sales potásicas de ácidos grasos, conocidas como jabón agrícola, no tuvo efectos tóxicos sobre los enemigos naturales, ni tampoco sobre los polinizadores (Moreno *et al.*, 2016). En el caso particular del PAS en Guanajuato, el uso de sales potásicas en campo no tuvo el potencial para el control de esta plaga, muy probablemente porque la capacidad reproductiva de la especie y las condiciones ambientales fueron favorables para mantener su potencial reproductivo (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

Por otro lado, se corroboró la susceptibilidad que presenta el PAS a los insecticidas convencionales sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid (Moreno *et al.*, 2016). Cuando las densidades iniciales del PAS fueron menores al umbral económico, no se presentaron diferencias entre los tratamientos con el testigo y testigo absoluto. Esta situación corrobora que hay que esperar el nivel al umbral económico del PAS, como lo recomienda la campaña, para hacer uso del control químico (Moreno *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018).

En condiciones de campo se ha demostrado que los tres insecticidas estudiados tienen una capacidad de mantener las poblaciones del PAS por debajo del umbral, con un nivel de más de 90% de control sobre la plaga hasta por 21 DDA (Tejeda-Reyes *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018; Szczepaniec, 2018). De forma similar, en el presente estudio, los tres insecticidas demostraron un alto nivel de control. En condiciones de laboratorio, sulfoxaflor y flupyradifurone demostraron mejor eficiencia en el control de PAS al compararse con imidacloprid (Jones *et al.*, 2017). En otras especies de pulgones como *Myzus persicae* y *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) tanto sulfoxaflor como flupyradifurone demostraron una mejor eficiencia en el control de pulgones hasta por 15-21 DDA, con respecto a otros insecticidas (Saint-Preux, 2015; García, 2016).

En los tres predios de Guanajuato las poblaciones de PAS fueron afectadas por las condiciones ambientales. Las poblaciones de PAS disminuyeron a los 7 DDA para todos los tratamientos, ya que para esa fecha (septiembre de 2018) de manera natural hubo una disminución de poblaciones de PAS en todo el estado. Posiblemente esta disminución se asoció a la presencia de lluvia y por tanto humedad ambiental elevada (Burbano, 2009; Rodríguez-Del-Bosque y Terán, 2018).

Las poblaciones de *A. platensis* e *H. convergens* fueron afectadas desde el 1 DDA por imidacloprid, considerándolo el más tóxico por presentar una disminución sobre las poblaciones de los enemigos naturales en más de un 60%. Mientras que sulfoxaflor y flupyradifurone fueron menos tóxicos sobre el parasitoide y depredador, ya que ambos tuvieron una disminución menor al 28%.

Al cabo de los 7 DDA se observó una relación entre las poblaciones de PAS y enemigos naturales, ya que cuando había una población menor al umbral económico, que fue generada por las aplicaciones de sulfoxaflor y flupyradifurone, se detectó también una baja población del parasitoide y del depredador (Cloyd y Bethke, 2011). Lo que puede deberse a que al existir menos individuos plagas no hay suficiente alimento para *H. convergens* ni para ser parasitado por *A. colemani*, por lo que posiblemente la fauna benéfica tenga la necesidad de desplazarse a áreas con mayor número de pulgones. En adición a la migración, los enemigos naturales también pudieron ser afectados por los residuos de insecticidas en el follaje; probablemente interfieran con los volátiles emitidos por los huéspedes, por lo tanto se vería afectado el comportamiento de forrajeo y el tiempo requerido para encontrar a la presa o huésped (Morgan y Hare 1998; Gohole *et al.*, 2003; Cloyd y Bethke, 2011).

Las áreas de mayor población de PAS se concentraron en los tratamientos del testigo absoluto, testigo (adherente) y sales potásicas, las cuales permitieron la manifestación del potencial reproductivo del PAS (Bowling *et al.*, 2016). Estas áreas libres de insecticidas convencionales favorecen el incremento en las poblaciones de enemigos naturales (Tilman y Mulrooney, 2000).

El sulfoxaflor y flupyradifurone tuvieron menor toxicidad hacia los depredadores y parasitoides, ya que dichos insecticidas con acción sistémica actúan más específicamente sobre

insectos chupadores como es el caso del PAS (Sparks *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2015). Adicionalmente, sulfoxaflor y flupyradifurone en su modo de acción tienen mayor afinidad con los receptores nicotínicos de la acetilcolina, que contribuye a potenciar su efecto insecticida sobre PAS, pero al mismo tiempo en comparación con imidacloprid, presentan enlaces de baja afinidad que reflejan menor toxicidad hacia organismos benéficos (Sparks *et al.*, 2013; Nauen *et al.*, 2015).

Es importante considerar que cuando se realiza una aplicación en campo, los insectos pueden exponerse a los insecticidas por diferentes vías. Primero una exposición por contacto directo sobre los individuos, sean plaga o enemigo natural; segundo, por contaminación residual que queda en la superficie de las hojas de sorgo; tercero, por alimentarse sobre plantas o presas contaminadas (Croft, 1990).

3.5 Conclusiones

Las sales potásicas de ácidos grasos presentaron un efecto inmediato en el control del PAS y no persistió ni 7DDA, los insecticidas convencionales fueron capaces de disminuir las poblaciones del PAS y mantenerlas bajas hasta los 7 DDA.

Para los predios de Guanajuato, se determinaron siete especies de depredadores y un parasitoide, dentro de las que destacan en abundancia *H. convergens* y *A. plantensis*. Las poblaciones de enemigos naturales se vieron afectadas desde el primer DDA por los insecticidas convencionales, pero el más tóxico fue imidacloprid.

Sulfoxaflor y flupyradifurone pueden tener mejores características para usarse en la campaña del PAS porque tienen menos impacto negativo sobre *H. convergens* y *A. plantensis* si se comparan con imidacloprid.

**CAPÍTULO IV: LÍNEAS BASE DE SUSCEPTIBILIDAD DE *Hippodamia*
convergens (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) A INSECTICIDAS UTILIZADOS
PARA EL MANEJO DE *Melanaphis sacchari* (HEMIPTERA: APHIDIDAE)**

Resumen.

El manejo de *Melanaphis sacchari* tiene el componente de control químico, pero es sabido que éste puede tener efecto sobre sus enemigos naturales. En este trabajo se compararon las líneas base de susceptibilidad a los principales insecticidas, recomendados para el control de *M. sacchari*, en adultos de *Hippodamia convergens* provenientes de una cría comercial. Los insecticidas fueron sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid. Los bioensayos se hicieron con el método de aspersión directa usando una torre de Potter. El sulfoxaflor ($CL_{50} = 316.24$ ppm) y flupyradifurone ($CL_{50} = 231.15$ ppm) presentaron baja toxicidad sobre *H. convergens*, por debajo de la CL_{50} reportada para la plaga, por lo que son los insecticidas que pudieran ser más adecuados para el control del PAS. Por otro lado, imidacloprid presentó una toxicidad muy alta ($CL_{50} = 5.5$ ppm) sobre *H. convergens*. Adicionalmente, se utilizó el valor de imidacloprid de la población susceptible para compararlo con una población de campo. Aunque las poblaciones de campo de *H. convergens* tuvieron una CL_{50} casi del doble en relación a poblaciones de crías comerciales ($RR_{50} = 1.84X$), eso no fue diferente estadísticamente. La población de campo de *H. convergens* fue susceptible a imidacloprid a pesar de su uso continuo en la región para el control de diversas plagas que son presas de este depredador.

Palabras clave: pulgón amarillo de sorgo, enemigos naturales, sulfoxaflor, flupyradifurone, imidacloprid.

4.1 Introducción

El pulgón amarillo del sorgo (PAS), *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae), es una plaga que desde finales del 2013 fue reportada en México ocasionando pérdidas del 30 al 100% en el cultivo de sorgo (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015). En México, para su control, se diseñó una estrategia de MIP que incluyó la regulación en las fechas de siembra (control legal), eliminación de socas (control cultural), el uso de variedades tolerantes (control genético) y muestreo como medida preventiva (Quijano *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018), además del uso del control biológico y como última alternativa el uso del control químico (Bowling *et al.*, 2016, Quijano *et al.*, 2017). De esta plaga se conocen 47 especies de enemigos naturales (hongos entomopatógenos, parasitoides y depredadores) (Singh *et al.*, 2004a), siendo los depredadores y parasitoides los más abundantes y los que posiblemente tengan el mayor efecto de control sobre el PAS. Entre los depredadores destaca *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville (Coleoptera: Coccinellidae), como la especie nativa más abundante en las zonas sorgueras del país (Rodríguez-Palomera *et al.*, 2016; Tamayo y Marín, 2016; Vázquez-Navarro *et al.*, 2016; Salas *et al.*, 2017; Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018), la cual tiene alta capacidad de consumo del PAS y por tanto se le considera que tiene un rol importante en la regulación de la plaga (Delgado-Ramírez *et al.*, 2016).

La acción de los enemigos naturales no es suficiente para disminuir las poblaciones del PAS por debajo del umbral económico de daño o de acción (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015), por lo que es frecuente que en campo se requiera de la estrategia del control químico cuando las poblaciones del PAS sobrepasen el umbral de acción, en este contexto es imprescindible contar con insecticidas que sean compatibles con los enemigos naturales (Roubos *et al.*, 2014; Colares *et al.*, 2017; Aguiar *et al.*, 2017). A la fecha, se han recomendado cinco

insecticidas de diferente grupo toxicológico para el control del PAS en México y Estados Unidos de América (Bowling *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2017), ya que estos controlan las poblaciones cuando se alcanza el umbral de daño económico (Bowling *et al.*, 2016; Jones *et al.*, 2017; Tejeda-Reyes *et al.*, 2017).

De los insecticidas recomendados para el control de *M. sacchari* existen registros de efectos letales y subletales sobre algunos depredadores; por ejemplo *H. convergens*, *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae) y *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) (Barbosa *et al.*, 2017; Colares *et al.*, 2017; Jaimez-Ruiz *et al.*, 2016, 2017a), aunque también se ha registrado la compatibilidad de algunos de ellos. Considerando que el uso combinado entre las tácticas de control biológico y químico es clave para el manejo integrado de una plaga, es indispensable entender la compatibilidad entre los enemigos naturales e insecticidas para lograr el éxito en la regulación poblacional de la plaga.

Es necesario considerar insecticidas selectivos que generen toxicidad y muerte sobre la plaga, pero que a la vez sean ligeramente tóxicos sobre los enemigos naturales, además de no ser persistentes o ligeramente persistentes. Lo ideal sería poder considerar enemigos naturales resistentes a los insecticidas; sin embargo, dicha resistencia es inusual si se compara con los casos detectados en especies plaga (Michigan State University, 2018).

Para el caso específico del depredador *H. convergens*, se conoce hasta el momento que ha mostrado resistencia al piretroide lambda-cyhalothrin y al organofosforado dicotophos (Rodrigues *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2016). Para determinar si una población de campo es resistente o susceptible, es necesario el conocimiento de la susceptibilidad base, la cual se encontrará en una población que no ha sido expuesta previamente a insecticidas y que servirá

como punto de referencia para el análisis de trabajos futuros (García-Méndez *et al.*, 2016; Van Timmeren *et al.*, 2018). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar las líneas base de susceptibilidad en poblaciones adultas de *H. convergens* de laboratorio a tres de los insecticidas más utilizados en cultivo de sorgo para el control del PAS, el sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid. Este estudio servirá como línea base para comparaciones en el futuro de poblaciones de enemigos naturales expuestos a los diferentes insecticidas utilizados para el control del PAS.

4.2 Materiales y Métodos

4.2.1 Insectos

Para los bioensayos se utilizaron adultos de *H. convergens*, adquirida de la empresa de Organismos Benéficos para la Agricultura de Autlán, Jalisco, México. Esta colonia se ha criado en condiciones de laboratorio por más de 20 generaciones y sin contacto con insecticidas, por lo que se consideró como susceptible. Los individuos se mantuvieron en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México, dentro de jaulas entomológicas de plástico (25 x 12 x 12 cm) con dos ventanas laterales (10 x 5 cm), cubiertas de organza para favorecer la ventilación, y con suministro *at libitum* de una mezcla de agua y miel (3:1) como alimento. Los adultos se mantuvieron a 24 ± 2 °C, 60 ± 5 % HR y 16 L: 8 O h.

4.2.2 Insecticidas

En este estudio se evaluaron tres formulaciones comerciales de insecticidas: el sulfoxaflor (Toretto® 21.8 SC, 21.8% i.a., Dow AgroSciences de México S.A. de C.V.), flupyradifurone

(Sivanto[®] prime 200 SL; 17.09% i.a., Bayer de México S.A de C.V.) e imidacloprid (Confidor[®] 350 SC; 30.2% i.a., Bayer de México S.A de C.V.).

4.2.3 Bioensayos

Previo a la aplicación de los insecticidas y del testigo se procedió a anestesiarse con CO₂ a grupos de 10 adultos de *H. convergens*, durante 5 min en bolsas herméticas Ziploc[®] (SC Johnson & Son, INC, México) de 1 L de capacidad. Los individuos anestesiados se colocaron con el dorso expuesto en la base de una caja Petri de plástico (9.0 x 1.0 cm), la cual se colocó para la aplicación de los insecticidas dentro de una torre de Potter (50 x 50 x 150 cm), con boquilla de acero inoxidable de cono lleno (1/4J-SS Sraying Systems Co., Wheaton, IL, USA), conectado a un compresor (Adir[®], Estado de México, México, de 10 L y 2HP) a 120 cm de distancia de la boquilla. Cada aplicación fue de 4 mL de la concentración correspondiente a 206.84 kPa.

De cada insecticida se aplicaron ocho tratamientos, siete concentraciones logarítmicas intermedias del insecticida, previamente seleccionadas de una ventana biológica, con un rango de 0 a 100% de mortalidad (Robertson *et al.*, 2007), las cuales se diluyeron en agua destilada más adherente INEX-A[®] 1.0 mL L⁻¹ (Cosmocel, S.A., México), más un tratamiento testigo con agua destilada más adherente (Robertson *et al.*, 2007).

Los individuos tratados se transfirieron a una caja Petri de plástico (9.0 x 1.0 cm) limpia y ventilada, se adicionaron líneas de miel como alimento y se mantuvieron a 24±2 °C, 60±5% HR y 16 L: 8 O h. La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 h después de la aplicación. Los individuos fueron calificados como muertos cuando no respondieron al estímulo con una aguja de disección, o que tuvieron movimientos descoordinados y que probablemente no sobrevivirían más de unas horas. El bioensayo se repitió en 10 ocasiones.

4.2.4 Análisis

Los porcentajes de mortalidad se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925) y la mortalidad tolerada en el testigo fue $\leq 10\%$. Con los porcentajes de mortalidad se realizó un análisis de varianza para comparar entre insecticidas y entre concentraciones de un mismo insecticida, en caso de diferencias se realizó una prueba de separación de medias (Tukey $\alpha=0.05$). Para cada insecticida se determinó, mediante análisis Probit, la concentración letal media (CL_{50}) con sus respectivos límites fiduciales. Cuando estos límites se trasladaron se determinó que no había diferencias estadísticamente. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS versión 9.4. (SAS Institute, 2013).

4.3 Resultados

A medida que aumentó el tiempo de exposición (24, 48 y 72 h) se observó una tendencia de incremento en la mortalidad de los adultos de *H. convergens* de la población susceptible. Sin embargo, esas tendencias biológicas a la exposición de los tres insecticidas en poblaciones de laboratorio no fueron significativamente diferentes ($F=0.16-3.31$; $gl=2$; $P=0.0516-0.8559$). Por consiguiente, el porcentaje de mortalidad en adultos de *H. convergens* de laboratorio dependió del tipo de insecticida y de la concentración utilizada (Cuadro 4.1).

Cuando aumentó las concentraciones de los insecticidas, también aumentó la mortalidad, encontrando diferencias significativas entre las concentraciones dentro de un mismo producto (sulfoxaflor: $F=145.58-185.68$; $gl=7$; $P<0.0001$, flupyradifurone: $F=153.02-218.47$; $gl=7$; $P<0.0001$, imidacloprid: $F=93.71-139.10$; $gl=7$; $P<0.0001$) (Cuadro 4.1). El sulfoxaflor y flupyradifurone registraron mortalidades similares a una misma concentración, y no se

encontraron diferencias entre estos dos ($F=2.61$; $gl=5$; $P=0.0349$), pero fueron diferentes de imidacloprid ($F=159.09$; $gl=8$; $P<0.0001$).

Imidacloprid fue el producto más tóxico y provocó a 100 ppm mortalidades cercanas al 100%, además de tener los valores más bajos de CL_{50} (Cuadro 4.2). Mientras que, flupyradifurone y sulfoxaflor fueron 42 y 58 veces menos tóxicos que imidacloprid, respectivamente. Los límites fiduciales entre sulfoxaflor y flupyradifurone se traslaparon por lo que fueron similares entre ellos, pero diferentes de imidacloprid (Cuadro 4.2). El valor de la pendiente osciló entre 1.14 y 1.96, con una X^2 igual para todos los insecticidas (Cuadro 4.2).

Debido a la alta toxicidad comprobada de imidacloprid hacia la población de laboratorio de *H. convergens*, se decidió realizar sólo en este caso una prueba de susceptibilidad sobre una población de campo procedente del INIFAP - Campo Experimental Bajío, Guanajuato, México, de plantaciones de sorgos expuestas a insecticidas con presencia de PAS y posterior determinación de la respuesta relativa (RR_{50}) como el coeficiente entre la CL_{50} de la población de campo y la CL_{50} de la población de laboratorio.

Para imidacloprid la CL_{50} en la población de campo de adultos de *H. convergens* fue 10.14, 9.65 y 8.84 ppm a las 24, 48 y 72 h, respectivamente. Al comparar esta respuesta de la población de campo con la de laboratorio se observó que los límites fiduciales se traslaparon por lo que no se detectaron diferencias entre las dos poblaciones. La RR_{50} fue de 1.84X, 1.96X y 1.99X, a las 24, 48 y 72 h, respectivamente.

Cuadro 4.1. Porcentaje de mortalidad causada por tres insecticidas en adultos de una población susceptible de *Hippodamia convergens*.

Concentración (ppm)	Insecticidas								
	sulfoxaflor			flupyradifurone			imidacloprid		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
10000	100.00 A a	100.00 A a	100.00 A a	100.00 A a	100.00 A a	100.00 A a	-	-	-
6000	92.00 AB a	96.89 A a	98.89 A a	-	-	-	-	-	-
3500	-	-	-	92.67 A a	94.67 AB a	95.56 AB a	-	-	-
2000	85.00 BC a	90.22 AB a	95.56 A a	-	-	-	-	-	-
1000	73.00 C b	82.78 B ab	88.11 A a	79.44 B ab	83.33 B ab	86.00 B ab	-	-	-
600	-	-	-	65.11 C a	70.56 C a	72.00 C a	-	-	-
350	54.78 D a	63.44 C a	68.44 B a	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	45.22 D a	49.44 D a	52.11 D a	-	-	-
100	21.22 E b	23.56 D b	33.78 C b	27.56 E b	30.56 E b	30.44 E b	99.00 A a	99.00 A a	98.89 A a
60	-	-	-	-	-	-	99.00 A a	99.00 A a	99.00 A a
20	-	-	-	-	-	-	88.78 A a	91.78 A a	89.67 AB a
10	-	-	-	9.22 F b	14.89 F b	16.56 F b	67.44 B a	70.11 B a	73.56 B a
6	-	-	-	-	-	-	47.89 C a	51.44 C a	53.56 C a
3.5	2.00 F a	1.11 E a	7.44 D a	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	20.22 D a	23.56 D a	28.89 D a
1	-	-	-	-	-	-	9.11 DE a	10.22 DE a	12.67 DE a
Testigo	1.00 F b	7.00 E ab	8.00 D a	3.00 F ab	5.00 F ab	8.00 F a	2.00 E ab	3.00 E ab	6.00 E ab

A-F: letras distintas entre concentraciones (columnas), indican diferencias significativas por ANOVA y separación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$)

a-b: letras distintas a una misma concentración (filas), indican diferencias significativas por ANOVA y separación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$)

Cuadro 4.2. Toxicidad de insecticidas en adultos de *Hippodamia convergens* procedentes de una colonia susceptible, a las 24 h después de la exposición

Insecticida	n	CL ₅₀ (LF) ppm	CL ₉₅ (LF) ppm	b ± EE	X ²
Sulfoxaflor	800	316.24 (244.77-397.93)	6299 (4448-9747)	1.27±0.09	<0.0001
flupyradifurone	800	231.15 (183.31-287.38)	5304 (3623-8569)	1.21±0.08	<0.0001
Imidacloprid	800	5.50 (4.75-6.36)	38.20 (29.93-51.70)	1.96±0.13	<0.0001

n: número de individuos tratados, LF: límites fiduciales, b: pendiente, EE: error estándar, X²: ji cuadrada, ppm: partes por millón

4.4 Discusión

El sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid causaron toxicidad en los adultos de *H. convergens*, dicha toxicidad dependió del insecticida y de la concentración, mientras que el tiempo de evaluación después de ser expuestos al insecticida, no provocó un incremento en la mortalidad del depredador. Las poblaciones de *H. convergens* presentaron homogeneidad en la respuesta para cada insecticida, ya que en el análisis de regresión las pendientes fueron mayores a la unidad y los datos obtenidos se ajustaron a un modelo lineal que fue observado por medio de las pruebas de X² (Robertson *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2009). Pero para las CL₉₀ de los insecticidas sobre los adultos de *H. convergens* en las poblaciones de laboratorio se presentaron límites fiduciales amplios, lo que sugiere realizar más repeticiones para disminuir la variabilidad de estos.

Hay que destacar que los tres insecticidas evaluados tienen el mismo modo de acción (IRAC, 2018); sin embargo, hay diferencias en sus estructuras químicas y en el modo de acción como antagonista de los receptores nicotínicos de la acetilcolina (Watson *et al.*, 2011; Sparks *et al.*, 2013; Sparks *et al.*, 2015), lo que hace que existan diferencias en los niveles de toxicidad sobre poblaciones de adultos de *H. convergens*. En consecuencia, para las poblaciones de laboratorio, el insecticida más tóxico fue imidacloprid, ya que se requirió de

una dosis de 100 ppm del ingrediente activo para alcanzar el máximo de mortalidad (99%) en 24 h, mientras que para los otros dos insecticidas se necesitó de una concentración de 10,000 ppm de ingrediente activo para igualar dicha mortalidad.

Con base en los resultados obtenidos y a otros estudios previos de toxicidad, se ha determinado que imidacloprid es muy tóxico para *H. convergens* (Roubos *et al.*, 2014; Aguiar *et al.*, 2017) y otros enemigos naturales (Eisenback *et al.*, 2010; Cloyd y Bethke, 2011; Khani *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2014; Krischik *et al.*, 2015; Prabhaker *et al.*, 2017). En cambio sulfoxaflor y flupyradifurone tienen un efecto inofensivo o ligeramente tóxico, tanto en *H. convergens* (Colares *et al.*, 2017) como en otros organismos benéficos (Garzón *et al.*, 2015; Barbosa *et al.*, 2017; Prabhaker *et al.*, 2017).

La CL₅₀ de imidacloprid para poblaciones de campo y laboratorio fueron estadísticamente similares, lo que supone que la población de campo es aún susceptible a pesar de encontrarse expuesta a aplicaciones de insecticidas por lo menos desde hace cuatro años, tiempo en la que comenzaron a tomarse medidas de control químico para regular las poblaciones del PAS (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2015; Quijano *et al.*, 2017). Sólo para imidacloprid se tienen antecedentes de concentraciones letales en poblaciones de *H. convergens* (Kaakeh *et al.*, 1996), y demuestran la susceptibilidad del depredador a dicho insecticida a pesar del paso de los años.

Por otro lado, al comparar la susceptibilidad del PAS (Jones *et al.*, 2017) con las de su depredador *H. convergens* del presente estudio (Cuadro 4.3), se observa que para imidacloprid la CL₅₀ y CL₉₀ de la población plaga es similar a la CL₅₀ y CL₉₀ del depredador, ya que los límites fiduciales se traslapan, asegurando que dicha concentración del ingrediente activo mata a las poblaciones del PAS, pero también de su enemigo natural. Mientras que para sulfoxaflor y flupyradifurone las concentraciones que matan al 50 y 90% de la población del PAS, son seguras para los adultos de *H. convergens*, ya que se obtienen mortalidades

menores al 5% y según la Organización Internacional de Control Biológico e Integrado (IOBC) (Hassan *et al.*, 1994), mortalidades menores al 30% ocasionadas por un insecticida sobre un enemigo natural en condiciones de laboratorio se consideran inofensivas.

Cuadro 4.3. Comparación de concentraciones recomendadas (Quijano *et al.*, 2017) y concentraciones letales (CL₉₀) de sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid entre poblaciones de *Melanaphis sacchari* (Jones *et al.*, 2017) y su depredador *Hippodamia convergens*.

Insecticidas	Concentraciones recomendadas para el control de <i>M. sacchari</i> en ppm (Quijano <i>et al.</i> , 2017)	CL ₅₀ (límites fiduciales) en ppm		CL ₉₀ (límites fiduciales) en ppm	
		Para poblaciones de <i>M. sacchari</i> (Jones <i>et al.</i> , 2017)	Para poblaciones de <i>H. convergens</i>	Para poblaciones de <i>M. sacchari</i> (Jones <i>et al.</i> , 2017)	Para poblaciones de <i>H. convergens</i>
Sulfoxaflor	72.67	1.12 (0.63-1.68)	316.24 (244.77-397.93)	11.80 (5.95-56.97)	3253 (2437-4626)
flupyradifurone	113.93	0.35 (0.10-0.73)	231.15 (183.31-287.38)	9.93 (4.06-58.21)	2655 (1936-3920)
Imidacloprid	201.33	4.75 (0.97-8.32)	5.50 (4.75-6.36)	32.67 (16.31-562.26)	24.90 (20.26-32.00)

Adicionalmente se compararon las concentraciones letales del depredador con las concentraciones de aplicación recomendadas para el control del PAS (Quijano *et al.*, 2017), donde se puede apreciar cómo la concentración aplicada en campo de imidacloprid para el control de PAS es ocho veces más que la concentración letal del 90% de la población del depredador (Cuadro 4.3), lo que asegura una muerte del enemigo natural. Se podría disminuir la dosis; sin embargo, dicha disminución podría afectar la efectividad sobre la plaga, por tanto, lo más acertado sería no incluirlo en el manejo integrado del PAS, principalmente por sus efectos nocivos sobre los enemigos naturales.

Caso contrario con flupyradifurone y sulfoxaflor donde las concentraciones aplicadas para el control del PAS en campo son 23 y 45 veces menos, respectivamente, que la concentración letal del 90% de la población del depredador (Cuadro 4.3), lo que sugiere que a las concentraciones recomendadas son apropiadas para el control de la plaga y además de

bajo efecto en la sobrevivencia del enemigo natural. Sin embargo, podría considerarse disminuir las dosis de estos dos insecticidas, que igualmente serían efectivas para el control del PAS (Rodríguez-del-Bosque y Terán, 2018) y compatible con depredadores asociados.

El presente trabajo muestra las primeras líneas base de susceptibilidad de poblaciones de *H. convergens* de laboratorio expuestas a los insecticidas principales para el control del PAS, que servirán para dar seguimiento de la susceptibilidad en las poblaciones del depredador. Con este monitoreo, se tendrán las herramientas necesarias para la futura toma de decisiones para el uso combinado del control químico y biológico en el control de las poblaciones de *M. sacchari* en un programa de manejo integrado de esta plaga.

4.5 Conclusiones

Imidacloprid fue el insecticida más tóxico sobre los adultos de *H. convergens*, por presentar una CL_{50} de 5.5 ppm. Las dosis que se usan en campo para el control del PAS, aseguran la muerte del pulgón, pero también de su depredador. Mientras que flupyradifurone y sulfoxaflor fueron menos tóxicos a *H. convergens*, con una CL_{50} de 231 y 316 ppm, respectivamente, por lo que se sugiere mantener su uso dentro de la campaña del PAS. Los resultados obtenidos proporcionan líneas base de referencia para futuras comparaciones de susceptibilidad de *H. convergens* con sulfoxaflor, flupyradifurone e imidacloprid, los cuales son los insecticidas más utilizados en el control del PAS.

CONCLUSIONES GENERALES

Las poblaciones del pulgón amarillo del sorgo (PAS), *Melanaphis sacchari* (Zehntner), fueron controladas por las aplicaciones de los insecticidas imidacloprid, sulfoxaflor y flupyradiforone, aunque también fueron tóxicos a *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea* y *Aphidius platensis*.

El insecticida biorracional solo demostró eficiencia en el control de las poblaciones del PAS a 1 día después de la aplicación (DDA), ya que rápidamente se reestablecieron las poblaciones de la plaga. Por tanto, no fue una alternativa viable en el control en condiciones elevadas de la plaga, a pesar de no tener efectos tóxicos sobre los enemigos naturales.

Los cuatro insecticidas convencionales evaluados presentaron diferentes niveles de toxicidad y persistencia sobre las especies de enemigos naturales asociadas al PAS. Tan sólo 24 h de exposición a insecticidas fue suficiente para poder determinar un efecto tóxico sobre los enemigos naturales.

Imidacloprid se caracterizó por ser tóxico, independientemente del tipo de exposición, así como fue persistente por más de 30 DDA en condiciones de laboratorio y ligeramente persistente en condiciones de semi-campo. Lo que refleja que en condiciones de laboratorio se presentan una condición extrema de exposición al insecticida, por ejemplo, sin áreas libre de contaminación del producto. En semi-campo el efecto de factores ambientales ayudan a degradar la actividad de dicho insecticida. Además, en condiciones de campo este insecticida resultó ser el más tóxico sobre las poblaciones de *H. convergens* y *A. platensis*. También es importante considerar que la dosis que se aplica de imidacloprid es capaz de causar altas mortalidades del PAS, pero también sobre adultos de *H. convergens*. Por lo anterior, imidacloprid no es recomendable para su uso dentro del manejo integrado del PAS.

El sulfoxaflor, flupyradifurone y spirotetramat fueron menos tóxicos en comparación con imidacloprid. Estos insecticidas mostraron niveles de toxicidad entre inofensivos y moderadamente tóxicos sobre las tres especies de enemigos naturales, además de ser ligeramente persistentes o no persistentes en condiciones de laboratorio y semicampo. Por lo que cualquiera de estos tres insecticidas podría considerarse para usarse dentro del manejo integrado del PAS. Sin embargo, desde el punto de vista económico, una aplicación de spirotetramat implica el doble o triple de la inversión de la que se realizaría si se aplican otros de los insecticidas recomendados por la campaña del PAS.

Adicionalmente, las dosis aplicadas de sulfoxaflor y flupyradifurone, en condiciones de campo, fueron efectivos para el control del PAS y menos tóxicos sobre *H. convergens* y *A. platensis*. Por consiguiente, desde el punto de vista de efectividad sobre el PAS, menor toxicidad y persistencia en enemigos naturales, y menor costo de inversión, se podrían recomendar sulfoxaflor y flupyradifurone en lugar de imidacloprid para usarse dentro del manejo integrado del PAS.

Cabe destacar que dentro de un programa de manejo integrado del PAS se debe insistir en fortalecer las medidas preventivas en el combate del PAS. Tales como eliminar la soca, respetar fechas de siembra, sembrar variedades tolerantes a la plaga con tratamiento previo a la semilla, realizar monitoreo del cultivo, favorecer y conservar los enemigos naturales lo más que se pueda antes de realizar una aplicación de insecticidas. En Guanajuato se encuentran, por lo menos, ocho especies entre depredadores y parasitoides, además de los hongos entomopatógenos que pudieran ejercer una regulación natural de las poblaciones del PAS. Sólo en caso de que las poblaciones de la plaga alcancen el umbral de acción, se pudieran usar insecticidas como sulfoxaflor, flupyradifurone o spirotetramat, los cuales son menos tóxicos y persistentes sobre las especies de enemigos naturales.

LITERATURA CITADA

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Abdu-Allah G.A.M. and Pittendrigh B.R. 2018. Lethal and sub-lethal effects of select macrocyclic lactones insecticides on forager worker honey bees under laboratory experimental conditions. *Ecotoxicology* 27: 81-88.
- Aguiar K.F., Zanuzo O., Rovere de Moraes M., Oliveira C.R., de Oliveira M.B. and Takao P. 2017. The impact of six insecticides commonly used in control of agricultural pests on the generalist predator (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere* 186: 218-226.
- Armstrong J.S., Rooney W.L., Peterson G.C., Villanueva R.T., Brewer M.J. and Sekula-Ortiz D. 2015. Sugarcane Aphid (Hemiptera: Aphididae): Host Range and Sorghum Resistance Including Cross-Resistance from Greenbug Sources. *Journal of Economic Entomology* 108 (2): 576-582.
- Azod F., Shahidi-Noghabi S., Mahdian K. and Smagghe G. 2016. Lethal and sublethal effects of spirotetramat and abamectin on predatory beetles (*Menochilus sexmaculatus*) via prey (*Agonoscena pistaciae*) exposure, important for integrated pest management in pistachio orchards. *The Belgian Journal of Zoology* 146: 113-122.
- Barbosa P.R.R., Michaud J.P., Bain C.L. and Torres J.B. 2017. Toxicity of three aphicides to the generalist predators *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) and *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthracoridae). *Ecotoxicology* 26: 589-599.
- Barbosa P.R.R., Michaud J.P., Rodrigues A.R.S. and Torres J.B. 2016. Dual resistance to lambda-cyhalothrin and dicrotophos in *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere* 159: 1-9.
- Biondi A., Zappalá L., Stark J.D. and Desneux N. 2013. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? *Plos One* 8 (9): e76548.
- Bowling R.D., Brewer M.J., Kerns D.L., Gordy J., Seiter N., Elliott N.E., Buntin G.D., Way M.O., Royer T.A., Biles S. and Maxson E. 2016. Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): A new pest on sorghum in North America. *Journal of Integrated Pest Management* 7: 1-13.
- Bowling R., Brewer M., Knutson A., Way M., Porter P, Bynum E., Allen C. y Villanueva R. 2015. Monitoreo de Pulgón Amarillo en Sorgo. Texas A&M AgriLife Extension Service.

- Texas A&M AgriLife Research. http://agrillife.org/ccag/files/2015/11/ScoutCard-Espa%C3%B1ol_lista.pdf. Consulta: 25 abril 2018.
- Burbano R.C. 2009. “Manejo del virus de la hoja amarilla (*Sugarcane Yellow Leaf Virus*, SCYLV) de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) mediante cultivo de tejidos y el uso de agentes inductores de Resistencia Sistémica Adquirida, SAR”. Tesis de maestría. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Ecuador. 79 p.
- Brück E., Elbert A., Fischer R., Krueger S., Kühnhold J., Klueken A.M., Nauen R., Niebes J.F., Reckmann U., Schnorbach H.J., Steffens R. and van Waetermeulen X. 2009. Movento®, an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance. *Crop Protection* 28: 838-844.
- Chang C.P., Fang M.N. and Tseng H.Y. 1982. Studies on the life history and varietal resistance in grain sorghum aphid, *Melanaphis sacchari* Zehntner in central Taiwan. *Chinese Journal of Entomology* 2: 70–81.
- Cloyd R.A. and Bethke J.A. 2011. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape. *Pest Management Science* 67: 3-9.
- Colares F., Michaud J.P., Bain C.L. and Torres J.B. 2015. Recruitment of aphidophagous arthropods to sorghum plants infested with *Melanaphis sacchari* and *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae). *Biological Control* 90: 16- 24.
- Colares F., Michaud J.P., Bain C.L. and Torres J.B. 2017. Relative toxicity of two aphicides to *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae): Implications for integrated management of sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 110 (1): 52-58.
- Cortez-Moncada E. 2016. Reseña del pulgón del sorgo en el norte de Sinaloa. *El entomólogo* 14: 3-5.
- Croft B.A. 1990. *Arthropod biological control agents and pesticides*. Wiley and Sons. New York. 703 p.
- Delgado-Ramírez C.S., Salas-Araiza M.D., Martínez-Jaime O.A., Díaz-García J.A., Guzmán-Mendoza R. y Salazar-Solís E. 2016. Consumo de *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) por *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) y *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Entomología mexicana* 3: 369-374.
- Desneux N., Decourtye A. and Delpuech J.M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81-106.

- Desneux N., Ramirez-Romero R. and Kaiser L. 2006. Multistep bioassay to predict recolonization potential of emerging parasitoids after a pesticide treatment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25: 2675-2682.
- Eisenback B.M., Salom S.M., Kok L.T. and Lagalante A.F. 2010. Lethal and sublethal effects of imidacloprid on hemlock woolly adelgid (Hemiptera: Adelgidae) and two introduced predator species. *Journal of Economic Entomology* 103 (4): 1222-1234.
- Estay P., Araya J.E. y Araya M.H. 2005. Toxicidad en laboratorio de imidacloprid, acetamiprid y abamectina sobre adultos de *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera, Aphelinidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 37: 369-371.
- Fernandes M.E.S., Alves F.M., Pereira R.C., Aquino L.A., Fernandes F.L. and Zanuncio J.C. 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. *Chemosphere* 156: 45-55.
- Fernández M.M., Medina P., Fereres A., Smagghe G. and Viñuela E. 2015. Are mummies and adults of *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae) compatible with modern insecticides?. *Journal of Economic Entomology* 108: 2268-2277.
- Fernández M.M., Medina P., Wanumen A., Del Estal P., Smagghe G. and Viñuela E. 2017. Compatibility of sulfoxaflor and other modern pesticides with adults of the predatory mite *Amblyseius swirskii*. Residual contact and persistence studies. *BioControl* 62: 197-208.
- Fitiwy I., Singh T.V.K. and Satyanarayana J. 2008. Impact of Sorghum Aphid, *Melanaphis sacchari* Population on Sorghum Yield. *Indian Journal of Plant Protection* 36 (1): 19-23.
- Fuentes-Contreras E., Basoalto E., Sandoval C., Pavez P., Leal C., Burgos R. y Muñoz C. 2007. Evaluación de la eficacia, efecto Residual y de volteo de aplicaciones en pretrasplante de insecticidas nicotinoides y mezclas de nicotinoide-piretroide para el control de *Myzus persicae nicotianae* (Hemiptera: Aphididae) en Tabaco. *Agricultura Técnica* 67 (1): 16-22.
- Garantonakis N., Varikou K. and Birouraki A. 2016. Comparative selectivity of pesticides used in greenhouses, on the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol Science and Technology* 26: 678-690.
- Garcerá C., Ouyang Y., Scott S.J., Moltó E. and Grafton-Cardwell E.E. 2013. Effects of spirotetramat on *Aonidiella aurantii* (Homoptera: Diaspididae) and its parasitoid, *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal of Economic Entomology* 106: 2126-2134.
- García, J.E. 2016. Evaluación de eficacia biológica de los insecticidas sulfoxaflor, flupyradifurone, cyantraniliprole y dinotefuran en el control del áfido *Acyrtosiphon*

- pisum* y su impacto sobre el coccinéido *Hippodamia convergens* en arveja china. Tesis de licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 19 p.
- García-Méndez V.H., Ortega-Arenas L.D., Villanueva-Jiménez J.A. y Sánchez-Arroyo, H. 2016. Susceptibilidad de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) a insecticidas en Veracruz, México. *Agrociencia* 50 (3): 255-365.
- García-Suárez R., Luévano-Borroel J., Peña-Martínez R., Tamayo-Mejía F. y Ibarra J.E. 2016. Variabilidad Molecular del PAS en Guanajuato. *In: Memoria del II Simposio Nacional del Pulgón Amarillo del Sorgo*. 7 al 12 de noviembre. Guadalajara, Jalisco, México, p 31-34.
- Garzón A., Medina P., Amor F., Viñuela E. and Budia F. 2015. Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere* 132: 87-93.
- Gholamzadeh-Chitgar M., Hajizadeh J., Ghadamyari M., Karimi-Malati A. and Hoda H. 2014. Sublethal effects of diazinon, fenitrothion and chlorpyrifos on the functional response of predatory bug, *Andrallus spinidens* Fabricius (Hem.: Pentatomidae) in the laboratory conditions. *Journal of King Saud University - Science* 26: 113-118.
- Gohole L.S., Overholt W.A., Khan Z.R. and Vet L.E.M. 2003. Role of volatiles emitted by host and non-host plants in the foraging behavior of *Dentichasmias busseolae*, a pupal parasitoid of the spotted stemborer *Chilo partellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 107 (1): 1-9.
- Gorri J.E.R., Pereira R.C., Alves F.M., Fernandes F.L., Da Silva Í.W. and Fernandes M.E.S. 2015. Toxicity effect of three insecticides on important pests and predators in tomato plants. *Agri Sciences* 3: 1-12.
- Hassan S.A., Bigler F., Bogenschotz H., Boller E., Brun J., Calis J.N.M., Coremans-Pelseneer J., Duso C., Grove A., Heimbach U., Helyer N., Hokkanen H., Lewis G.B., Mansour F., Moreth L., Polgar L., SamsØe-Petersen L., Sauphanor B., Stäubli A., Sterk G., Vainio A., Van M., Viogiani G. and Vogt H. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing program of the IOBC/WPRS-Working group "pesticides and beneficial organisms". *Entomophaga* 39: 107-119.
- Huang Y., Williamson M.S., Devonshire A.L., Windass J.D., Lansdell S.J. and Millar N.S. 1999. Molecular characterization and imidacloprid selectivity of nicotinic acetylcholine receptor subunits from the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Journal of Neurochemistry* 73: 380-389.

- Hulbert D., Isaacs R., Vandervoort C. and Wise J.C. 2011. Rainfastness and residual activity of insecticides to control Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) in grapes. *Journal of Economic Entomology* 104: 1656-1664.
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). 2018. The IRAC mode of action classification. <http://www.irac-online.org/modes-of-action/>. Consulta: 21 marzo 2018.
- Jaimez-Ruiz I.A., Lomeli-Flores J.R., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas L.D., Bujanos-Muñoz R. y González-Hernández, H. 2016. Toxicidad de insecticidas sobre *Hippodamia convergens* y *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) bajo dos métodos de exposición. En: Memorias del XXXIX Congreso Nacional de Control Biológico. 7-12 noviembre. Guadalajara, Jalisco, México. pp: 13.
- Jaimez-Ruiz I.A., Lomeli-Flores J.R., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas, L.D., Bujanos-Muñoz, R. y González-Hernández, H. 2017a. Toxicidad de insecticidas sobre *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) en tres métodos de exposición. En: Memoria del Simposio Avances de Investigación 2017. 22 de agosto. Montecillo, Estado de México, México. pp: 14-19. https://drive.google.com/file/d/0B63_IRvbANwDRS1ydU1TZGYtNzQ/view.
- Jaimez-Ruiz I.A., Lomeli-Flores J.R., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas, L.D., Bujanos-Muñoz, R. y González-Hernández, H. 2017b. Residualidad de insecticidas sobre *Hippodamia convergens* y *Cycloneda sanguinea* (coleoptera: coccinellidae), depredadores del pulgón amarillo del sorgo. En: Memorias del XL Congreso Nacional de Control Biológico. 12-17 de noviembre. Mérida, Yucatán, México. pp: 132.
- Jaimez-Ruiz I.A., Lomeli-Flores J.R., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas, L.D., Bujanos-Muñoz, R. y González-Hernández, H. 2018. Residualidad de insecticidas sobre *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). En: Memoria del Simposio Avances de Investigación 2018. 22 de agosto. Montecillo, Estado de México, México. pp: 22-27. https://www.colpos.mx/posgrado/assets/pdf/montecillo/fitosanidad/MemoriaAvancesInvestigacion2018_Ver20ago.pdf
- Jalali M.A., Van Leeuwen T., Tirry L. and De Clereq P. 2009. Toxicity of selected insecticides to the two-spot ladybird *Adalia bipunctata*. *Phytoparasitica* 37: 323-326.
- Jones M., Duckworth M. and Duckworth J. 2017. Baseline susceptibility for sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), adults to select insecticides, 2016. *Arthropod Management Test* 42 (1): 1-2.

- Kaakeh N., Kaakeh W. and Bennett G.W. 1996. Topical toxicity of imidacloprid, fipronil, and seven conventional insecticides to the adults convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Entomological Science* 31 (3): 315-322.
- Kalule T. and Wright D.J. 2005. Effect of cultivars with varying levels of resistance to aphids on development time, sex ratio, size and longevity of the parasite oid *Aphidius colemani*. *BioControl* 50: 235-246.
- Ketabi L., Jalalaizand A. and Bagheri M.R. 2014. A study about toxicity of some herbal insecticides on cotton aphid (*Aphis gossypii*) and its natural enemy (*Aphidius colemani*) in laboratory and greenhouse. *Advances in Environmental Biology* 8: 2855-2858.
- Khani A., Ahmadi F. and Ghadamyari M. 2012. Side effects of imidacloprid and abamectin on the mealybug destroyer, *Cryptolaemus montrouzieri*. *Trakia Journal of Science* 10 (3): 30-35.
- Krischik V., Rogers M., Gupta G. and Varshney A. 2015. Soil-applied imidacloprid translocates to ornamental flowers and reduces survival of adult *Coleomegilla maculata*, *Harmonia axyridis*, and *Hippodamia convergens* lady beetles, and larval *Danaus plexippus* and *Vanessa cardui* butterflies. *Plos One* 10: 1-22.
- López A. 2015. Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria del Pulgón Amarillo (*Melanaphis sacchari*). Simposio de Pulgón Amarillo dentro XXXVIII Congreso Nacional de Control Biológico. León, Guanajuato, México. 6 de Noviembre de 2015. p
- López-Gutiérrez D.R., Salas-Araiza M.D., Martínez-Jaime O.A. y Salazar-Solís E. 2016. Géneros de Aphidiidae (Hymenoptera) parasitando al pulgón amarillo de la caña de azúcar *Melanaphis sacchari* Zehntner, 1897 (Hemiptera: Aphididae) en Irapuato, Guanajuato, México. *Entomología Mexicana* 3: 365-368.
- Luna-Cruz A., Lomeli-Flores J.R., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas L.D. y Huerta A. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Acta Zoológica Mexicana* 27: 509-526.
- Luna-Cruz A., Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J.R., Ortega-Arenas L.D., Bautista-Martínez N. and Pineda S. 2015. Toxicity and residual activity of insecticides against *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Journal of Economic Entomology* 108 (5): 2289-2295.
- Maia J.B., Carvalho G.A., Medina P., Garzón A., Gontijo P.C. and Viñuela E. 2016. Lethal and sublethal effects of pesticides on *Chrysoperla carnea* larvae (Neuroptera:

- Chrysopidae) and the influence of rainfall in their degradation pattern over time. *Ecotoxicology* 25: 845-855.
- Mansour R., Suma P., Mazzeo G., Lebdi K.G. and Russo A. 2011. Evaluating side effects of newer insecticides on the vine mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. near pseudococci, with implications for integrated pest management in vineyards. *Phytoparasitica* 39: 369-376.
- Marín A. y Herrera C. 2016. Enemigos naturales del pulgón amarillo del sorgo. Guía rápida para su identificación. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Folleto para productores N° 5. PROFLEX. Guanajuato, México. 20 p.
- Martínez L.M.E., Méndez A.C. Jauregui L.L., Mendoza J.P. y García M.I. 2016. Estrategias naturales para combatir a *Melanaphis sacchari* en cultivos de *Sorghum vulgare* en el Bajío. Jóvenes en la Ciencia. Revista de Divulgación Científica 2 (1): 1460-1464.
- Michaud J.P. 2002. Relative toxicity of six insecticides to *Cycloneda sanguinea* and *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Entomological Science* 37: 83-93.
- Michigan State University. 2018. The Arthropods Pesticides Resistance Database. <https://www.pesticideresistance.org/index.php>. Consulta: 24 julio 2018.
- Mizell R.F. and Sconyers M. 1992. Toxicity of imidacloprid to selected arthropod predators in the laboratory. *Florida Entomologist* 75: 277-280.
- Moens J., Tirry L. and De Clercq P. 2012. Susceptibility of cocooned pupae and adults of the parasitoid *Microplitis mediator* to selected insecticides. *Phytoparasitica* 40: 5-9.
- Morales F., Lagunes A., Negrete A., Rodríguez C. y Silva A.G. 2015. Comparación de cuatro métodos de bioensayo en la determinación de la toxicidad de insecticidas en *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Entomotropica* 30: 227-235.
- Moreno J.M., Cortez E., Moreno T., López J.A. y Pérez J. 2016. Producción de sorgo de temporal en Sinaloa frente a la plaga de pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari* Zehntner). Folleto Técnico No. 62. Campo Experimental Valle de Culiacán. CIRNO-INIFAP. Sinaloa, México. 33 p.
- Morgan D.J.W. and Hare J.D. 1998. Volatile cues used by the parasitoid, *Aphytis melinus*, for host location: California red scale revisited. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88: 235-245.
- Nauen R., Jeschke P., Velten R., Beck M.E., Ebbinghaus-Kintscher U., Thielert W., Wölfel K., Haas M., Kunz K. and Raupach G. 2015. Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide. *Pest Management Science* 71: 850-862.

- Nauen R., Reckmann U., Thomzik J. and Thielert W. 2008. Biological profile of spirotetramat (Movento®) – a new two-way systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. Bayer CropScience Journal 61: 245-278.
- Peña-Martínez R., Muñoz-Viveros A.L., Bujanos-Muñiz R., Luévano-Borroel J., Tamayo-Mejía F. y Cortez-Mondaca E. 2016. Formas sexuales del complejo pulgón amarillo del sorgo, *Melanaphis sacchari/sorghii* en México. Southwestern Entomologist 41 (1): 127-132.
- Peña-Martínez R. Muñoz-Viveros A.L., Marín-Jaramillo A., Bujano-Muñiz R., Tamayo-Mejía, F., Luévano-Borroel J., Sánchez-Segura L. y Ibarra-rendón J. 2017. Guía ilustrada para la identificación de los pulgones (Hemiptera: Aphididae) de cereales en México. Impresos Morsa Rafael Sancio. Guanajuato, México. 59 pp.
- Prabhaker N., Naranjo S., Perring T. and Castle S. 2017. Comparative toxicities of newer and conventional insecticides: against four generalist predator species. Journal of Economic Entomology 110 (6): 2630-2636.
- Quijano J.A., Pecina V., Bujanos R., Marín A. y Yáñez R. 2017. Guía 2017 para el manejo del pulgón amarillo del sorgo. Comité Técnico de Pulgón Amarillo del Sorgo en Guanajuato. Folleto para productores N° 1. Prometeo Editores. Jalisco, México. 36 p.
- Ramasubramanian T., Paramasivam M. and Nirmala R. 2016. Development, validation and application of a sensitive analytical method for residue determination and dissipation of imidacloprid in sugarcane under tropical field condition. Environmental Monitoring and Assessment 188 (6): 375-382.
- Robertson J.L., Russell R.M., Preisler H.K. and Savin N.E. 2007. Bioassays with Arthropods, Second edition, CRC Press, USA. 191 p.
- Rodrigues A.R.S., Ruberson J.R., Torres J.B., Siqueira H.A.A. and Scott J.G. 2013. Pyrethroid resistance and its inheritance in a field population of *Hippodamia convergens* (Guérin-Ménéville) (Coleoptera: Coccinellidae). Pesticide Biochemistry and Physiology 105: 135-143.
- Rodríguez-del-Bosque L.A. and Terán A.P. 2015. *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae): A new sorghum insect pest in Mexico. Southwestern Entomologist 40: 433-434.
- Rodríguez-del-Bosque L.A. y Terán A.P. 2018. Manejo integrado del pulgón amarillo del sorgo en Tamaulipas. Print House, México. 72 p.

- Rodríguez M.C., Silva G. y Guzmán P. 2009. El bioensayo con plaguicidas en artrópodos. En: Bautista M.N., Soto L. y Pérez R. Tópicos selectos de estadística aplicados a la fitosanidad. Colegio de Postgraduados, IPN CIIDIR Oaxaca, México, pp. 129–158.
- Rodríguez-Palomera M., Cambero-Campos J., Luna-Esquivel G., Estrada-Virgen O., Ávila N.D. y Cambero C. 2016. Coccinélidos depredadores del pulgón amarillo del sorgo *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) en Nayarit, México. Entomología mexicana 3: 360-364.
- Rodríguez-Rodríguez J.F., Cerna-Chávez, E., Ochoa-Fuentes Y.M. y Hernández-Bautista O. 2016. Evaluación de extractos vegetales sobre pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari*) (Hemiptera: Aphididae) en sorgo en Guanajuato. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias 3 (7): 18-24.
- Roubos C.R., Rodriguez-Saona C., Holdcraft R., Mason K.S. and Isaacs R. 2014. Relative toxicity and residual activity of insecticides used in blueberry pest management: Mortality of natural enemies. Journal of Economic Entomology 107: 277-285.
- Saint-Preux C. 2015. Comparación de la eficacia del insecticida sulfoxaflor con flupyradifurone, spirotetramate e imidacloprid para el control de *Myzus persicae* en chile dulce (*Capsicum annuum*). Tesis de licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 27 p.
- Salas M.A., Hernández V., Ríos C., Lule N., Mauricio J.A. and Chávez M.H. 2017. *Melanaphis sacchari*, a New Pest of *Sorghum halepense* at Chiapas, México, and its Predators. Southwestern Entomologist 42 (2): 401-404.
- SAS Institute. 2013. SAS 9.4 Language Reference Concepts. Cary, NC, USA.
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2017. Pulgón amarillo del sorgo. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/pulgón-amarillo-del-sorgo-110905>. Consultada 7 de mayo de 2018
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2019. Cierre de la producción agrícola por cultivo. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do. Consulta: 18 enero 2019.
- Singh B.U., Padmaja P.G. and Seetharama N. 2004a. Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. Crop Protection 23: 739-755.
- Singh S.R., Walters K.F.A., Port G.R. and Northing P. 2004b. Consumption rates and predatory activity of adult and fourth instar larvae of the seven spot ladybird, *Coccinella*

- septempunctata* (L.), following contact with dimethoate residue and contaminated prey in laboratory arenas. *Biological Control* 30: 127-133.
- Sparks T.C. and Nauen R. 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121: 122-128.
- Sparks T.C., Watson G.B., Loso M.R., Geng C., Babcock J.M. and Thomas J.D. 2013. Sulfoxaflor and the sulfoximine insecticides: Chemistry, mode of action and basis for efficacy on resistant insects. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107 (1): 1-7.
- Stara J., Ourednickova J. and Kocourek F. 2011. Laboratory evaluation of the side effects of insecticides on *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiidae), *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae), and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseidae). *Journal of Pest Science* 84: 25-31.
- Studebaker G.E. and Kring T.J. 2003. Effects of insecticides on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae), measured by field, greenhouse and petri dish bioassays. *Florida Entomologist* 86: 178-185.
- Szczepaniec A. 2018. Assessment of a density-based action threshold for suppression of sugarcane aphids, (Hemiptera: Aphididae), in the southern high plains. *Journal of Economic Entomology* 111 (5): 2201-2207.
- Tamayo F. y Marín A. 2016. Estatus del pulgón amarillo del sorgo en Guanajuato. *El entomólogo* 14: 6-7.
- Tavares W.S., Grael C.F.F., Menezes C.W.G., Cruz I., Serrão J.E. and Zanuncio J.C. 2012. Residual effect of extracts of native plants from Brazil and a synthetic insecticide, chlorpyrifos, on *Coleomegilla maculata*, *Cycloneda sanguinea*, and *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Vie et Milieu* 62: 1-6.
- Tejeda-Reyes M.A., Díaz-Nájera J.F., Rodríguez-Maciél J.C., Vargas-Hernández M., Solís-Aguilar J.F., Ayvar-Serna S. y Flores-Yáñez J.A. 2017. Evaluación en campo de insecticidas sobre *Melanaphis sacchari* (Zehntner) en Sorgo. *Southwestern Entomologist* 42 (2): 545-550.
- Tenczar E.G. and Krischik V.A. 2006. Management of cottonwood leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) with a novel transplant soak and biorational insecticides to conserve coccinellid beetles. *Journal of Economic Entomology* 99 (1): 102-108.
- Tillman P.G. and Mulrooney J.E. 2000. Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles*

- nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *Journal of Economic Entomology* 93 (6): 1638-1643.
- Van Timmeren S., Mota-Snachez D., Wise J.C. and Isaacs R. 2018. Baseline susceptibility of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*) to four key insecticide classes. *Pest Management Science* 74 (1): 78-87.
- Varenhorst A.J. and O'Neal M.E. 2012. The Response of Natural Enemies to Selective Insecticides Applied to Soybean. *Environmental Entomology* 41 (6): 1565-1574.
- Vázquez-Navarro J.M., Carrillo-Aguilera J.C. y Cisneros-Flores B.A. 2016. Estudio poblacional en un cultivar de sorgo forrajero infestado con pulgón amarillo del sorgo *Melanaphis sacchari* (Zehntner, 1897) (Hemiptera: Aphididae) en la Comarca Lagunera. *Entomología mexicana* 3: 395-400.
- Vera-Núñez J.A., Grageda-Cabrera O.A., Hernández J.A. y Peña-Cabriales J.J. 2009. Efecto de los surfactantes sobre la absorción de agroquímicos en plantas. *Nova Scientia* 3: 14-36.
- Vincent C., Ferran A., Guige L., Gambier J. and Brun J. 2000. Effects of imidacloprid on *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) larval biology and locomotory behavior. *European Journal of Entomology* 97: 501-506.
- Wanumen A.C., Carvalho G.A., Medina P., Viñuela E. and Adán A. 2016. Residual acute toxicity of some modern insecticides toward two mirid predators of tomato pests. *Journal of Economic Entomology* 109: 1079-1085.
- Watson G.B., Loso M.R. Babcock J.M., Hasler J.M., Letherer T.J., Young C.D., Zhu Y., Casida J.E. and Sparks T.C. 2011. Novel nicotinic action of the sulfoximine insecticide sulfoxaflor. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 41: 432-439.
- Wells M.L., McPherson R.M., Ruberson J.R. and Herzog G.A. 2001. Coccinellids in cotton: Population response to pesticide application and feeding response to cotton aphids (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 30 (4): 785 – 793.
- Yadav R., Prasad S., Singh S.K., Vijay V., Sabu T., Lama S., Kumar P., Sandesh J., Thakur A. and Ramawat N. 2016. Bio-management of sugarcane aphid *Melanaphis sacchari* (Z.) in sorghum. *Plant Archives* 16 (2): 559-562.
- Yu C., Lin R., Fu M., Zhou Y., Zong F., Jiang H., Lv N., Piao X., Zhang J., Liu Y. and Brock T.C.M. 2014. Impact of imidacloprid on life-cycle development of *Coccinella septempunctata* in laboratory microcosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 110: 168-173.