



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**USO DE DOS DEPREDADORES PARA EL
CONTROL BIOLÓGICO DE *Dactylopius
opuntiae* (HEMIPTERA:
DACTYLOPIIDAE)**

RAQUEL SALAS MONZÓN

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

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: **USO DE DOS DEPREDADORES PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Dactylopius opuntiae* (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE)** realizada por la alumna: **Raquel Salas Monzón**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

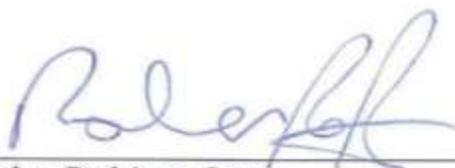
MAESTRA EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

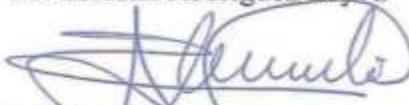
Consejo Particular

Consejero



Dr. Esteban Rodríguez Leyva

Asesor



Dr. J. Refugio Lomeli Flores

Asesor



Dr. Juan Manuel Vanegas Rico

Montecillo, Texcoco, Estado de México, abril de 2020

USO DE DOS DEPREDADORES PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE

Dactylopius opuntiae (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE)

Raquel Salas Monzón, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

La cochinilla silvestre del nopal, *Dactylopius opuntiae*, es una plaga clave de *Opuntia ficus-indica* en México y otros países del mundo, y se busca como mejorar su control. *Hyperaspis trifurcata* y *Leucopina bellula* son enemigos naturales específicos de *D. opuntiae* ambos tienen potencial como agentes de control biológico, pero se desconoce el comportamiento de alimentación e interacción cuando se encuentran de manera simultánea. En este trabajo se determinó la interacción entre *H. trifurcata* y *L. bellula* cuando forrajearon a la presa en un mismo lugar y al mismo tiempo. Usando experimentos de elección y no elección se determinó que ambos depredadores consumieron todos los estados de desarrollo de su presa, con preferencia hacia los estados inmaduros. *Leucopina bellula* consumió proporcionalmente más ninfas de primer o segundo ínstar (0.16 y 0.14, respectivamente) que adultas no grávidas (0.007). Mientras que *H. trifurcata* consumió de manera similar las ninfas de primer y segundo ínstar (0.33 y 0.23), pero menos que adultas (0.05). La proporción de consumo fue mayor cuando ambos depredadores se liberaron de manera conjunta, en comparación con los tratamientos de liberación individual en cualquier etapa de desarrollo de *D. opuntiae*. La interacción de ambos depredadores fue aditiva en el consumo de ninfas de primer ínstar y adultas grávidas de *D. opuntiae*, pero fue sinérgica en el consumo de huevos. En este trabajo se discuten las implicaciones de estos resultados para emplear a estos dos depredadores en el control biológico de *D. opuntiae*.

Palabras clave: Cochinilla silvestre del nopal, control biológico, *Hyperaspis trifurcata*, *Leucopina bellula*, interacciones.

USE OF TWO PREDATORS FOR THE BIOLOGICAL CONTROL OF *Dactylopius opuntiae* (HEMIPTERA: DACTYLOPIIDAE)

Raquel Salas Monzón, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

The wild cochineal, *Dactylopius opuntiae*, is a key pest of *Opuntia ficus-indica* in Mexico and other countries around the world, and some way to improve its control is needed. *Hyperaspis trifurcata* and *Leucopina bellula* are specific natural enemies of *D. opuntiae* that have potential as biological control agents, but the feeding and interaction behavior when they are found simultaneously is unknown. In this work, the interaction between *H. trifurcata* and *L. bellula* was determined when they foraged its prey simultaneously. Using choice and non-choice experiments we determined that both predators consumed all the development stages of *D. opuntiae*, with preference towards the immature stages. *Leucopina bellula* consumed proportionally more first or second instar nymphs (0.16 and 0.14, respectively) than no gravid adults (0.007). *Hyperaspis trifurcata* similarly consumed the first and second instar nymphs (0.33 and 0.23), but less than adults (0.05). The proportion of consumption was higher when both predators were released together, compared to individual release treatments at any stage of *D. opuntiae* development. The interaction of both predators was additive while consuming first instar nymphs and gravid adults of *D. opuntiae*, but was synergistic in the consumption of eggs. The implication of these results for employing these two predators in biological control of *D. opuntiae* is discussed.

Key words: Wild cochineal, biological control, *Hyperaspis trifurcata*, *Leucopina bellula*, interactions.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida y permitirme disfrutar una de las experiencias más gratificantes y emocionantes.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo económico para la realización de mis estudios de Maestría.

Al Comité revisor de tesis, integrado por los doctores Esteban Rodríguez Leyva, J. Refugio Lomeli Flores, Juan M. Vanegas Rico por su participación, sugerencias y comentarios oportunos para la realización de este trabajo de maestría. Pero sobre todo, porque cada uno aportó algo importante en mi formación profesional.

A mis compañeros del Laboratorio de Control Biológico.

A mis amigos por brindarme su amistad y ser oportunos para desestresarme con charlas y risas interminables.

A Trinidad Lomeli Flores por el apoyo brindado tanto en el laboratorio como en el campo, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mi madre por ser mi mayor motivación y por su inmenso amor.

A mi padre por sus sabios consejos.

A mis hermanos por su apoyo incondicional.

A mis sobrinos por hacer divertido cada día de vacaciones.

A A. Jesús Gonzaga Segura por su comprensión, motivación y compañía durante este tiempo.

Al Dr, Juan Manuel Vanegas Rico por ser un amigo y un excelente sensei. Gracias por estar en los momentos difíciles y saber cómo ayudarme.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO.....	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
1 INTRODUCCIÓN	9
2 MATERIALES Y MÉTODOS	13
2.1 Cría de insectos.....	13
2.2 Depredación de <i>Leucopina bellula</i> e <i>Hyperaspis trifurcata</i> sobre diferente estado de desarrollo de <i>Dactylopius opuntiae</i>	14
2.2.1 Pruebas de no elección.....	14
2.2.2 Pruebas de elección.....	14
2.3 Interacción entre <i>L. bellula</i> e <i>H. trifurcata</i> sobre hembras de <i>D. opuntiae</i>	15
2.4 Análisis de datos	15
3 RESULTADOS	17
3.1 Depredación de <i>Leucopina bellula</i> e <i>Hyperaspis trifurcata</i> sobre diferente estado de desarrollo de <i>Dactylopius opuntiae</i>	17
3.2 Interacción entre <i>L. bellula</i> e <i>H. trifurcata</i> sobre hembras de <i>D. opuntiae</i>	19
4 DISCUSIÓN	21
5 CONCLUSIÓN	25
6 RECOMEDACIONES GENERALES	26
7 LITERATURA CITADA.....	28

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Proporción de etapas de desarrollo de *D. opuntiae* depredadas por *L. bellula* en experimentos de no elección (A) y elección (B). Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% transformado desde la escala logística. 18
- Figura 2.** Proporción de etapas de desarrollo de *D. opuntiae* depredadas por *H. trifurcata* en experimentos de no elección (A) y elección (B). Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% transformado desde la escala logística. 19
- Figura 3.** Proporción de etapas de desarrollo de *D. opuntiae* consumidas de manera individual por *H. trifurcata* (Ht) y *L. bellula* (Lb) y de manera combinada (Lb + Ht) en experimentos de interacción. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% transformado desde la escala logística. 20

1 INTRODUCCIÓN

La mayoría de los insectos depredadores se alimentan sobre varias presas para completar su desarrollo y manifestar su máximo potencial reproductivo (Evans et al., 1999; Van Driesche et al., 2007; Toosi et al., 2019). Durante este proceso, las larvas y los adultos de la mayoría de las especies suelen alimentarse de diferentes estados de desarrollo de la misma presa (Evans *et al.*, 1999; Van Driesche et al., 2007). Esta capacidad de elección puede estar asociada a diversos factores. Por ejemplo, 1) La calidad de la presa, evaluada por los nutrientes que pueden obtener de ella (Hassell y Southwood, 1978; Pyke, 1984; Van Driesche et al., 2007; Khuhro et al., 2012; Vanegas-Rico et al., 2016; Toosi et al., 2019), así como por la presencia de ciertas sustancias en los estados de desarrollo de la presas, y cuyo consumo pudieran afectar al entomófago (Ode, 2006); 2) El trabajo energético para la manipulación de la presa y su ganancia neta (Sabelis, 1992); algunos depredadores sólo son aptos para dominar presas más pequeñas que ellos (Symondson et al., 2002), de lo contrario los riesgos que representa alimentarse de presas grandes se incrementan ya que pueden causarles daño por el contrataque (Parajulee et al., 1994; Hindayana et al., 2001), o simplemente la movilidad puede ser un factor que vuelve más difícil someter a la presa (Xu y Enkegaard, 2010). A decir verdad, la elección de una presa se debe a la combinación de todos esos factores (Rodríguez-Leyva et al., 2019; Silva y Bento, 2019). En este sentido, en los enemigos naturales la preferencia de la presa tiene un papel importante no sólo en el aprovechamiento de los recursos presa, sino también en la supresión de especies fitófagas (Xu y Enkegaard, 2010), lo que determina su capacidad para considerarse como agentes de control biológico (DeBach, 1964).

En México, los depredadores *Hyperaspis trifurcata* Schaeffer (Coleoptera: Coccinellidae) y *Leucopina bellula* (Williston) (Diptera: Chamaemyiidae) se alimentan de la cochinilla silvestre del nopal, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), la cual representa la plaga más importante de *Opuntia ficus-indica* (Caryophyllales: Cactaceae) especie cultivada y originaria de México, lo mismo que su fitófago la cochinilla silvestre del nopal (Griffith, 2004, Chávez-Moreno et al., 2009; Vanegas-Rico et al., 2010). *Dactylopius opuntiae* es una plaga invasiva en una docena de países en el mundo, particularmente en Brasil y la cuenca del Mediterráneo (Lopes et al., 2009; Mazzeo et al., 2019; Ülgentürk y Hocaali, 2019; Mendel et al., 2020). Por su parte, *O. ficus-indica* es la cactácea cultivada más importante del mundo (Le Houérou, 1996; Nobel, 2002; Griffith, 2004; Nefzaoui et al., 2014), y actualmente en la cuenca del Mediterráneo su cultivo está en riesgo por la introducción de *D. opuntiae* (Mazzeo et al., 2019; Mendel et al., 2020).

Los entomófagos *H. trifurcata* y *L. bellula* son frecuentes y abundantes sobre *D. opuntiae* (México) y *D. confusus* (Cockerell) (sur de Estados Unidos), además tienen una aparente relación denso-dependiente con estas plagas (Gilreath y Smith 1988; Vanegas-Rico et al., 2016; 2017). El empleo de estos enemigos naturales a través del control biológico por conservación en México (Vanegas-Rico et al., 2010, 2016; Cruz-Rodríguez et al., 2016), o por medio del control biológico clásico en Israel (Mendel et al., 2020), aparentemente representan una alternativa para el manejo de *D. opuntiae*. No obstante, se desconocen varias particularidades del comportamiento de estos dos enemigos naturales, especialmente cuando interactúan en el tiempo y espacio.

Aunque, *H. trifurcata* puede completar su ciclo alimentándose sólo de ninfas del primer ínstar de *D. opuntiae*, sus parámetros poblacionales aumentan cuando se les proporcionan todos los estados de desarrollo de su presa (Vanegas-Rico et al., 2016).

Mientras que las larvas de *L. bellula* se observan, en campo y laboratorio, depredando debajo de las colonias de su presa, donde se asume que prefiere consumir a los estados inmaduros de *D. opuntiae* (Vanegas-Rico et al., 2010, 2017). Su desarrollo no se ha confirmado exclusivamente sobre ninfas de primer ínstar, pero si con presas adultas que proveen huevos y ninfas (Salas-Monzón, 2018). Las observaciones de campo y los resultados de otros estudios sugieren que si se mejora el conocimiento del comportamiento de estos dos enemigos naturales, que se desarrollan explotando los mismos recursos (colonias de *D. opuntiae*) de manera natural y simultánea en campo, se podría entender los mecanismos de forrajeo de ambos depredadores y el proceso de regulación sobre la plaga (Ferguson y Stiling, 1996; Dinesh y Venkatesha, 2014).

De manera general, se acepta que los enemigos naturales que se alimentan de la misma presa, y lo realizan de manera simultánea, puedan presentar tres tipos de interacción: sinergismo, aditividad o antagonismo (Ferguson y Stiling, 1996; Losey y Denno, 1999; Finke y Denno, 2003; Prasad y Snyder, 2004; Snyder et al., 2006). Hay ejemplos documentados que demostraron que la liberación simultáneamente de depredadores como un coccinélido y un díptero, o de un díptero y otra especie de díptero tuvieron una interacción antagónica (Lucas et al., 1998; Hindayana et al., 2001; Devee et al., 2018). No obstante, también se ha demostrado la interacción aditiva cuando se liberan dos especies de dípteros entomófagos (Barriault et al., 2019). En el caso de *H. trifurcata* y *L. bellula*, la información disponible lleva a sugerir la hipótesis que la interacción que sucede en campo es aditiva (Gilreath y Smith, 1988; Vanegas-Rico et al., 2010; 2017), pero no se han realizado trabajos donde se demuestre la preferencia por los diferentes estados de desarrollo de la presa, ni su interacción. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar, en condiciones de laboratorio, el tipo

de interacción entre *H. trifurcata* y *L. bellula* alimentándose de diferentes estados de desarrollo de *D. opuntiae*.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Cría de insectos

La colonia de *D. opuntiae* utilizada en el presente estudio se desarrolló a partir de una cría establecida en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México, desde hace más de dos años en condiciones de invernadero ($21 \pm 10^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ HR). El incremento de la colonia se realizó sobre cladodios de nopal, *Opuntia ficus-indica*, de un año de edad, seleccionados de una huerta experimental del Colegio de Postgraduados, y se infestaron mediante la técnica de cladodio cortado con las modificaciones propuestas por Vanegas-Rico et al. (2016).

Hyperaspis trifurcata y *Leucopina bellula* se obtuvieron de crías establecidas en el laboratorio de Control Biológico del Colegio de Postgraduados de material obtenido en Tlalnepantla, Morelos en 2018. Las larvas de ambas especies se mantuvieron en cajas Petri ($\varnothing = 9$ cm x 1.5 cm de altura) y se alimentaron *ad libitum* con inmaduros y adultas de *D. opuntiae*. Los adultos de *H. trifurcata* y *L. bellula* se confinaron en jaulas de marco de madera cubiertas con tela de organza (21 x 31 x 20 cm), para favorecer ventilación. Su alimentación consistió en gotas de miel colocadas sobre la tela, además de agua proporcionada con una mecha de algodón insertada en un recipiente de vidrio de 50 mL. Para favorecer la oviposición de los depredadores se les ofrecieron colonias de la presa con todos los estados de desarrollo (Vanegas-Rico et al., 2016). Las crías de ambos depredadores y todos los experimentos se desarrollaron en una cámara bioclimática a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ HR y 12:12 (L: O). Las cantidades de organismos utilizados en cada experimento se determinaron con ensayos previos (RSM, datos sin publicar).

2.2 Depredación de *Leucopina bellula* e *Hyperaspis trifurcata* sobre diferente estado de desarrollo de *Dactylopius opuntiae*

2.2.1 Pruebas de no elección

La arena experimental fue una caja Petri ($\varnothing = 1$ cm x 1 cm de altura) con una de las dos especies de depredadores y una cantidad de presa de acuerdo al tratamiento asignado. Los tratamientos consistieron en: a) 40 ninfas de primer ínstar (N1) de *D. opuntiae*, b) 25 ninfas de segundo ínstar (N2), c) 3 hembras adultas juveniles (sin la presencia de huevos). Una vez que cada arena tuvo las presas correspondientes a cada tratamiento se introdujo de manera individual una larva de tercer ínstar (9 d) de un depredador con ayuno de 24 h, y se le permitió forrajear durante 24 h. Se estableció un grupo control para cada tratamiento sin la introducción de los depredadores, para determinar el promedio de individuos que murieron por causas distintas a la depredación. Posteriormente, se determinó el número de presas depredadas con base en el daño o colapso del integumento a casusa de la succión total o parcial del contenido de la presa. Se realizaron 30 repeticiones por tratamiento.

2.2.2 Pruebas de elección

Para estos ensayos se empleó una caja Petri ($\varnothing = 2.5$ cm, 1.5 cm de altura), con un orificio en la tapa, de 1 cm de diámetro, cubierto con organza para ventilación. En cada caja se colocaron todos los estados de desarrollo de *D. opuntiae* con las siguientes cantidades: 15 ninfas de primer ínstar, 15 ninfas de segundo ínstar y 15 hembras adultas juveniles (sin presencia de huevos). Una vez que se prepararon las arenas con la presa, se liberaron de manera individual larvas del tercer ínstar de *L. bellula* o *H. trifurcata*. Con el uso de un control para cada caso (sin la presencia de depredadores). La depredación se evaluó

utilizando la misma metodología descrita en el apartado de pruebas de no elección. En el ensayo se emplearon 30 repeticiones por tratamiento.

2.3 Interacción entre *L. bellula* e *H. trifurcata* sobre hembras de *D. opuntiae*

Para realizar esta prueba se utilizó una caja Petri (\varnothing : 1 cm x 1 cm de alto) y se colocaron dos hembras en estado reproductivo de *D. opuntiae*. Se establecieron cuatro tratamientos: 1) una larva de *L. bellula*, 2) una larva de *H. trifurcata*, 3) una larva de *L. bellula* y una larva de *H. trifurcata* y 4) un tratamiento sin depredador (control). En todos los experimentos se emplearon depredadores de tercer ínstar que se mantuvieron en ayuno durante 24 h previos al ensayo. Una vez liberadas se les permitió alimentarse sobre las hembras de la cochinilla silvestre del nopal y sus descendientes por 24 h, transcurrido este tiempo se retiraron y con un microscopio estereoscópico, se cuantificó el número de organismos consumidos y vivos. Este ensayo tuvo 20 repeticiones para cada tratamiento.

2.4 Análisis de datos

Las pruebas de no elección se analizaron mediante un modelo lineal generalizado (GLM) con una distribución binomial y una función de enlace logit (regresión logística) donde se compararon la mortalidad proporcional en cada etapa de desarrollo de *D. opuntiae*. Todos los análisis se realizaron utilizando GenStat v. 8.0 (Payne et al., 2005). En las pruebas de elección, cada arena se consideró como un bloque en un diseño de bloques completamente al azar. El componente del bloque aleatorio se contabilizó mediante el análisis de datos en un modelo lineal mixto generalizado (GLMM), con mortalidad en cada etapa de desarrollo de *D. opuntiae* como efecto principal fijo, y se replicó (en ocasiones) como un efecto de bloque aleatorio, con distribución binomial y función de enlace logit. Los análisis se realizaron utilizando GenStat v. 8.0 (Payne et al., 2005). La interacción entre *L. bellula* e *H.*

trifurcata sobre hembras de *D. opuntiae* se analizaron mediante regresión logística. Se estimaron y probaron los principales efectos e interacciones para el conjunto factorial de tratamientos definidos por el tratamiento (individual, con un solo enemigo natural en consideración, o dual, cuando se liberaron ambos enemigos naturales) y la etapa de desarrollo de *D. opuntiae*. Los datos del tratamiento de control no se incluyeron en el análisis ya que no se registró mortalidad. Además, utilizando los datos finales de mortalidad se determinó el resultado de las interacciones entre ambos enemigos naturales (sinérgico, aditivo o antagonista).

La proporción de mortalidad esperada (M_E) en los tratamientos donde se liberaron ambos enemigos naturales se estimó mediante la fórmula $M_E = M_{Ht} + M_{Lb} (1 - M_{Ht})$, donde M_{Ht} y M_{Lb} son la proporción de mortalidad causada por *H. trifurcata* y *L. bellula* respectivamente cuando se libera por separado. Luego, de una prueba χ^2 ($\chi^2 = (M_{Ht+Lb} - M_E)^2 / M_E$, donde M_{Ht+Lb} fue la mortalidad observada cuando ambos enemigos naturales fueron liberados simultáneamente, el estimado χ^2 se comparó con el valor de la tabla χ^2 para un grado de libertad, $p=0.05$. Si el valor de la tabla χ^2 fue mayor que el valor calculado, se consideró como una interacción aditiva; de lo contrario, se produjo una interacción sinérgica o antagónica. El criterio para discriminarlas se estimó con la diferencia (D) entre $M_{Ht} + M_{Lb}$ y M_E ; por lo que la interacción sinérgica equivale a un valor positivo, y antagónica a un valor negativo (McVay et al., 1977).

3 RESULTADOS

3.1 Depredación de *Leucopina bellula* e *Hyperaspis trifurcata* sobre diferente estado de desarrollo de *Dactylopius opuntiae*

En el bioensayo de no elección, *L. bellula* se alimentó de todos los estados de desarrollo de *D. opuntiae* (Fig. 1A), sin presentar diferencias entre el consumo de estados ninfales y adultas no grávidas ($F_{1, 85} = 0.23$, $P=0.633$). Aunque sí fue mayor ($F_{1, 85} = 24.67$, $P<0.001$) la proporción de ninfas de 2do ínstar consumidas respecto a las del 1er ínstar (Figura 1A).

En la prueba de elección, *L. bellula* también consumió todos los estados de desarrollo de *D. opuntiae* (Figura 1B). En este caso, la proporción de consumo de los estados ninfales de *D. opuntiae* fue mayor ($F_{1, 57} = 4.11$, $P=0.047$) que la proporción de adultas no grávidas; y además, no se encontraron diferencias entre el consumo de ninfas de 1er y 2do ínstar ($F_{1, 57} = 0.15$, $P=0.701$).

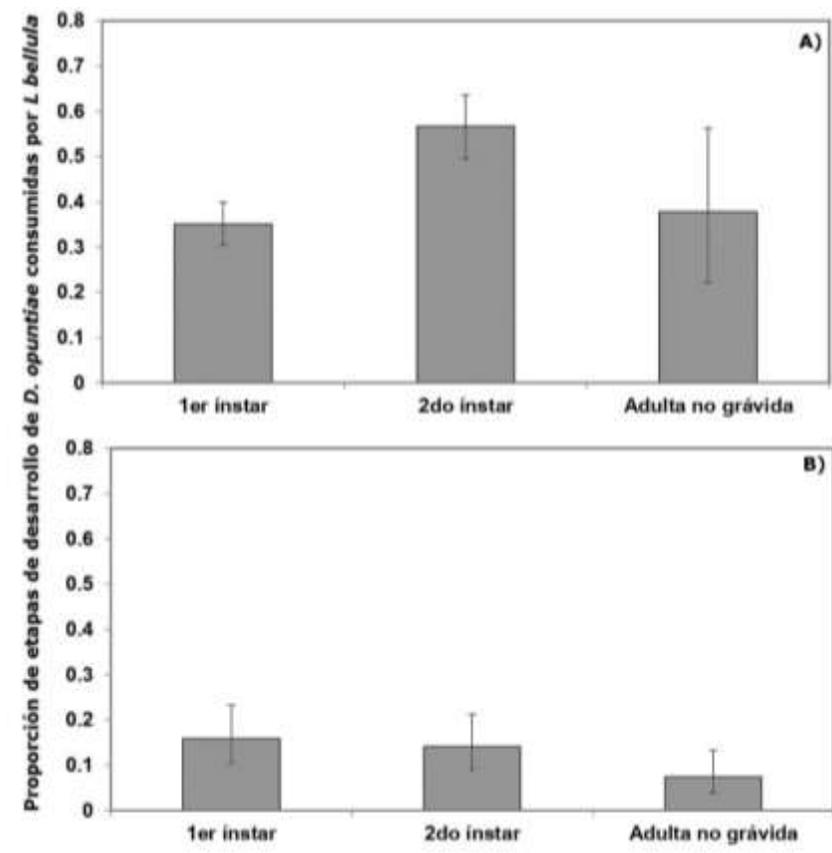


Figura 1. Proporción de etapas de desarrollo de *D. opuntiae* depredadas por *L. bellula* en experimentos de no elección (A) y elección (B). Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% transformado desde la escala logística.

En el experimento de no elección, *H. trifurcata* depredó todos los estados de desarrollo de *D. opuntiae* (Figura 2). Además, mostró un consumo mayor de los estados ninfales de *D. opuntiae* en comparación con las adultas no grávidas ($F_{1, 89} = 17.91, P < 0.001$). Mientras que la proporción de consumo fue semejante ($F_{1, 89} = 0.42, P = 0.517$) entre 1er y 2do ínstar.

En la prueba de elección, *H. trifurcata* también se alimentó de todos los estados de desarrollo de *D. opuntiae* y tuvo mayor preferencia ($F_{1, 59.9} = 17.88, P < 0.001$) por los estados

inmaduros respecto a las adultas. En tanto que, no difirió ($F_{1, 28} = 0.03$, $P = 0.856$) la proporción de consumo de ninfas 1er y 2do ínstar (Figura 2B).

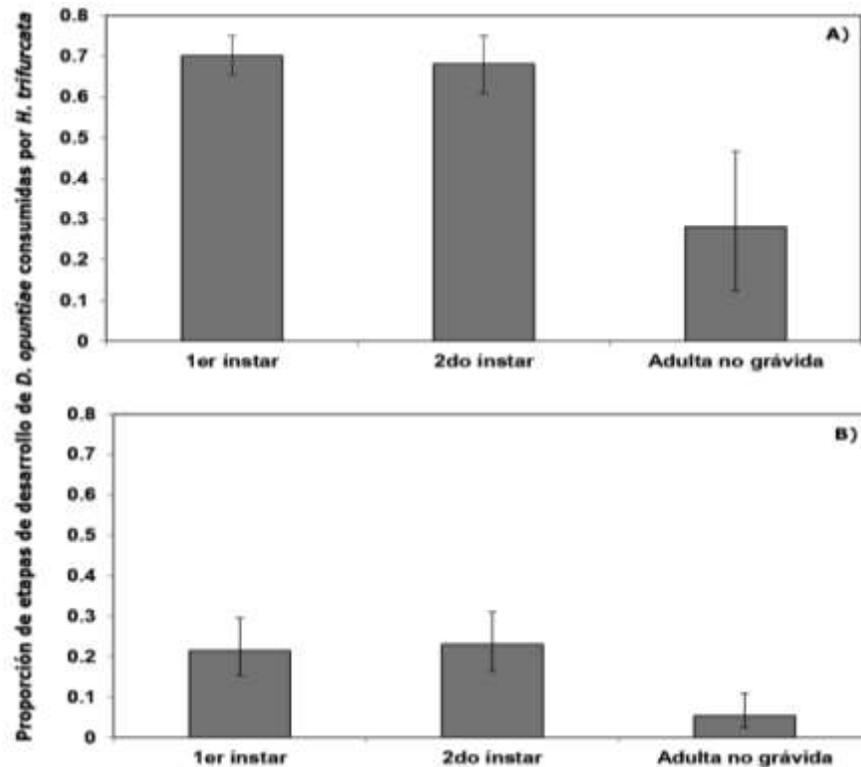


Figura 2. Proporción de etapas de desarrollo de *D. opuntiae* depredadas por *H. trifurcata* en experimentos de no elección (A) y elección (B). Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% transformado desde la escala logística.

3.2 Interacción entre *L. bellula* e *H. trifurcata* sobre hembras de *D. opuntiae*

Se registró una interacción aditiva al alimentarse de las hembras grávidas ($\chi^2 = 0.8$) y de ninfas I ($\chi^2 = 0.1$), mientras que en el consumo de huevos se presentó interacción sinérgica ($\chi^2 = 5.5$). En general, la proporción de consumo sobre *D. opuntiae* fue mayor cuando se liberaron de manera combinada respecto a la liberación individual ($F_{2, 141.1} = 34.35$, $P < 0.001$).

Además, se consumieron proporcionalmente más adultas grávidas de *D. opuntiae* ($F_{2, 140,3}=32.53, P<0.001$) respecto a sus estados inmaduros (Figura 3).

Por otra parte, no se encontraron diferencias en la proporción de consumo de cada estado de desarrollo de *D. opuntiae* con las liberaciones individuales y simultáneas de los depredadores ($F_{4, 140,1}=9.39, P=0.057$). Es decir, que se mantuvo la misma tendencia en el consumo de cada estado de desarrollo de *D. opuntiae* en cualquier situación.

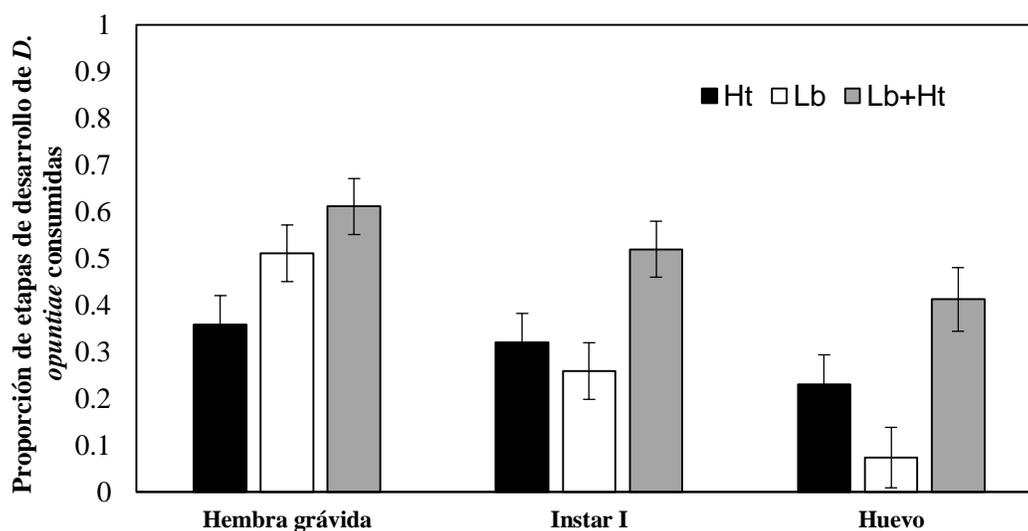


Figura 3. Proporción de etapas de desarrollo de *D. opuntiae* consumidas de manera individual por *H. trifurcata* (Ht) y *L. bellula* (Lb) y de manera combinada (Lb + Ht) en experimentos de interacción. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% transformado desde la escala logística.

4 DISCUSIÓN

Hyperaspis trifurcata y *L. bellula* son enemigos naturales que se consideran agentes potenciales de control biológico de *D. opuntiae* por su abundancia y adaptabilidad a varios ambientes (Vanegas-Rico et al., 2010, 2016, 2017; Mendel et al., 2020). Ya se sabía que *H. trifurcata* se alimenta de todas las etapas de desarrollo de la presa, y que *L. bellula* consume inmaduros de la presa y ocasionalmente consumo parcial de hembras adultas de *D. opuntiae* (Vanegas-Rico et al., 2010, 2016), pero se desconocían aspectos básicos de preferencia sobre esos estados de desarrollo. Además, también se desconocía el comportamiento de ambos depredadores cuando forrajean su presa de manera simultánea, por lo tanto estos resultados son una contribución sobre este aspecto de ambos enemigos naturales de *D. opuntiae*.

Ambos enemigos naturales tuvieron comportamiento similar de depredación, en las pruebas de no opción mostraron capacidad para alimentarse de cualquier estado de desarrollo de *D. opuntiae*. Por el contrario, en la pruebas de opción ambas especies prefirieron alimentarse de los estados inmaduros (N1 y N2) en lugar de las hembras no grávidas. No obstante, no dejaron de alimentarse de éstas últimas a pesar de tener N1 y N2 en exceso en los ensayos. Este comportamiento de elección sobre *D. opuntiae* se puede atribuir a varios factores. Por ejemplo a la conducta natural de forrajeo debajo de las colonias de la presa, al valor nutricional de los estados de desarrollo, al contenido de ácido carmínico y la cubierta protectora en cada estado de desarrollo, o a la combinación de dos o más de esas características.

De manera natural las ninfas de primer ínstar están debajo de la madre y permanecen varias horas debajo de ésta, probablemente menos de 24 h, para esperar el momento para dispersarse y establecerse en nuevos sitios de un cladodio, o en plantas nuevas por dispersión con el viento (Pérez-Guerra, 1991; Mathenge et al., 2009; López-Rodríguez et al., 2018). En

ese lapso de tiempo son más susceptibles a la depredación por ambas especies de los depredadores, los cuales tienen el comportamiento de permanecer debajo de una colonia de *D. opuntiae*, lo que disminuye el tiempo de búsqueda de su presa (Vanegas-Rico et al., 2010). Por su parte las ninfas de segundo ínstar ya se establecieron en el cladodio y no son móviles (Pérez-Guerra, 1991; López-Rodríguez et al., 2018); en estos estados la cera no está completamente desarrollada como en el estado adulto. Por otro lado, las hembras adultas de *D. opuntiae* ya tienen mejor desarrollada una cubierta protectora (cera) que puede interferir en la alimentación de los depredadores (Flores et al., 2013; Hernández-González y Cruz-Rodríguez, 2018), pero además tienen la mayor concentración de ácido carmínico al compararse con los estados inmaduros (Barreto-García et al., 2020). La acumulación de ácido carmínico en hemolinfa y tejidos tiene un propósito defensivo (Eisner et al., 1980, 1994), y la concentración de esta molécula es de 1.7 a 2.0 % en inmaduros versus 3.1 a 5.3% en hembras adultas (Barreto-García et al., 2020). La preferencia de alimentación de *H. trifurcata* y *L. bellula* por los estados inmaduros de la presa, así como el consumo parcial de hembras adultas se podrían explicar, al menos parcialmente, por la concentración de ácido carmínico; porque ya se demostró que esta antraquinona afecta significativamente los parámetros demográficos de sus enemigos naturales (Barreto-García et al., 2020; Trejo-Reyes, 2020; Trejo-Reyes et al., 2020).

Muchas especies de Chamaemyiidae aprovechan todos los estados de desarrollo de sus presas (Sluss y Foote, 1971; Sluss y Foote, 1973; Kimberling y Price 1996; Satar et al., 2015; Barriault et al., 2019), aunque se alimentan preferentemente sobre los estados inmaduros (Sluss y Foote, 197; Rad et al., 2003; Barriault et al., 2019). Lo mismo ocurre con varias especies de *Hyperaspis* (Hafez y El-Ziady, 1952; Booth et al., 1995; Farhadi et al., 2018; El Aalaoui et al., 2019a), e incluso con otros depredadores que se alimentaron de *D.*

opuntiae como los coccinélidos *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), *Chilocorus cacti* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae) o el hemeróbido *Symphorobius barberi* (Banks) (Neuroptera: Hemerobiidae) (Pacheco-Ruedas et al., 2011; Hernández-González y Cruz-Rodríguez, 2018; El Aalaoui et al., 2019a; 2019b). El consumo de las presas inmaduras facilita su manipuleo (Flores et al., 2013; Hernández-González y Cruz-Rodríguez, 2018; Vanegas-Rico et al., 2016), pero seguramente cualquiera de esos depredadores requiera de otros nutrientes presentes en las presas adultas (Pyke, 1984; Omkar y Bind, 2004; Vanegas-Rico et al., 2016; Toosi et al., 2019).

En los ensayos de interacción, el consumo sobre *D. opuntiae* fue mayor en las liberaciones simultáneas de los depredadores, en comparación con las liberaciones individuales. En el caso de depredación de ninfas de primer instar (el estado de desarrollo más abundante de *D. opuntiae*) y adultas grávidas la interacción fue aditiva. Por otro lado, en el caso de huevo, el estado de desarrollo que se encuentra en bajas densidades por la ovoviviparidad de *D. opuntiae* (Palafox-Luna et al., 2018), la interacción fue sinérgica. Estas interacciones positivas refuerzan la presencia simultánea en su potencial como agentes de control biológico.

Estas interacciones positivas podrían soportar la hipótesis que no hay interferencia en el forrajero de ambos depredadores, a pesar de que consumen los mismos estados de desarrollo de su presa. La densidad elevada de presas es un factor que disminuye la interacción antagónica entre depredadores (Lucas et al., 1998). *D. opuntiae* es un fitófago prolífico (Flores-Hernández et al., 2006; Palafox-Luna et al., 2018) y esto pudo haber favorecido la no interferencia.

Una explicación adicional quizá se relacione con el tamaño y la movilidad de las especies participantes en la interacción. En nuestros experimentos se usaron larvas de tercer ínstar de los depredadores en cada caso y tuvieron un tamaño similar, aproximadamente de 4-5 mm de longitud. Al respecto Evans (1991), Lucas et al. (1998) y Hindayana et al. (2001) señalaron que la relación del tamaño de los depredadores en las interacciones puede determinar el resultado. Es decir, una diferencia evidente de tamaño entre depredadores podría favorecer la depredación intragremial en liberaciones simultáneas.

La movilidad de los depredadores también pudo determinar el tipo de interacción que se presentó entre *H. trifurcata* y *L. bellula*. De manera general, ambos depredadores se desarrollan como inmaduros debajo de la presa, y únicamente la larva del cuarto ínstar de *H. trifurcata* puede observarse desplazándose en la parte superior de las hembras de la presa, o entre colonias en un mismo cladodio (Vanegas-Rico et al., 2010); los primeros instares de *H. trifurcata* son ligeramente más móviles que *L. bellula*, pero su comportamiento característico sería considerado de poca movilidad con respecto a otros coccinélidos (Sluss y Foote, 1973; Hindayana et al. 2001; Dinesh y Venkatesha, 2014; Barriault et al., 2019). Finalmente, la especificidad de alimentación sobre *D. opuntiae*, algo que caracteriza a ambos depredadores (Mann, 1969; Vanegas-Rico et al., 2010; 2016; Mendel et al., 2020), pudiera favorecer la interacción positiva en liberaciones simultáneas a diferencia de depredadores generalistas que depredan una gran diversidad de presas (Polis et al., 1989; Lucas et al., 1998).

5 CONCLUSIÓN

A manera de conclusiones, bajo las condiciones que se realizó este trabajo *H. trifurcata* y *L. bellula* prefirieron los estados inmaduros de *D. opuntiae*, pero no dejaron de consumir de manera parcial hembras adultas. La liberación simultánea de ambos depredadores resultó en una interacción aditiva para los estados de ninfas de primer ínstar y adultas grávidas, y sinérgica en el consumo de huevos. Aunque los ensayos se realizaron en condiciones de laboratorio, esta información ofrece elementos para continuar evaluando el potencial de estos dos agentes de control biológico, y su papel regulador en las poblaciones de *D. opuntiae* en campo.

6 RECOMEDACIONES GENERALES

Este trabajo se desarrolló para entender como sucede la depredación, y el tipo de interacciones que se da entre dos depredadores de los más importantes de *D. opuntiae* en México. Los experimentos se planearon emulando las condiciones naturales y se obtuvo información relevante, se espera que ésta sea útil para continuar evaluando el potencial biológico de *H. trifurcata* y *L. bellula* como reguladores biológicos de *D. opuntiae*. Para ello será necesario desarrollar evaluaciones de su efecto en diferentes condiciones en campo.

Aquí se realizaron experimentos con sólo un estado de desarrollo de ambos depredadores (tercer ínstar larval), es probable que la interacción entre éstos sea diferente cuando se presenten combinaciones diferentes en sus estados de desarrollo, pero eso se tendrá que demostrar con la experimentación. Es común que en campo se presente al menos otro depredador de *D. opuntiae* de manera relevante, el lepidóptero *Laetilia coccidivora* (Comstock), en trabajos futuros probablemente se deba explorar que tipo de interacción sucede cuando están presentes las tres especies. Aunque se asegura que *L. coccidivora* llega a las plantaciones de nopal cuando la población de *D. opuntiae* empieza a ser más evidente y probablemente exploten de manera diferente el recurso presa.

El control químico es una de las tácticas de mayor uso en plantaciones comerciales de nopal para el combate de *D. opuntiae*, y es urgente evaluar el efecto de los insecticidas sobre *H. trifurcata* y *L. bellula*. Se debe buscar la compatibilidad comportamental, para construir una propuesta de manejo integrado de *D. opuntiae*. Actualmente esa propuesta MIP está prácticamente ausente en México. La necesidad de disminuir el impacto de los insecticidas sobre los enemigos naturales nativos resulta obvia y necesaria porque México, como centro de origen del nopal y de sus fitófagos (llámese *D. opuntiae*), tiene la mayor

diversidad de enemigos naturales nativos para mejorar las propuestas de manejo integrado en nopal.

Hace falta información y presupuesto, en laboratorio y campo para mejorar el combate de *D. opuntiae* en México, pero también de otras plagas. Esta será más que una recomendación, una invitación a que las personas que desarrollan investigación relacionada con nopal, ya sea en el manejo fitosanitario u cualquier otra actividad relacionada con esta planta, realicen esfuerzos para hacerlo bien y publicarlo. La cantidad de información generada en México sobre nopal es limitada. Los usos y la explotación de nopal en México proporcionan beneficios alimenticios, ecológicos, forrajeros y algunos industriales. Es relevante la fuente de sustento a miles de familias, pero podría dar para muchas más –con el uso de sustancias menos peligrosas para combatir plagas– cuando se mejore la propuesta de manejo de plagas y obtención de subproductos para la industrialización de este cultivo y sus derivados.

7 LITERATURA CITADA

- Barreto-García O. A., Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R., Vanegas-Rico J. M., Viguera A. L, Portillo L. 2020. *Laetilia coccidivora* feeding on two cochineal insect species, Does the prey affect the fitness of the predator? *BioControl* submitted BICOD19-00290 R2.
- Barriault S., Fournier M., Soares A. O., Lucas E. 2019. *Leucopis glyphinivora*, a potential aphidophagous biocontrol agent? Predation and comparison with the commercial agent *Aphidoletes aphidimyza*. *BioControl* 64: 21-31.
- Booth R. G., Cross A. E., Flower S. V., Shaw R. H. 1995. The biology and taxonomy of *Hyperaspis pantherina* (Coleoptera: Coccinellidae) and the classical biological control of its prey, *Orthezia insignis* (Homoptera: Ortheziidae). *Bull. Entomol. Res.* 85: 307-314.
- Chávez-Moreno C. K., Tecante A., Casas A. 2009. The *Opuntia* (Cactaceae) and *Dactylopius* (Hemiptera: Dactylopiidae) in Mexico: a historical perspective of use, interaction and distribution. *Biodivers. Conserv.* 18: 3337-3355.
- Cruz-Rodríguez J. A., González-Machorro E., Villegas A., Rodríguez M., Mejía F. 2016. Autonomous biological control of *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae) in a prickly pear plantation with ecological management. *Environ. Entomol.* 45: 642-648.
- De Bach P. 1964. Biological control of insect pests and weeds. Chapman & Hall, London. UK.
- Devee A., Arvaniti K., Perdakis D. 2018. Intraguild predation among three aphidophagous predators. *Bull. Insectol.* 71: 11-19.

- Dinesh A. S., Venkatesha M. G. 2014. Inter-and intraspecific interactions in two mealybug predators *Spalgis epius* and *Cryptolaemus montrouzieri* in the presence and absence of prey. *Bull. Entomol. Res.* 104: 48-55.
- Eisner T., Nowicki S., Goetz M., Meinwald J. 1980. Red cochineal dye (carminic acid): its role in nature. *Science* 208:1039-1042.
- Eisner T., Ziegler R., McCormick J. L., Eisner M., Hoebeke E. R., Meinwald J. 1994. Defensive use of an acquired substance (carminic acid) by predaceous insect larvae. *Cell Mol Life Sci* 50: 610–615.
- El Aalaoui M., Bouharroud R., Sbaghi M., El Bouhssini M., Hilali L. 2019a. Predatory potential of eleven native Moroccan adult ladybird species on different stages of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae). *EPPO Bull.*49: 374-379.
- El Aalaoui M., Bouharroud R., Sbaghi M., El Bouhssini M., Hilali L., Nacera D. 2019b. Predatory potential and feeding preference of *Cryptolaemus montrouzieri* on *Dactylopius opuntiae* under laboratory conditions. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 7: 1-13.
- Evans E. W., Stevenson A. T., Richards D. R. 1999. Essential versus alternative foods of insect predators: benefits of a mixed diet. *Oecologia* 121: 107-112.
- Farhadi Z., Esfandiari M., Mossadegh M. S., Shishehbor P. 2018. Prey stage preference and functional response of the coccinellid *Hyperaspis polita*, feeding on the mealybug *Nipaecoccus viridis*. *Plant. Pest. Research.*7: 63–78.
- Ferguson K. I., Stiling P. 1996. Non-additive effects of multiple natural enemies on aphid populations. *Oecologia* 108: 375-379.
- Finke D. L., Denno R. F. 2003. Intra-guild predation relaxes natural enemy impacts on herbivore populations. *Ecol. Entomol.* 28: 67-73.

- Flores A., Olvera H., Rodríguez S., Barranco J. 2013. Predation potential of *Chilocorus cacti* (Coleoptera: Coccinellidae) to the prickly pear cacti pest *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). *Neotrop. Entomol.* 42: 407-411.
- Flores-Hernández A., Murillo-Amador B., Rueda-Puente E. O., Salazar-Torres J. C., García-Hernández J. L., Troyo-Diéguez E. 2006. Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: Dactylopiidae). *Rev. Mex. Biodivers.* 77: 97-102.
- Gilreath M. E., Smith Jr J. W. 1988. Natural enemies of *Dactylopius confusus* (Homoptera: Dactylopiidae): exclusion and subsequent impact on *Opuntia* (Cactaceae). *Environ. Entomol.* 17: 730-738.
- Griffith M. P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. *Am. J. Bot.* 91: 1915-1921.
- Hafez M., El-Ziady S. 1952. Studies on the biology of *Hyperaspis vinciguerrae* Capra, with a full description of the anatomy of the fourth stage larva (Coleoptera: Coccinellidae). *Buli. Soe. Fouad 1^{er} Entom.* 36: 211-240.
- Hassell M. P., Southwood T. R. E. 1978. Foraging strategies of insects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 9: 75-98.
- Hernández-González I. A., Cruz-Rodríguez, J. A. 2018. *Chilocorus cacti* (Coleoptera: Coccinellidae) as a biological control agent of the wild cochineal (Hemiptera: Dactylopiidae) of prickly pear cactus. *Environ. Entomol.* 47:334-339.
- Hindayana D., Meyhöfer R., Scholz D., Poehling H. M. 2001. Intraguild predation among the hoverfly *Episyrphus balteatus* de Geer (Diptera: Syrphidae) and other aphidophagous predators. *Biol. Control*, 20: 236-246.

- Khuhro N. H., Chen H., Zhang Y., Zhang L., Wang M. 2012. Effect of different prey species on the life history parameters of *Chrysoperla sinica* (Neuroptera: Chrysopidae). *Eur. J. Entomol.* 109: 175–180.
- Kimberling D. N., Price P. W. 1996. Competition, Leaf Morphology, and Host Clone Effects on Leaf-Galling Grape *Phylloxera* (Homoptera: Phylloxeridae). *Environ. Entomol.* 25: 1147-1153.
- Le Houérou H. N. 1996. The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin. *J. Arid Environ.* 33: 135-159.
- Lopes E. B., Brito C. H., Albuquerque I. C., Batista J. L. 2009. Desempenho do óleo de laranja no controle da cochonilha-do-carmim em palma gigante. *Eng. Ambiental* 6: 252-258.
- López-Rodríguez P E., Méndez-Gallegos S. J.; Aquino-Pérez G., Mena-Covarrubias J., Vanegas-Rico J. M. 2018. Estadísticos demográficos de *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae) en condiciones de invernadero. *RChSZA* 17: 31-42.
- Losey J. E., Denno R. F. 1999. Factors facilitating synergistic predation: the central role of synchrony. *Ecol. Appl.* 9: 378-386.
- Lucas E., Coderre D., Brodeur J. 1998. Intraguild predation among aphid predators: characterization and influence of extraguild prey density. *Ecology* 79: 1084-1092.
- Mann J. 1969. *Cactus-feeding insects and mites*. Smithsonian Institution Press, Washington, US.
- Mathenge C. W., Holford P., Hoffmann J. H., Spooner-Hart R., Beattie G. A. C., Zimmermann H. G. 2009. The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae). *Bull. Entomol. Res.* 99: 551-559.

- Mazzeo G., Nucifora S., Russo A., Suma P. 2019. *Dactylopius opuntiae*, a new prickly pear cactus pest in the Mediterranean: an overview. *Entomol. Exp. Appl.* 167: 59-72.
- McVay J.R., Gudauskas R.T., Harper J.D. 1977. Effects of *Bacillus thuringiensis* nuclear-polyhedrosis virus mixtures on *Trichoplusia ni* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 29: 367–372.
- Mendel Z., Protasov A., Vanegas-Rico J. M., Lomeli-Flores J. R., Suma P., Rodríguez-Leyva E. 2020. Classical and fortuitous biological control of the prickly pear cochineal *Dactylopius opuntiae* in Israel. *Biol. Control* 142: 104157.
- Nefzaoui A., Louhaichi M., Ben Salem H. 2014. Cactus as a tool to mitigate drought and to combat desertification. *J. Arid Land Stud.* 24: 121–124.
- Nobel P. S. 2002. *Cacti: biology and uses*. University of California, Berkeley, California, US.
- Ode P. J. 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 163-185.
- Omkar., Bind R. B. 2004. Prey quality dependent growth, development and reproduction of a biocontrol agent, *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae). *Biocontrol Sci Technol.* 14: 665-673.
- Pacheco-Rueda I., Lomelí-Flores J. R., Rodríguez-Leyva E., Ramírez-Delgado M. 2011. Ciclo de vida y parámetros poblacionales de *Symphorobius barberi* Banks (Neuroptera: Hemerobiidae) criado con *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae). *Acta Zool. Mex.* 27: 325-340.
- Palafox-Luna J. A., Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R., Viguera-Guzmán A. L., Vanegas-Rico J. M. 2018. Ciclo de vida y fecundidad de *Dactylopius opuntiae*

- (Hemiptera: Dactylopiidae) en *Opuntia ficus-indica* (Caryophyllales: Cactaceae). *Agrociencia* 52: 103-114.
- Parajulee M. N., Phillips T. W., Hogg, D.B. 1994. Functional response of *Lyctocoris campestris* (F.) adults: effects of predator sex, prey species, and experimental habitat. *Biol. Control* 4: 80-87.
- Payne R.W., Murray D. A., Harding S. A., Baird D. B., Soutar D. M. 2005. GenStat for Windows Introduction. Hemel Hempstead, United Kingdom.
- Pérez Guerra G. 1991. Biosystematics of the family *Dactylopiidae* (Homoptera: Coccinea) with emphasis on the life cycle of *Dactylopius coccus* Costa PhD Dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA.
- Polis G.A., Meyers C.A., Holt R.D. 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20: 297–330.
- Prasad R. P., Snyder W. E. 2004. Predator interference limits fly egg biological control by a guild of ground-active beetles. *Biol. control.* 31: 428-437.
- Pyke G. H. 1984. Optimal foraging theory: a critical review. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15: 523-575.
- Rad S. G., Hatami B., Asadi G. 2003. Biology of *Leucopis glyphinivora* Tanas (Dip.: Chamaemyiidae) and its efficiency in biological control of *Aphis fabae* Scop. *JWSS* 6: 195-207.
- Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R., Gómez-Domínguez N. S. 2019. Biología, ecología y comportamiento de insectos depredadores. Biblioteca Básica en Agricultura (BBA), *en prensa*.
- Sabelis M. W. 1992. Predatory arthropods. In: Natural Enemies (Ed. Crawley MJ), pp. 225–264. Blackwell Scientific Pub., Boston (US).

- Salas-Monzón R., Vanegas-Rico J.M., Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R. 2018. Biología de *Leucopis bellula* (Diptera: Chamaemyiidae) un depredador de cochinilla silvestre de nopal. XLI Congreso Nacional de Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico, memoria (p 49-54), 7-9 de Noviembre, Puerto Vallarta, Jalisco, México.
- Satar S., Raspi A., Özdemir I., Tusun A., Karacaoğlu M., Benelli G. 2015. Seasonal habits of predation and prey range in aphidophagous silver flies (Diptera Chamaemyiidae), an overlooked family of biological control agents. *Bull. Insectol.* 68: 173-180.
- Silva D. B., Bento J. M. S. 2019. Preferencia alimenticia de míridos depredadores neotropicales sobre plagas de tomate. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal* 310: 106-107.
- Sluss T. P., Foote B. A. 1971. Biology and immature stages of *Leucopis verticalis* (Diptera: Chamaemyiidae). *Can. Entomol.* 103: 1427-1434.
- Sluss T. P., Foote B. A. 1973. Biology and immature stages of *Leucopis pinicola* and *Chamaemyia polystigma* (Diptera: Chamaemyiidae). *Can. Entomol.* 105: 1443-1452.
- Snyder W. E., Snyder G. B., Finke D. L., Straub C. S. 2006. Predator biodiversity strengthens herbivore suppression. *Ecol. Lett.* 9: 789-796.
- Spodek M., Ben-Dov Y., Protasov A., Carvalho C. J., Mendel Z. 2014. First record of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Coccoidea: Dactylopiidae) from Israel. *Phytoparasitica* 42: 377-379.
- Symondson W. O. C., Sunderland K. D., Greenstone M. H., 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annu Rev Entomol.* 47:561-594.

- Toosi M., Rasekh A., Osawa N. 2019. Effects of intraguild predation on the life history traits and progeny of the ladybird beetle *Hippodamia variegata*. *Bull. Insectol.* 72: 161-168.
- Trejo-Reyes C. A 2020. Biología de *Hyperaspis trifurcata* alimentándose de dos especies de *Dactylopius opuntiae* (Hemiptera: Dactylopiidae). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 51p.
- Trejo-Reyes C. A., Rodríguez-Leyva E., Méndez-Gallegos J., Morales-Flores f. J., Villegas-Rodríguez F. 2020. Does carminic acid concentration affect feeding preference of *Hyperaspis trifurcata* (Coleoptera: Coccinellidae) for two cochineal prey? *RChSZA*. 105154 RRCHSZA 2020.01.001.
- Ülgentürk S., Şişman Hocaali S. 2019. Pest status of *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae) and new records of scale insects from northern turkish republic of Cyprus. *Munis. Entomol. Zool.* 14: 294-300.
- Van Driesche R.G., Hoddle M.S., Center T.D. 2007. Control de Plagas y malezas por enemigos naturales. The US Department of Agriculture (USDA). Washington, USA.
- Vanegas-Rico J. M., Lomeli-Flores J. R., Rodríguez-Leyva E., Mora-Aguilera G., Valdez J. M. 2010. Enemigos naturales de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller en el centro de México. *Acta Zool. Mex.* 26: 415-433.
- Vanegas-Rico J. M., Pérez-Panduro A., Lomeli-Flores J. R., Rodríguez-Leyva E., Valdez-Carrasco J. M., Mora-Aguilera G. 2017. *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae) population fluctuations and predators in Tlalnepantla, Morelos, Mexico. *Folia Entomol. Mex.* (n. s.) 3: 23–31.
- Vanegas-Rico J. M., Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R., González-Hernández H., Pérez-Panduro A., Mora-Aguilera G. 2016. Biology and life history of *Hyperaspis trifurcata* feeding on *Dactylopius opuntiae*. *BioControl.* 61: 691-701.

- Xu X., Enkegaard A. 2010. Prey preference of the predatory mite, *Amblyseius swirskii* between first instar western flower thrips *Frankliniella occidentalis* and nymphs of the twospotted spider mite *Tetranychus urticae*. *J Insect Sci.* 10: 149.
- Yasuda H., Evans E.W., Kajita Y., Urakawa K., Takizawa T. 2004. Asymmetric larval interactions between introduced and indigenous ladybirds in North America. *Oecologia* 141: 722–731.